



FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Janete Shatkoski Bandeira

ORIENTADOR

Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.

Porto Alegre – 2017

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**MAPEAMENTO METABÓLICO CORTICAL POR ESPECTROSCOPIA
FUNCIONAL EM SUJEITOS SAUDÁVEIS SUBMETIDOS A ESTIMULAÇÃO
ELÉTRICA DO NERVO ACESSÓRIO**

Janete Shatkoski Bandeira

Orientador: Prof. Wolnei Caumo, M.D., PhD.

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Porto Alegre, dezembro de 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Bandeira, Janete Shatkoski
Mapeamento metabólico cortical por espectroscopia funcional em sujeitos saudáveis submetidos a estimulação elétrica do nervo acessório / Janete Shatkoski Bandeira. -- 2017.
101 f.
Orientador: Wolnei Caumo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Ativação cortical cerebral. 2. Eletroestimulação periférica. 3. Espectroscopia funcional. 4. Nervo acessório espinal. 5. Fisiologia da dor. I. Caumo, Wolnei, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Juliana de Ávila Duarte

Profa. Dra. Luciana Cadore Stefani

Prof. Dr. Marino Muxfeldt Bianchin

Profa. Dra. Simone de Azevedo Zanette

AGRADECIMENTOS

- Ao meu mestre Claudio Couto, fundador e fonte de inspiração da “Família Geanfina” e de todos os alunos que ele tem encantado brilhantemente mundo afora....e são muitos! Sem sua confiança e seu apoio, eu não teria chegado até aqui;
- Aos meus amigos do Grupo de Estudos de Acupuntura Neurofuncional, praticamente minha família: Jeanne, Maria Cristina, Vera, Sandra, Daniela, Luciana, Joel, Radici, Rogério, Leonardo, Coura e Rodrigo, por tudo o que aprendemos e convivemos juntos nestes anos...
- Ao meu orientador Wolnei Caumo, professor exemplar, desafiador, inteligente, modelo de dedicação e amor ao que faz, e pela pessoa além do professor, franco, amigável, disponível, que soube trilhar seu caminho pela competência e pelo esforço;
- Aos meus pacientes, que me motivam a procurar conhecimento, que eu possa ajudá-los cada vez mais no desafio do tratamento da dor no dia a dia;
- Aos sujeitos de pesquisa, pessoas que apesar do curto contato, alegraram meus dias com sua disponibilidade e paciência;
- Aos colegas do Grupo de Dor e Neuromodulação, em especial aos meus amigos Luciana Antunes, Aline Brietzke, Fabiana Carvalho, Assunta Gasparin, Jéssica Elkfury, Tiago Cardinal, José Ary Romariz, Gerardo Beltrán, e aos futuros colegas Franciele Pereira e Samuel Lopes. Sem o apoio deles, eu não teria concluído esta etapa;
- Ao Paulo Bazán, Daniel, Guilherme e Jackson, da BrainSupport, por todo o apoio que deram ao meu aprendizado com a espectroscopia por infravermelho;

- Às instituições e seus funcionários: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, universidade da qual tenho orgulho em voltar a ser parte, mesmo que por um breve período; Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, e aos seus Centro de Pesquisa Clínica, Serviço de Engenharia Biomédica (Paulo Sanches, André Muller e Bruno Tondin), Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE) e Grupo de Pesquisa e Neuromodulação HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0);
- Aos meus pais, que sempre apoiaram minha mente inquieta, dando-me condições de ir em busca da ampliação dos meus horizontes no campo do conhecimento;
- Ao meu filho Eduardo, meu grande amigo, com o qual eu cresço a cada dia, que meu exemplo o inspire, e que a outros ele possa servir como inspiração;
- Ao meu marido Benjamin e à sua família, por todo o carinho e convivência em todos os momentos;
- Aos meus amigos, todos eles, os que convivem comigo e aos que hoje a vida me permite convívio virtual, que saibam que o carinho que me dedicam é alimento para o meu espírito.

*“Conhecimento não é aquilo que você sabe, mas o
que você faz com aquilo que você sabe.”*

Aldous Huxley

RESUMO

A estimulação elétrica periférica (PES), que abrange diversas técnicas com respostas fisiológicas diversas, tem apresentado em alguns casos resultados clínicos promissores para o tratamento da dor e reabilitação clínica. No entanto, as respostas encontradas são heterogêneas, principalmente porque há uma falta de compreensão em relação ao seu mecanismo de ação. Neste estudo, buscamos avaliar os efeitos da PES através da medição da ativação cortical cerebral utilizando a espectroscopia funcional por infravermelho (fNIRS). A fNIRS é um método de imagem óptica funcional que avalia mudanças hemodinâmicas nas concentrações de hemoglobina oxigenada (HbO) e desoxigenada (HbR), relacionadas à atividade cortical. Nós hipotetizamos que a PES do nervo acessório espinal (ASN) pode promover a ativação do córtex motor (MC) e do córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC), relacionados ao processamento da dor. Quinze voluntários saudáveis receberam estimulação elétrica ativa e *sham* em um ensaio clínico randomizado cruzado. A resposta hemodinâmica à estimulação elétrica unilateral direita do nervo acessório com 10 Hz foi medida pela espectroscopia funcional por um sistema de 40 canais. A variação de HbO nas áreas corticais de interesse mostrou ativação do DLPFC direito ($p=0,025$) e do MOTOR esquerdo ($p=0,042$) no grupo ativo comparado com *sham*. Em relação ao DLPFC esquerdo ($p=0,610$) e ao MOTOR direito ($p=0,154$), não houve diferença estatística entre os grupos. Como na modulação *top-down*, a estimulação *bottom-up* do nervo acessório parece ativar as mesmas áreas corticais, relacionadas às dimensões sensório-discriminativas e afetivo-motivacionais da dor. Esses resultados fornecem evidência adicional para desenvolver e otimizar o uso clínico da estimulação elétrica periférica.

Palavras-chave: Ativação Cortical, Excitabilidade Cortical, Espectroscopia por infravermelho, Estimulação Nervosa Periférica, Eletroneuroestimulação, Eletroacupuntura, Nervo Acessório Espinal
Registro no Clinical Trials NCT 03295370

ABSTRACT

Peripheral electrical stimulation (PES), which encompasses several techniques with heterogeneous physiological responses, has shown in some cases remarkable outcomes for pain treatment and clinical rehabilitation. However, results are still mixed, mainly because there is a lack of understanding regarding its neural mechanisms of action. In this study, we aimed to assess its effects by measuring cortical activation as indexed by functional near infrared spectroscopy (fNIRS). fNIRS is a functional optical imaging method to evaluate hemodynamic changes in oxygenated (HbO) and de-oxygenated (HbR) blood hemoglobin concentrations in cortical capillary networks that can be related to cortical activity. We hypothesized that PES of accessory spinal nerve (ASN) can promote cortical activation of motor cortex (MC) and dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) pain processing cortical areas. Fifteen healthy volunteers received both active and sham ASN electrical stimulation in a crossover design. The hemodynamic response to unilateral right ASN burst electrical stimulation with 10 Hz was measured by a 40-channel fNIRS system. The effect of ASN electrical stimulation over HbO concentration in cortical areas of interest was observed through the activation of right-DLPFC ($p=0.025$) and left-MOTOR ($p=0.042$) in the active group but not in sham group. Regarding left-DLPFC ($p=0.610$) and right-MOTOR ($p=0.174$) there was no statistical difference between groups. As in non-invasive brain stimulation (NIBS) top-down modulation, bottom-up electrical stimulation to the accessory spinal nerve seems to activate the same critical cortical areas on pain pathways related to sensory-discriminative and affective-motivational pain dimensions. These results provide additional mechanistic evidence to develop and optimize the effects of peripheral neural electrical stimulation.

Keywords: Cortical Activation (CA), Cortical Excitability (CE), Near infrared spectroscopy (NIRS), Peripheral Nerve Stimulation (PNS), Electrical Nerve Stimulation (ENS), Electroacupuncture (EA), Accessory Spinal Nerve (ASN)

Clinical Trials NCT 03295370

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1. Estratégia para localizar e selecionar as informações	19
2.2. Esquema de busca da literatura	21
3. MARCO CONCEITUAL	40
4. JUSTIFICATIVA	42
5. OBJETIVOS	44
5.1. Objetivo geral	44
5.2. Objetivos específicos	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
7. ARTIGO	52
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
9. PERSPECTIVAS FUTURAS	90
10. ANEXOS E/OU APÊNDICES	91
10.1. CONSORT 2010 checklist of information	92
10.2. Termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE	95
10.3. Curvas de médias de HbO e HbR por canal	98

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS DA DISSERTAÇÃO

Tabela 1 Resumo dos principais estudos com eletroestimulação periférica

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Table 1 Approximate anatomical correlation of international 10/10 EEG system and cortical gyrus

Table 2 Demographic characteristics between groups at baseline

Table 3 Relation of HbO hemodynamic changes on CAI between intervention groups

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS DA DISSERTAÇÃO

- Figura 1 Estratégia de busca da informação
- Figura 2 Décimo e décimo primeiro par craniano e raízes cervicais
- Figura 3 Trajeto do nervo acessório espinal no trígono cervical posterior
- Figura 4 Áreas M1, S1, PMC, SMA e DLPFC
- Figura 5 Interrelações dos circuitos neuronais de processamento da dor
- Figura 6 Exemplos de refração óptica, montagens de canais de leitura formado por pares de emissores e detectores, a penetração da luz em formato elíptico e registros típicos da hemodinâmica cortical
- Figura 7 Imagens próprias do equipamento, registro dos dados, touca e representações gráficas geradas pelo software
- Figura 8 Representação esquemática do Marco Conceitual

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

- Figure 1 Flow diagram
- Figure 2 Cap montage
- Figure 3 Experiment layout
- Figure 4 Activation of Dorsolateral Prefrontal Cortex between groups
- Figure 5 Activation of Motor Cortex between groups
- Figure 6 HbO changes representation in each channel between groups
- Figure 7 HbO and HbR mean curves of active and sham groups for each CAI
- Figure 8 HbO and HbR mean curves of active and sham groups in one channel with standard error shadows

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

	Termo em inglês	Termo em Português
ACC	<i>Anterior Cingulate Cortex</i>	Córtex Cingulado Anterior
ASN	<i>Accessory Spinal Nerve</i>	Nervo Acessório Espinal
CA	<i>Cortical Activation</i>	Ativação Cortical
CAI	<i>Cortical Area of Interest</i>	Área de Interesse Cortical
DLPFC	<i>Dorsal Lateral Prefrontal Cortex</i>	Córtex Pré-frontal Dorso-lateral
EA	<i>Electroacupuncture</i>	Eletroacupuntura
EEG	<i>Electroencephalography</i>	Eletroencefalografia
fNIRS	<i>Functional Near Infrared Spectroscopy</i>	Espectroscopia por Infravermelho Próximo Funcional
fMRI	<i>Functional Magnetic Resonance Imaging</i>	Ressonância Magnética Funcional
HbO	<i>Oxygenated Hemoglobin</i>	Hemoglobina Oxigenada
HbR	<i>Deoxygenated Hemoglobin</i>	Hemoglobina Desoxigenada
HRF	<i>Hemodynamic Response Function</i>	Curva de Resposta Hemodinâmica
IMS	<i>Intramuscular Stimulation</i>	Estimulação Intramuscular
LTD	<i>Long-term Depression</i>	Depressão de longa duração
LTP	<i>Long-term Potentiation</i>	Potenciação de longa duração
M1	<i>Primary Motor Cortex</i>	Córtex Motor Primário
MC	<i>Motor cortex</i>	Córtex Motor
NAc	<i>Nucleus Accumbens</i>	Núcleo Acumbens
NAE	<i>Accessory Spinal Nerve</i>	Nervo Acessório Espinal
NIBS	<i>Non-invasive Brain Stimulation</i>	Estimulação Cerebral Não-invasiva
NIRS	<i>Near-infrared spectroscopy</i>	Espectroscopia por Infravermelho
NMDA	<i>N-methyl-D-aspartate acid</i>	N-Metil-D-Aspartato
PAG	<i>Periaqueductal Gray</i>	Substância Cinzenta Periaqueductal
PES	<i>Peripheral Electrical Stimulation</i>	Estimulação Elétrica Periférica
PFC	<i>Prefrontal Cortex</i>	Córtex Pré-frontal
PMC	<i>Premotor Cortex</i>	Córtex Pré-motor
RVM	<i>Rostroventral Medulla</i>	Medula Rostroventral
S1/SI	<i>Primary Somatosensory Cortex</i>	Córtex Somatossensorial Primário
S2/SII	<i>Secondary Somatosensory Cortex</i>	Córtex Somatossensorial Secundário
SMA	<i>Supplementary Motor Area</i>	Área Motora Suplementar
SMC	<i>Sensorimotor Cortex</i>	Córtex Sensoriomotor
SSC	<i>Somatosensory Cortex</i>	Córtex Somatossensorial
tDCS	<i>Transcranial Direct Current Stimulation</i>	Estimulação Transcraniana de Corrente Contínua (ETCC)
TMS	<i>Transcranial Magnetic Stimulation</i>	Estimulação Magnética Transcraniana

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada em seis capítulos

Capítulo I – Introdução

Capítulo II – Revisão sistemática da literatura

Capítulo III – Justificativa, mapa conceitual e objetivos

Capítulo IV – Artigo

Capítulo V – Considerações finais e perspectivas

Capítulo VI - Anexos

1. INTRODUÇÃO

A dor é um processo fisiológico inicialmente adaptativo, que pode evoluir para a cronificação, geralmente acompanhada de manifestações sistêmicas, como sintomas depressivos, ansiedade, insônia e alterações funcionais, causando grande impacto individual e social. A dor crônica, que se estende por mais de seis meses a partir do tempo esperado para a resolução do processo, demanda manejo farmacológico e não-farmacológico, que possam contra-regular o processo de neuroplasticidade maladaptativa que permeia a desinibição dos sistemas neuromodulatórios.

A estimulação elétrica dos tecidos é uma ferramenta não-farmacológica promissora no tratamento da dor, na modulação dos processos de neuroplasticidade disfuncional e na reabilitação clínica. O uso terapêutico da eletricidade no controle da dor utilizando peixes elétricos é conhecido desde a Idade Antiga, como mostram registros históricos obtidos através de livros e cerâmicas. Muitos anos se passaram até que cientistas conseguissem armazenar eletricidade e iniciassem pesquisas em animais e seres humanos, utilizando estímulos magnéticos ou elétricos, aplicadas central ou periféricamente. As técnicas aplicadas a nível central mais conhecidas e estudadas são a estimulação magnética transcraniana (TMS) e a estimulação transcraniana de corrente contínua (tDCS), entre outras (Ridding and Ziemann 2010) (Dayan et al. 2013) (Woods et al. 2016) (Brunoni et al. 2012) (Nitsche and Paulus 2000). A cada ano, aumenta exponencialmente o número de pesquisas na área de neuromodulação, o que só foi possível devido ao crescimento do conhecimento sobre os mecanismos da dor, fisiologia da aplicação do estímulo elétrico e respostas neuromodulatórias observadas em estudos experimentais e clínicos.

Na estimulação *top-down*, ou seja, aplicada a nível central com respostas sistêmicas, o conhecimento dos processos fisiológicos está avançando rapidamente.

Inúmeros estudos com estimulação cerebral não-invasiva (NIBS) apontam modificações na excitabilidade cortical em áreas relacionadas ao processamento da dor, geralmente promovendo facilitação com estimulações anódicas e inibição com catódicas, dependendo dos parâmetros utilizados (Medeiros et al. 2012) (Rahman, Lafon, and Bikson 2015) (Pelletier and Cicchetti 2015) (Filmer, Dux, and Mattingley 2014). As áreas corticais em que se encontrou parâmetros fisiológicos e respostas clínicas para justificar o uso das NIBS no tratamento da dor são o córtex motor e o córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC). O embasamento fisiológico carece de respostas claras, porém se imagina que se deva aos circuitos modulatórios interdependentes do córtex somatosensorial com o córtex motor e dos circuitos neuronais entre o DLPFC e o córtex cingulado anterior e outras estruturas límbicas. Atualmente já se sabe que estas relações são bem mais complexas, e que estes circuitos neuromodulatórios agem em diversas expressões clínicas, como atenção, emoção e tomada de decisão (Davis et al. 2017). Clinicamente, a modulação destas duas áreas de interesse, de acordo com o caso do paciente, tem encontrado resultados promissores, principalmente em patologias crônicas que apresentam limitada resposta terapêutica aos fármacos disponíveis. As respostas encontradas com as NIBS também têm ajudado a orientar a pesquisa na área da modulação periférica, com base nos avanços do conhecimento da neurociência.

Na modulação conhecida como *bottom-up*, ou seja, realizada periféricamente, onde a modulação se faz de forma ascendente, parece ocorrer uma reorganização nos circuitos neurais da dor. Os mecanismos postulados para a regulação dos processos neurofisiológicos com estímulos elétricos incluem a desinibição do sistema modulador descendente, liberação de peptídeos e endorfinas a nível central e periférico, melhora no recrutamento motor, efeitos anti-inflamatórios locais, regulação da atividade autonômica e reorganização de circuitos segmentares e centrais. Uma das bases

neurofisiológicas postuladas para estes efeitos é a neuroplasticidade induzida pelos mecanismos de depressão sináptica de longa duração (LTD) e potencialização sináptica de longa duração (LTP) (Sandkühler 2000) (Zhang et al. 2014).

As técnicas neuromodulatórias que aplicam eletricidade a nível periférico são muitas, utilizam várias nomenclaturas, metodologias e configurações elétricas como frequência e tipos de corrente muito diversos, tornando difícil a padronização de protocolos para aplicação clínica. A maioria utiliza somente eletrodos aplicados à pele (estímulo transcutâneo), enquanto alguns utilizam agulhas que perfuram a pele (estímulo percutâneo), o que do ponto de vista eletrofisiológico parece estimular alvos diversos e provocar respostas diferentes. A eletroestimulação intramuscular (IMS) e a eletroacupuntura (EA) parecem abranger o mesmo tipo de estímulo, segundo a literatura. Neste estudo, optou-se por utilizar o termo eletroestimulação periférica (PES), por ser mais abrangente, diferenciar da estimulação central e ser facilmente referido à modulação *bottom-up*. Idealmente o termo deve ser complementado com a forma do estímulo utilizado, como a percutânea, como é o caso da EA, e da indicação da estrutura anatômica alvo, como a IMS (Chipchase, Schabrun, and Hodges 2011) (Kim et al. 2012).

Para ajudar a esclarecer os mecanismos de como os estímulos centrais e periféricos podem modular as vias nociceptivas a nível central, muitos estudos utilizam instrumentos que avaliam a atividade elétrica cerebral, como o TMS diagnóstico e o eletroencefalograma (EEG), enquanto outros avaliam modificações hemodinâmicas em resposta a um aumento da atividade neural frente a uma demanda aumentada, como a ressonância magnética funcional (fMRI) e a espectroscopia por infravermelho próximo funcional (fNIRS). O fNIRS é um método de espectroscopia óptica funcional de neuroimagem utilizado para monitorar a função cortical. A atividade cerebral produz

aumento do consumo de oxigênio, que é acompanhado por aumento do fluxo sanguíneo cerebral devido ao acoplamento neurovascular, de forma muito rápida. Isto se reflete em alterações nas medidas de hemoglobina oxigenada (HbO) e hemoglobina desoxigenada (HbR) na região observada, que pode ser detectado de forma não invasiva pelo fNIRS (Scholkmann et al. 2014). A técnica utiliza-se de luz infravermelha, que atinge o couro cabeludo e atravessa os tecidos, sofrendo difração óptica, que é captada pelos detectores e transformada em sinais elétricos processados pelo software. Isso possibilita a medida de alterações na oxigenação sanguínea, uma vez que a oxi-hemoglobina se converte em desoxi-hemoglobina durante a atividade neural, refletindo a resposta hemodinâmica cerebral. O fNIRS utiliza comprimentos de onda específicos de luz para fornecer medições de hemoglobina cerebral oxigenada e desoxigenada, as quais correlacionam-se com o sinal dependente do nível de oxigênio no sangue (blood-oxygen-level dependent – BOLD) usado para formar as imagens na fMRI (Phillips et al. 2016) (Ferrari and Quaresima 2012).

Este estudo foi delineado com o objetivo de testar um racional fisiológico que embase a utilização de uma intervenção simples e acessível como ferramenta neuromodulatória *bottom-up*, com possível aplicabilidade em diversas patologias e disfunções, principalmente no tratamento não-farmacológico da dor. Muitas intervenções não invasivas em alvos periféricos têm sido utilizados com estes objetivos, como as estimulações do nervo vago via transcutânea cervical e auricular (Frangos, Ellrich, and Komisaruk 2015) (Yakunina, Kim, and Nam 2017) (Frangos and Komisaruk 2016) nervo occipital maior (Son, Kim, and Lee 2013) (Rigo, Couto, and Dalla-Corte 2014), e ramos trigeminais (Chou et al. 2017) (Waki et al. 2017). A eletroestimulação do nervo acessório pode ser outra via neuromodulatória periférica ainda não explorada. O nervo acessório espinal é o décimo-primeiro par craniano,

facilmente acessado no seu trajeto subcutâneo no triângulo posterior do pescoço. Apresenta características de nervo misto, formado por raízes craniais e cervicais altas, com inter-relações íntimas com o nervo vago e o gânglio estrelado, o que suscita muitas perguntas sobre sua possível ação sistêmica (Mitsuoka, Kikutani, and Sato 2017) (Benninger and McNeil 2010) (Gillig and Sanders 2010). Por ser responsável pela inervação motora dos músculos esternocleidomastoideo e trapézio, responsáveis pelos movimentos da cabeça e do pescoço e intimamente ligados às respostas de atenção e vigília junto com a visão e a audição, parece estar relacionado com estados de stress e hiperatividade simpática, podendo influir na gênese e manutenção dos quadros dolorosos miofasciais (Srbely 2010) (Ge, Fernández-de-las-Peñas, and Arendt-Nielsen 2006).

Com base nestes conceitos, testou-se a hipótese de que a estimulação elétrica periférica (PES) do nervo acessório espinal possa promover ativação cortical pela via *bottom-up* nos principais circuitos corticais de processamento da dor modulados pela via *top-down* com tDCS ou TMS, ou seja, nos córtices motores e dorsolaterais pré-frontais.

Clinicamente, os resultados poderão embasar novas pesquisas na área para o uso da técnica em pacientes que apresentem dor crônica, síndrome dolorosa miofascial (SDM) e outros sintomas relacionados à desregulação do sistema autonômico, como stress, ansiedade e outros sintomas disfuncionais.

Esta dissertação foi estruturada e apresentada de acordo com o modelo preconizado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O artigo resultante desta dissertação está apresentado de acordo com as normas do periódico de submissão – *Neuroimage (Elsevier)* – fator de impacto 6.94.

2. REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA

2.1. Estratégia para localizar e selecionar as informações

A revisão da literatura foi focada nos efeitos da estimulação elétrica periférica de nervos e músculos a nível central, procurando informações sobre inter-relações destes estímulos periféricos com a ativação de áreas corticais, utilizando parâmetros de perfusão cerebral avaliados através de espectroscopia por infravermelho. Incluiu-se também outros exames de imagem, nervos periféricos e estudos em dor crônica, para aumentar a abrangência do entendimento da fisiologia da resposta à neuroestimulação periférica. Foi pesquisada as bases de dados PUBMED, EMBASE, SCIELO e CAPES, com atualização da pesquisa em 10 de novembro de 2017, sem restrição ao ano de publicação. A Figura 1 apresenta o resultado encontrado. As palavras-chave foram: *Peripheral Nerve Stimulation* (PNS), *Electrical Nerve Stimulation* (ENS), *Electroacupuncture* (EAc), *Cortical Activation* (CA), *Cortical Excitability* (CE), *Near infrared spectroscopy* (NIRS), *Accessory Spinal Nerve* (ASN).

Para o termo *Peripheral Nerve Stimulation* foram encontrados: PUBMED 48.207 artigos; EMBASE 23.484 artigos; SCIELO 38 artigos; CAPES 162.340 artigos.

Para *Electrical Nerve Stimulation*: PUBMED 21.729; EMBASE 40.486; SCIELO 134; CAPES 142.552 artigos.

Para *Electroacupuncture*: PUBMED 4.385; EMBASE 6.245; SCIELO 40; CAPES 8.287 artigos.

Para *Cortical Activation*: PUBMED 64.061; EMBASE 3.447; SCIELO 58; CAPES 307.002 artigos.

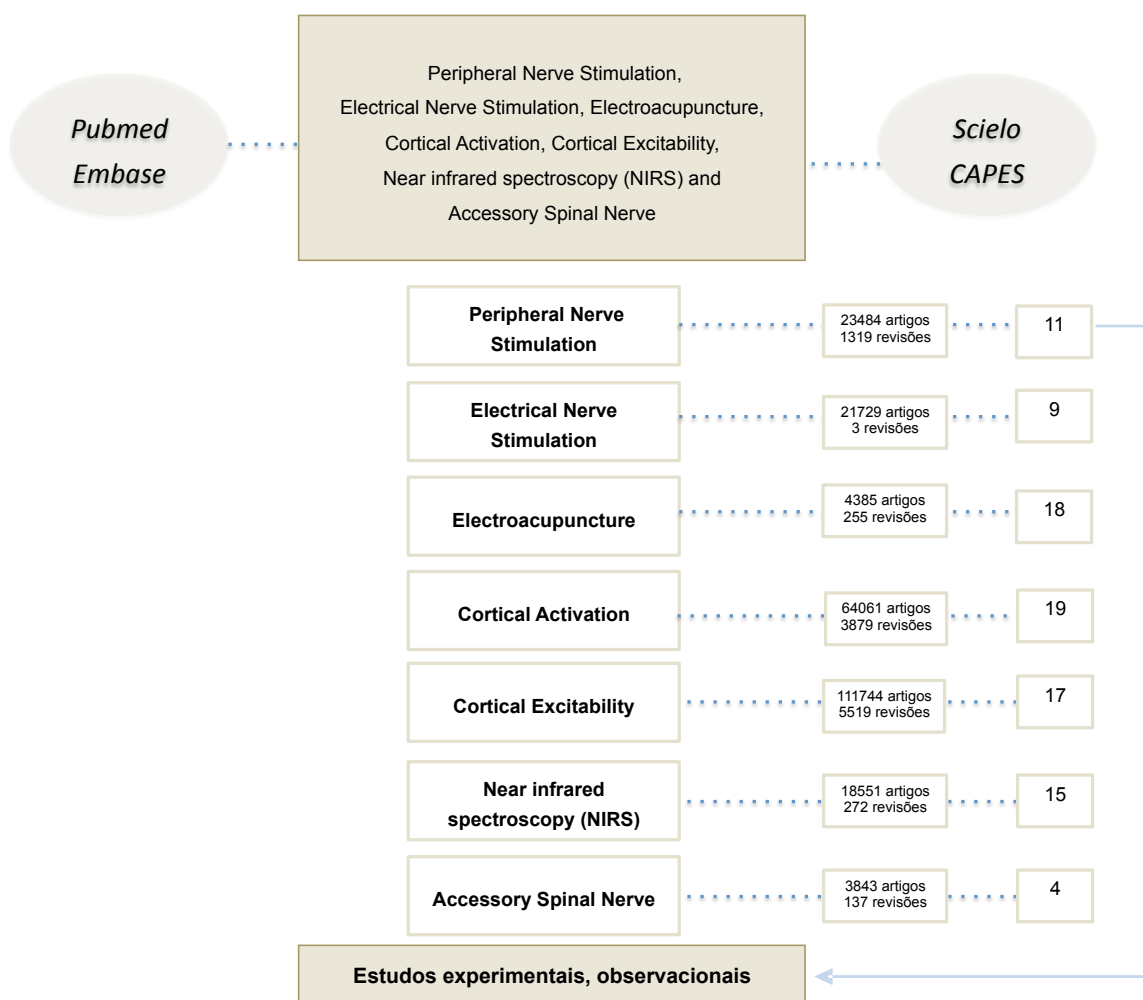
Para *Cortical Excitability*: PUBMED 111.744; EMBASE 3.992; SCIELO 15; CAPES 59.142 artigos.

Para *Near infrared spectroscopy*: PUBMED; EMBASE 18.551; SCIELO 178; CAPES 224.203 artigos.

Para *Accessory Spinal Nerve*: PUBMED 3.843; EMBASE 2.241; SCIELO 51; CAPES 36.874 artigos.

Combinando os termos, temos o seguinte fluxograma (Figura 1):

Figura 1 – Estratégia de busca da informação



2.2. Revisão da literatura

Para testar a hipótese de que a estimulação elétrica periférica (PES) do nervo acessório espinal possa promover ativação dos córtices motores e dorsolaterais pré-frontais pela via *bottom-up*, foi feita a revisão da literatura de vários tópicos relacionados. Artigos sobre o nervo acessório geralmente contêm poucas informações sobre seu possível uso como alvo terapêutico e até onde se saiba não há registro de publicações que avaliem sua interferência na atividade cerebral. Portanto, foram revisadas questões pertinentes à eletroestimulação periférica e eletroacupuntura, estudos em eletroestimulação periférica, anatomia do nervo acessório espinal, funções corticais relacionadas ao processamento da dor e espectroscopia por infravermelho e neuroimagem.

Eletroestimulação periférica e eletroacupuntura

A eletroestimulação periférica (PES) parece ser o termo que melhor adequa-se para descrever a intervenção neuromodulatória elétrica sobre tecidos periféricos, tanto os realizados sobre nervos ou intramusculares, utilizando eletrodos ou agulhas, diferindo das técnicas neuromodulatórias centrais (NIBS) e medulares invasivas. Porém, não há consenso sobre a nomenclatura na literatura (Chipchase, Schabrun, and Hodges 2011) (Chakravarthy et al. 2016) (Rossini et al. 2015), sendo necessário que seja feito um esforço da comunidade científica no sentido de padronizar os termos e normatizar protocolos de estimulação. As técnicas neuromodulatórias periféricas não-invasivas utilizam diferentes metodologias e configurações elétricas como frequência e tipos de corrente, tornando difícil a padronização de protocolos para aplicação clínica. Algumas denominações utilizadas são: neuroestimulação elétrica transcutânea (TENS), eletroestimulação intramuscular (IMS), eletroestimulação muscular (EMS),

eletroestimulação nervosa ou de nervos (ENS), estimulação nervosa periférica (PNS), eletroestimulação periférica (PES), eletroestimulação neuromuscular (NMES) e eletroacupuntura (EA). A maioria utiliza somente eletrodos aplicados à pele (estímulo transcutâneo), enquanto alguns utilizam agulhas que perfuram a pele (estímulo percutâneo), o que do ponto de vista eletrofisiológico parece estimular alvos diversos e provocar respostas diferentes. A IMS e a EA parecem abranger o mesmo tipo de estímulo, segundo a literatura (Kim et al. 2012).

O uso de agulhas que perfuram a pele em determinados sítios anatômicos com objetivos terapêuticos, conhecido como acupuntura, tem sido usada há pelo menos três milênios, criada com base em conceitos energéticos e filosóficos na China antiga. Apesar de ser a técnica não farmacológica mais antiga que se tem notícia e de apresentar resultados individuais positivos que suportam seu uso por tanto tempo, os resultados das pesquisas em acupuntura são conflitantes (Madsen 2009) (Langhorst et al. 2010) (Sun and Gan 2008). Geralmente os estudos apresentam limitado rigor científico, muitas vezes demonstrando resultados que variam de acordo com a comunidade científica em que foram feitos. Problemas como a falta de padronização de procedimentos, prescrições de aplicação das agulhas conforme o diagnóstico individualizado e executor-dependente, aliados à dificuldade de se determinar um procedimento *sham* adequado, torna a pesquisa mais desafiadora. Com a introdução dos estímulos elétricos ao procedimento de agulhamento, conhecido como Eletroacupuntura (EA), a pesquisa e a reprodutibilidade clínica se desenvolveram rapidamente. Parece haver uma somação de respostas fisiológicas com o procedimento de agulhamento e da aplicação de corrente elétrica nestes tecidos. Embora a EA não defina um único tipo ou modo de estimulação, na maior parte das vezes se refere à utilização de eletricidade sobre agulhas colocadas em pontos de acupuntura clássicos. Atualmente, a EA está

despertando maior interesse no meio científico, utilizando critérios fisiológicos anatômicos e funcionais no tratamento da dor, alterações clínicas disfuncionais e reabilitação neuromuscular de diversas patologias prevalentes e relevantes clinicamente, como dores miofasciais, cefaleia, dor neuropática e distúrbios autonômicos. Primeiramente descrita por Gunn, a eletroestimulação neuromuscular periférica com agulhas de acupuntura ou Estimulação Intramuscular (IMS) foi proposta para o tratamento da dor miofascial com manifestações distróficas, isto é, com sinais de comprometimento de fibras nervosas autonômicas ou radiculares. A IMS estimula os pontos motores ou troncos nervosos dos músculos acometidos, além dos pontos-gatilho miofasciais e a musculatura paravertebral do segmento da coluna que origina a raiz nervosa responsável pela área da disfunção (Chan Gunn 1997) (Gunn and Wall 1996) (Couto et al. 2014). Presume-se que esta modalidade de estímulo periférico provoque modulação da atividade neurológica, diminuição da atividade simpática periférica e central, diminuição dos sinais nociceptivos no corno dorsal, recuperação da inibição motora local e ativação da via descendente inibitória da dor. Alguns autores têm preconizado diferenciá-la com o nome de Acupuntura Neurofuncional, como está sendo utilizada no Canadá, em Portugal e no Brasil (mcmasteracupuncture.com/neurofunctional-acupuncture/; www.spma.pt/curso-de-pos-graduacao-de-acupuntura-contemporanea-da-ecsum/; www.acuneuro.com.br/site/pt/acupuntura-neurofuncional).

Pelas suas características, não há um procedimento *sham* adequado para o agulhamento. Agulhar qualquer parte do corpo pode induzir certo grau de efeito modulatório que se expressa em algum nível de benefício ao paciente. Foi demonstrado que o toque suave da pele estimula mecanorreceptores acoplados a fibras aferentes C não-mielinizadas que estimulam o córtex insular, responsável pelo componente afetivo da dor, resultando em reações hormonais e emocionais. Estas fibras C não são capazes

de estimular o córtex somatosensorial, responsável pelo componente sensório-discriminativo, resultando que o toque suave da pele não é capaz de diminuir a dor com componente sensorial predominante, como na osteoartrite. Concluiu-se que a estimulação com agulhamento de qualquer ponto da pele possa ter efeitos benéficos sobre o componente afetivo da dor, que é o predominante em muitas situações clínicas, como cefaleia e dor lombar crônica (Lund and Lundeberg 2006) (Lund, Näslund, and Lundeberg 2009) (Näslund et al. 2011).

Os mecanismos de ação do agulhamento sobre os sistemas de regulação da dor iniciam-se pelo estímulo de fibras nervosas (nociceptores) amielínicas e fracamente mielinizadas (fibras C e A δ), podendo incluir também o estímulo de fibras tipo A β (fibras mielinizadas de grosso calibre, responsáveis pelos estímulos táteis). Estas fibras ativam neurônios da substância gelatinosa do corno dorsal da medula espinal, ascendendo para centros neurológicos específicos, estimulando a liberação de neurotransmissores que bloqueiam a transmissão do estímulo doloroso, como os opióides endógenos (endorfinas), provavelmente através do aumento da expressão gênica de neuropeptídeos no SNC. Han et al. estudou a secreção de diferentes tipos de endorfinas com a estimulação de baixa frequência, 10 Hz (principalmente β -endorfina) e alta frequência, 100 Hz (principalmente dinorfina), produzindo analgesia de longa duração com baixas frequências e analgesia mais intensa, porém breve, com altas frequências (Han 2003). Para analgesia de longa duração na dor inflamatória 10 Hz é melhor que 100 Hz; a alodinia/hiperalgesia causada por dano nervoso é mais proeminente com 2 a 10 Hz do que com 100 Hz. Além de opióides endógenos, outros neurotransmissores e citocinas, como serotonina, norepinefrina, glutamato e moléculas sinalizadoras estão implicadas com o aumento da circulação local e demais efeitos periféricos, espinais e supraespinais da EA (Zhang et al. 2014).

Entre os eventos segmentares estão a regulação da inibição proprioespinal e a reversão da potencialização de longa duração (LTP) para depressão de longa duração (LTD), com redução da sensibilização central e inibição simpática, com aumento da circulação segmentar. A LTP e LTD são mecanismos de plasticidade neuronal observados em conexões neuronais excitatórias, ao nível das sinapses. Alguns estudos demonstram que a ação da acupuntura na transformação de LTP em LTD depende da técnica utilizada (Sandkühler 2000). Por exemplo, foi encontrado indução de depressão do potencial motor evocado (MEP) no córtex motor com estímulo de 3 Hz bi-direcional por PES e TMS, correlacionado com o mecanismo de LTD, e facilitação do MEP com 30 Hz, correlacionado com LTP (Pitcher, Ridding, and Miles 2003). Embora as modalidades utilizadas em EA possam induzir efeitos nas vias de condução e processamento da dor, diferentes formas de aplicar as técnicas parecem provocar efeitos centrais diversos, como demonstrado pela Ressonância Magnética Funcional - fMRI (Jiang et al. 2013).

A nível central, observa-se inibição simpática sistêmica, redução dos níveis de hormônios relacionados à resposta ao estresse, adrenalina e cortisona no plasma, além de uma possível ação da ocitocina na indução da elevação dos limiares de dor em longo prazo e efeitos antiestresse. Várias estruturas do trato descendente inibitório da dor, tais como hipotálamo, núcleo acumbens, núcleo ambíguo, substância cinzenta periaquedutal, núcleo da rafe e sistema límbico estão envolvidos nos mecanismos analgésicos da Ac/EA (Zyloney et al. 2010). Zunhammer et al. demonstrou que em indivíduos saudáveis o agulhamento elevou o limiar motor, ou seja, provocou efeito inibitório específico na excitabilidade cortical (Zunhammer et al. 2012). O envolvimento cortical na resposta ao agulhamento sem estímulo elétrico foi demonstrado também por meio da fMRI em meta-análise conduzida por Chae et al., na

qual observou-se um padrão de ativação comum do córtex sensoriomotor, além de desativação na rede límbica-paralímbica-neocortical (Chae et al. 2013). Síndrome do túnel do carpo tratado com EA provocou desativação do córtex sensoriomotor após 5 semanas de tratamento (Napadow et al. 2007).

Yang et al. encontrou respostas neuronais talâmicas e corticais dependentes da frequência (1 – 100 Hz) a estimulação periférica. Os autores postulam que circuitos neuronais distintos respondem de maneira diversa a frequências diferentes na dependência da sua atividade de base, ou seja, das suas propriedades elétricas intrínsecas. Estes circuitos enviam sinais a outras áreas, influenciando a função de outros circuitos (Yang et al. 2005).

Em estudo recente conduzido por Tarragó et al. foi demonstrado que a estimulação elétrica paravertebral e em grupos musculares ou músculos que sustentam a articulação do joelho induziu mudança em parâmetros de excitabilidade cortical e no sistema descendente de dor em pacientes com osteoartrite severa (Tarragó et al. 2016).

Estudos com eletroestimulação periférica

A maior parte da bibliografia disponível em relação à ativação cortical induzida por PNS ou ENS encontra estudos com estimulações elétricas do nervo mediano através de eletrodos, avaliados por fNIRS ou fMRI. Alguns utilizavam estímulos dolorosos, outros, subliminares que não produziam contrações musculares, outros ainda que objetivaram alcançar o limiar motor de disparo muscular. Diferentes configurações elétricas foram utilizadas, desde frequência à duração do estímulo, aplicadas uni ou bilateralmente. A resposta mais constante é a da ativação do córtex somatosensorial contralateral ao estímulo elétrico sobre o nervo mediano com eletrodos. A tabela abaixo resume as principais diferenças e achados destes estudos:

Tabela 1 – Resumo dos principais estudos com eletroestimulação periférica

Autor	PES	instrumentos	ativação/desativação	OBS
(Aasted et al. 2016)	mão (polegar) doloroso	fNIRS 5 Hz	desativação em partes do córtex frontal	medida de intensidade de dor
(Yücel et al. 2015)	mão (polegar) inócuo e doloroso	fNIRS 5Hz	ativação inócuo: SI contralateral doloroso: SI bilateral	padrões diferentes para estímulo tátil e doloroso
(Jang et al. 2014)	ms. antebraço indolor	fNIRS 35 Hz eletrodo	desativação na área somatotópica da mão	medidas antes e depois da estimulação
Re, 2013 in (Hu et al. 2014)	ms. antebraço unilateral doloroso	fNIRS 30 Hz eletrodo	ativação contralateral sensoriomotora	dependente da intensidade do estímulo
(Blickenstorfer et al. 2009)	ms. antebraço limiar motor não-doloroso	fMRI 20 Hz eletrodo	ativação bilateral SMA, ACC, SII e PMC	ativação ipsilateral insula e tálamo
(Lino Becerra et al. 2009)	face indolor	Tomografia por difusão óptica	inócuo: ativação contralateral doloroso: bilateral	inócuo: onda monofásica doloroso: bifásica
(Takeuchi et al. 2009)	n. mediano unilateral	fNIRS e EEG 10 Hz	ativação contralateral somatosensorial	dependente da intensidade do estímulo e frequência
(L. Becerra et al. 2008)	mão estímulo tátil e calor doloroso	Tomografia por difusão óptica	ativação contralateral (estímulo indolor) bilateral (doloroso)	padrões diferentes para estímulo tátil e doloroso
(Niederhauer et al. 2008)	n. mediano indolor	fNIRS 100 Hz eletrodo	ativação contralateral somatosensorial	tendência à desativação no ipsilateral
(Franceschini et al. 2003)	n. mediano	4-5 Hz	ativação contralateral somatosensorial	menor resposta ipsilateral
(Masato Tanosaki et al. 2003)	n. mediano unilateral indolor	fNIRS 20 Hz	ativação contralateral somatosensorial (medida somente à esquerda)	abaixo limiar motor, dependente da intensidade do estímulo
(M Tanosaki et al. 2001)	n. mediano	fNIRS 2 Hz	ativação parcial S2	maior resposta contralateral

Anatomia do nervo acessório espinal

A função mais conhecida do décimo-primeiro par craniano (XI), ou nervo acessório espinal (NAE), é inervar os músculos trapézio e esternocleidomastoideo (ECM). Alguns autores postulam que o ECM seja inervado somente pelo NAE, enquanto o trapézio receberia ramos auxiliares do plexo cervical e inervação dermatômica torácica nas suas porções mais baixas. O NAE possui características especiais, pois é formado por dois componentes, um craniano ou interno e outro espinal ou externo. A parte craniana é constituída de fibras eferentes viscerais que se originam de células da região inferior do núcleo ambíguo (Benninger and McNeil 2010) (Gillig and Sanders 2010). A parte espinal ou externa tem suas fibras originadas nas células motoras eferentes viscerais nos núcleos no corno espinal anterior de C1 a C5 ou C6. A parte craniana emerge do bulbo lateral em radículas, segue até o forame jugular para se unir à raiz espinal e formar o tronco do XI nervo, que então faz um trajeto sinuoso, penetra no crânio pelo forame magno, curva-se e sai do crânio lateralmente pelo forame jugular, junto do IX e X nervos (Shoja et al. 2014) (Liu et al. 2014). Ao nível do forame jugular, a raiz craniana do nervo acessório está conectada ao nervo vago, principalmente ao seu gânglio jugular superior, via ramo interno do *pars vagalis*. Estas conexões são às vezes descritas como anastomoses de Lobstein. O NAE também contribui para formar o nervo recorrente laríngeo, que inerva os músculos intrínsecos da laringe, faringe e palato. Fornece ramos para o gânglio estrelado (Mitsuoka, Kikutani, and Sato 2017), que é formado pelos gânglios cervical inferior e primeiro torácico, juntamente com os ramos que vem dos nervos cervicais. O NAE superficializa-se entre a borda posterior do músculo esternocleidomastoideo e a borda superior e anterior do trapézio, apresentando trajeto subcutâneo descendente na região cervical lateral, no triângulo conhecido como cervical posterior. Desta maneira, se

constitui no nervo craniano com componente espinhal de mais fácil acesso para abordagem modulatória, possivelmente estimulando vias sensório-motoras e o sistema autonômico, principalmente através de suas anastomoses e correlações com o gânglio estrelado e com o tronco do nervo vago. Apesar do acima exposto, ainda há muita controvérsia sobre a composição anatômica do NAE. Acredita-se que exista grande variabilidade anatômica interindividual, onde em alguns casos anastomoses importantes com o nervo vago e glossofaríngeo tenham efeito clínico exuberante e em outros, o NAE seja formado predominantemente por ramos motores.

De qualquer forma, raízes cervicais altas são altamente modulatórias, sendo usadas para inúmeras condições clínicas, como cefaleias e cervicalgias. A modulação proprioceptiva e de contra regulação motora fornecida pelos fusos musculares, está em íntima correlação com a atenção, movimentos oculares e preparo do sistema simpático para possíveis ameaças. Movimentos involuntários reflexos, como virar a cabeça em direção a um ruído, necessitam de recrutamento motor do ECM. Em situações da vida cotidiana, a realização de tarefas diárias, convivência com situações de stress psicológico e luta pela sobrevivência, passam pela compreensão da integração destes sistemas.

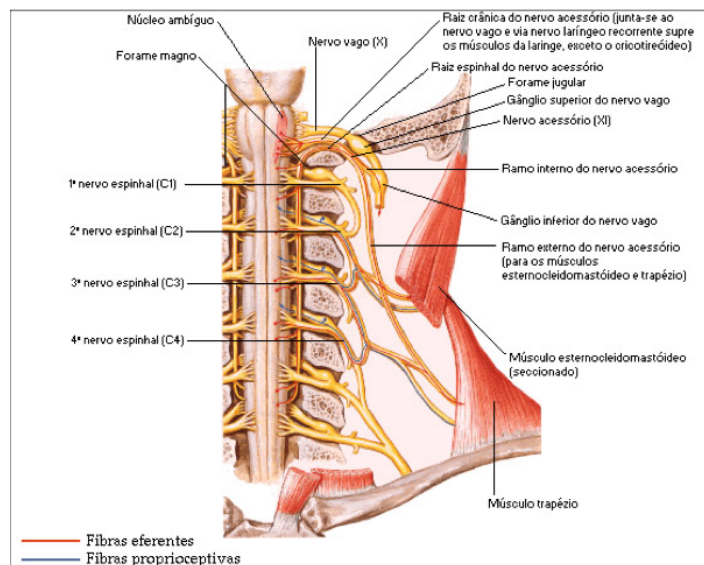


Figura 2 – Décimo e décimo primeiro par craniano e raízes cervicais, segundo Netter.

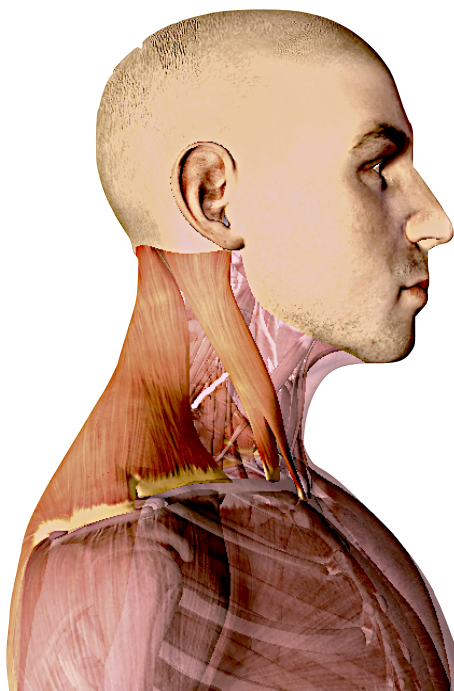


Figura 3 – Trajeto do nervo acessório espinal no triângulo cervical posterior (Essential Anatomy 5)

Funções corticais relacionadas ao processamento da dor e neuromodulação

Com base na teoria da matriz da dor de Melzack (Melzack 2001) e considerando os processos integrados de atividades somatosensoriais, cognitivas e afetivas, as três esferas de manifestação da experiência de dor – sensorio-discriminativa, afetiva-motivacional e cognitiva-comportamental – passam pelo conhecimento das funções e estruturas neuronais envolvidas que culminam nestas manifestações. Atualmente, um quarto item tem sido ressaltado pelos pesquisadores, que são as manifestações sociais advindas da experiência dolorosa.

O córtex motor primário (M1) modula a ação dos neurônios motores e interneurônios do tronco e da medula espinhal, e parece ser um importante centro cortical de controle modulatório da dor. Na lâmina V do M1 encontram-se as células de Betz, que são neurônios motores gigantopiramidais (soma atinge 100 µm de altura), que fazem projeções formando os tratos córtico-bulbar (núcleos motores de nervos cranianos do tronco, formação reticular e núcleo rubro) e córtico-espinhal, projetando-se para o corno anterior da medula espinhal.

A estimulação elétrica não-invasiva do córtex motor promove efeito analgésico mais significativo do que a estimulação de outras estruturas do cérebro. O objetivo, ao aplicar a estimulação anódica em M1, prescrição mais comum para analgesia e tratamento de dor crônica, é a de aumentar a excitabilidade da área, provocando estímulo modulatório sobre os circuitos intracorticais, talâmicos e vias descendentes. Áreas corticais como o córtex cingulado anterior (ACC), córtex insular (IC), córtex somatosensorial primário (SSI), córtex somatosensorial secundário (SSII) e córtex pré-frontal (PFC) estão implicados na reorganização dos sistemas, assim como áreas infracorticais, principalmente as relacionadas ao sistema modulador descendente como

a substância cinzenta periaquedutal (PAG), medula rostroventral (RVM) e o estriado. A longo prazo, os processos de LTP e LTD sinápticos promovem a mudança na “memória da dor” (Davis et al. 2017). Alguns autores acreditam que a plasticidade maladaptativa do M1 possa contribuir com a cronificação da dor, pois encontraram aumento da excitabilidade cortical em pacientes com síndromes de dor crônica, e que a boa resposta clínica encontrada com sua estimulação seja devida à reorganização da atividade cortical desta área (Castillo Saavedra, Mendonca, and Fregni 2014). Associação do aumento da excitabilidade cortical em M1 esquerdo com redução clínica da dor foram sugeridos, mas mais estudos são necessários para definir se esta associação é causal (Ngernyam et al. 2015).

Por causa da sua proximidade anatômica e sua inter-funcionalidade na coordenação dos sistemas motor e sensitivo das aferências periféricas, o córtex S1 e M1 são chamados de córtex sensoriomotor (SMC).

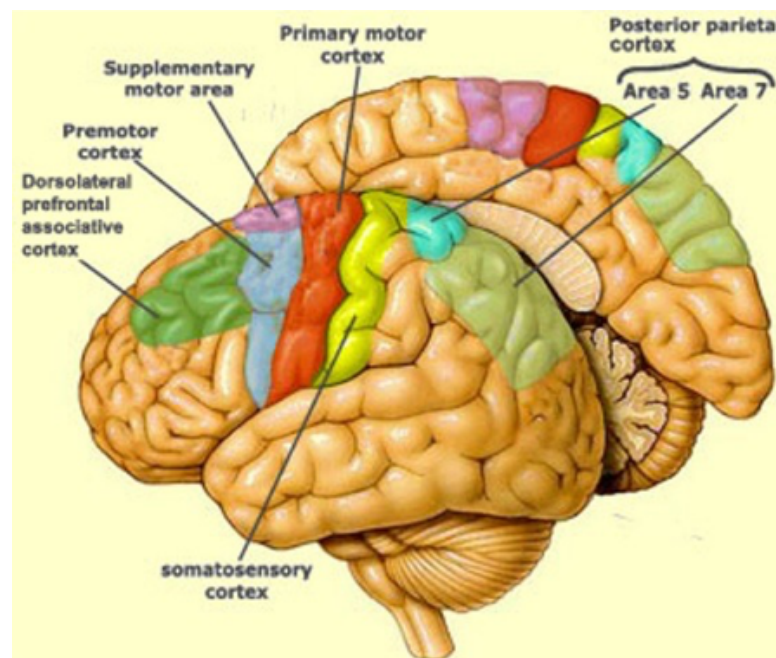


Figura 4 – Áreas M1, S1, PMC, SMA e DLPFC (imagem da web)

O córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) tem ação sobre o sistema modulatório da dor de forma bem mais complexa. Está relacionado às demais regiões do PFC e com o ACC, amígdala, tálamo, PAG e gânglios basais, e relaciona-se ao aspecto afetivo-motivacional e cognitivo-comportamental da dor. O DLPFC (áreas de Brodmann 9 e 46) está relacionado a complexos processos de controle cognitivo, comportamento adaptativo, memória operacional e realização de tarefas, em conjunto com o córtex pré-motor e parietal posterior (Lorenz, Minoshima, and Casey 2003) (Cieslik et al. 2013).

As inter-relações entre o córtex motor e DLPFC podem se dar de várias formas. Por exemplo, NIBS sobre o córtex motor pode aumentar a atividade de neurônios inibitórios do DLPFC e ACC, ligados direta ou indiretamente em diferentes circuitos (Cieslik et al. 2013). Esta é a base para o novo “paradigma” do processamento neural, o conectoma cerebral dinâmico (*dynamic brain connectome*) (Figura 4) (Davis et al. 2017).

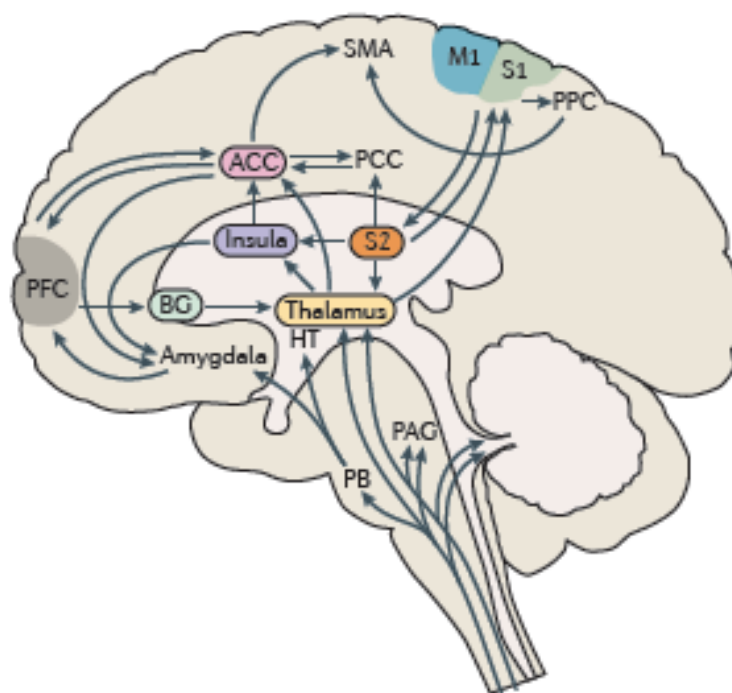


Figura 5 – Inter-relações dos circuitos neuronais de processamento da dor (Davis, 2017)

As interações destas áreas com o tálamo, a grande “estação” de processamento e redirecionamento das informações aferentes e eferentes, são fundamentais para a compreensão da fisiologia neural.

A via sensorio-discriminativa está relacionada às aferências dos neurônios de ampla variação dinâmica (WDR) da lamina V do corno dorsal da medula, até o tálamo ventrobasal lateral, de onde sobe até o córtex somatosensorial. A via que sai da lamina I do corno dorsal da medula até o tálamo ventrobasal mediodorsal faz conexão com o córtex cingulado anterior, sendo portanto considerada relacionada ao aspecto afetivo-motivacional da dor (Yaksh and Luo 2006) (Sankarasubramanian et al. 2017).

Neuroimagem e a espectroscopia por infravermelho funcional (fNIRS)

O recente avanço nas técnicas de neuroimagem funcional permitiu alavancar os conhecimentos em neurociências, ajudando a compreender a fisiologia e aspectos da fisiopatologia da dor. Os achados de neuroimagem e sua relação com o nível de dor e sintomas comportamentais indicam que estas medidas podem ser úteis como marcadores de gravidade e como parâmetros para medir respostas aos tratamentos. Na abordagem funcional, a imagem pode ser adquirida em estado de repouso (medida de referência), em paradigmas como a *Default Mode Network* (DMN) (Boissoneault et al. 2017) (Davis et al. 2017), durante tarefas simples como testes com movimentos alternados dos dedos (*finger tapping*) ou enquanto o sujeito recebe um estímulo e executa uma determinada tarefa cognitiva. Alguns instrumentos avaliam a atividade elétrica cerebral de maneira direta, como o TMS diagnóstico através do *motor evoked potential* (MEP) e demais parâmetros e o eletroencefalograma (EEG), enquanto outros medem a atividade metabólica através da resposta hemodinâmica cerebral, que de forma indireta reflete o aumento da atividade elétrica neuronal, como a ressonância magnética

funcional (fMRI) e a espectroscopia por infravermelho próximo funcional (fNIRS). Outros instrumentos avaliativos como a tomografia por emissão de pósitrons (PET), a tomografia por difusão óptica (DOT) e a magnetoencefalografia (MEG) também são utilizados em vários estudos com o mesmo objetivo.

A espectroscopia por infravermelho próximo é um instrumento de avaliação que mede concentrações de um composto em uma amostra, com base no seu espectro de absorção da luz infravermelha (ou próxima da infravermelha) do espectro eletromagnético, emitida pelo aparelho. Foi descoberta por Sir. Isaac Newton no século XVII e utilizada por Herschel para desenvolver um aparato utilizando um prisma de vidro. Os cálculos das concentrações das substâncias são feitos baseados na Lei de Beer-Lambert, e no caso da avaliação de tecidos biológicos, formados por substâncias que refletem e dispersam a luz de formas diversas, a Lei de Beer-Lambert modificada. A espectroscopia é utilizada em várias áreas do conhecimento, principalmente em análises clínicas. Seu uso médico ficou mais conhecido pela capacidade de calcular concentrações relativas de hemoglobina oxigenada e desoxigenada, em vários tipos de tecidos animais e humanos (Tak and Ye 2014).

O fNIRS é um método de espectroscopia óptica funcional de neuroimagem utilizado para monitorar a função cortical em tempo real, através do cálculo das concentrações de hemoglobina oxigenada (HbO), hemoglobina desoxigenada (HbR) e hemoglobina total (Total-Hb). A atividade cerebral produz aumento do consumo de oxigênio, que é acompanhado por aumento do fluxo sanguíneo cerebral devido ao acoplamento neurovascular, de forma muito rápida, seguida de uma resposta mais lenta de retorno à atividade basal. Esta resposta é conhecida como BOLD (*blood oxygen level dependent*), ou seja, dependente de nível de oxigênio sanguíneo. Isto se reflete em

alterações nas medidas de HbO e HbR na região observada, que pode ser detectado de forma não invasiva pelo fNIRS (Ferrari and Quaresima 2012).

O aparelho de espectroscopia possui emissores e detectores que são acoplados ao escalpo. Existem vários modelos que utilizam comprimentos de onda próxima do infravermelho, seguras e não-invasivas, geralmente entre 650 e 950 nm. Com base em modelos ópticos, pode-se calcular as concentrações relativas de HbO com a Lei de Beer-Lambert modificada, geralmente realizada por um software (Scholkmann et al. 2014). A luz atinge o couro cabeludo e atravessa os tecidos, sofrendo difração óptica, que é captada pelos detectores e transformada em sinais elétricos processados pelo software. Isso possibilita a medida de alterações na oxigenação sanguínea, uma vez que a oxi-hemoglobina se converte em desoxi-hemoglobina durante a atividade neural, refletindo a resposta hemodinâmica cerebral. A luz infravermelha próxima não sofre dispersão significativa das camadas dérmicas e ósseas, penetrando em formato elíptico “*banana shape*” até cerca de 2 cm de profundidade, entre um optodo emissor e um optodo detector, formando canais de leitura (Naseer and Hong 2015). Estes canais podem ser correlacionados às áreas do EEG e aos giros corticais, áreas de Brodmann ou outro método de resolução espacial cerebral (<http://support.nirx.de/>). A Figura 6 apresenta exemplos de montagens de canais de leitura formado por pares de emissores e detectores, a penetração da luz em formato elíptico e registros típicos da atividade que a tecnologia proporciona; a Figura 7 mostra fotos do equipamento, registro dos dados durante a aquisição, touca com optodos e representações gráficas dos resultados gerados pelo software.

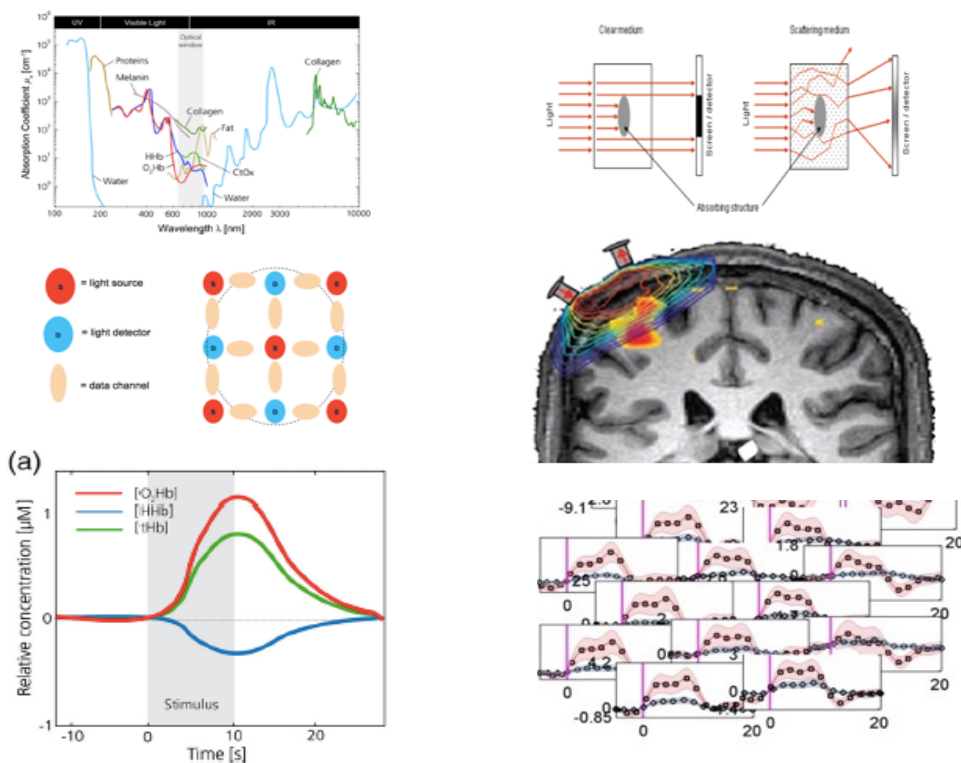


Figura 6 – Exemplos de refração óptica, montagens de canais de leitura formado por pares de emissores e detectores, a penetração da luz em formato elíptico e registros típicos da hemodinâmica cortical. Dados adaptados de Scholkmann, 2014, página www.support.nirx.de e arquivo próprio.

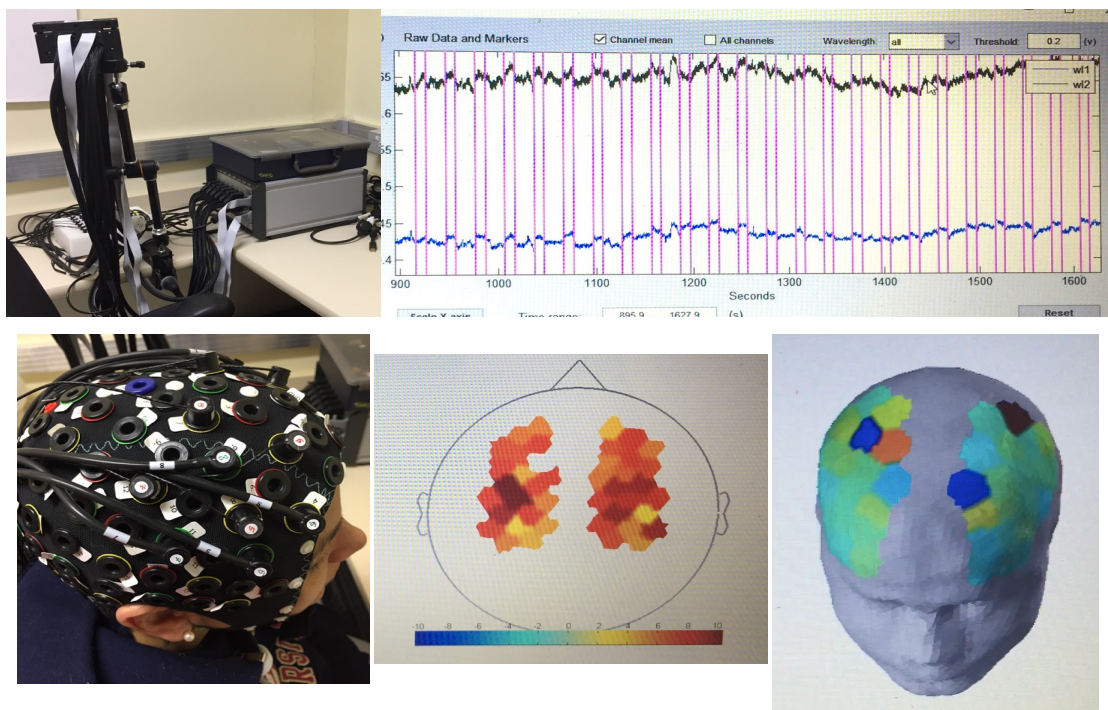


Figura 7 – Imagens próprias do equipamento, registro dos dados, touca e representações gráficas geradas pelo software.

A fMRI e o fNIRS utilizam a mesma base fisiológica, ou seja, a avaliação da atividade metabólica dos tecidos. O fNIRS utiliza comprimentos de onda específicos de luz para fornecer medições de HbO e HbR, as quais correlacionam-se com o sinal BOLD da fMRI (Phillips et al. 2016) (Scholkmann et al. 2014). A hemoglobina oxigenada, por carregar o oxigênio ligado ao elemento ferro, absorve a luz em determinado ponto do espectro, e sua difração é captada pela espectroscopia. A hemoglobina desoxigenada, por sua vez, por não possuir o elemento ferro ligado ao oxigênio, apresenta características magnéticas que contrastam com os tecidos vizinhos, formando a imagem da fMRI (Mazzola 2009). Entre as vantagens do uso da fMRI estão a excelente resolução espacial e a capacidade de avaliar estruturas profundas, porém é um exame caro, realizado em ambiente restrito, com radiação magnética e ruídos. As vantagens do uso do fNIRS para o estudo das áreas cerebrais e sua respectiva função são seu custo, portabilidade, temporalidade e possibilidade de uso durante atividades cotidianas, porém não avalia camadas infracorticais.

Alguns autores postulam que o fNIRS é uma ferramenta preferível para avaliar a ativação cortical induzida por qualquer tipo de estimulação elétrica, porque é menos sensível a interferências elétricas quando comparado com outras técnicas de neuroimagem (Jang et al. 2014). O fNIRS possibilita uma avaliação espacial e temporal da resposta hemodinâmica cortical de forma contínua, uma vez que as alterações são rápidas dentro do período de estimulação (M Tanosaki et al. 2001). Os sinais do fNIRS refletem a atividade sináptica combinada de interneurônios inibitórios no córtex piramidal, independente do caráter excitatório ou inibitório, modulando também estruturas pós-sinápticas piramidais e outros alvos corticais (Masato Tanosaki et al. 2003). Estudos com fNIRS tem ajudado a diferenciar padrões de resposta a estímulos inócuos, dolorosos e até parestésicos (Yücel et al. 2015) (Lee et al. 2013). O último

estudo conseguiu relacionar a mudança na amplitude da curva da HbO e HbR com os escores de dor na Escala Análogo-Visual (EAV) referido pelos voluntários após aplicação de estímulo doloroso aplicado no polegar direito.

3. MARCO CONCEITUAL

A dor crônica é o resultado de complexos mecanismos maladaptativos que são resultado do processamento de informações nociceptivas periféricas, com ou sem dano estrutural, pelas vias ascendentes segmentares, infracorticais e corticais, com manifestações clínicas sensoriais, afetivas, comportamentais e sociais. Seu tratamento consiste na adoção de medidas farmacológicas e não-farmacológicas, incluindo medidas físicas e apoio psicossocial. A estimulação elétrica a nível central (NIBS) e periférica (PES) estão se firmando como uma das terapias mais promissoras neste contexto. Enquanto as NIBS, como o tDCS e o TMS, agem nos circuitos nociceptivos de maneira *top-down*, as PES agem provavelmente nos mesmos circuitos, ou outros ainda a serem elucidados, de forma *bottom-up*. Vários tipos de estímulos periféricos são utilizados para reabilitação e tratamento em diversas situações clínicas, como a IMS e a EA, bem como a estimulação vagal e de ramos trigeminais. Para a avaliação dos efeitos destas estimulações sobre as vias centrais, têm-se utilizado exames de neuroimagem, como a fMRI e o fNIRS, com boas correlações tanto para estudos fisiológicos quanto para avaliações clínicas.

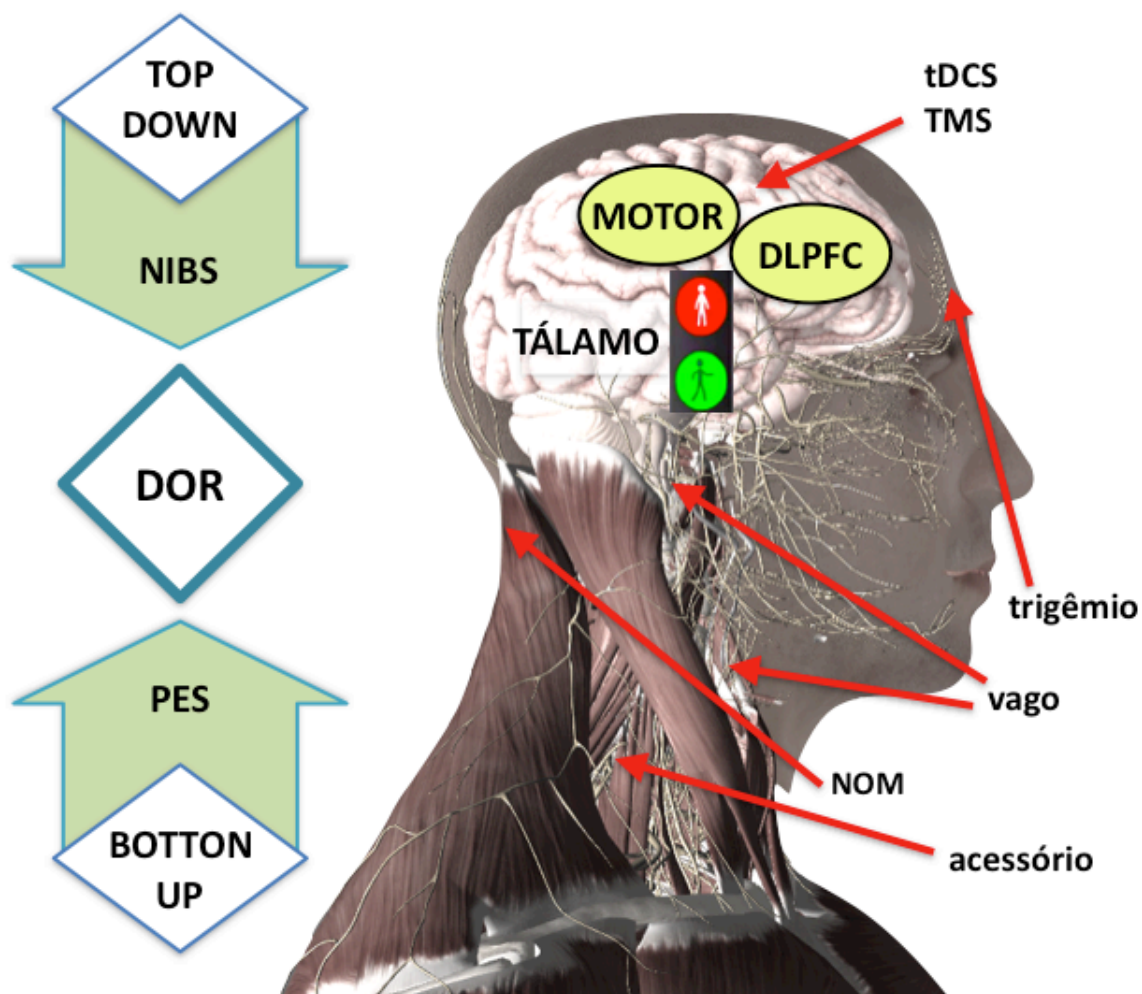


Figura 8 – Representação esquemática do Marco Conceitual. NIBS: estimulação cerebral não invasiva; PES: eletroestimulação periférica; tDCS: estimulação transcraniana de corrente contínua; TMS: estimulação magnética transcraniana; NOM: nervo occipital maior

4. JUSTIFICATIVA

Poucos estudos na área da estimulação elétrica periférica tem procurado observar os efeitos fisiológicos da eletricidade sobre os tecidos. Muitas perguntas ainda necessitam ser respondidas para que as diversas técnicas possam ter embasamento científico para uso clínico. Este estudo aponta a possibilidade de utilizar clinicamente a estimulação do nervo acessório, que apresenta facilidade de acesso por sua superficialidade na região cervical, além de características únicas ainda pouco exploradas clinicamente, como o fato de ser formado por ramos craniais e cervicais, possuir estreita relação com a via autonômica através do nervo vago e estar relacionado à atenção e manutenção da vigília e sobrevivência através do controle dos movimentos da cabeça, refletindo situações de hipervigilância, stress e tensão emocional, que tem estreita relação com a manutenção dos estados dolorosos crônicos.

Este estudo procurou observar o efeito da estimulação elétrica do nervo acessório sobre o metabolismo cortical com fNIRS em áreas relacionadas ao processamento da dor, o córtex motor e dorsolateral pré-frontal, onde as NIBS encontram suas melhores respostas clínicas no tratamento da dor. Como base neurofisiológica, infere-se que o aspecto sensório-discriminativo da dor esteja relacionado principalmente ao tálamo ventrolateral e córtex sensoriomotor (somatosensorial e motor primário) e que o aspecto afetivo-motivacional seja regulado pela via tálamo ventromedial e córtex cingulado anterior, com todas as repercussões em redes neurais relacionadas e suas manifestações sistêmicas. Como acontece com a estimulação *top-down*, espera-se que a estimulação *bottom-up* seja capaz de promover ativação destas áreas corticais de interesse, o que pode referendar novas pesquisas e sua utilização como ferramenta terapêutica.

Além de ajudar a compreender como um estímulo sensoriomotor indolor é capaz de ativar áreas cerebrais nobres, abre-se a possibilidade de avaliar este tipo de estímulo na conectividade funcional intrínseca entre diferentes regiões do cérebro por meio de recursos matemáticos avançados, com vista ao processamento de sinais mensurados pelo nível de ativação cortical. A atividade elétrica neuronal se reflete na medida indireta pela amplitude das curvas de HbO e HbR, inferindo mudanças metabólicas nas áreas de interesse deste estudo, os córtices sensoriomotores e pré-frontais dorsolaterais. Embora técnicas de imagem como o fNIRS apresentem limitações quanto à resolução espacial e avaliação de estruturas profundas, apresentam-se como um recurso menos oneroso para a pesquisa da fisiologia cortical frente a paradigmas de ativação bem definidos. Com o objetivo de adicionar recursos tecnológicos que permitam identificar distinções no processamento da sinalização nociceptiva, este estudo procurou compreender melhor a fisiologia da ativação cortical induzida pela estimulação elétrica, pois a pesquisa na área da dor necessita integrar medidas neurofisiológicas com desfechos clínicos, visando o avanço diagnóstico e terapêutico do tratamento da dor e dos transtornos neuropsiquiátricos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da estimulação elétrica do nervo acessório na ativação do córtex cerebral em áreas relacionadas ao processamento da dor, o córtex sensoriomotor e pré-frontal, por meio da atividade metabólica neuronal inferida pela mudança hemodinâmica na concentração de hemoglobina oxigenada avaliada pela espectroscopia por infravermelho.

5.2. Objetivos específicos

Avaliar o efeito da estimulação unilateral ativa e *sham* do nervo acessório na ativação bilateral do córtex sensoriomotor e pré-frontal dorsolateral por meio da atividade metabólica neuronal inferida pela mudança hemodinâmica na concentração de hemoglobina oxigenada avaliada pela espectroscopia por infravermelho.

6. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

- Aasted, Christopher M., Meryem A. Yücel, Sarah C. Steele, Ke Peng, David A. Boas, Lino Becerra, and David Borsook. 2016. “Frontal Lobe Hemodynamic Responses to Painful Stimulation: A Potential Brain Marker of Nociception.” *PLoS ONE* 11 (11): 1–12. doi:10.1371/journal.pone.0165226.
- Becerra, L., W. Harris, D. Joseph, T. Huppert, D.A. Boas, and D. Borsook. 2008. “Diffuse Optical Tomography of Pain and Tactile Stimulation: Activation in Cortical Sensory and Emotional Systems.” *NeuroImage* 41 (2): 252–59. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.01.047.
- Becerra, Lino, Will Harris, Margaret Grant, Edward George, David Boas, and David Borsook. 2009. “Diffuse Optical Tomography Activation in the Somatosensory Cortex: Specific Activation by Painful vs. Non-Painful Thermal Stimuli.” *PLoS ONE* 4 (11): 1–5. doi:10.1371/journal.pone.0008016.
- Benninger, Brion, and Jonathan McNeil. 2010. “Transitional Nerve: A New and Original Classification of a Peripheral Nerve Supported by the Nature of the Accessory Nerve (CN XI).” *Neurology Research International* 2010 (Figure 1): 476018. doi:10.1155/2010/476018.
- Blickenstorfer, Armin, Raimund Kleiser, Thierry Keller, Birgit Keisker, Martin Meyer, Robert Riener, and Spyros Kollias. 2009. “Cortical and Subcortical Correlates of Functional Electrical Stimulation of Wrist Extensor and Flexor Muscles Revealed by fMRI.” *Human Brain Mapping* 30 (3): 963–75. doi:10.1002/hbm.20559.
- Boissoneault, Jeff, Landrew Sevel, Janelle Letzen, Michael Robinson, and Roland Staud. 2017. “Biomarkers for Musculoskeletal Pain Conditions: Use of Brain Imaging and Machine Learning.” *Current Rheumatology Reports* 19 (1): 5. doi:10.1007/s11926-017-0629-9.
- Brunoni, Andre Russowsky, Michael A. Nitsche, Nadia Bolognini, Marom Bikson, Tim Wagner, Lotfi Merabet, Dylan J. Edwards, et al. 2012. “Clinical Research with Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): Challenges and Future Directions.” *Brain Stimulation* 5 (3). Elsevier Inc: 175–95. doi:10.1016/j.brs.2011.03.002.
- Castillo Saavedra, Laura, Mariana Mendonca, and Felipe Fregni. 2014. “Role of the Primary Motor Cortex in the Maintenance and Treatment of Pain in Fibromyalgia.” *Medical Hypotheses* 83 (3): 332–36. doi:10.1016/j.mehy.2014.06.007.
- Chae, Younbyoung, Dong-Seon Chang, Soon-Ho Lee, Won-Mo Jung, In-Seon Lee, Stephen Jackson, Jian Kong, et al. 2013. “Inserting Needles into the Body: A Meta-Analysis of Brain Activity Associated with Acupuncture Needle Stimulation.” *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society* 14 (3). Elsevier Ltd: 215–22. doi:10.1016/j.jpain.2012.11.011.
- Chakravarthy, Krishnan, Andrew Nava, Paul J Christo, and Kayode Williams. 2016. “Review of Recent Advances in Peripheral Nerve Stimulation (PNS).” *Current Pain and Headache Reports*. Current Pain and Headache Reports. doi:10.1007/s11916-016-0590-8.
- Chan Gunn, C. 1997. “Radiculopathic Pain: Diagnosis and Treatment of Segmental Irritation or Sensitization.” *Journal of Musculoskeletal Pain* 5 (4): 119–34.

doi:10.1300/J094v05n04.

- Chipchase, L. S., S. M. Schabrun, and P. W. Hodges. 2011. "Peripheral Electrical Stimulation to Induce Cortical Plasticity: A Systematic Review of Stimulus Parameters." *Clinical Neurophysiology* 122 (3). International Federation of Clinical Neurophysiology: 456–63. doi:10.1016/j.clinph.2010.07.025.
- Chou, Denise E., Giti J. Gross, Camilla H. Casadei, and Marianna Shnayderman Yugrakh. 2017. "External Trigeminal Nerve Stimulation for the Acute Treatment of Migraine: Open-Label Trial on Safety and Efficacy." *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* 2017. doi:10.1111/ner.12623.
- Cieslik, Edna C., Karl Zilles, Svenja Caspers, Christian Roski, Tanja S. Kellermann, Oliver Jakobs, Robert Langner, Angela R. Laird, Peter T. Fox, and Simon B. Eickhoff. 2013. "Is There One DLPFC in Cognitive Action Control? Evidence for Heterogeneity from Co-Activation-Based Parcellation." *Cerebral Cortex* 23 (11): 2677–89. doi:10.1093/cercor/bhs256.
- Couto, C, I C de Souza, I L Torres, F Fregni, and W Caumo. 2014. "Paraspinal Stimulation Combined with Trigger Point Needling and Needle Rotation for the Treatment of Myofascial Pain: A Randomized Sham-Controlled Clinical Trial." *Clin J Pain* 30 (3): 214–23. doi:10.1097/AJP.0b013e3182934b8d.
- Davis, Karen D., Herta Flor, Henry T. Greely, Gian Domenico Iannetti, Sean MacKey, Markus Ploner, Amanda Pustilnik, Irene Tracey, Rolf Detlef Treede, and Tor D. Wager. 2017. "Brain Imaging Tests for Chronic Pain: Medical, Legal and Ethical Issues and Recommendations." *Nature Reviews Neurology* 13 (10). Nature Publishing Group: 624–38. doi:10.1038/nrneurol.2017.122.
- Dayan, Eran, Nitzan Censor, Ethan R Buch, Marco Sandrini, and Leonardo G Cohen. 2013. "Noninvasive Brain Stimulation: From Physiology to Network Dynamics and Back." *Nature Neuroscience* 16 (7). Nature Publishing Group: 838–44. doi:10.1038/nn.3422.
- Ferrari, Marco, and Valentina Quaresima. 2012. "A Brief Review on the History of Human Functional near-Infrared Spectroscopy (fNIRS) Development and Fields of Application." *NeuroImage* 63 (2). Elsevier Inc.: 921–35. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.03.049.
- Filmer, Hannah L., Paul E. Dux, and Jason B. Mattingley. 2014. "Applications of Transcranial Direct Current Stimulation for Understanding Brain Function." *Trends in Neurosciences* 37 (12). Elsevier Ltd: 742–53. doi:10.1016/j.tins.2014.08.003.
- Franceschini, Maria Angela, Sergio Fantini, John H. Thompson, Joseph P. Culver, and David A. Boas. 2003. "Hemodynamic Evoked Response of the Sensorimotor Cortex Measured Noninvasively with near-Infrared Optical Imaging." *Psychophysiology* 40 (4): 548–60. doi:10.1111/1469-8986.00057.
- Frangos, Eleni, Jens Ellrich, and Barry R Komisaruk. 2015. "Non-Invasive Access to the Vagus Nerve Central Projections via Electrical Stimulation of the External Ear: fMRI Evidence in Humans." *Brain Stimulation* 8 (3): 624–36. doi:10.1016/j.brs.2014.11.018.
- Frangos, Eleni, and Barry R Komisaruk. 2016. "Access to Vagal Projections via Cutaneous Electrical Stimulation of the Neck : fMRI Evidence in Healthy Humans." *Brain Stimulation*. Elsevier Inc. doi:10.1016/j.brs.2016.10.008.
- Ge, Hong You, César Fernández-de-las-Peñas, and Lars Arendt-Nielsen. 2006. "Sympathetic Facilitation of Hyperalgesia Evoked from Myofascial Tender and Trigger Points in

- Patients with Unilateral Shoulder Pain.” *Clinical Neurophysiology* 117 (7): 1545–50. doi:10.1016/j.clinph.2006.03.026.
- Gillig, P. M., and R. D. Sanders. 2010. “Cranial Nerves IX, X, XI, and XII.” *Psychiatry (Edgemont)* 7 (5): 37–41. doi:10.1016/j.diii.2013.06.013.
- Gunn, C C, and Patrick D. Wall. 1996. *The Gunn Approach to the Treatment of Chronic Pain*. Churchill Livingstone, New York.
- Han, Ji Sheng. 2003. “Acupuncture: Neuropeptide Release Produced by Electrical Stimulation of Different Frequencies.” *Trends in Neurosciences* 26 (1): 17–22. doi:10.1016/S0166-2236(02)00006-1.
- Hu, Sabine Van, Alexander Caicedo, Duane F Bruley, and David K Harrison Editors. 2014. *Oxygen Transport to Tissue XXXVI*. Vol. 812. doi:10.1007/978-1-4939-0620-8.
- Jang, Sung, Woo Jang, Pyung Chang, Seung-Hyun Lee, Sang-Hyun Jin, Young Kim, and Sang Yeo. 2014. “Cortical Activation Change Induced by Neuromuscular Electrical Stimulation during Hand Movements: A Functional NIRS Study.” *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation* 11 (1). *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*: 29. doi:10.1186/1743-0003-11-29.
- Jiang, Yin, Hong Wang, Zhenyu Liu, Yuru Dong, Yue Dong, Xiaohui Xiang, Lijun Bai, et al. 2013. “Manipulation of and Sustained Effects on the Human Brain Induced by Different Modalities of Acupuncture: An fMRI Study.” Edited by Wang Zhan. *PLoS ONE* 8 (6): e66815. doi:10.1371/journal.pone.0066815.
- Kim, Tae-Hun, Cha-Ro Lee, Tae-Young Choi, and Myeong Soo Lee. 2012. “Intramuscular Stimulation Therapy for Healthcare: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials.” *Acupuncture in Medicine* 30 (4): 286–90. doi:10.1136/acupmed-2012-010182.
- Langhorst, Jost, Petra Klose, Frauke Musial, Dominik Irnich, and Winfried Häuser. 2010. “Efficacy of Acupuncture in Fibromyalgia Syndrome—a Systematic Review with a Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials.” *Rheumatology* 49 (4): 778–88. doi:10.1093/rheumatology/kep439.
- Lee, Chih-Hung, Takashi Sugiyama, Aiko Kataoka, Ayako Kudo, Fukue Fujino, Yu-Wen Chen, Yuki Mitsuyama, Shinobu Nomura, and Tohru Yoshioka. 2013. “Analysis for Distinctive Activation Patterns of Pain and Itchy in the Human Brain Cortex Measured Using Near Infrared Spectroscopy (NIRS).” *PLoS ONE* 8 (10): e75360. doi:10.1371/journal.pone.0075360.
- Liu, Hong Fu, Hyung Sun Won, In Hyuk Chung, In Beom Kim, and Seung Ho Han. 2014. “Morphological Characteristics of the Cranial Root of the Accessory Nerve.” *Clinical Anatomy* 27 (8): 1167–73. doi:10.1002/ca.22451.
- Lorenz, Jürgen, S. Minoshima, and K. L. Casey. 2003. “Keeping Pain out of Mind: The Role of the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Pain Modulation.” *Brain* 126 (5): 1079–91. doi:10.1093/brain/awg102.
- Lund, Iréne, and Thomas Lundeberg. 2006. “Are Minimal, Superficial or Sham Acupuncture Procedures Acceptable as Inert Placebo Controls?” *Acupuncture in Medicine* 24 (1): 13–15. doi:10.1136/aim.24.1.13.
- Lund, Iréne, Jan Näslund, and Thomas Lundeberg. 2009. “Minimal Acupuncture Is Not a Valid Placebo Control in Randomised Controlled Trials of Acupuncture: A

- Physiologist's Perspective." *Chinese Medicine* 4 (1): 1–9. doi:10.1186/1749-8546-4-1.
- Madsen, Matias Vested. 2009. "Review 2009 Acupuncture Treatment for Pain : Systematic Review of Randomised Clinical Trials with Acupuncture , Placebo," no. January 2008: 1–8. doi:10.1136/bmj.a3115.
- Mazzola, Alessandro a. 2009. "Ressonância Magnética : Princípios de Formação Da Imagem E Aplicações Em Imagem Funcional Magnetic Resonance : Principles of Image Formation and Applications in Funcional Imaging." *Revista Brasileira de Física Médica* 3 (1): 117–29.
- Medeiros, Liciane Fernandes, Izabel Cristina Custodio de Souza, Liliane Pinto Vidor, Andressa de Souza, Alícia Deitos, Magdalena Sarah Volz, Felipe Fregni, Wolnei Caumo, and Iraci L.S. Torres. 2012. "Neurobiological Effects of Transcranial Direct Current Stimulation: A Review." *Frontiers in Psychiatry* 3 (DEC): 1–11. doi:10.3389/fpsy.2012.00110.
- Melzack, R. 2001. "Pain and the Neuromatrix in the Brain." *Journal of Dental Education* 65 (12): 1378–82.
- Mitsuoka, Kazuyuki, Takeshi Kikutani, and Iwao Sato. 2017. "Morphological Relationship between the Superior Cervical Ganglion and Cervical Nerves in Japanese Cadaver Donors." *Brain and Behavior* 7 (2): 1–9. doi:10.1002/brb3.619.
- Napadow, Vitaly, Jing Liu, Ming Li, Norman Kettner, Angela Ryan, Kenneth K. Kwong, Kathleen K.S. Hui, and Joseph F. Audette. 2007. "Somatosensory Cortical Plasticity in Carpal Tunnel Syndrome Treated by Acupuncture." *Human Brain Mapping* 28 (3): 159–71. doi:10.1002/hbm.20261.
- Naseer, Noman, and Keum-Shik Hong. 2015. "fNIRS-Based Brain-Computer Interfaces: A Review." *Frontiers in Human Neuroscience* 9 (January): 1–15. doi:10.3389/fnhum.2015.00003.
- Näslund, Jan, Thomas Lundeberg, Irene Lund, and Audrey Sing. 2011. "Is Placebo Acupuncture What It Is Intended to Be?" *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011. doi:10.1093/ecam/nep049.
- Ngernyam, Niran, Mark P. Jensen, Preeda Arayawichanon, Narong Auvichayapat, Somsak Tiamkao, Suparerk Janjarasjitt, Wiyada Punjaruk, Anuwat Amatachaya, Benchaporn Aree-uea, and Paradee Auvichayapat. 2015. "The Effects of Transcranial Direct Current Stimulation in Patients with Neuropathic Pain from Spinal Cord Injury." *Clinical Neurophysiology* 126 (2). International Federation of Clinical Neurophysiology: 382–90. doi:10.1016/j.clinph.2014.05.034.
- Niederhauser, Blake D., Benjamin P. Rosenbaum, John C. Gore, and Adrian A. Jarquin-Valdivia. 2008. "A Functional near-Infrared Spectroscopy Study to Detect Activation of Somatosensory Cortex by Peripheral Nerve Stimulation." *Neurocritical Care* 9 (1): 31–36. doi:10.1007/s12028-007-9022-2.
- Nitsche, M. A., and W Paulus. 2000. "Excitability Changes Induced in the Human Motor Cortex by Weak Transcranial Direct Current Stimulation." *The Journal of Physiology* 527 Pt 3: 633–39. doi:PHY_1055 [pii].
- Pelletier, Simon J., and Francesca Cicchetti. 2015. "Cellular and Molecular Mechanisms of Action of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence from in Vitro and in Vivo Models." *International Journal of Neuropsychopharmacology* 18 (2): 1–13.

doi:10.1093/ijnp/pyu047.

- Phillips, Aaron A, Franco HN Chan, Mei Mu Zi Zheng, Andrei V Krassioukov, and Philip N Ainslie. 2016. "Neurovascular Coupling in Humans: Physiology, Methodological Advances and Clinical Implications." *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 36 (4): 647–64. doi:10.1177/0271678X15617954.
- Pitcher, Julia B, Michael C Ridding, and Timothy S Miles. 2003. "Frequency-Dependent , Bi-Directional Plasticity in Motor Cortex of Human Adults" 114: 1265–71. doi:10.1016/S1388-2457(03)00092-0.
- Rahman, Asif, Belen Lafon, and Marom Bikson. 2015. "Multilevel Computational Models for Predicting the Cellular Effects of Noninvasive Brain Stimulation." In *Progress in Brain Research, Volume 222*, 222:25–40. doi:10.1016/bs.pbr.2015.09.003.
- Ridding, M C, and U Ziemann. 2010. "Determinants of the Induction of Cortical Plasticity by Non-Invasive Brain Stimulation in Healthy Subjects." *The Journal of Physiology* 588 (Pt 13): 2291–2304. doi:10.1113/jphysiol.2010.190314.
- Rigo, Julio Cesar, Claudio Couto, and Roberta Rigo Dalla-Corte. 2014. "Cluster Headache in an Elderly Patient Treated with Neurofunctional Acupuncture a Case Report." *Acupuncture and Related Therapies* 2 (2). Elsevier GmbH: 39–42. doi:10.1016/j.arthe.2014.02.002.
- Rossini, P.M., D. Burke, R. Chen, L.G. Cohen, Z. Daskalakis, R. Di Iorio, V. Di Lazzaro, et al. 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). International Federation of Clinical Neurophysiology: 1071–1107. doi:10.1016/j.clinph.2015.02.001.
- Sandkühler, Jürgen. 2000. "Learning and Memory in Pain Pathways." *Pain* 88 (2): 113–18. doi:10.1016/S0304-3959(00)00424-3.
- Sankarasubramanian, Vishwanath, David A. Cunningham, Kelsey A. Potter-Baker, Erik B. Beall, Sarah M. Roelle, Nicole M. Varnerin, Andre G. Machado, Stephen E. Jones, Mark J. Lowe, and Ela B. Plow. 2017. "Transcranial Direct Current Stimulation Targeting Primary Motor Versus Dorsolateral Prefrontal Cortices: Proof-of-Concept Study Investigating Functional Connectivity of Thalamocortical Networks Specific to Sensory-Affective Information Processing." *Brain Connectivity* 7 (3): 182–96. doi:10.1089/brain.2016.0440.
- Scholkmann, Felix, Stefan Kleiser, Andreas Jaakko Metz, Raphael Zimmermann, Juan Mata Pavia, Ursula Wolf, and Martin Wolf. 2014. "A Review on Continuous Wave Functional near-Infrared Spectroscopy and Imaging Instrumentation and Methodology." *NeuroImage* 85. Elsevier Inc.: 6–27. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.05.004.
- Shoja, Mohammadali M., Nelson M. Oyesiku, Ghaffar Shokouhi, Christoph J. Griessenauer, Joshua J. Chern, Elias B. Rizk, Marios Loukas, Joseph H. Miller, and R. Shane Tubbs. 2014. "A Comprehensive Review with Potential Significance during Skull Base and Neck Operations, Part II: Glossopharyngeal, Vagus, Accessory, and Hypoglossal Nerves and Cervical Spinal Nerves 1-4." *Clinical Anatomy* 27 (1): 131–44. doi:10.1002/ca.22342.
- Son, Byung Chul, Deok Ryeong Kim, and Sang Won Lee. 2013. "Intractable Occipital Neuralgia Caused by an Entrapment in the Semispinalis Capitis." *Journal of Korean*

- Neurosurgical Society* 54 (3): 268–71. doi:10.3340/jkns.2013.54.3.268.
- Srbely, John Z. 2010. “New Trends in the Treatment and Management of Myofascial Pain Syndrome.” *Current Pain and Headache Reports* 14 (5): 346–52. doi:10.1007/s11916-010-0128-4.
- Sun, Yanxia, and Tong J. Gan. 2008. “Acupuncture for the Management of Chronic Headache: A Systematic Review.” *Anesthesia and Analgesia* 107 (6): 2038–47. doi:10.1213/ane.0b013e318187c76a.
- Tak, Sungho, and Jong Chul Ye. 2014. “Statistical Analysis of fNIRS Data: A Comprehensive Review.” *NeuroImage* 85. Elsevier Inc.: 72–91. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.06.016.
- Takeuchi, Mikinobu, Etsuro Hori, Kouichi Takamoto, Anh Hai Tran, Kohno Satoru, Akihiro Ishikawa, Taketoshi Ono, Shunro Endo, and Hisao Nishijo. 2009. “Brain Cortical Mapping by Simultaneous Recording of Functional near Infrared Spectroscopy and Electroencephalograms from the Whole Brain during Right Median Nerve Stimulation.” *Brain Topography* 22 (3): 197–214. doi:10.1007/s10548-009-0109-2.
- Tanosaki, M, Y Hoshi, Y Iguchi, Y Oikawa, I Oda, and M Oda. 2001. “Variation of Temporal Characteristics in Human Cerebral Hemodynamic Responses to Electric Median Nerve Stimulation: A near-Infrared Spectroscopic Study.” *Neuroscience Letters* 316 (2): 75–78. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11742719>.
- Tanosaki, Masato, Chie Sato, Miho Shimada, Yoshinobu Iguchi, and Yoko Hoshi. 2003. “Effect of Stimulus Frequency on Human Cerebral Hemodynamic Responses to Electric Median Nerve Stimulation: A near-Infrared Spectroscopic Study.” *Neuroscience Letters* 352 (1): 1–4. doi:10.1016/j.neulet.2003.08.055.
- Tarragó, Maria da Graca L., Alicia Deitos, Aline Patrícia Brietzke, Rafael Vercelino, Iraci L. S. Torres, Felipe Fregni, and Wolnei Caumo. 2016. “Descending Control of Nociceptive Processing in Knee Osteoarthritis Is Associated With Intracortical Disinhibition.” *Medicine* 95 (17): e3353. doi:10.1097/MD.0000000000003353.
- Waki, Hideaki, Takuya Suzuki, Yuki Tanaka, Hideaki Tamai, Yoichi Minakawa, Shogo Miyazaki, Naruto Yoshida, Kazuo Uebaba, Kenji Imai, and Tatsuya Hisajima. 2017. “Effects of Electroacupuncture to the Trigeminal Nerve Area on the Autonomic Nervous System and Cerebral Blood Flow in the Prefrontal Cortex.” *Acupuncture in Medicine* 35 (5): 339–44. doi:10.1136/acupmed-2016-011247.
- Woods, A. J., A. Antal, M. Bikson, P. S. Boggio, A. R. Brunoni, P. Celnik, L. G. Cohen, et al. 2016. “A Technical Guide to tDCS, and Related Non-Invasive Brain Stimulation Tools.” *Clinical Neurophysiology* 127 (2). International Federation of Clinical Neurophysiology: 1031–48. doi:10.1016/j.clinph.2015.11.012.
- Yaksh, Tony L., and Z. David Luo. 2006. *Anatomy of the Pain Processing System. Pain Management*. Second Edi. Vol. 1. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-7216-0334-6.50006-6.
- Yakunina, Natalia, Sam Soo Kim, and Eui-Cheol Nam. 2017. “Optimization of Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Using Functional MRI.” *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* 20 (3): 290–300. doi:10.1111/ner.12541.
- Yang, He, Jing Yu Chang, Donald J. Woodward, Luiz A. Baccalá, Ji Sheng Han, and Fei Luo. 2005. “Coding of Peripheral Electrical Stimulation Frequency in Thalamocortical

Pathways.” *Experimental Neurology* 196 (1): 138–52.
doi:10.1016/j.expneurol.2005.07.019.

Yücel, Meryem A., Christopher M. Aasted, Mihayl P. Petkov, David Borsook, David A. Boas, and Lino Becerra. 2015. “Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A Functional near-Infrared Spectroscopy Study.” *Scientific Reports* 5 (1): 9469. doi:10.1038/srep09469.

Zhang, Ruixin, Lixing Lao, Ke Ren, and Brian M. Berman. 2014. “Mechanisms of Acupuncture–Electroacupuncture on Persistent Pain.” *Anesthesiology* 120 (2): 482–503. doi:10.1097/ALN.0000000000000101.

Zunhammer, M., P. Eichhammer, J. Franz, G. Hajak, and V. Busch. 2012. “Effects of Acupuncture Needle Penetration on Motor System Excitability.” *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology* 42 (4): 225–30. doi:10.1016/j.neucli.2012.02.134.

Zyloney, Carolyn E, Karin Jensen, Ginger Polich, Rita E Loiotile, Alexandra Cheetham, Peter S LaViolette, Peichi Tu, Ted J Kaptchuk, Randy L Gollub, and Jian Kong. 2010. “Imaging the Functional Connectivity of the Periaqueductal Gray during Genuine and Sham Electroacupuncture Treatment.” *Molecular Pain* 6 (1): 80. doi:10.1186/1744-8069-6-80.

7. ARTIGO

Este artigo está formatado de acordo com as normas da NeuroImage
(www.journals.elsevier.com/neuroimage/)

Functional spectroscopy indexed cortical activation associated with accessory spinal nerve electrical stimulation in healthy subjects

Bandeira, J.S.^{1,2}; Antunes, L.C.^{1,2}; Soldatelli, M.D.^{1,2}; Sato,
J.R.³; Fregni F.⁶, Caumo, W.^{1,2,4,5}.

¹ Post-Graduate Program in Medical Science, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.

² Laboratory of Pain and Neuromodulation at UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

³ Assistant Professor of Mathematics and Statistics, Universidade Federal do ABC, Santo André, Brazil.

⁴ Anesthesiologist, Pain and Palliative Care Service at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.

⁵ Associate Professor of Pain and Anesthesia in Surgery Department, School of Medicine, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

⁶ Associate Professor of Physical Medicine & Rehabilitation, Associate Professor of Neurology Harvard Medical School. Berenson-Allen Center for Noninvasive Brain Stimulation, Department of Neurology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, USA.

*Correspondence: Wolnei Caumo MD, Ph.D., Laboratory of Pain & Neuromodulation, School of Medicine at UFRGS, Professor of Pain and Anesthesia in Surgery Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Street Ramiro Barcelos, Porto Alegre, RS, 90035-003, Brazil. <wcaumo@hcpa.edu.br>

Abstract

Peripheral electrical stimulation (PES), which encompasses several techniques with heterogeneous physiological responses, has shown in some cases remarkable outcomes for pain treatment and clinical rehabilitation. However, results are still mixed, mainly because there is a lack of understanding regarding its neural mechanisms of action. In this study, we aimed to assess its effects by measuring cortical activation as indexed by functional near infrared spectroscopy (fNIRS). fNIRS is a functional optical imaging method to evaluate hemodynamic changes in oxygenated (HbO) and de-oxygenated (HbR) blood hemoglobin concentrations in cortical capillary networks that can be related to cortical activity. We hypothesized that PES of accessory spinal nerve (ASN) can promote cortical activation of motor cortex (MC) and dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) pain processing cortical areas. Fifteen healthy volunteers received both active and sham ASN electrical stimulation in a crossover design. The hemodynamic response to unilateral right ASN burst electrical stimulation with 10 Hz was measured by a 40-channel fNIRS system. The effect of ASN electrical stimulation over HbO concentration in cortical areas of interest was observed through the activation of right-DLPFC ($p=0.025$) and left-MOTOR ($p=0.042$) in the active group but not in sham group. Regarding left-DLPFC ($p=0.610$) and right-MOTOR ($p=0.174$) there was no statistical difference between groups. As in non-invasive brain stimulation (NIBS) top-down modulation, bottom-up electrical stimulation to the accessory spinal nerve seems to activate the same critical cortical areas on pain pathways related to sensory-discriminative and affective-motivational pain dimensions. These results provide additional mechanistic evidence to develop and optimize the effects of peripheral neural electrical stimulation.

KEYWORDS: *Cortical Activation, Near infrared Spectroscopy, Peripheral Nerve Stimulation, Electrical Nerve Stimulation, Electroacupuncture, Accessory Spinal Nerve*

Introduction

Pathophysiology of pain involves inter-related complex individual systems, such as endocrine, immune and neurological, overlapped with external conditions, such as socio-economic environment, leading to a magnitude of physical and emotional expressions, mainly in chronic patients (Chapman et al., 2008) (Melzack, 2001). Advances in neuroscience knowledge (i.e., better understanding of structural and functional brain connectivity) have helped to understand the relationship between brain areas involved in pain processing and behavioral manifestations. The involvement of motor cortex (MC) has been demonstrated in higher cognitive and emotional processing, and there is some evidence about its implication in chronic pain syndromes (Castillo Saavedra et al., 2014). In turn, dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) mediates appraisal to a rewarding stimulus, regulation of emotion and behavior and “keeping pain out of mind” function, that is, moving attention to other things rather than nociception (Wiech et al., 2008). Indeed, it was pointed out the structural connection between DLPFC and some descending antinociceptive areas such as periaqueductal gray (PAG), pass through the thalamic circuit (Hadjipavlou et al., 2006).

Electrical stimulation of neural tissues seems to be a promising non-pharmacological tool for pain treatment and clinical rehabilitation through modulation of dysfunctional neuroplastic processes. Transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS), also known as non-invasive brain stimulation (NIBS), usually target central areas, inducing top-down effects (Ridding and Ziemann, 2010) (Dayan et al., 2013) (Woods et al., 2016) (Brunoni et al., 2012) (Nitsche and Paulus, 2000). Anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) of left DLPFC in healthy subjects decreases reports of emotional dimensions of pain and increases pain thresholds (Boggio et al., 2009) (Boggio et al., 2008), while in chronic patients it reduces pain scores (Arul-Anandam et al., 2009). Likewise, transcranial magnetic stimulation (TMS) applied in high frequency (10 Hz) has also been effective to alleviate chronic pain (Rossi and Hallett, M, Rossini PM, 2009). In fact, all non-invasive brain stimulation (NIBS) techniques seem to modify cortical excitability with its effects related to brain area targeted, type of current and type of stimulation.

On the other hand, peripheral electrical stimulation (PES) has an upward effect inducing reorganization of segmental and central networks (bottom-up outcomes). The postulated mechanisms include modulation of the descending modulatory system, release of peptides and endorphins at central and peripheral levels, improvement in motor recruitment, local anti-inflammatory effects, regulation of autonomic activity and changes in long-term depression (LTD)/long-term potentiation (LTP) at synaptic sites (Sandkühler, 2000) (Zhang et al., 2014). In the same way, intramuscular electrical stimulation (IMS) is reliable to improve pain and disability (Couto et al., 2014), reduce intracortical facilitation (ICF) and increase current silent period (CSP) (Chassot et al., 2015) (Tarragó et al., 2016). Studies are demonstrating satisfactory responses in peripheral target interventions, such as vagal nerve transcutaneous stimulation via cervical and auricular sites (Frangos et al., 2015) (Yakunina et al., 2017) (Frangos and Komisaruk, 2016), occipital nerve (Son et al., 2013) (Rigo et al., 2014), and trigeminal nerve branches (Chou et al., 2017) (Waki et al., 2017). Besides, transcranial pulsed current stimulation (tPCS), applied around auricular structures, arouses cortical brain oscillations that can be clinically used in neuropsychiatric disorders treatment (Vasquez et al., 2016) (Vasquez et al., 2017) (Thibaut et al., 2017).

Although peripheral modulation seems to induce changes in supra-spinal pain processing pathways, there is still a lack of understanding regarding the central areas activated with PES techniques. In this study, we used peripheral electrical stimulation (PES) on a craniocervical nerve, the accessory spinal nerve (ASN), to explore the neural substrates of the relationship between PES and activation of pain-related cortical areas (MC and DLPFC) through the hemodynamic response measured by functional near infrared spectroscopy (fNIRS). Relative concentration of oxygenated (HbO) and de-oxygenated (HbR) hemoglobin in cortical capillary networks are evaluated by fNIRS tool, which provides a quantitative measure of blood flow in different tonic states (e.g., active stimulation or sham) that can be interpreted as a change in tonic neural activity within that region (Owen et al., 2010). Therefore, we chose this method to assess related cortical areas of interest and identify the synchronic neural activity underpinning its neuromodulation, which is not possible using blood-oxygen-level-dependent signal (BOLD) during functional magnetic resonance imaging (fMRI) (Ferrari and Quaresima, 2012) (Scholkmann et al., 2014) (Phillips et al., 2016). Taking into account that a functional dependence on the

structural measures exists during pain neuromodulation, in this randomized cross-over trial we test the hypothesis that PES of the ASN can promote cortical activation via bottom-up pathway on pain processing cortical areas modulated by top-down NIBS, that is, MC and DLPFC cortices.

Methods

The study protocol was approved by Hospital de Clínicas de Porto Alegre Ethics Committee Board (Institutional Review Board IRB 0000921), according to the Declaration of Helsinki. All subjects provided their written informed consent. The protocol was developed in accordance with the Consolidated Standards of Reporting Trials – CONSORT, and registered at ClinicalTrials.gov (NCT 03295370).

Design overview, setting and participants

This randomized, crossover, sham-controlled clinical trial was carried out at Clinical Research Center of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil. Healthy male volunteers, aged between 20 and 55 years, were recruited from the local community to undergo an electrical stimulation intervention to evaluate cortical activation with near infrared spectroscopy. Twenty-one right-handed, healthy male volunteers were eligible and agreed to participate. A standard screening questionnaire and a written consent was applied in order to assess inclusion. Subjects should not have relevant clinical co-morbidity, chronic pain, cerebral implants, history of neurologic or psychiatric disorders, use of regular psychiatric medication, BDI-II depression scale 12 or more and no drugs or alcohol abuse. Participants were instructed not to take analgesics, anti-inflammatory drugs, caffeine or any stimulant drinks at least 6 hours prior to the intervention. Three subjects were excluded for not meeting all inclusion criteria. Additionally, three participants did not complete recording data due to technical problems; 2 of these were because we could not provide a good quality signal on fNIRS calibration phase before starting the procedure.

Randomization

The randomization plan was generated by specific software at www.randomization.com. Fifteen right-handed healthy subjects were randomized at baseline to initiate the experiment in active or sham intervention. After a washout period of at least 6 days, participants were crossed-over to the second intervention (Figure 1).

-----Insert Figure 1-----

Assessment of demographic and clinical variables

Demographic data were assessed by a standard questionnaire. Depressive and anxiety symptoms were evaluated by Beck II Depression Inventory (BDI-II) and Strait-Trait Anxiety Inventory (STAI), respectively. Sleep pattern was assessed by the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI).

Assessment of cortical activation

Cortical activation was inferred by using functional near infrared spectroscopy (fNIRS), with a NirX® NirScout 16x24 device, sampling rate of 3.91 Hz, dual-wavelengths LEDs sources (760 nm and 850 nm). Software equipment used was NirStar 14.2 and NirsLab 2017 (www.nirx.net). In accordance to subjects' cephalic perimeter, either a 56 or 58 cm equipment cap was utilized. The montage intended to use as many channels as possible (source-detector combination) to cover motor and dorsolateral pre-frontal cortical bilateral areas, with a total of 40 measurements channels (Figure 2).

-----Insert Figure 2-----

Intervention

Subjects were placed on a comfortable reclining chair and asked to avoid any unnecessary movements. After the placement of the NirX cap, subject's cephalic perimeter and software calibration checks, the signal was recorded for 10 minutes in resting state; some minutes were spent to needle unilateral right accessory spinal nerve (ASN) subcutaneously, at the right lateral cervical region, and fix the 0.25 x 40mm sterilized acupuncture needle to the stimulator by a cable. A 12-minute active or sham stimulation period was undertaken (720s total time), followed by another 10 minutes resting-state period (Figure 3).

-----Insert Figure 3-----

Electrical stimulation was undertaken with an electroacupuncture stimulator (NKL 608®, made in Brazil) configured to apply a burst rectangular 200 µs-width current with maximum 5 mA of intensity on the needle. A special trigger marker device was developed to mark in registered data the exact moment the electrical current was discharged to the subject.

The active intervention consisted of 10 Hz electrical stimuli in burst current, 10 seconds ON and 20 seconds OFF, for 12 minutes, generating 24 packages of hemodynamic curves in response to electrical current on unilateral right ASN. The intensity was determined during the first 2 minutes according to subject tolerance, in order to get mild or moderate muscular contraction of the right superior trapezius muscle for 10 seconds, followed by its relaxation for 20 seconds. In sham procedure, the intensity button was fixed on zero and there was no muscle contraction over the 12-minute period, although it was previously provoked for the localization of ASN on Needling phase. Thus, as it was based on tDCS sham procedure layout, sham intervention had a very small electrical stimulation period (3-5 seconds).

The study was conducted by the same physician researcher with more than 10 years of needling experience. The participants were not informed of intervention type on either day. At the end of each day of intervention, the subject filled a standard adverse effects questionnaire, adapted to the particularities of electroacupuncture and NIRS devices.

Based on (Koessler et al., 2009) and (Jurcak et al., 2007) validation of spatial resolution of scalp surface and its correlation with 10/10-system EEG parameters and Brodmann's area, channels were grouped into 4 cortical areas of interest (CAI): left DLPFC, right DLPFC, left MOTOR and right MOTOR. Table 1 shows an approximate correlation of 10/10-system and cortical gyrus below, according to these authors. Note that the area called MOTOR includes sensory cortical zone, so it refers to sensorimotor area.

-----Insert Table 1-----

Data Processing and Statistical Analysis

While filtering and preparing the raw data, only the 12-minute stimulation period was analyzed to observe the acute effects of electrical nerve stimulation on cortical hemodynamic response. Raw data recorded by the software was checked for quality and continuity; channels were considered adequate in a gain setting of 7 or less and coefficient of variation of 7.5% or less to improve the signal-to-noise ratio. Default band-pass filters, low/high cut-off frequencies and differential pathlength factor (DPF) of wavelengths were used to pre-process raw data and calculate HbO changes using modified Beer-Lambert-Law. For each experiment's data, the software computed the mean amplitude for hemodynamic response in 12 minutes, 24 trains of stimulation for each channel. A total of 1.200 mean HbO concentration measures were obtained in the experiment.

As fNIRS calculates the range of changes of HbO/HbR in relative proportion related to a measured baseline, the synchronization of the electrical stimulation made by the trigger marker in recorded signals was essential to correct interpretation of data, since the peak of the standard hemodynamic response function (HRF) curve is 2-6 seconds from the stimulus onset. In our analysis, we used HbO hemodynamic states, since it is the most sensitive parameter of activity-dependent changes in optical measurements, compared to HbR and total hemoglobin (Tanosaki et al., 2001).

Data analysis was made by NirsLab software by NirX® Technologies, using a general linear model (GLM) with the standard HRF pattern, and SPM t-statistical test corrected for multiple comparisons (Tak and Ye, 2014).

Shapiro-Wilk Normality Test was used to evaluate normal distribution of the variables. Student's T-Test and Mann-Whitney U Test were applied to evaluate differences between groups in parametric and non-parametric data, respectively. Multivariate analysis of covariance (MANCOVA) was used to verify differences regarding the activation of DLPFC and MOTOR areas followed by Bonferroni *post hoc* tests. Data were analyzed using SPSS version 22.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). For all statistical analysis, the significance was set at $p < 0.05$.

Results

Fifteen healthy right-handed male volunteers, mean 34.27 years old (± 8.09), mean educational level 19.47 years (± 3.85), completed the two-day study protocol. Demographic characteristics at baseline are shown in Table 2. No significant difference was found between groups that started with active or sham procedure on Day 1, reinforcing adequate randomization plan.

-----Insert Table 2 -----

The intensity of electrical current during active intervention required to get muscle contractions were minimal, as nerves need less electrical current to depolarize (mean 1.133 mAmpère ± 0.86). Subjects' cephalic perimeter (mean 57.7cm ± 1.22) and washout period between Day 1 and Day 2 (mean 9.67 days ± 3.63) was adequate in protocol planning.

The multiple dependent variables on MANCOVA model on cortical areas of interest (CAI), including left DLPFC, right DLPFC, left MOTOR and right MOTOR, in active and sham groups are shown in Table 3. The effect of ASN electrical stimulation on HbO hemodynamic changes on CAI was observed through the activation of right DLPFC ($p=0.025$; $F=5.572$) and left MOTOR ($p=0.042$; $F=4.542$) during the 10 second-period of stimulation, compared to the 20 second-period of rest, in active group but not in sham group. Regarding the activation of left DLPFC ($p=0.610$; $F=0.266$) and right MOTOR ($p=0.174$; $F=1.943$), there was no statistical difference between groups.

Figure 4 and 5 present graphic representations of the results on DLPFC and MOTOR areas of interest, respectively.

-----Insert Table 3-----

-----Insert Figure 4 -----

-----Insert Figure 5 -----

The HbO variance representation in each channel is shown in Figure 6 for illustrative purposes, demonstrating subtle changes in oxy-hemoglobin between groups towards its rise or decay in almost all of 40 channels.

Figure 7 presents HbO and HbR mean curves, 5 seconds before and 20 seconds after stimulation onset, in each CAI. Channels were gathered in order to display the oxy (red curve) and de-oxyhemoglobin (blue curve) for active and sham groups.

As an example, Figure 8 shows HbO and HbR mean curves in one channel with standard errors represented by shadows.

-----Insert Figure 6 -----

-----Insert Figure 7-----

-----Insert Figure 8-----

Side effects

Minimal stress and/or mild muscular tension was reported before the experiment in some subjects (n= 5 in active and n= 8 in sham), without any major clinical manifestation. Four subjects complained of minimal to mild headache or cervical pain in both active and sham procedure, however they were not able to distinguish if it was related to the fNIRS equipment (cap and optodes contact) or to the electrical stimulation *per se*. Prickling, itching, burning and/or heat sensation was mentioned by 3 subjects, related to the cap and optodes. The major discomfort mentioned was pain in the scalp, due to the tight cap and the pressure exerted by the optodes (n=9 in active and n=10 in sham). Somnolence was the most commonly reported symptom

(24/30) in both active (n=14) and sham (n=10) procedures. The electrical stimulation was well tolerated. No relevant clinical complaint was observed.

Discussion

Our findings showed that unilateral right accessory spinal nerve electrical stimulation with 10 Hz for 12 minutes, burst 10 seconds ON and 20 seconds OFF, was able to activate ipsilateral dorsolateral prefrontal (DLPFC) and contralateral sensorimotor (SMC) cortical areas. ASN stimulation induced changes in regional cerebral blood flow in central pain-related regions, significantly increasing the perfusion in those areas during active but not during sham stimulation. Thus, it was able to produce bottom-up neuromodulation to central brain regions of pain processing. This is relevant to support the possibility of using this type of peripheral stimulation as a therapeutic approach in pain treatment, either as a unique technique or combined with other therapies (e.g., NIBS or behavioral therapies). Furthermore, it gives neurobiological support to comprehend systemic effects observed in peripheral stimulation in clinical practice (e.g., impairment of anxiety symptoms). Our work allows advances in the understanding of pain mechanisms considering its dimensions, which comprises sensory-discriminative, affective-motivational and cognitive-behavioral aspects (Melzack, 2001), as these manifestations are linked to those cortical areas and its neural networks.

Pain processing areas

The motor cortex (MC) is used as a modulatory target in top-down modulation with NIBS to treat chronic pain (e.g., musculoskeletal and neuropathic pain), while DLPFC seems to have a better impact on depression and emotional aspects related to anxiety (O'Connell et al., 2010) (Jensen et al., 2014). Regarding thalamic mechanisms, the sensory-discriminative dimension of pain is related to ventrobasal lateral (VLP) thalamus, which involves wide dynamic range (WDR) neurons in dorsal horn lamina V via spinothalamic tract to VLP and then to somatosensory cortex (SSC) pain processing. In turn, mediodorsal (MD) thalamus, by anterior cingulate cortex (ACC) pathway through DLPFC, is related to affective-motivational aspects of pain (Ohara et al., 2005) (Yaksh and Luo, 2006). In fact, we hypothesized that the close relationship between SSC and MC and between ACC and DLPFC and its

connection to the thalamus is one of the possible reasons why in clinical practice modulation of the motor cortex is linked to better sensory-discriminative responses while DLPFC is linked to affective-motivational responses to non-invasive brain stimulation (NIBS). Therefore, in our study, we focused on studying the bilateral hemodynamic response of these two areas to peripheral electric stimulation (PES).

The activation of DLPFC and SMC pain-related cortical areas overlaps with the concept of pain matrix, which is lately being amplified by the theory of intrinsic brain networks, called Dynamic Pain Connectome (Kucyi and Davis, 2015). New technology known as Machine Learning is trying to highlight different pain patterns of brain activity, which can lead us to a “*pain brain signature*” or a “*pain neuromarker*.” The current conception of brain functionality as a connectome emphasizes the fact that the so-called pain-matrix cortical network is responsible for other non-pain processing functions. Thus, “pain areas” that work together may include somatosensory (SSC), insular (IC), prefrontal (PFC), dorsolateral prefrontal (DLPFC), anterior cingulate (ACC), primary and supplementary motor (M1 and SMA) cortices and subcortical regions such as amygdala (AMY), hippocampus, locus coeruleus, thalamus, periaqueductal gray (PAG) and rostroventral medulla (RVM) (Apkarian et al., 2005) (Davis et al., 2017). Recent evidence points to a dopamine-modulated reward/motivation system linked to nucleus accumbens (NAc) in emotional and cognitive manifestations in chronic pain patients. This circuitry is also involved in the regulation of descending pain pathways, modulating directly or indirectly the perception of noxious information to the dorsal horn (Benarroch, 2016) (Borsook et al., 2016) (Mitsi and Zachariou, 2017). It is conceivable that the bottom-up activation of DLPFC induced by ASN may trigger top-down responses, since ACC is implicated in the elicitation and control of sympathetic autonomic arousal. Therefore, the activation of right DLPFC by ASN may culminate in NAc activation in order to activate pain descending modulatory system together with PAG and RVM (Navratilova and Porreca, 2014) (Elman and Borsook, 2016). This pathway could explain the sense of relaxation and well being reported by subjects following the active intervention.

The SMC includes a broad area of brain surface, as it covers primary motor cortex (M1), premotor cortex (PMC), supplementary motor area (SMA), and primary somatosensory cortex (S1), which are anatomically connected and functionally coupled to pain processing. MC stimulation and its connections can guide

neuromodulatory therapeutic options (DaSilva and DosSantos, 2012) (Caumo et al., 2016) and explain the improvement in pain and cognitive function by cortico-striatal–thalamo–cortical loops (CSTC) (Leite et al., 2017). MC activation is somehow related to the GABAergic disinhibition of the neurons in PAG and therefore to RVM, inducing activation of descending inhibitory system (Pagano et al., 2012). In fact, M1 modulates interneurons in the brainstem and spinal cord through giant pyramidal neurons located within the fifth layer of the grey matter in the primary motor cortex. Besides, Sankarasubramanian et al. showed that anodal tDCS stimulation produced increased functional connectivity in thalamocortical pathways (VLP and MD), possibly acting on affective networks also. Furthermore, higher pain tolerance was linked to increased DLPFC activity (Sankarasubramanian et al., 2017). Still, it is known that DLPFC activates anterior cingulate cortex (ACC), which is the primary cortical area in the salience network, involved in recognition of the reward, emotional evaluation, attentional control and action response via dopaminergic mesolimbic system (including neurons of the nucleus accumbens, amygdala and hippocampus). Lorentz et al. postulate that the interaction of the prefrontal cortex with midbrain, thalamus, striatal and cingulate cortex may reflect the behavioral dominance of emotional context of pain (Lorenz et al., 2003).

In fact, it seems that cortical areas undergo a reorganization process in chronic pain patients (Apkarian et al., 2009). This can be related to the novel concept of nociplastic pain that can be comprehended by altered nociception without clear evidence of damage in somatosensory systems or generation of noxious stimuli, that is, altered function of nociceptive pathways (Kosek et al., 2016). Possibly, modulatory techniques such as NIBS and PES attempt to re-reorganize these neural circuits, improving malfunction of the whole system on cortical, infracortical, spinal and local sites.

Peripheral electric stimulation

Research has pointed to a preferential contralateral response of SSC/SMC to PES in the upper body (median nerve, hand or head), mainly towards activation dependent on intensity (Tanosaki et al., 2001) (Tanosaki et al., 2003) (Franceschini et al., 2003) (Becerra et al., 2008) (Niederhauser et al., 2008) (Becerra et al., 2009) (Takeuchi et al., 2009) (Hu et al., 2014) (Yücel et al., 2015). Hence, this effect can be due to spinothalamic tract pathway, decussated on segmental level to ventroposterior lateral

(VLP) thalamus and to SSC. Insular cortex also plays a role in this connection. Even in top-down modulation, it seems that parts of activated circuits are enrolled by inter-hemispheric functional connections (Sankarasubramanian et al., 2017). Different functions of the right and left hemispheres, right and left DLPFC and medial and lateral PFC sub-regions in pain processing and in unpleasant sensations are neural mechanisms not yet clarified (Lorenz et al., 2003) (Cieslik et al., 2013) (Brasil-Neto, 2016).

One unique characteristic of this study is the choice of accessory spinal nerve on its superficial landmark in the posterior cervical triangle, accessible to needles or electrodes. ASN is a peculiar nerve, formed by a spinal portion from C1 to C4, and a cranial portion from nucleus ambiguus, which also forms the vagus nerve (Gillig and Sanders, 2010) (Liu et al., 2014) (Shoja et al., 2014). At the level of jugular foramen, the accessory nerve is connected to the vagus nerve, mostly to its superior ganglion, via its internal ramus or pars vagalis. The external (spinal) branch innervates the sternocleidomastoid (SCM) and trapezius muscles where it receives sensory, proprioceptive and autonomic fibers via its vagal anastomoses (Benninger and McNeil, 2010) (Mitsuoka et al., 2017). The integration of ASN with the vagus nerve explains the descending pathways coordinating head and eye movements on visual tracking, linked to vigilance of “fight or flight” sympathetic response to maintenance of life (Ge et al., 2006). Such characteristics need to be more explored in further studies, as it opens a vast range of possible therapeutic uses, as it did to the cervical deep and transcutaneous vagus stimulation which has been extensively studied lately.

We observed that stimulation of right ASN produced similar results seen during vagal stimulation with electrodes and implanted devices (Frangos and Komisaruk, 2016). During that study, fMRI images showed ipsilateral activation of nucleus of solitary tract (NST), which is the primary central relay of vagal afferents, insula, thalamus, caudate nucleus and somatosensory cortex; deactivation occurred in hippocampus, contralateral NST and ipsilateral spinal trigeminal nucleus (TN). In a subsequent period, activation was observed in substantia nigra, ventral tegmental area (VTA), dorsal raphe nuclei (DRN) and periaqueductal gray (PAG). Based on its anatomical correlation with the vagus nerve, it is necessary to study the subcortical response to ASN stimulation as a neuromodulatory window.

There is some evidence that top-down modulation by tDCS and TMS can be combined to bottom-up stimulation by PES, with an expected summation result or at least a better clinical response than using only one technique. In one study, tDCS and median nerve stimulation together prolonged the increase in motor evoked potential (MEP) (Rizzo et al., 2014). Bi-directional plasticity was tested with TMS and PES, and the results showed frequency-dependent motor cortex response (Pitcher et al., 2003). In a systematic review on stimulus parameters of PES in healthy subjects, intensities greater than the motor threshold showed more consistent effects on the increase in excitability of the corticomotor pathway (Chipchase et al., 2011). In another study, IMS (which appears to encompass the same type of stimulus as EA (Kim et al., 2012)) enhanced inhibitory modulation in cortical and infracortical pain processing systems when applied to women with knee osteoarthritis undergoing tDCS (Da Graca-Tarragó et al., 2016). Furthermore, the studies related to PES are extremely heterogeneous with unstandardized nomenclature, protocols, electrical features, duration and type of stimulus. It is necessary to develop an academic consensus aiming to standardize research and clinical protocols, since PES seems to be a promising therapeutic tool for pain management.

Study limitations

It is necessary to point out some limitations concerning this study. Evaluating a single-session of 12-minute unilateral electrical stimulation of a craniocervical nerve which comprises central and peripheral nervous fibers such as ASN, can tell us about its acute manifestations without temporal changes, that can be different in subsequent measurements, as pointed out by other authors (Tanosaki et al., 2001) (Jang et al., 2014) (Frangos and Komisaruk, 2016).

We used an experimental crossover design to compare relative cerebral blood changes between active and sham stimulation in each subject as he serves as his own control, since inter-individual variability could make it difficult to assess the efficacy of the procedure (Dallery et al., 2013). We selected this design in order to minimize variability of subject response, which might be due to particular cortical organization or anatomical features, such as skull and subcutaneous tissues thickness, head format and skin or hair pigmentation (Niederhauser et al., 2008).

As a physiological-basis study on cortical responses, some limitations must be considered in regard to amostral design that included only right ASN stimulation in

healthy, right-handed males in a controlled environment. Variables such as tiredness, stress, muscular tension, anxiety, expectancy, fear of pain, discomfort due to sitting still or cap pressure can change mental status, which can activate unexpected areas; this may be the reason why sham procedure data showed more variability than active stimulation data. Females were not included in our study to avoid hormonal influences on results, as women are more susceptible to negative emotional responses such as fear of pain, stress and anxiety (da Silva et al., 2015). The exclusion of females may generate either better or worse cortical responses to stimulation. Response patterns may also be different with bilateral stimulation in healthy versus chronic pain patients. Other variables, such as age, lifestyle, education level, genetics and even recent news about chronobiology may play a fundamental role on response patterns in other subgroups that experience top-down or bottom-up modulations (Ridding and Ziemann, 2010) (Cummings and Baldry, 2007).

In conclusion, in this model of ASN peripheral stimulation, cortical activation of sensorimotor and dorsolateral prefrontal cortex opens a novel window of research into the possibilities of PES on modulation, together with other important nerves in the craniocervical region, such as vagus and trigeminal nerves. As in NIBS, PES seems to activate the same crucial cortical areas on pain pathways, acting on bottom-up modulation pathway. Further studies are needed in order to explore this technique as a potential therapeutic tool in chronic pain settings.

Declaration of conflict of interest:

The authors declare that there are no financial or other relationships that might lead to conflicts of interest to any of the following arrangements: financial relationship to the work; employees of a company; consultants for a company; stockholders of the company; members of a speaker's bureau or any other form of financial compensation.

Authorship Criteria

All authors made a significant contribution to (a) the study concept and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; (b) drafting/revising the manuscript for important intellectual content; and (c) approval of the final version to be published.

Acknowledgments

Special thanks to Haley Rafferty for revision.

This research was supported by grants and material from the following Brazilian agencies:

Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES - PNPd/CAPES (grants to LA) and material support. National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (grants to Dr. I.L.S. Torres, Dr. W. Caumo). Postgraduate Program in Medical Sciences at the School of Medicine of the Federal University of Rio Grande do Sul (material support). Postgraduate Research Group at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) (material support).

Brazilian Innovation Agency (FINEP) process number - 1245/13 (Dr. W. Caumo)

Bibliography

- Apkarian, A.V., Baliki, M.N., Geha, P.Y., 2009. Towards a theory of chronic pain. *Prog. Neurobiol.* 87, 81–97. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.018>
- Apkarian, A.V., Bushnell, M.C., Treede, R.D., Zubieta, J.K., 2005. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur. J. Pain* 9, 463–484. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.11.001>
- Arul-Anandam, A.P., Loo, C., Martin, D., Mitchell, P.B., 2009. Chronic neuropathic pain alleviation after transcranial direct current stimulation to the dorsolateral prefrontal cortex. *Brain Stimul.* 2, 149–151. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.12.003>
- Becerra, L., Harris, W., Grant, M., George, E., Boas, D., Borsook, D., 2009. Diffuse optical tomography activation in the somatosensory cortex: Specific activation by painful vs. non-painful thermal stimuli. *PLoS One* 4, 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008016>
- Becerra, L., Harris, W., Joseph, D., Huppert, T., Boas, D.A., Borsook, D., 2008. Diffuse optical tomography of pain and tactile stimulation: Activation in cortical sensory and emotional systems. *Neuroimage* 41, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.01.047>
- Benarroch, E.E., 2016. Involvement of the nucleus accumbens and dopamine system in chronic pain. *Neurology* 87, 1720–1726. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003243>
- Benninger, B., McNeil, J., 2010. Transitional Nerve: A New and Original Classification of a Peripheral Nerve Supported by the Nature of the Accessory Nerve (CN XI). *Neurol. Res. Int.* 2010, 476018. <https://doi.org/10.1155/2010/476018>
- Boggio, P.S., Zaghi, S., Fregni, F., 2009. Modulation of emotions associated with images of human pain using anodal transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychologia* 47, 212–217. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.07.022>
- Boggio, P.S., Zaghi, S., Lopes, M., Fregni, F., 2008. Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers. *Eur. J. Neurol.* 15, 1124–1130. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02270.x>
- Borsook, D., Linnman, C., Faria, V., Strassman, A.M., Becerra, L., Elman, I., 2016. Reward deficiency and anti-reward in pain chronification. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 282–297. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.033>
- Brasil-Neto, J.P., 2016. Motor Cortex Stimulation for Pain Relief: Do Corollary Discharges Play a Role? *Front. Hum. Neurosci.* 10. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00323>
- Brunoni, A.R., Nitsche, M.A., Bolognini, N., Bikson, M., Wagner, T., Merabet, L., Edwards, D.J., Valero-Cabre, A., Rotenberg, A., Pascual-Leone, A., Ferrucci, R., Priori, A., Boggio, P.S., Fregni, F., 2012. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): Challenges and future directions. *Brain Stimul.* 5,

175–195. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>

- Castillo Saavedra, L., Mendonca, M., Fregni, F., 2014. Role of the primary motor cortex in the maintenance and treatment of pain in fibromyalgia. *Med. Hypotheses* 83, 332–336. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2014.06.007>
- Caumo, W., Deitos, A., Carvalho, S., Leite, J., Carvalho, F., Dussán-Sarria, J.A., Lopes Tarragó, M. da G., Souza, A., Torres, I.L. da S., Fregni, F., 2016. Motor Cortex Excitability and BDNF Levels in Chronic Musculoskeletal Pain According to Structural Pathology. *Front. Hum. Neurosci.* 10. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00357>
- Chapman, C.R., Tuckett, R.P., Song, C.W., 2008. Pain and Stress in a Systems Perspective: Reciprocal Neural, Endocrine, and Immune Interactions. *J. Pain* 9, 122–145. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2007.09.006>
- Chassot, M., Dussan-Sarria, J.A., Sehn, F.C., Deitos, A., de Souza, A., Vercelino, R., Torres, I.L., Fregni, F., Caumo, W., 2015. Electroacupuncture analgesia is associated with increased serum brain-derived neurotrophic factor in chronic tension-type headache: a randomized, sham controlled, crossover trial. *BMC Complement. Altern. Med.* 15, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0664-x>
- Chipchase, L.S., Schabrun, S.M., Hodges, P.W., 2011. Peripheral electrical stimulation to induce cortical plasticity: A systematic review of stimulus parameters. *Clin. Neurophysiol.* 122, 456–463. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.07.025>
- Chou, D.E., Gross, G.J., Casadei, C.H., Yugrakh, M.S., 2017. External Trigeminal Nerve Stimulation for the Acute Treatment of Migraine: Open-Label Trial on Safety and Efficacy. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* 2017. <https://doi.org/10.1111/ner.12623>
- Cieslik, E.C., Zilles, K., Caspers, S., Roski, C., Kellermann, T.S., Jakobs, O., Langner, R., Laird, A.R., Fox, P.T., Eickhoff, S.B., 2013. Is there one DLPFC in cognitive action control? Evidence for heterogeneity from Co-activation-based parcellation. *Cereb. Cortex* 23, 2677–2689. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs256>
- Couto, C., de Souza, I.C., Torres, I.L., Fregni, F., Caumo, W., 2014. Paraspinal stimulation combined with trigger point needling and needle rotation for the treatment of myofascial pain: a randomized sham-controlled clinical trial. *Clin J Pain* 30, 214–223. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e3182934b8d>
- Cummings, M., Baldry, P., 2007. Regional myofascial pain: diagnosis and management. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 21, 367–387. <https://doi.org/10.1016/j.berrh.2006.12.006>
- Da Graca-Tarragó, M., Deitos, A., Brietzke, A.P., Torres, I.L.S., Stefani, L.C., Fregni, F., Caumo, W., 2016. Electrical intramuscular stimulation in osteoarthritis enhances the inhibitory systems in pain processing at cortical and cortical spinal system. *Pain Med. (United States)* 17, 877–891. <https://doi.org/10.1111/pme.12930>
- da Silva, N.R.J., Laste, G., Deitos, A., Stefani, L.C., Cambraia-Canto, G., Torres, I.L.S., Brunoni, A.R., Fregni, F., Caumo, W., 2015. Combined neuromodulatory interventions in acute experimental pain: assessment of melatonin and non-

- invasive brain stimulation. *Front. Behav. Neurosci.* 9, 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00077>
- Dallery, J., Cassidy, R.N., Raiff, B.R., 2013. Single-Case Experimental Designs to Evaluate Novel Technology-Based Health Interventions. *J. Med. Internet Res.* 15, e22. <https://doi.org/10.2196/jmir.2227>
- DaSilva, A.F., DosSantos, M.F., 2012. The Role of Sensory Fiber Demography in Trigeminal and Postherpetic Neuralgias. *J. Dent. Res.* 91, 17–24.
<https://doi.org/10.1177/0022034511411300>
- Davis, K.D., Flor, H., Greely, H.T., Iannetti, G.D., MackKey, S., Ploner, M., Pustilnik, A., Tracey, I., Treede, R.D., Wager, T.D., 2017. Brain imaging tests for chronic pain: Medical, legal and ethical issues and recommendations. *Nat. Rev. Neurol.* 13, 624–638. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.122>
- Dayan, E., Censor, N., Buch, E.R., Sandrini, M., Cohen, L.G., 2013. Noninvasive brain stimulation: from physiology to network dynamics and back. *Nat. Neurosci.* 16, 838–844. <https://doi.org/10.1038/nn.3422>
- Elman, I., Borsook, D., 2016. Perspective Common Brain Mechanisms of Chronic Pain and Addiction. *Neuron* 89, 11–36.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.027>
- Ferrari, M., Quaresima, V., 2012. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *Neuroimage* 63, 921–935. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.03.049>
- Franceschini, M.A., Fantini, S., Thompson, J.H., Culver, J.P., Boas, D.A., 2003. Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiology* 40, 548–560.
<https://doi.org/10.1111/1469-8986.00057>
- Frangos, E., Ellrich, J., Komisaruk, B.R., 2015. Non-invasive Access to the Vagus Nerve Central Projections via Electrical Stimulation of the External Ear: fMRI Evidence in Humans. *Brain Stimul.* 8, 624–636.
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.11.018>
- Frangos, E., Komisaruk, B.R., 2016. Access to Vagal Projections via Cutaneous Electrical Stimulation of the Neck : fMRI Evidence in Healthy Humans. *Brain Stimul.* <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.10.008>
- Ge, H.Y., Fernández-de-las-Peñas, C., Arendt-Nielsen, L., 2006. Sympathetic facilitation of hyperalgesia evoked from myofascial tender and trigger points in patients with unilateral shoulder pain. *Clin. Neurophysiol.* 117, 1545–1550.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2006.03.026>
- Gillig, P.M., Sanders, R.D., 2010. Cranial nerves IX, X, XI, and XII. *Psychiatry (Edgemont)* 7, 37–41. <https://doi.org/10.1016/j.diii.2013.06.013>
- Hadjipavlou, G., Dunckley, P., Behrens, T.E., Tracey, I., 2006. Determining anatomical connectivities between cortical and brainstem pain processing regions in humans: A diffusion tensor imaging study in healthy controls. *Pain* 123, 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.02.027>
- Hu, S. Van, Caicedo, A., Bruley, D.F., Editors, D.K.H., 2014. Oxygen Transport to

Tissue XXXVI. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0620-8>

- Jang, S., Jang, W., Chang, P., Lee, S.-H., Jin, S.-H., Kim, Y., Yeo, S., 2014. Cortical activation change induced by neuromuscular electrical stimulation during hand movements: a functional NIRS study. *J. Neuroeng. Rehabil.* 11, 29. <https://doi.org/10.1186/1743-0003-11-29>
- Jensen, M.P., Day, M.A., Miró, J., 2014. Neuromodulatory treatments for chronic pain: Efficacy and mechanisms. *Nat. Rev. Neurol.* 10, 167–178. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.12>
- Jurcak, V., Tsuzuki, D., Dan, I., 2007. 10/20, 10/10, and 10/5 systems revisited: Their validity as relative head-surface-based positioning systems. *Neuroimage* 34, 1600–1611. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.09.024>
- Kim, T.-H., Lee, C.-R., Choi, T.-Y., Lee, M.S., 2012. Intramuscular stimulation therapy for healthcare: a systematic review of randomised controlled trials. *Acupunct. Med.* 30, 286–290. <https://doi.org/10.1136/acupmed-2012-010182>
- Koessler, L., Maillard, L., Benhadid, A., Vignal, J.P., Felblinger, J., Vespignani, H., Braun, M., 2009. Automated cortical projection of EEG sensors: Anatomical correlation via the international 10-10 system. *Neuroimage* 46, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.02.006>
- Kosek, E., Cohen, M., Baron, R., Gebhart, G.F., Mico, J., Rice, A.S.C., Rief, W., Sluka, A.K., 2016. Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states ? 157, 1382–1386.
- Kucyi, A., Davis, K.D., 2015. The dynamic pain connectome. *Trends Neurosci.* 38, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.11.006>
- Leite, J., Carvalho, S., Battistella, L.R., Caumo, W., Fregni, F., 2017. The Role of Primary Motor Cortex as a Marker for and Modulator of Pain Control and Emotional-Affective Processing. <https://doi.org/10.3389/978-2-88945-261-3>
- Liu, H.F., Won, H.S., Chung, I.H., Kim, I.B., Han, S.H., 2014. Morphological characteristics of the cranial root of the accessory nerve. *Clin. Anat.* 27, 1167–1173. <https://doi.org/10.1002/ca.22451>
- Lorenz, J., Minoshima, S., Casey, K.L., 2003. Keeping pain out of mind: The role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain* 126, 1079–1091. <https://doi.org/10.1093/brain/awg102>
- Melzack, R., 2001. Pain and the neuromatrix in the brain. *J. Dent. Educ.* 65, 1378–1382.
- Mitsi, V., Zachariou, V., 2017. Modulation of pain, nociception, and analgesia by the brain reward center. *Neurosci.* 2016 December 3; 338 81–92. 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.017>.
- Mitsuoka, K., Kikutani, T., Sato, I., 2017. Morphological relationship between the superior cervical ganglion and cervical nerves in Japanese cadaver donors. *Brain Behav.* 7, 1–9. <https://doi.org/10.1002/brb3.619>
- Navratilova, E., Porreca, F., 2014. Reward and motivation in pain and pain relief. *Nat. Publ. Gr.* 17, 1304–1312. <https://doi.org/10.1038/nn.3811>

- Niederhauser, B.D., Rosenbaum, B.P., Gore, J.C., Jarquin-Valdivia, A.A., 2008. A functional near-infrared spectroscopy study to detect activation of somatosensory cortex by peripheral nerve stimulation. *Neurocrit. Care* 9, 31–36. <https://doi.org/10.1007/s12028-007-9022-2>
- Nitsche, M.A., Paulus, W., 2000. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J. Physiol.* 527 Pt 3, 633–9. https://doi.org/PHY_1055 [pii]
- O’Connell, N.E., Wand, B.M., Marston, L., Spencer, S., Desouza, L.H., 2010. Non-invasive brain stimulation techniques for chronic pain. *Cochrane Database Syst. Rev.* 1–74. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008208.pub2>
- Ohara, P.T., Vit, J.P., Jasmin, L., 2005. Cortical modulation of pain. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 44–52. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4283-9>
- Owen, D.G., Clarke, C.F., Ganapathy, S., Prato, F.S., St. Lawrence, K.S., 2010. Using perfusion MRI to measure the dynamic changes in neural activation associated with tonic muscular pain. *Pain* 148, 375–386. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.10.003>
- Pagano, R.L., Fonoff, E.T., Dale, C.S., Ballester, G., Teixeira, M.J., Britto, L.R.G., 2012. Motor cortex stimulation inhibits thalamic sensory neurons and enhances activity of PAG neurons: Possible pathways for antinociception. *Pain* 153, 2359–2369. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.08.002>
- Phillips, A.A., Chan, F.H., Zheng, M.M.Z., Krassioukov, A. V, Ainslie, P.N., 2016. Neurovascular coupling in humans: Physiology, methodological advances and clinical implications. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 647–664. <https://doi.org/10.1177/0271678X15617954>
- Pitcher, J.B., Ridding, M.C., Miles, T.S., 2003. Frequency-dependent , bi-directional plasticity in motor cortex of human adults 114, 1265–1271. [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(03\)00092-0](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(03)00092-0)
- Ridding, M.C., Ziemann, U., 2010. Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. *J. Physiol.* 588, 2291–2304. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.190314>
- Rigo, J.C., Couto, C., Dalla-Corte, R.R., 2014. Cluster headache in an elderly patient treated with neurofunctional acupuncture a case report. *Acupunct. Relat. Ther.* 2, 39–42. <https://doi.org/10.1016/j.arthe.2014.02.002>
- Rizzo, V., Terranova, C., Crupi, D., Sant’Angelo, A., Girlanda, P., Quartarone, A., 2014. Increased transcranial direct current stimulation after effects during concurrent peripheral electrical nerve stimulation. *Brain Stimul.* 7, 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2013.10.002>
- Rossi, S., Hallett, M, Rossini PM, P.-L.A., 2009. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin. Neurophysiol.* 120, 2008–2039. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.08.016>.
- Sandkühler, J., 2000. Learning and memory in pain pathways. *Pain* 88, 113–118. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00424-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00424-3)

- Sankarasubramanian, V., Cunningham, D.A., Potter-Baker, K.A., Beall, E.B., Roelle, S.M., Varnerin, N.M., Machado, A.G., Jones, S.E., Lowe, M.J., Plow, E.B., 2017. Transcranial Direct Current Stimulation Targeting Primary Motor Versus Dorsolateral Prefrontal Cortices: Proof-of-Concept Study Investigating Functional Connectivity of Thalamocortical Networks Specific to Sensory-Affective Information Processing. *Brain Connect.* 7, 182–196. <https://doi.org/10.1089/brain.2016.0440>
- Scholkmann, F., Kleiser, S., Metz, A.J., Zimmermann, R., Mata Pavia, J., Wolf, U., Wolf, M., 2014. A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology. *Neuroimage* 85, 6–27. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.004>
- Shoja, M.M., Oyesiku, N.M., Shokouhi, G., Griessenauer, C.J., Chern, J.J., Rizk, E.B., Loukas, M., Miller, J.H., Tubbs, R.S., 2014. A comprehensive review with potential significance during skull base and neck operations, Part II: Glossopharyngeal, vagus, accessory, and hypoglossal nerves and cervical spinal nerves 1-4. *Clin. Anat.* 27, 131–144. <https://doi.org/10.1002/ca.22342>
- Son, B.C., Kim, D.R., Lee, S.W., 2013. Intractable occipital neuralgia caused by an entrapment in the semispinalis capitis. *J. Korean Neurosurg. Soc.* 54, 268–271. <https://doi.org/10.3340/jkns.2013.54.3.268>
- Tak, S., Ye, J.C., 2014. Statistical analysis of fNIRS data: A comprehensive review. *Neuroimage* 85, 72–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.06.016>
- Takeuchi, M., Hori, E., Takamoto, K., Tran, A.H., Satoru, K., Ishikawa, A., Ono, T., Endo, S., Nishijo, H., 2009. Brain cortical mapping by simultaneous recording of functional near infrared spectroscopy and electroencephalograms from the whole brain during right median nerve stimulation. *Brain Topogr.* 22, 197–214. <https://doi.org/10.1007/s10548-009-0109-2>
- Tanosaki, M., Hoshi, Y., Iguchi, Y., Oikawa, Y., Oda, I., Oda, M., 2001. Variation of temporal characteristics in human cerebral hemodynamic responses to electric median nerve stimulation: a near-infrared spectroscopic study. *Neurosci. Lett.* 316, 75–8.
- Tanosaki, M., Sato, C., Shimada, M., Iguchi, Y., Hoshi, Y., 2003. Effect of stimulus frequency on human cerebral hemodynamic responses to electric median nerve stimulation: A near-infrared spectroscopic study. *Neurosci. Lett.* 352, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.08.055>
- Tarragó, M. da G.L., Deitos, A., Brietzke, A.P., Vercelino, R., Torres, I.L.S., Fregni, F., Caumo, W., 2016. Descending Control of Nociceptive Processing in Knee Osteoarthritis Is Associated With Intracortical Disinhibition. *Medicine (Baltimore)*. 95, e3353. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003353>
- Thibaut, A., Russo, C., Morales-Quezada, L., Hurtado-Puerto, A., Deitos, A., Freedman, S., Carvalho, S., Fregni, F., 2017. Neural signature of tDCS, tPCS and their combination: Comparing the effects on neural plasticity. *Neurosci. Lett.* 637, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.026>
- Vasquez, A., Malavera, A., Doruk, D., Morales-Quezada, L., Carvalho, S., Leite, J., Fregni, F., 2016. Duration Dependent Effects of Transcranial Pulsed Current Stimulation (tPCS) Indexed by Electroencephalography. *Neuromodulation*

- Technol. Neural Interface 19, 679–688. <https://doi.org/10.1111/ner.12457>
- Vasquez, A.C., Thibaut, A., Morales-Quezada, L., Leite, J., Fregni, F., 2017. Patterns of brain oscillations across different electrode montages in transcranial pulsed current stimulation. *Neuroreport* 28, 421–425. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000772>
- Waki, H., Suzuki, T., Tanaka, Y., Tamai, H., Minakawa, Y., Miyazaki, S., Yoshida, N., Uebaba, K., Imai, K., Hisajima, T., 2017. Effects of electroacupuncture to the trigeminal nerve area on the autonomic nervous system and cerebral blood flow in the prefrontal cortex. *Acupunct. Med.* 35, 339–344. <https://doi.org/10.1136/acupmed-2016-011247>
- Wiech, K., Ploner, M., Tracey, I., 2008. Neurocognitive aspects of pain perception. *Trends Cogn. Sci.* 12, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2008.05.005>
- Woods, A.J., Antal, A., Bikson, M., Boggio, P.S., Brunoni, A.R., Celnik, P., Cohen, L.G., Fregni, F., Herrmann, C.S., Kappenman, E.S., Knotkova, H., Liebetanz, D., Miniussi, C., Miranda, P.C., Paulus, W., Priori, A., Reato, D., Stagg, C., Wenderoth, N., Nitsche, M.A., 2016. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin. Neurophysiol.* 127, 1031–1048. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>
- Yaksh, T.L., Luo, Z.D., 2006. *Anatomy of the Pain Processing System, Second Edition, Pain Management*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-0334-6.50006-6>
- Yakunina, N., Kim, S.S., Nam, E.-C., 2017. Optimization of Transcutaneous Vagus Nerve Stimulation Using Functional MRI. *Neuromodulation Technol. Neural Interface* 20, 290–300. <https://doi.org/10.1111/ner.12541>
- Yücel, M.A., Aasted, C.M., Petkov, M.P., Borsook, D., Boas, D.A., Becerra, L., 2015. Specificity of Hemodynamic Brain Responses to Painful Stimuli: A functional near-infrared spectroscopy study. *Sci. Rep.* 5, 9469. <https://doi.org/10.1038/srep09469>
- Zhang, R., Lao, L., Ren, K., Berman, B.M., 2014. Mechanisms of Acupuncture–Electroacupuncture on Persistent Pain. *Anesthesiology* 120, 482–503. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000101>

Figure 1 – Flow diagram

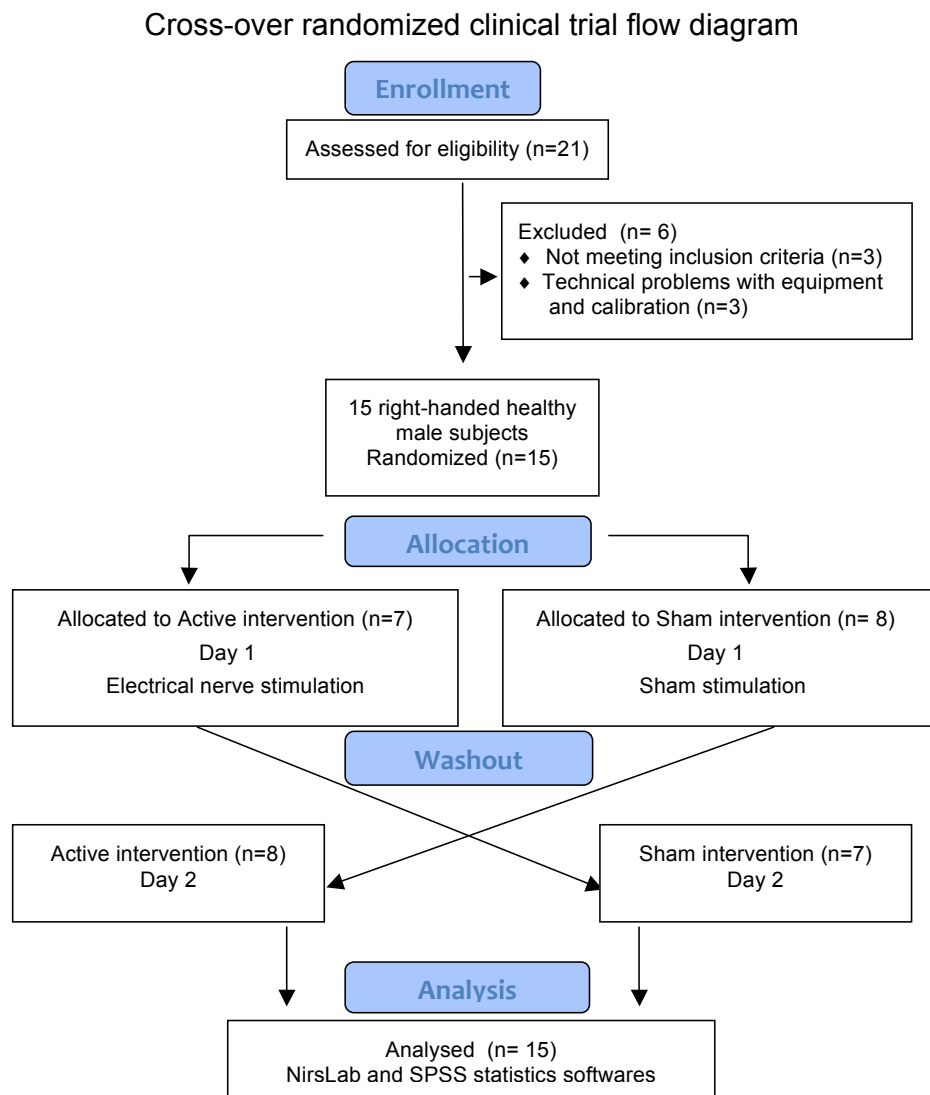


Figure 2 – Cap montage. Sources (red), detectors (blue), in correspondence with 10/10 EEG systems. Channels formed are in yellow bar. DLPFC and Motor areas are shown separately.

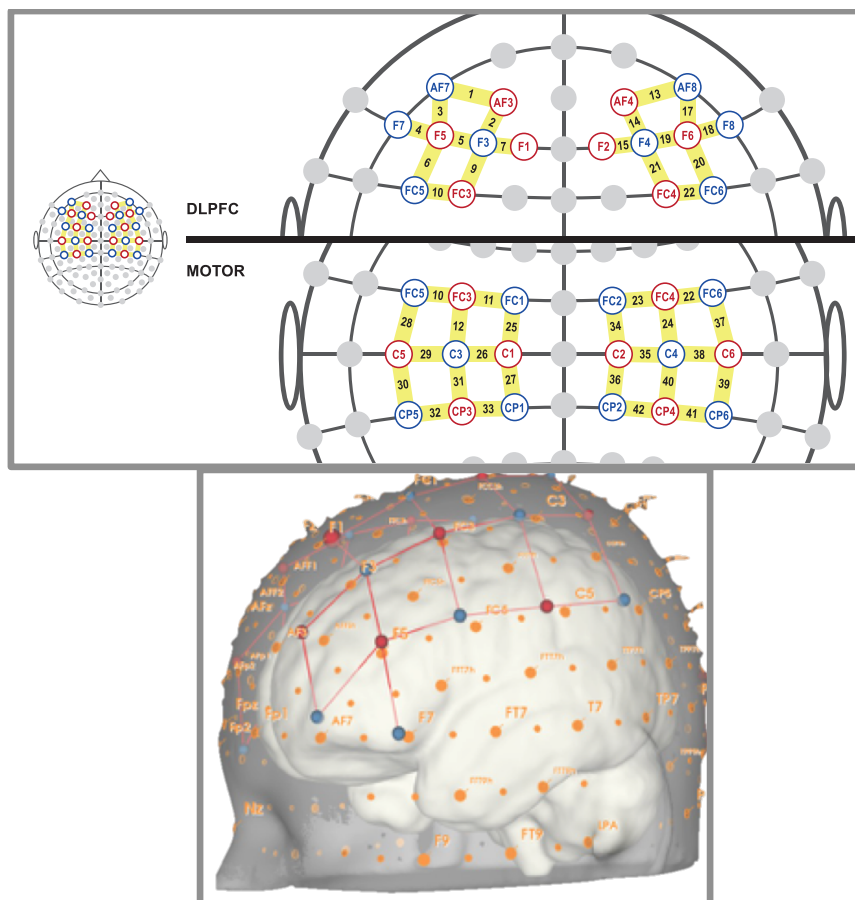
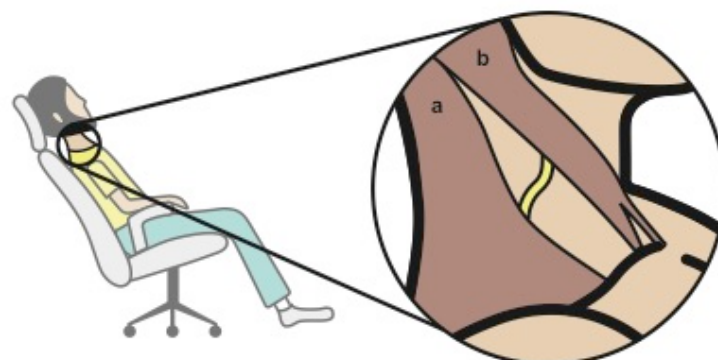
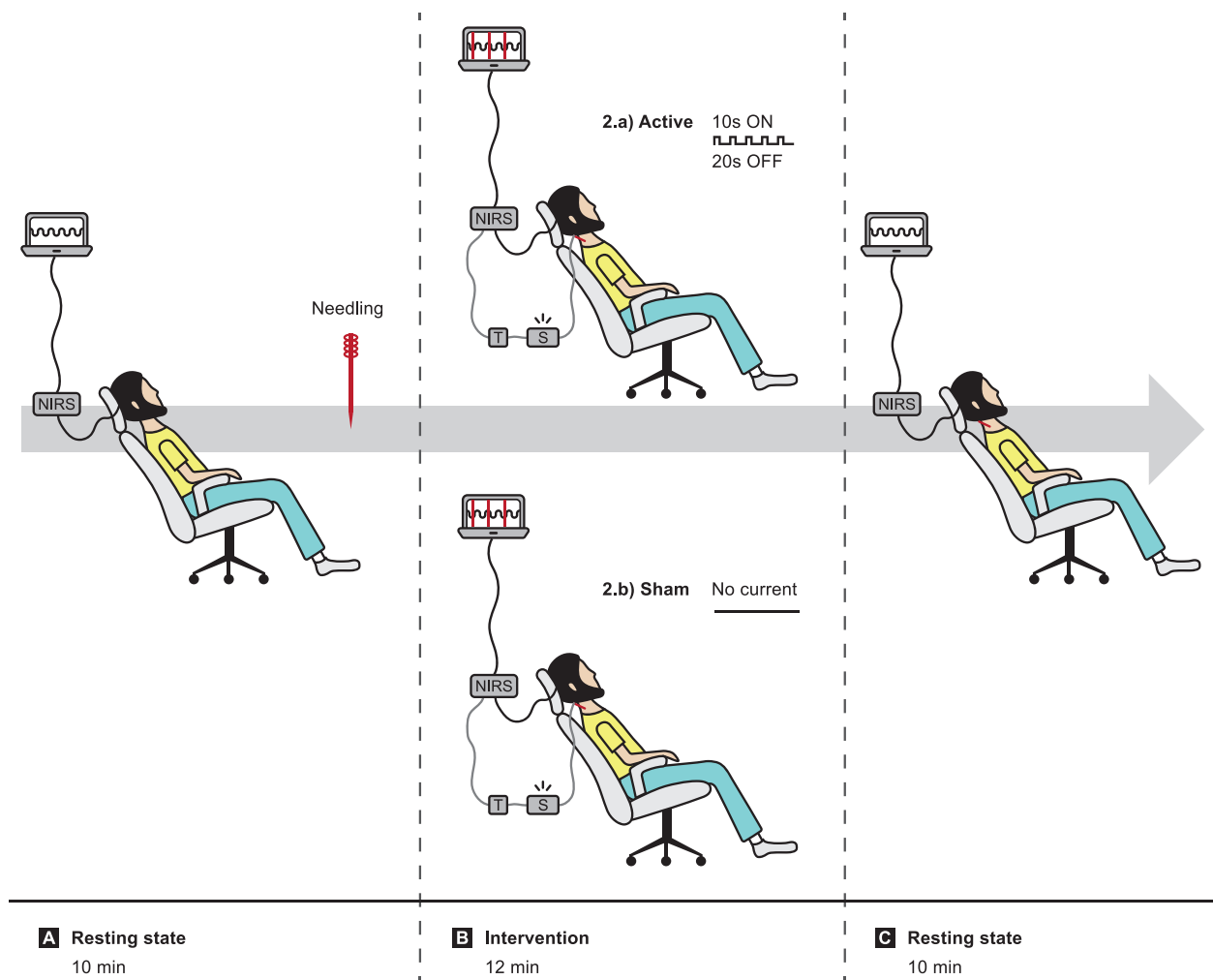


Figure 3 – Experiment layout



a) Trapezius muscle; b) sternocleidomastoid muscle; yellow trace, accessory spinal nerve

Table 1. Approximate anatomical correlation of international 10/10 EEG system and cortical gyrus (n=40 channels).

DLPFC		
<i>10/10 system</i>	<i>10/10 system</i>	<i>Cortical lobe (gyrus) - Brodmann area</i>
AF3 - AF7	AF4 - AF8	superior frontal BA 9 - middle frontal BA 10
AF3 - F3	AF4 - F4	superior frontal BA 9 - middle frontal BA 8
F5 - AF7	F6 - AF8	middle frontal BA 46 - middle frontal BA 10
F5 - F7	F6 - F8	middle frontal BA 46 - inferior frontal BA 45
F5 - F3	F6 - F4	middle frontal BA 46 - middle frontal BA 8
F5 - FC5	F6 - FC6	middle frontal BA 46 - precentral frontal BA 6
F1 - F3	F2 - F4	superior frontal BA 6 - middle frontal BA 8
FC3 - F3	FC4 - F4	middle frontal BA 6 - middle frontal BA 8
FC3 - FC5	FC4 - FC6	middle frontal BA 6 - precentral frontal BA 6
MOTOR		
<i>10/10 system</i>	<i>10/10 system</i>	<i>Cortical lobe (gyrus) - Brodmann area</i>
FC3 - FC5	FC4 - FC6	middle frontal BA 6 - precentral frontal BA 6
FC3 - FC1	FC4 - FC2	middle frontal BA 6 - superior frontal BA 6
FC3 - C3	FC4 - C4	middle frontal BA 6 - postcentral parietal BA 123
C1 - FC1	C2 - FC2	precentral frontal BA 4 - superior frontal BA 6
C1 - C3	C2 - C4	precentral frontal BA 4 - postcentral parietal BA 123
C1 - CP1	C2 - CP2	precentral frontal BA 4 - postcentral parietal BA 7
C5 - FC5	C6 - FC6	postcentral parietal BA 123 - precentral frontal BA 6
C5 - C3	C6 - C4	postcentral parietal BA 123 - postcentral parietal BA 123
C5 - CP5	C6 - CP6	postcentral parietal BA 123 - supramarginal parietal BA 40
CP3 - C3	CP4 - C4	Inferior parietal BA 40 - postcentral parietal BA 123
CP3 - CP5	CP4 - CP6	inferior parietal BA 40 - supramarginal parietal BA 40
CP3 - CP1	CP4 - CP2	inferior parietal BA 40 - postcentral parietal BA 7

Adapted from: Koessler et al. / *NeuroImage* 46 (2009) 64–72

Table 2. Demographic characteristics between groups at baseline (n=15).

	Active (n=7)	Sham (n=8)	<i>p-value</i>
Age (years)	36 (2.64)	32.75 (3.23)	0.458
Education (years)	19.43 (1.92)	19.5 (0.96)	0.973
Body Mass Index - BMI	26.6 (1.28)	24.1 (1.26)	0.186
Alcohol consumption (\leq 1week)	6/7	6/8	-
Caffeine intake before intervention (h)	> 6	> 6	-
State-Anxiety Inventory (STAI)	22 (2.49)	19.75 (1.28)	0.420
Trait-Anxiety Inventory (STAI)	18.14 (1.45)	17.87 (1.29)	0.892
Beck Depression Inventory (BDI-II)	4.86 (1.62)	2.25 (1.05)	0.190
Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)	4.29 (0.86)	3 (0.75)	0.281

Comparisons using Student T-test for independent samples. Results are presented in mean and standard error.

Table 3. Relation of HbO hemodynamic changes on CAI between intervention groups (n=15).

Dependent Variable		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	Partial Eta Squared
Left DLPFC	Corrected Model	1.587 10 ⁻⁹ (a)	1	1.587 10 ⁻⁹	0.266	0.610	0.009
Right DLPFC		3.455 10 ⁻⁸ (b)	1	3.455 10 ⁻⁸	5.572	0.025	0.166
Left Motor		5.001 10 ⁻⁸ (c)	1	5.001 10 ⁻⁸	4.542	0.042	0.140
Right Motor		1.076 10 ⁻⁸ (d)	1	1.076 10 ⁻⁸	1.943	0.174	0.065
Left DLPFC	Intercept	2.018 10 ⁻⁸	1	2.018 10 ⁻⁸	3.382	0.077	0.108
Right DLPFC		2.131 10 ⁻⁸	1	2.131 10 ⁻⁸	3.437	0.074	0.109
Left Motor		2.510 10 ⁻⁸	1	2.510 10 ⁻⁸	2.280	0.142	0.075
Right Motor		3.190 10 ⁻⁸	1	3.190 10 ⁻⁸	5.763	0.023	0.171
Left DLPFC	Group 1	1.587 10 ⁻⁹	1	1.587 10 ⁻⁹	0.266	0.610	0.009
Right DLPFC		3.455 10 ⁻⁸	1	3.455 10 ⁻⁸	5.572	0.025	0.166
Left Motor		5.001 10 ⁻⁸	1	5.001 10 ⁻⁸	4.542	0.042	0.140
Right Motor		1.076 10 ⁻⁸	1	1.076 10 ⁻⁸	1.943	0.174	0.065

Univariate Tests: F tests the effect based on linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means. Test of Between-Subjects Effects; Multivariate Tests Observed Power = 1,0. (a)R Squared = .009 (Adjusted R Squared = -.026); (b)R Squared = .166 (Adjusted R Squared = .136); (c)R Squared = .140 (Adjusted R Squared = .109); (d)R Squared = .065 (Adjusted R Squared = .031).

Figure 4. Activation of Dorsolateral Prefrontal Cortex between groups (n=15).

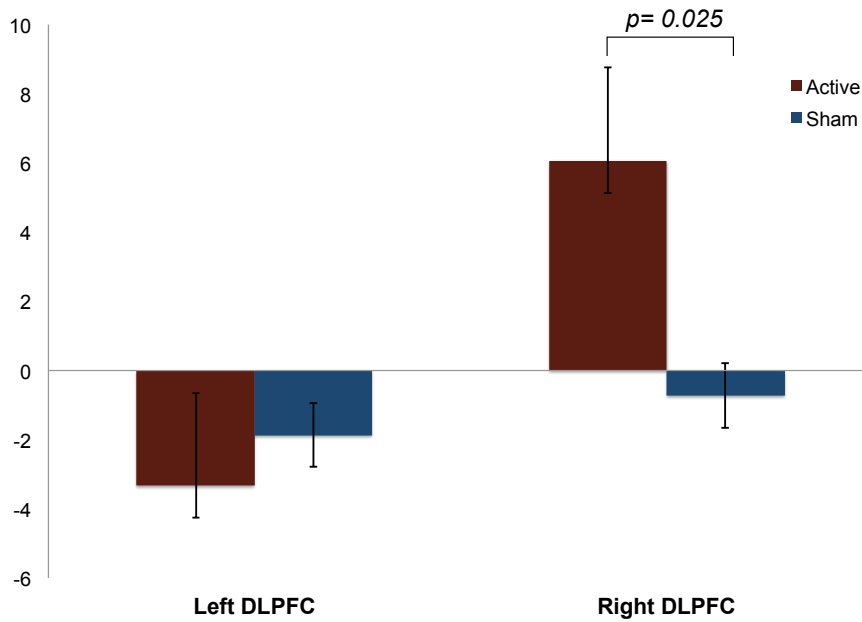


Figure 4. Comparison of DLPFC activation between active and sham groups. Bars indicate the mean and the standard error of the mean (SEM). The p-value indicates the difference of right DLPFC activation in active compared to sham group. All comparisons were performed by a GEE model, followed by the Bonferroni correction for post hoc multiple comparisons.

Figure 5. Activation of Motor Cortex between groups (n=15).

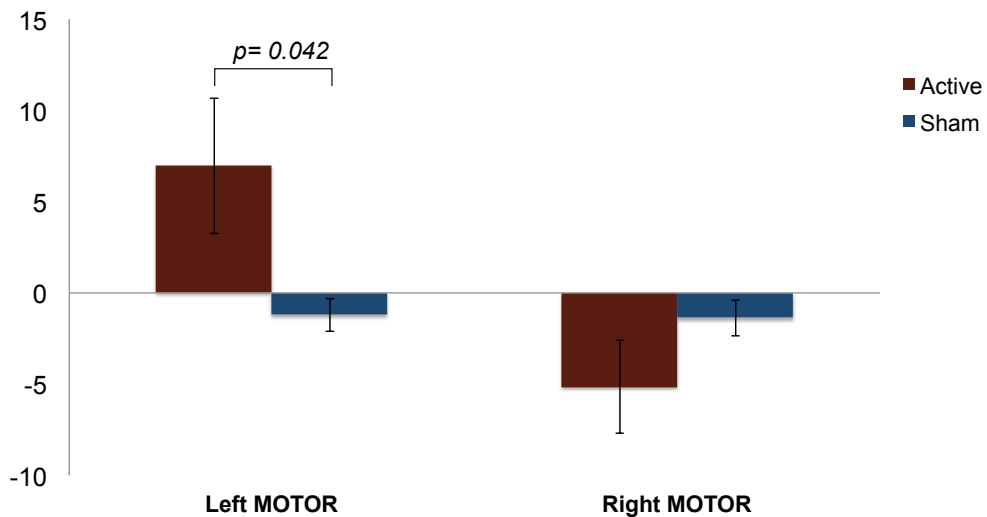


Figure 5. Comparison of MOTOR activation between active and sham groups. Bars indicate the mean and the standard error of the mean (SEM). The p-value indicates the difference of left MOTOR activation in active compared to sham group. All comparisons were performed by a GEE model, followed by the Bonferroni correction for post hoc multiple comparisons.

Figure 6. HbO changes representation in each channel between groups (n=40).

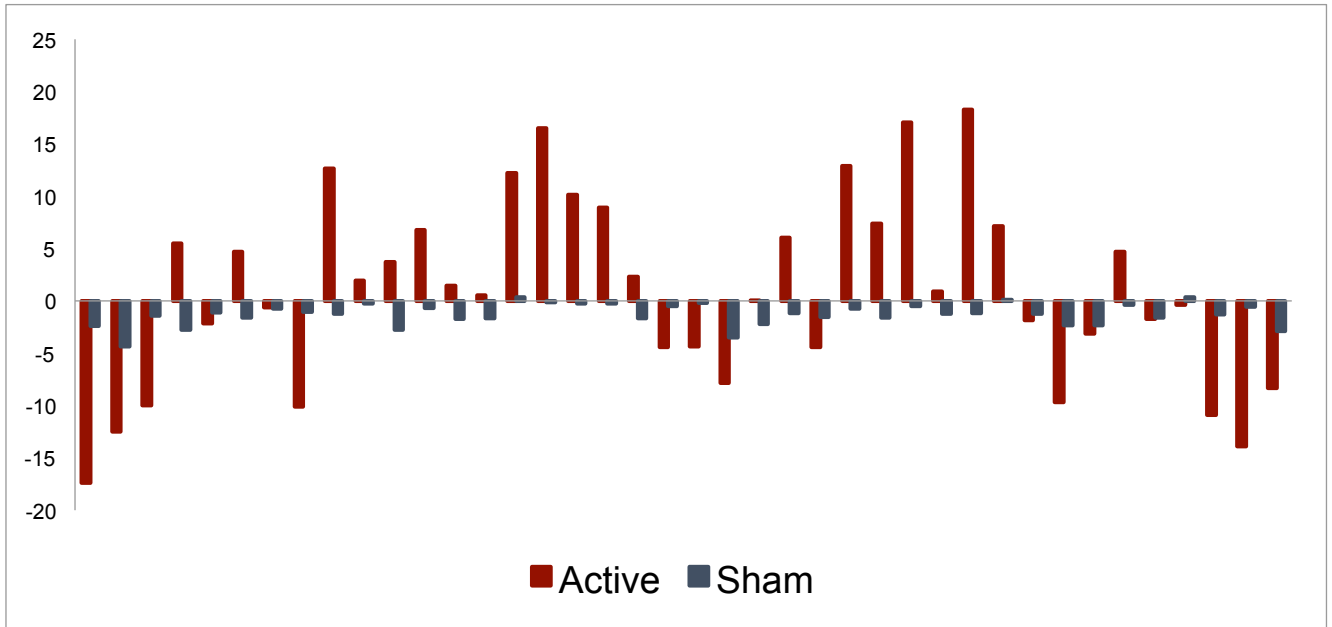
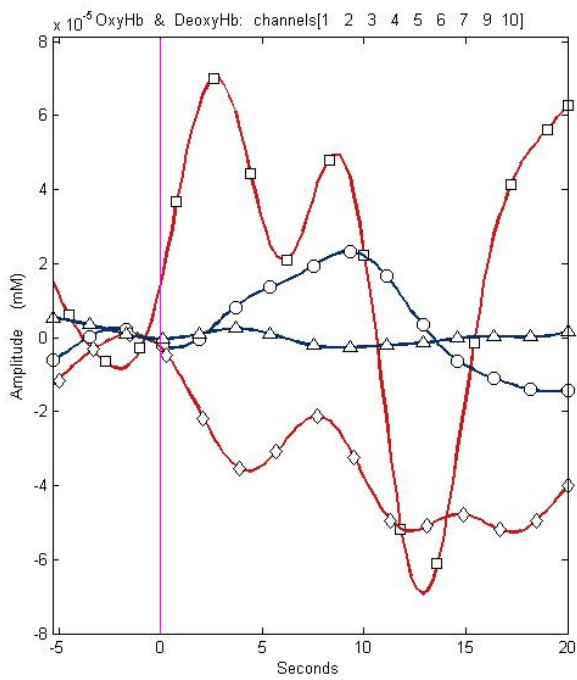
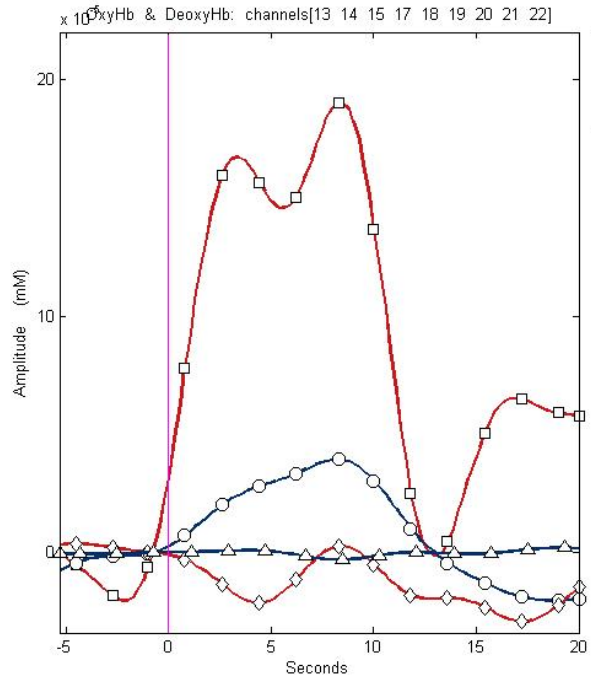


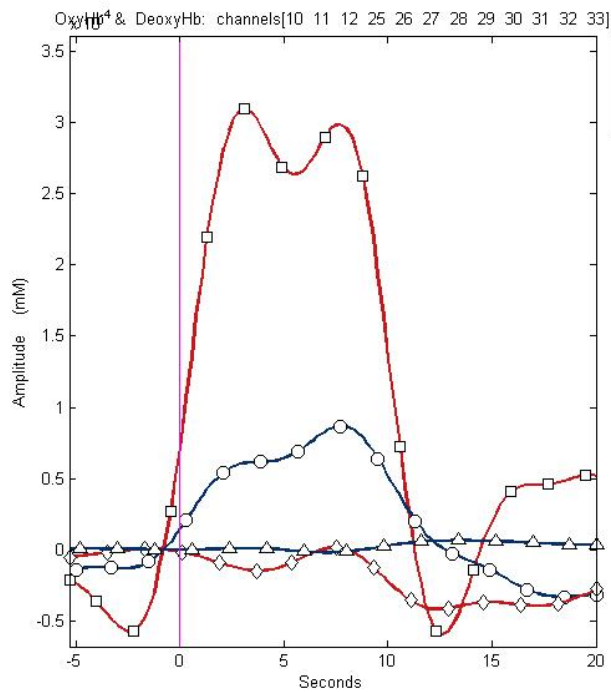
Figure 7. HbO and HbR mean curves of active and sham groups for each CAI.



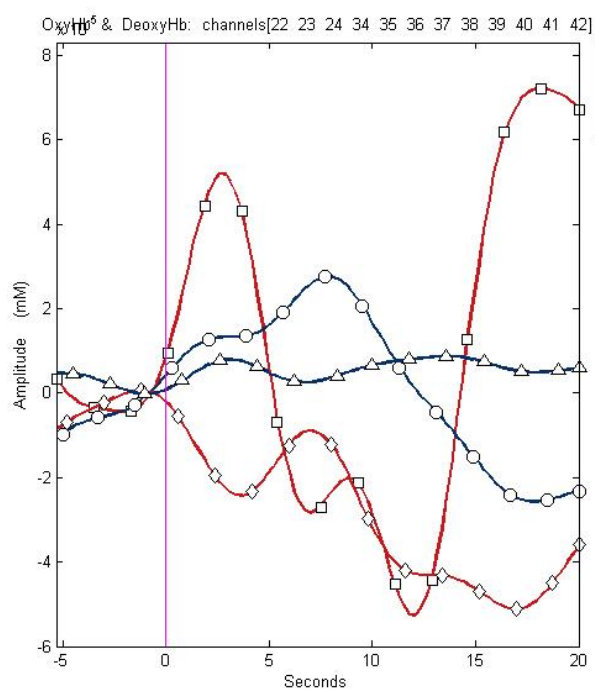
Left – DLPFC



Right – DLPFC



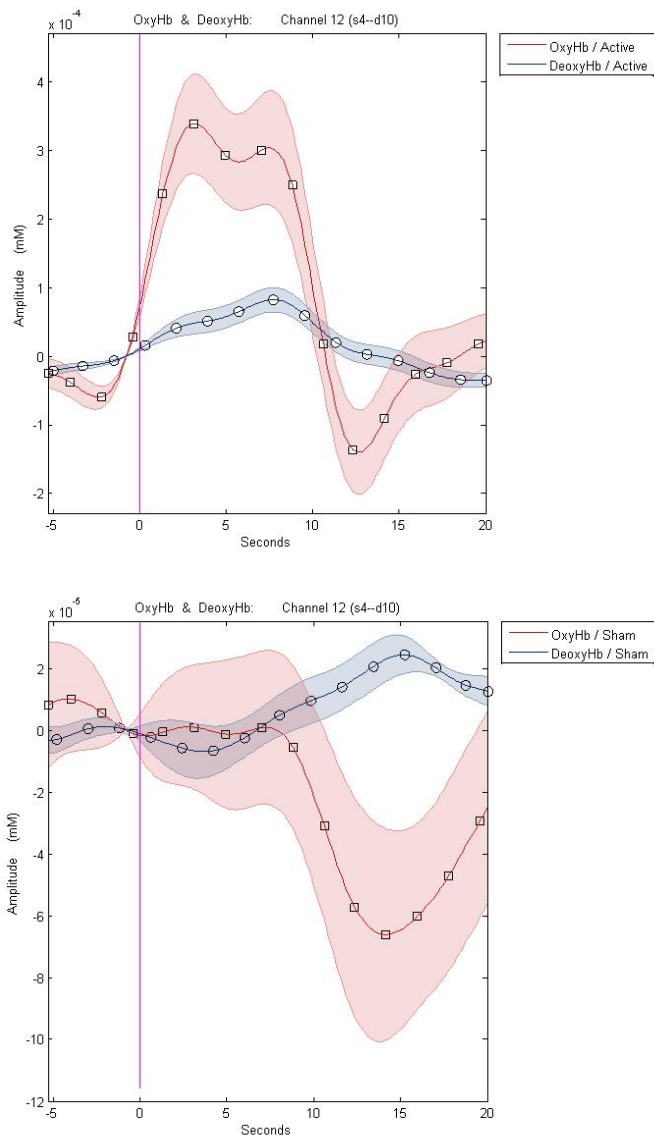
Left – MOTOR



Right – MOTOR

■ OxiHb / stim / active
 ○ DeoxiHb / stim / active
 ◇ OxiHb / stim / sham
 △ DeoxiHb / stim / sham

Figure 8. HbO and HbR mean curves of active and sham groups in one channel with standard error shadows (channel 12).



8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eletroestimulação aplicada nos tecidos periféricos, conhecida como *bottom-up*, e a aplicada a nível central, denominada *top-down*, são técnicas não-farmacológicas utilizadas na reabilitação e no tratamento da dor. Procurando contribuir com este tópico de grande relevância clínica, este estudo foi delineado para investigar a resposta fisiológica cerebral da eletroestimulação unilateral do nervo acessório espinal, baseado nos conhecimentos neuroanatômicos e neurofisiológicos disponíveis, utilizando a espectroscopia por infravermelho. Foi demonstrado ativação do córtex pré-frontal dorsolateral e sensorio-motor, áreas relacionados ao processamento da dor a nível central. Estes achados estão de acordo com o conceito da neuromatriz da dor e seus componentes, proposto por Melzack, onde o componente afetivo-motivacional e cognitivo-comportamental da dor está relacionado aos circuitos ligados ao DLPFC, enquanto o aspecto sensório-discriminativo está relacionado ao córtex sensorio-motor. Ademais, a modulação destas áreas promove ativação de circuitos intracorticais e infracorticais, passando pelo tálamo e incluindo a ativação do sistema inibitório descendente de dor. Modernamente, o modelo atual de redes neurais denominado conectoma cerebral dinâmico tem sido proposto, uma vez que parece abranger de forma mais integrada os processamentos neurais fisiopatológicos subjacentes ao espectro de manifestações clínicas que acompanham a experiência da dor.

A possibilidade de estimular áreas cerebrais nobres como o córtex pré-frontal dorsolateral e sensorio-motor com eletroestimulação de nervo craniocervical pela via *bottom-up* em sujeitos saudáveis abre possibilidades para novas pesquisas direcionadas ao tratamento de pacientes com dor.

Esta pesquisa foi apoiada e fomentada pelas seguintes instituições: Grupo de Pesquisa e Neuromodulação HCPA/CNPq (subárea 2.10.08.00-0) e Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Centro de Pesquisa Clínica e Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Os autores declaram não ter conflito de interesse.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesquisa na área da neuromodulação tem demonstrado resultados promissores para aplicação clínica. Grande parte da população sofre ou já sofreu algum tipo de dor musculoesquelética, condição que não costuma responder de forma adequada à prescrição isolada de medicamentos. Por sua vez, a estimulação elétrica periférica, através de técnicas variadas com resultados diversos, possui baixo custo, maior abrangência e facilidade de acesso, possivelmente com menor incidência de efeitos colaterais e melhor resposta clínica.

Ao avaliar a variabilidade hemodinâmica cortical imediata ao estímulo elétrico aplicado na periferia, este estudo restringe-se ao aspecto fisiológico temporal, sem avaliar as prováveis contra-respostas das redes neurais ao estímulo, na sequência temporal. A literatura mostra dados heterogêneos sobre o que acontece após as estimulações periféricas. São necessários estudos que avaliem a resposta ao longo do tempo que possam mostrar possíveis desativações e ativações de outras áreas, como consequência da reorganização dos circuitos neuronais. Ainda mais importante seria determinar se estes efeitos neuromodulatórios se manteriam a longo prazo e quais manifestações clínicas poderiam ser observadas. Desta forma, ensaios clínicos devem ser conduzidos para observar se o racional teórico deste estudo se reflete em melhor resposta no controle da dor e na qualidade de vida dos pacientes com dor crônica.

10. ANEXOS OU APÊNDICES

Registros:

Plataforma Brasil CAAE: 54489816.3.0000.5327

GPPG: 16-0191

CEP: Parecer 2.263.049

Clinical Trials: NCT 03295370

10.1. CONSORT 2010 checklist of information

10.2. Termo de Consentimento Livre e esclarecido - TCLE

10.3. Curvas de médias de HbO e HbR ativo e sham por canal, em sequência

10.1. CONSORT 2010 checklist of information

Section/Topic	Item	Checklist item	Reported on page
Title and abstract			
	1a	Identification as a randomized trial in the title	51
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	51
Introduction			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	52
	2b	Specific objectives or hypotheses	53
Methods			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	54
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	NA
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	54
	4b	Settings and locations where the data were collected	54
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	55
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	55
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	NA
Sample size	7a	How sample size was determined	NA
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	NA
Randomization			
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	54
	8b	Type of randomization; details of any restriction (such as blocking and block size)	54
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	NA
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	NA

Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those assessing outcomes) and how	NA
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	NA
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	57
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	57
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analyzed for the primary outcome	58
	13b	For each group, losses and exclusions after randomization, together with reasons	58
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	NA
	14b	Why the trial ended or was stopped	
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	58
Numbers analyzed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	58
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	58
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	NA
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	58
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	NA
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	65
Generalizability	21	Generalizability (external validity, applicability) of the trial findings	60
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	60

Other information

Registration	23	Registration number and name of trial registry	54
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	NA
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	67

10.2. Termo de Consentimento Livre e esclarecido - TCLE

Nº do projeto GPPG ou CAAE: 54489816.3.0000.5327

Título: Efeito da Estimulação Elétrica do Nervo Acessório na Ativação Cortical, Perfusão Muscular Local e Resposta Autonômica em Sujeitos Saudáveis: Ensaio Clínico Randomizado, Cruzado Controlado com Sham

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo é estudar os efeitos do uso da eletroacupuntura em indivíduos saudáveis.

Esta pesquisa está sendo realizada pelo Laboratório de Dor & Neuromodulação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Se você aceitar participar da pesquisa, NÃO deverá ter tomado café, chá preto ou outra substância estimulante no dia do experimento (pelo menos 6 horas antes), nem estar usando medicamentos analgésicos e antiinflamatórios por 12 horas antes do experimento (24h para os de liberação prolongada). Todos os procedimentos durarão aproximadamente cerca de 3 horas (dia 1), seguidos por 1 semana de intervalo no mínimo, com mais uma avaliação semelhante de 3 horas (dia 2). Todos os passos serão realizados em sala apropriada e tranquila, onde você permanecerá acordado e sentado em uma poltrona confortável. O procedimento será realizado por um médico adequadamente treinado, e as avaliações serão feitas pela equipe treinada do Grupo de Pesquisa. Será necessário coletar duas amostras de sangue a cada dia, uma no início e outra após a avaliação. As amostras serão utilizadas somente para avaliar uma substância no sangue que está relacionada ao estudo da dor. Se você concordar em participar, a ordem das etapas ocorrerá da seguinte forma:

1. Primeiro dia do estudo: Você irá responder várias perguntas no primeiro dia do estudo, em forma de questionários sobre onde vive, dor, sono, humor e atividade diária.
2. Coleta da amostra de sangue.
3. Avaliação da sua resposta autonômica (como seu corpo está regulado) através de um monitor multiparâmetros, que vai medir sua frequência cardíaca, pressão arterial e circulação sanguínea na ponta do dedo indicador; sua atividade cerebral (se os seus neurônios estão apresentando atividade aumentada ou diminuída) através de uma touca acoplada a um aparelho chamado Espectroscopia por infravermelho (fNIRS), e a um colete ou adesivo que medirá sua circulação sanguínea na área do tórax. O NIRS é um equipamento que emite um tipo de luz que é refletida pelo seu corpo e captada por um detector que envia os dados para o computador.
4. Será realizado um procedimento de agulhamento com aplicação de estímulo elétrico na região cervical (pescoço), que poderá causar contrações musculares involuntárias. Uma parte dos voluntários realizará o procedimento SHAM, isto é, aplicação controle, após sorteio. As medidas serão coletadas antes, durante e após o procedimento, por cerca de 40 min.
5. Você irá responder mais algumas perguntas e coletar nova amostra de sangue. Fim do primeiro dia do estudo.

Se você tiver dúvidas sobre o procedimento realizado ou o que você pode sentir depois que voltar às suas atividades, você poderá perguntar para o médico que executou o procedimento, a qualquer momento.

Para a segunda parte do estudo, é necessário um intervalo de uma semana no mínimo.

6. Segundo dia do estudo: responder algumas perguntas e coletar amostra de sangue.

7. Mesmos procedimentos do passo 3 e 4: medida da frequência cardíaca, pressão arterial, circulação sanguínea na ponta do dedo indicador, circulação sanguínea na área do tórax e atividade cerebral através da touca do NIRS. Procedimento de agulhamento com aplicação de estímulo elétrico na região cervical (pescoço), que poderá causar contrações musculares involuntárias. Uma parte dos voluntários realizará o procedimento SHAM, isto é, aplicação controle.
8. Você irá responder mais algumas perguntas e coletar nova amostra de sangue. Fim do estudo. Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são a coleta de sangue, que poderá causar uma mancha escura no local da picada da agulha em seu braço ou um dolorimento local, desaparecendo após alguns dias. Durante a avaliação com o NIRS, você pode sentir desconforto pela posição dos optodos (canais de leitura e emissão da luz), na cabeça e no tórax. Você também poderá apresentar leve dor de cabeça, sono, enjôo, tontura leve ou dor na nuca após o procedimento, bem como alergias cutâneas e irritações locais na cabeça e no tórax, decorrentes do posicionamento dos equipamentos. No procedimento de agulhamento com eletroestimulação, pode haver desconforto no momento da introdução da agulha e da estimulação com possível resposta contrátil vigorosa do músculo, que pode ser desconfortável mas indolor. Este estímulo ocorrerá em intervalos de tempo pré-determinados. Você poderá sentir um pouco de formigamento e poderá haver um pequeno hematoma, sem repercussão importante. Você estará sentado confortavelmente para evitar relaxamento excessivo e sensação de desmaio. O procedimento será realizado por médico capacitado e com conhecimento para resolver os possíveis efeitos não-desejados, que serão devidamente registrados, se houverem.

Os possíveis benefícios decorrentes da sua participação na pesquisa podem ser dados pelo procedimento de agulhamento, que pode promover uma sensação de relaxamento e bem-estar, com possível ação de melhora do stress, do sono e de regulação de todo o organismo. São estes efeitos que este estudo quer demonstrar, pois são observados clinicamente em pacientes com queixas de dor, tensão e stress.

Sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não participar, ou ainda, desistir de participar e retirar seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que você recebe ou possa vir a receber na instituição, bem como na sua avaliação curricular, caso seja vinculado à alguma instituição de ensino.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela sua participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos, porém, poderá ser ressarcido por despesas decorrentes de sua participação (ex.: despesas de transporte e alimentação), cujos custos serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante de sua participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, o seu nome não aparecerá na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Professor Wolnei Caumo, pelo telefone 3359-6377, com o pesquisador Janete Shatkoski Bandeira, pelo telefone 3386-3284 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 3359-7640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

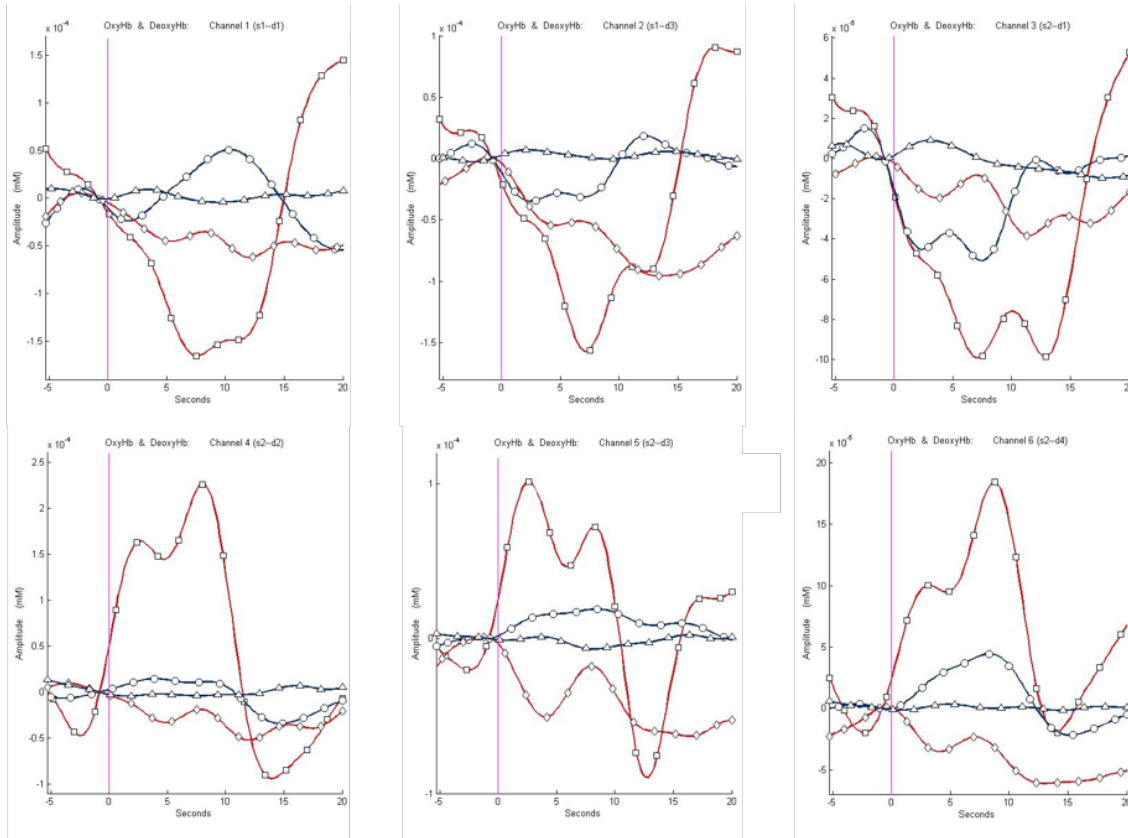
Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

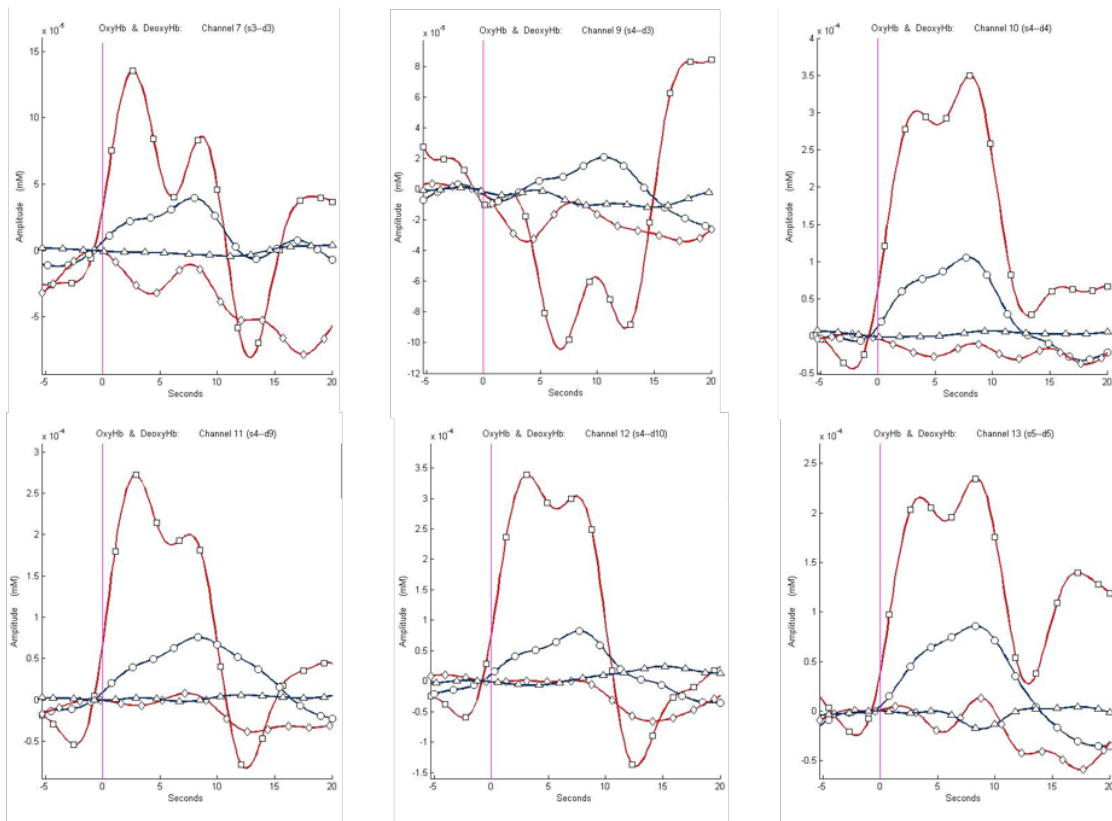
Assinatura

Local e data

Anexo 10.3. Curvas de médias de HbO e HbR ativo e sham por canal, em sequência

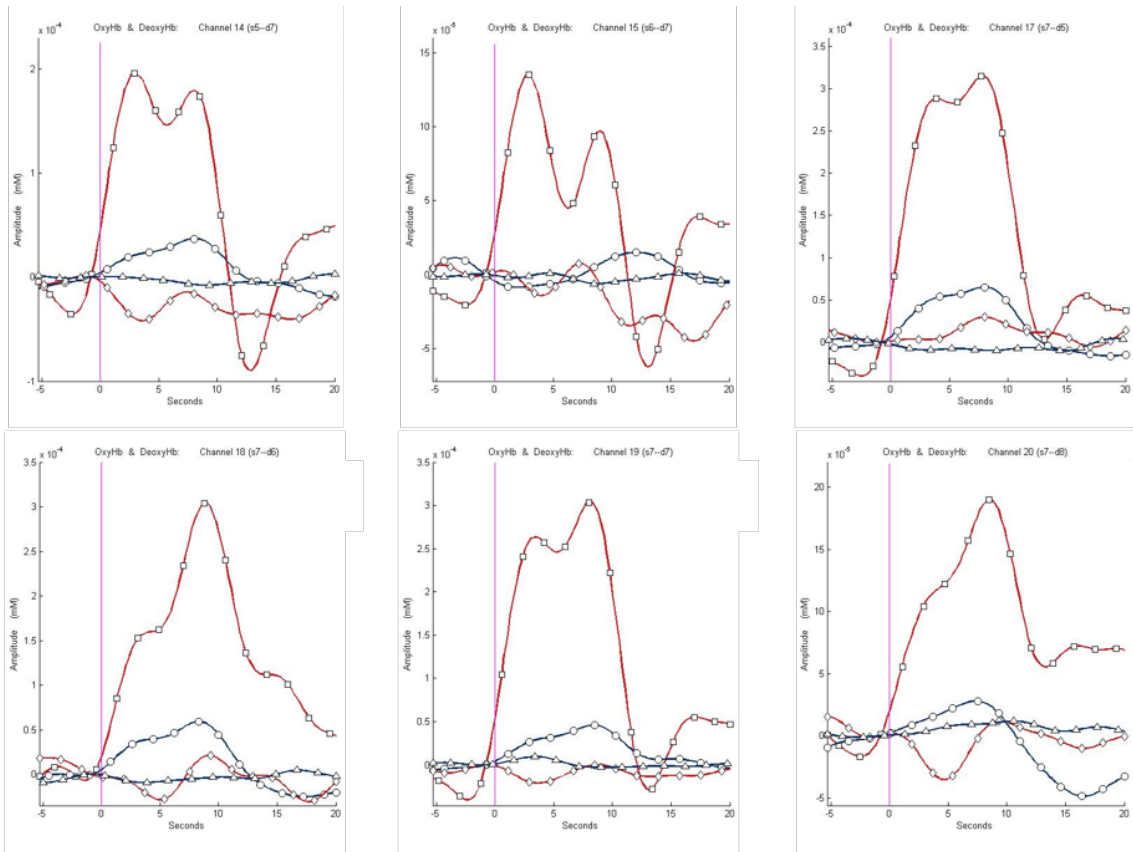


—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxyHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxyHb / stim / sham

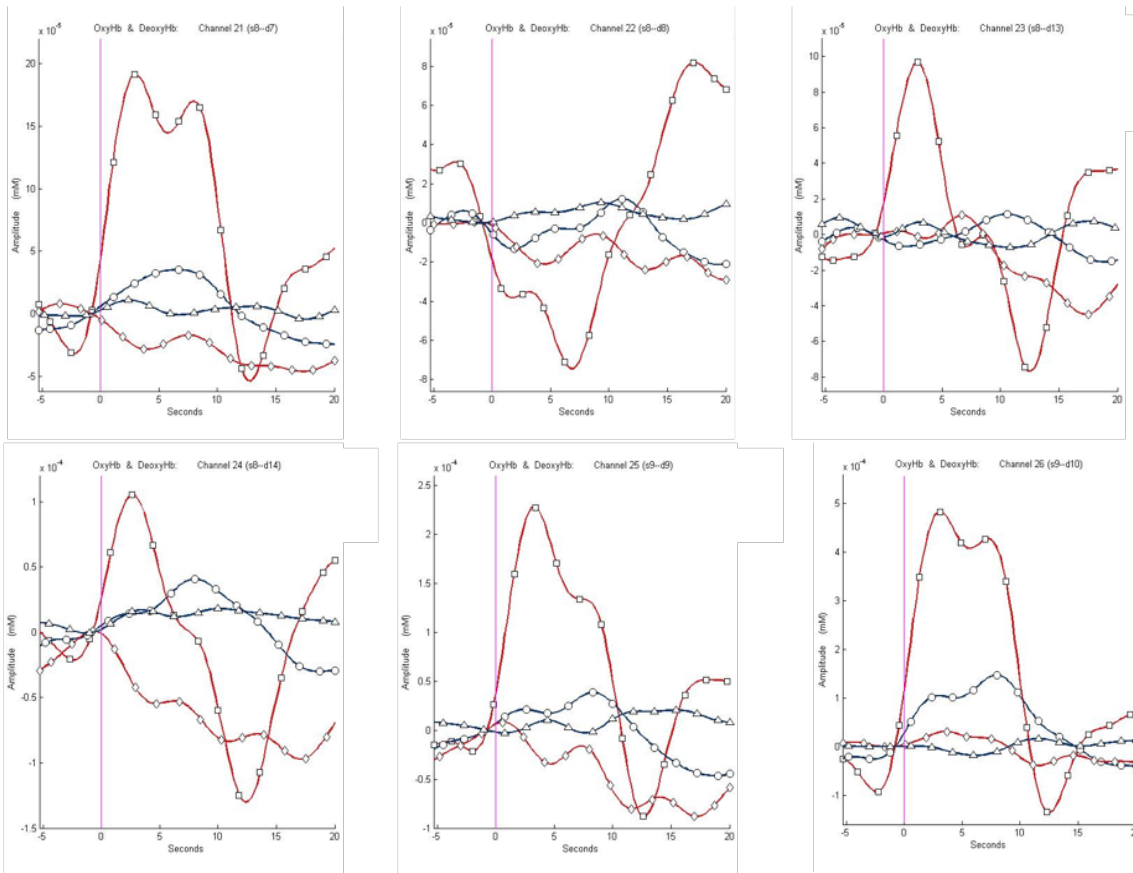


—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxyHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxyHb / stim / sham

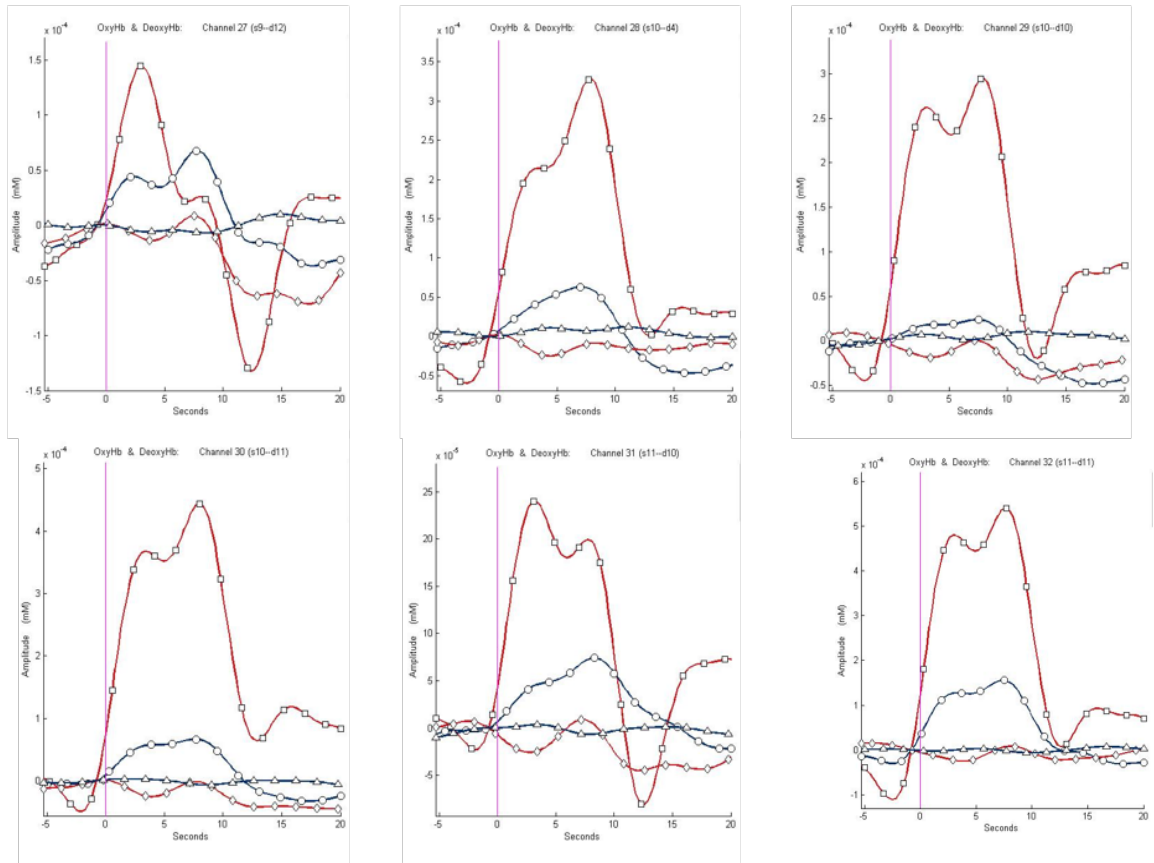
Mapeamento metabólico cortical por espectroscopia funcional em sujeitos saudáveis submetidos a estimulação elétrica do nervo acessório



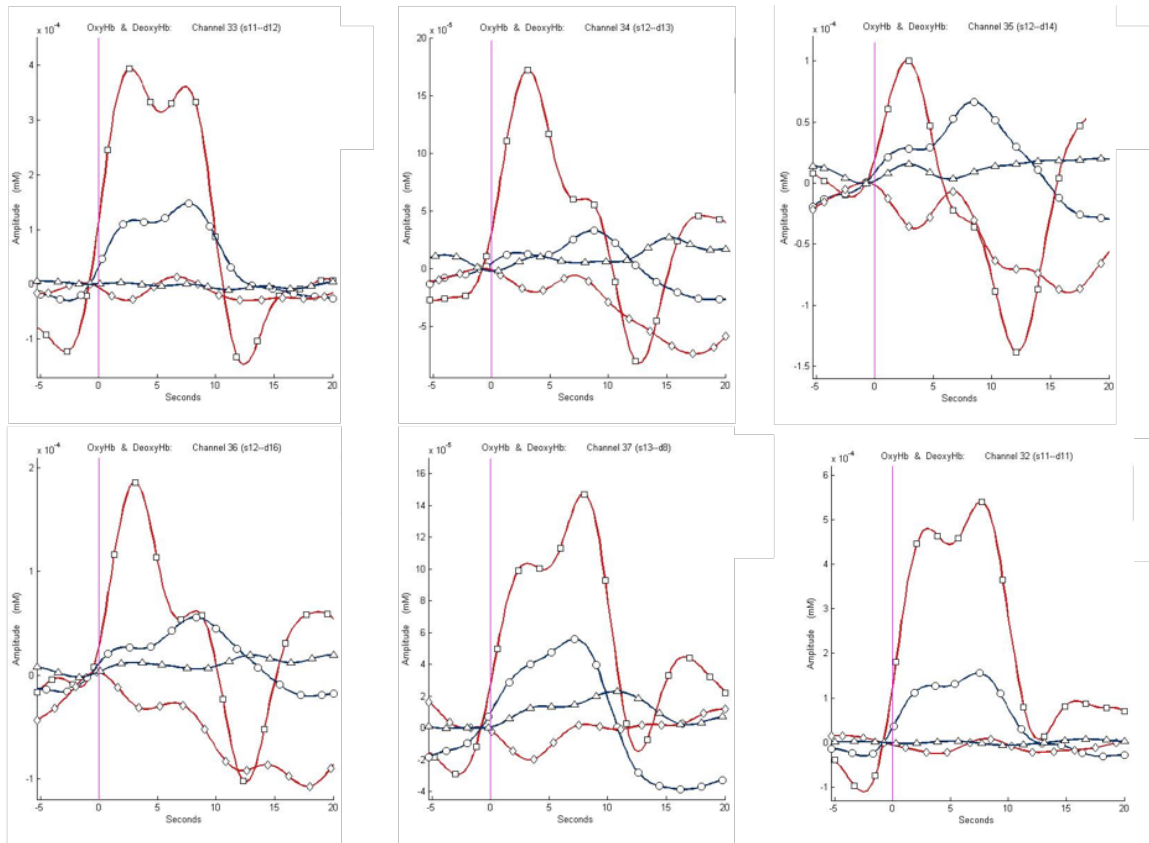
—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxiHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxiHb / stim / sham



—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxiHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxiHb / stim / sham



—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxyHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxyHb / stim / sham



—□— OxiHb / stim / active
 —○— DeoxyHb / stim / active
 —◇— OxiHb / stim / sham
 —△— DeoxyHb / stim / sham

