UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

Fabiana Tenório Gomes da Silva

Efeitos neurofisiológicos e clínicos associados á
estimulação do nervo mediano combinada com exercício
físico sobre a dor experimental em indivíduos sedentários:
estudo randomizado e duplo cego.

Versão Corrigida

SÃO PAULO

2020

FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA

Efeitos neurofisiológicos e clínicos associados à
estimulação do nervo mediano combinada com exercício
físico sobre a dor experimental em indivíduos sedentários:
estudo randomizado e duplo cego.

Versão Corrigida

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutora em ciências.

Área de Concentração: Neurociências e
Comportamento

Orientador: Prof. Dr. Felipe Fregni

Co-orientador: Dr. Marcel Simis

São Paulo

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo
Dados fornecidos pelo(a) autor(a)

TENÓRIO, FABIANA

Efeitos neurofisiológicos e clínicos associados á estimulação do nervo mediano combinada com exercício físico sobre a dor experimental em indivíduos sedentários: estudo randomizado e duplo cego. / FABIANA TENÓRIO; orientador FELIPE FREGNI; co-orientador MARCEL SIMIS. -- São Paulo, 2020.
107 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento) -- Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, 2020.

1. Exercício Físico. 2. Estimulação do Nervo Mediano. 3. Limiar de dor a pressão. 4. Modulação de dor condicionada. 5. Atividade elétrica cortical cerebral. I. FREGNI, FELIPE , orient. II. SIMIS, MARCEL, co-orient. III. Título.

Da Silva, Fabiana Tenório Gomes

Efeitos neurofisiológicos e clínicos associados à estimulação do nervo mediano combinada com exercício físico sobre a dor experimental em indivíduos sedentários: estudo randomizado e duplo cego.

Tese apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em ciências.

Aprovado por:

Prof. Dr.

Felipe Fregni (Orientador)

À Mirian Tenório Araújo da Silva e Sebastião Jerônimo Gomes da Silva, meus pais, e a Evelyne Tenório Gomes da Silva, minha irmã. Meus eternos companheiros nos quais eu encontro o verdadeiro amor de Cristo.

Agradecimentos

Esta tese representa não apenas o crescimento de uma pesquisadora, mas também de uma pessoa. Foram quatro anos bem intensos, dos quais cada segundo valeu a pena. A realização deste processo contou com a grande ajuda destas pessoas que cito abaixo:

Professor Felipe Fregni, meu orientador, através do qual tive a oportunidade de fazer parte de um grande grupo de pesquisa e por despertar em mim o verdadeiro sentido de ser um pesquisador. Agradeço pelos telefonemas em meio ao caos do seu dia a dia, devo destacar que sempre me deixaram mais motivada para seguir meu sonho, mesmo em meio as minhas dificuldades. Professor, muito obrigada por nunca me comparar a ninguém e sempre ver o meu melhor sabendo que as dificuldades estavam e estão sendo lapidadas.

Ao doutor Marcel Simis, meu co-orientador, por ter me recebido de braços abertos no Instituto de Medicina Física e Reabilitação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IMREA-HC-FMUSP) e por está presente nestes 4 anos de doutorado.

À Equipe de pesquisa do IMREA, que me ajudou muito em todo meu processo de doutorado, pessoas cujos nomes não poderia deixar de citar: Artur César Aquino dos Santos (monitor de pesquisa), Karin Moreira Santos (monitora de pesquisa), Cristiane Fortuna Avella (administrativo), Vivian Calegaro (fisioterapeuta), Cesar Migliorati (administrativo), Paulo Roberto Fonseca e Maria Helena Gomes (fisioterapeutas) e Dra Ana Rita Cortelli Donati (médica e doutoranda).

À Camila Bonin Pinto por sempre me incentivar a continuar esta jornada na qual compartilhamos do mesmo amor, a pesquisa.

Aos voluntários que acreditaram em nossa proposta de trabalho.

Aos meus familiares que mesmo distantes sempre deram um jeito de estarem perto para me apoiar em todos os aspectos físicos e emocionais desta bela jornada, afinal não foi muito simples vim estudar em São Paulo, posso relatar que este foi um desafio, mas este jamais venceu minha vontade de avançar como pesquisadora.

Agradeço grandemente à Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudo concedida, pois através da mesma consegui custear minha estadia em São Paulo durante todo o doutorado, minha viagem e estadia nos Estados Unidos a qual fiquei por 3 meses estudando na universidade de Harvard e a realização do tão sonhado e valioso curso Principles and Practice of Clinical Research (PPCR).

Portanto, agradeço a Deus por ter colocado esta constelação de pessoas em minha vida e me dar a sabedoria que vem dele!!!!

RESUMO

Silva, F.T.G. (2020). Efeitos neurofisiológicos e clínicos associados à estimulação do nervo mediano combinada com exercício físico sobre a dor experimental em indivíduos sedentários: estudo randomizado e duplo cego.

O exercício físico e a estimulação do nervo mediano (ENM) são terapias não farmacológicas para controlar a dor. No entanto, os efeitos gerados através da aplicação sequencial e simultânea (concorrente) dessas duas técnicas neuromodulatórias ainda não foram explorados. Tanto o exercício físico quanto a ENM ativam o sistema endógeno inibidor da dor, deste modo, a combinação dos dois tratamentos pode ter um efeito sinérgico potencializando o efeito no controle da dor. Portanto, o objetivo primário deste estudo é analisar se a ENM com um novo algoritmo que varia intensidade e frequência de estimulação ((intensidade (2 mA e 4-6 mA) e frequência (1-4 Hz, 8-12 Hz e 60-90 Hz)) mais exercício físico reduzirá a sensação de dor, aumentará o limiar de dor a pressão (LDP) e a modulação condicionada da dor (MCD) em comparação com o exercício físico sozinho e o exercício físico mais a ENM placebo. Como objetivo secundário, será analisado o tempo para se chegar a exaustão física e a percepção subjetiva de esforço durante o exercício físico assim como realizar uma análise exploratória da atividade elétrica cortical cerebral, medida através do eletroencefalógrafo, durante a ENM em repouso. Vinte e quatro adultos saudáveis, sedentários e destros (12 mulheres; com idade média de 25 ± 5 anos) participaram deste estudo duplo-cego, randomizado e crossover. Todos os indivíduos foram submetidos a três condições: sessão controle (sem intervenção), ENM placebo e ativo, sendo aplicado por 20 minutos em repouso e depois por 10 minutos durante o aquecimento na esteira. Os testes de dor (LDP, CPM e sensação de dor (EVA)) foram realizados em três momentos; no início (T0), após os 20 minutos de estimulação (T1) e após a sessão de exercício físico (T2). Além disso, durante o exercício físico, a percepção subjetiva de esforço e a sensação de dor foram avaliadas. Encontramos uma diferença significativa na variação (T1 menos T2) do LDP, referente ao lado esquerdo, entre os grupos ativo e placebo ($p = 0,039$) e entre os grupos ativo e controle ($p = 0,041$), com o limiar de dor mais elevado no grupo ativo. Em relação à EVA durante o exercício físico, encontramos uma diferença significativa entre os grupos ativo e controle em 40% do

tempo máximo de exercício ($p = 0,036$), de modo que o grupo ativo apresentou uma percepção subjetiva de dor menor em comparação ao grupo controle. Referente a análise do qEEG durante a ENM em repouso, para a variável potência a ENM ativa apresentou diferenças significativas no delta na região central ($p < 0,05$) em direção à redução e no high beta nas regiões frontal direita, frontal esquerda, central direita, central esquerda, frontal central e central ($p < 0,05$) em direção ao aumento, quando comparada com a condição controle. A ENM placebo apresentou diferenças significativas semelhantes à ENM ativa para delta e high beta, com exceção da potência na frequência high beta na região frontal direita a qual a ENM placebo não conseguiu modular. Em relação à coerência, a ENM ativa induziu um aumento significativo em alfa ($p < 0,05$) em comparação com a estimulação placebo para o par de eletrodos C3-C4 e a ENM placebo induziu uma redução significativa de alfa ($p < 0,05$) em comparação com a condição controle no mesmo par de eletrodos.

Nossos achados sugerem o efeito de uma única sessão de ENM nos níveis de dor durante e após o exercício físico e modulação na atividade elétrica cortical indexados pela potência e coerência. Este estudo investiga uma nova abordagem para analisar o efeito sequencial e simultâneo de duas técnicas neuromodulatórias que modulam a dor. Portanto, fornece informações para estudos futuros que testam essa abordagem combinada.

Palavras chaves: Exercício Físico. Estimulação do Nervo Mediano. Limiar de dor a pressão. Modulação de dor condicionada. Atividade elétrica cortical cerebral.

ABSTRACT

Silva, F.T.G. (2020). Neurophysiological and clinical effects associated to the median nerve stimulation combined with physical exercise on experimental pain in sedentary individuals: a randomized double-blind study (PhD thesis). Institute of Psychology, University of São Paulo, São Paulo.

Physical exercise and Median Nerve Stimulation (MNS) are powerful non-pharmacological tools to control pain. However, the effects of sequential and concurrent (simultaneous) of these two neuromodulatory techniques have not been explored. Both Physical exercise and MNS activate the endogenous pain inhibitory systems, therefore, combining the two treatments could have a synergistic effect and increase their effects on pain control. Therefore the main of this study is analyze whether the MNS using a novel algorithm that varies intensity and frequency of stimulation ((intensity (2 mA and 4-6 mA) and frequency (1-4 Hz, 8-12 Hz and 60-90 Hz)) plus physical exercise will reduce pain sensation and increase Pain Pressure Test (PPT) and Conditioned pain modulation (CPM) as compared with physical exercise alone and physical exercise plus placebo MNS. As a secondary objective will be analyzed the time to reach physical exhaustion and the perception of exertion during physical exercise and make an exploratory analysis of cerebral cortical activity, measured by electroencephalograph during ENM. Twenty-four healthy right-hand dominant adults (12 women; 25 mean age ± 5.53 years) participated in this double-blinded, randomized, cross-over trial. Each subject underwent a control (i.e., no intervention), sham and active MNS. MNS was applied for 20 minutes at rest and then for 10 minutes during the warm-up period on the treadmill. Pain tests (PPT, CPM and pain sensation (VAS)) were performed at three time-points; at baseline (T0), after the 20 minutes of stimulation (T1) and after the physical exercise session (T2). In addition, during physical exercise, the perceived exertion and pain sensation were assessed. We found a significant difference in the variation (T1 minus T2) of left PPT between the active and sham groups ($p=0.039$) and between the active and control groups ($p=0.041$), such as that pain thresholds at the left side were higher only in the active group. Regarding VAS during physical exercise we found a significant difference between the active and control groups at 40% of maximal time of exercise ($p=0.036$), such as that the active group had less pain compared to the control group. Regarding qEEG analysis during the MNS, to the power the active MNS had

significant differences in the delta for central ($p < 0.05$) region toward reduction and in the high beta for frontal right, frontal left, central right, central left, frontal central and central regions ($p < 0.05$) toward increase when compared with control. Sham MNS had significant differences in the delta for central ($p < 0.05$) region toward reduction and in the high beta for frontal left, central right, central left, frontal central and central regions ($p < 0.05$) toward increase when compared with control. To coherence active MNS induced a significant increase in alpha ($p < 0.05$) as compared with the sham stimulation for the pair of electrodes C3-C4 and sham MNS induced a significant reduction in alpha ($p < 0.05$) as compared with the control condition in the same pair of electrodes.

Our findings suggest a effect of a single session of MNS on pain levels during and after physical exercise and modulation in cortical activity indexed by power and coherence. This study investigates a novel approach to analyze the sequential and concurrent effect of two neuromodulatory techniques that modulate the pain. Thus, this study provides insights for future studies testing this combined approach.

Keywords: Physical exercise. Median Nerve Stimulation. Pressure Pain Threshold; Conditioned pain modulation (CPM). Cortical brain activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa mundial ilustrando a prevalência de inatividade física em 76 países.....	16
Figura 2 – Caminhos da dor da periferia para o cérebro.....	19
Figura 3 – Representação dos circuitos envolvidos na modulação da dor e matriz da dor.....	21
Figura 4 – Diagrama mostrando vias ativadas pela estimulação nervosa transcutânea (ENT) de baixa frequência (BF) ou alta frequência (AF).....	23
Figura 5 – Aparelho de estimulação usado nesta tese.....	24
Figura 6 – Mecanismos da hiperalgesia e analgesia induzida pelo exercício.....	26
Figura 7 – Algômetro de pressão.....	27

LISTA DE SIGLAS

A β	Fibra do tipo A Beta
A δ	Fibra do tipo A Delta
MAS	Área Motora Suplementar
AMPC	Monofosfato Cíclico de Adenosina
CCA	Córtex Cingulado Anterior
CDN	Controle Descendente de Nocicepção
CGRP	Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina
EEG	Eletroencefalograma
EIH	Exercício Induz Hipoalgesia
ENM	Estimulação do Nervo Mediano
ENT	Estimulação Nervosa Transcutânea
TNF α	Fator de Necrose Tumoral
IASP	Associação Internacional de Estudos sobre Dor
NGF	Fator de Crescimento Nervoso
NMDA	N-metil D-Aspartato
M1	Córtex Motor Primário
RVM	Rostro Ventro Medial
SARA	Sistema Reticular Ascendente
SCP	Substância Cinzenta Periaquedutal
SNC	Sistema Nervoso Central
S1	Córtex Somatossensorial Primário
S2	Córtex Somatossensorial Secundário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14-32
2. CAPÍTULOS.....	33
2.1. EFFECTS OF MEDIAN NERVE STIMULATION (MNS) COUPLED WITH PHYSICAL EXERCISE ON PAIN MODULATION: DOUBLE-BLINDED, RANDOMIZED, CROSS-OVER TRIAL.....	34-54
2.2. NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MEDIAN NERVE STIMULATION: AN EXPLORATORY qEEG STUDY.....	55-70
3. DISCUSSÃO GERAL.....	71-80
4. CONCLUSÃO.....	81-82
5. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	83-84
6. REFERÊNCIAS.....	85-95
7. ANEXOS.....	96-107

1.INTRODUÇÃO

1.1 Estrutura do trabalho

Esta tese comporta o raciocínio teórico (introdução e artigos), o desenvolvimento prático (artigos), a análise dos dados (artigos) e os resultados (artigos) de um estudo clínico exploratório, randomizado e duplo cego.

Nesse estudo avaliamos os efeitos da estimulação do nervo mediano (ENM) sobre a dor experimental, tanto em repouso como durante o exercício físico, assim como o efeito da ENM combinada com exercício físico sobre a dor em indivíduos sedentários. Analisamos também, o efeito da ENM sobre a atividade elétrica cortical cerebral. Portanto, na introdução estará uma breve revisão de literatura sobre o comportamento sedentário, dor, estimulação do nervo mediano, exercício físico e eletroencefalograma no contexto de modulação da dor. Nos capítulos encontram-se os dois artigos científicos gerados através desta tese, os quais estão divididos em resultados dos dados clínicos (artigo 1) e neurofisiológicos (artigo 2).

1.1.1 Amostra estudada e relevância do estudo

Para o experimento foram incluídos participantes de ambos os sexos, saudáveis, com índice de massa corpórea menor que 27 e sedentários.

O sedentarismo é identificado como o quarto principal fator de risco de mortalidade global e estima-se que quase 2 milhões de mortes por ano sejam causadas por inatividade física^(WHO, 2010). O índice de inatividade física é cada vez mais crescente em muitos países, como por exemplo, o Brasil (30-39.9% da população), implicando no aumento da prevalência de doenças não transmissíveis e na saúde geral da população mundial^(Dumith et al., 2011; Guthold et al., 2018a)(Figura 1).

Existem vários aspectos que levam indivíduos sedentários a manter o estilo de vida inativo, um deles é o desconforto gerado durante o exercício físico^(Jack et al., 2010). De acordo com estudos, a primeira sessão de exercício é um fator crucial para manter estes indivíduos em atividade, pois quanto mais o exercício for considerado prazeroso, maior a probabilidade de engajamento em outras sessões futuras^(Helfer et al., 2015; Williams et al., 2008). A avaliação da sensação de prazer/desprazer durante a atividade física pode ser realizada por uma escala subjetiva para avaliação da resposta afetiva (sensação), esta escala varia entre afeto de “muito bom” até “muito ruim”^(Hardy & Rejeski, 1989). O estudo do prazer durante o exercício físico melhora o

entendimento de como sentimentos ou emoções específicas, gerados em resposta ao exercício, podem contribuir para a aderência.

A dor percebida durante o exercício físico é uma sensação desprazerosa a qual gera um reforço negativo, conduzindo a uma resposta afetiva negativa, reduzindo assim, as chances de aderência. Portanto, terapias que modulem a dor durante a prática de exercícios físicos, como possivelmente a ENM, tem o potencial de serem utilizadas para melhorar a aderência ao exercício, modificando o estilo de vida e reduzindo as chances de desenvolver doenças ao sedentarismo associadas.

Ainda, a compreensão dos mecanismos de dor e dos efeitos analgésicos da ENM, pode ajudar no desenvolvimento de novos tratamentos para pacientes com dor patológica, embora não seja a população do presente estudo. Isso é de grande importância, pois a dor é um problema de saúde pública, uma vez que estimativas sugerem que 20% dos adultos sofrem de dor em todo o mundo e 10% são diagnosticados com dor crônica a cada ano^(Goldberg & McGee, 2011). A dor gera incapacidade funcional, redução da carga de trabalho diário, gastos com medicamentos e suporte de saúde, alterações emocionais e de humor, redução do convívio social, entre outros fatores os quais estão vinculados a estas modificações^(Júnior et al., 2012).

Figura 1. Mapa do mundo mostrando a porcentagem de pessoas fisicamente inativas por país. Seta preta indicando o Brasil. Extraído de Dumith et al., 2011, adaptada pelo autor.

1.1.2 Dor

De acordo com a Associação Internacional de Estudos sobre Dor (IASP)^(Cohen et al., 2018), a dor é definida como sensação e experiência emocional desagradável associada à lesão tecidual, real ou potencial, ou descrita em termos desta lesão. De modo geral, a dor pode ser classificada em aguda e crônica. A dor aguda, também conhecida como fisiológica é aquela que induz respostas protetoras, como o reflexo de retirada, com intuito de interromper a exposição ao estímulo nocivo e portanto, é uma dor transitória^(Klaumann et al., 2008). Já a dor crônica, chamada também de patológica, é aquela que induz uma dor persistente ou recorrente com duração ≥ 3 meses e pode ser classificada em neuropática (central e periférica)^(Scholz et al., 2019) e inflamatória (envolvendo estruturas somáticas ou viscerais)^(Klaumann et al., 2008).

1.1.3 Transmissão do sinal doloroso para o sistema nervoso central (SNC)

Para entender como a dor aguda pode ser modulada é necessário entender como a dor é transmitida da periferia para o sistema nervoso central. Esta transmissão inicia-se com os neurônios sensoriais periféricos especializados na transmissão da dor, os nociceptores, que são responsáveis em nos alertar para estímulos potencialmente prejudiciais na pele (estímulos de alta intensidade) detectando extremos de temperatura, pressão e produtos químicos. Estes sinais são transmitidos para centros cerebrais superiores em forma de potencial de ação^(D'Mello & Dickenson, 2008). Os nociceptores possuem dois diferentes tipos de axônios, as fibras do tipo A Delta (A δ) e as fibras do tipo C. As fibras A δ são pouco mielinizadas e podem permitir um potencial de ação capaz de viajar na velocidade de aproximadamente 20 metros por segundo em direção ao sistema nervoso central. Já as fibras do tipo C são amielinizadas, e portanto, conduzem o impulso mais lentamente^(Rosenow & Henderson, 2003).

Os nociceptores são sensibilizados pela ação de substâncias químicas, presentes no ambiente tecidual tais como acetilcolina, bradicinina, histamina, serotonina, leucotrieno, substância P, fator de ativação plaquetário, prostaglandinas, interleucinas, fator de necrose tumoral (TNF α), fator de crescimento nervoso (NGF) e monofosfato cíclico de adenosina (AMPC)^(Bourne et al., 2014). Quando liberadas após um dano tecidual, estas substância ativam canais

iônicos e proteínas específicas na membrana celular, aumentando assim a liberação de glutamato, substância p e CGRP na raiz do corno dorsal na medula espinhal, região onde os impulsos serão transmitidos aos neurônios de segunda ordem. Estes neurônios são responsáveis por enviar o estímulo vindo do neurônio de primeira ordem para núcleos no tronco encefálico, tálamo e córtex cerebral^(D'Mello & Dickenson, 2008) para mais detalhes ver figura abaixo (Figura 2).

Os neurônios de segunda ordem podem ser classificados em dois tipos fisiológicos. Os neurônios nociceptivos específicos os quais recebem exclusivamente impulsos de aferentes nociceptivos primários dos tipos A δ e C, e portanto, apresentam seus corpos celulares em lâminas mais superficiais da medula espinhal como a I e II, e os neurônios de ampla faixa dinâmica, também chamados de convergentes, os quais podem efetuar sinapses tanto com aferentes primários de baixo limiar (fibras A β), como também com aferentes nociceptivos de alto limiar (fibras A δ e C) e portanto, estão localizados na lâmina V^(Bourne et al., 2014).

Portanto, a modulação da dor pode ser, em teoria, realizada pela modulação de qualquer um desses componentes, ou seja, neurônio de primeira ordem, interneurônios na raiz do corno dorsal, neurônios de segunda ordem, tálamo, núcleos no tronco encefálico e córtex.

1.1.4 Sistema descendente de modulação endógeno da dor

O corno dorsal da medula espinhal é o local da primeira sinapse nas vias da dor e, como tal, oferece um alvo muito poderoso para a regulação da transmissão nociceptiva via corno dorsal (segmentar) e supraespinhal. A transmissão de sinais nociceptivos pode ser modulada por controles poderosos logo no primeiro estágio de transmissão na raiz do corno dorsal. Esse controle é um sistema complexo chamado de controle descendente de nocicepção (CDN) ou sistema descendente de modulação endógeno da dor, o qual é composto por áreas cerebrais corticais e subcorticais e núcleos no tronco encefálico^(M. M. Heinricher et al., 2009).

Áreas no tronco encefálico como substância cinzenta periaquedutal (SCP) e rostro ventro medial (RVM) são centros importantes dentro do CDN. Estudos mostraram que estimulação elétrica e injeção de opioides nestas regiões geram analgesia, mostrando assim, a sensibilidade do sistema á opioides^(MARY M. Heinricher & Morgan, 1999). Estas regiões também são moduladas direta ou indiretamente por regiões como córtex pré-frontal, amígdala, ínsula, áreas somatossensoriais, hipotálamo e cíngulo anterior, mostrando assim, que a dor não tem apenas o componente sensorial, mas também afetivo-emocional e cognitivo^(Morton et al., 2016) (Figura 3).

O CDN apresenta uma característica bidirecional a qual pode tanto inibir a dor como aumentá-la (facilitar). O balanço deste sistema é dinâmico e se dá entre o grau de ativação de inibição e de facilitação^(M. M. Heinricher et al., 2009). Estudos^(Mendell, 2011; Ossipov et al., 2010) mostram que a bidirecionalidade deste sistema está relacionada a células que se encontram no RVM. Existem três tipos de células no RVM que são as células ON, as células OFF e as células nêutras. As células ON estão relacionadas a facilitação da dor, as células OFF a inibição e as nêutras ainda não se compreende bem sua função. Estas células são moduladas direta e indiretamente por opioides que quando ligados a seus receptores, diretamente, ativam as células OFF, inibindo assim a passagem do estímulo nociceptivo através da liberação de serotonina na raiz do corno dorsal. De forma indireta, a ligação de opioides a seu receptor na SCP, inibe a atividade de neurônios inibitórios facilitando a atividade de neuronios excitatórios os quais projetam-se para RVM e ativam as células OFF^(M. M. Heinricher et al., 1994).

O sistema SCP-RVM é ativado também por estimulação nervosa transcutânea^(Josimari M. DeSantana et al., 2008a) e exercício físico^(Koltyn et al., 2014), pois estas

terapias conduzem a liberação de neuromoduladores como opioides, canabinoides, noradrenalina, serotonina e dopamina, os quais apresentam receptores em regiões corticais, subcorticais e do tronco encefálico envolvidas com o processamento de estímulo nociceptivo, modulando assim, a percepção da dor.

Figura 3. Áreas relacionadas à matriz da dor e seus possíveis circuitos funcionais. Rostro ventro medial (RVM); substância cinzenta periaquedutal (SCP); córtex somatossensorial primário (SI); córtex somatossensorial secundário (SII); ínsula (I); amígdala (AM); córtex cingulado anterior (CCA); córtex pré-frontal (CPF). Extraído de Morton et al., 2016, adaptada pelo autor.

1.1.5 Estimulação do nervo mediano e modulação da dor

Estimulação do nervo mediano (ENM) é um tipo de estimulação nervosa transcutânea (ENT) cujo mecanismo de ação sobre a analgesia ainda não se é bem estabelecido. Prévios^(Forss et al., 1994; Lin et al., 2003) estudos mostram que a ENM pode

reduzir a dor através de mecanismos centrais semelhantes aos da ENT^(Josimari M. DeSantana et al., 2008a; M. Johnson, 2007). Os mecanismos centrais são gerados i) através da ativação de fibras de diâmetro largo e mielinizadas as quais ativam interneurônios inibitórios GABAérgicos na raiz do corno dorsal, inibindo assim a passagem do estímulo nóxico para o centro superior, ii) regiões corticais, do tronco encefálico e medula espinhal que apresentam receptores de opioides, noradrenalina, acetilcolina e serotonina são ativados através da estimulação.

Existem diferentes tipos de ENT, os quais podem ser utilizados para ativação de fibras nervosas específicas, conduzindo a mecanismos de liberação da dor. As técnicas mais utilizadas são^(M. Johnson, 2007): a) ENT convencional: cujo parâmetro utilizado é baixa intensidade (não dolorosa) e alta frequência (50-100 Hz). O objetivo da ENT convencional é ativar, de forma segmentar, as fibras de diâmetro largo e de baixo limiar; b) ENT acupuntura: cujo parâmetro utilizado é alta intensidade (no limiar de contração muscular, não dolorosa) e baixa frequência (2-4 Hz). O propósito da ENT acupuntura é ativar, seletivamente, fibras de pequeno diâmetro e alto limiar (A-delta) com o objetivo de ativar o sistema de modulação inibitório de dor; c) ENT intenso: o parâmetro utilizado é alta intensidade e alta frequência. O objetivo é o mesmo da ENT acupuntura e d) ENT-VIF (variação de intensidade e frequência): varia intensidade e frequência simultaneamente visando principalmente dificultar o fenômeno de acomodação^(Gajjar et al., 2018).

Embora exista um número expressivo de estudos clínicos mostrando a efetividade da ENM sobre a dor, os parâmetros da ENM que potencializem este efeito precisam de mais estudos. Até então, tem se mostrado que quanto maior a intensidade da estimulação maior o efeito analgésico^(Moran et al., 2011a; Pantaleao et al., 2011). Já em relação à frequência, tanto a alta como a baixa geram efeitos equivalentes^(Gomes et al., 2014). Apesar da estimulação aplicada com uma intensidade de corrente mais alta apontar para um efeito analgésico mais acentuado, este apresenta um tempo curto de duração. Diante deste aspecto, os resultados apontam para futuros estudos que variem intensidade e frequência de forma randomizada com o objetivo de reduzir a habituação neural, potencializando o efeito e a sua duração.

Figura 4. Ilustração de vias que são ativadas pela estimulação nervosa transcutânea (ENT) de baixa (BF) e de alta frequência (AF), assim como os neurotransmissores envolvidos. 5HT - serotonina; rostro ventro medial (RVM); substância cinzenta periaquedutal (SCP). Extraído de Josimari M. DeSantana et al., 2008, adaptada pelo autor.

Visando reduzir esta lacuna na ciência, foi desenvolvido um aparelho com parâmetro de corrente elétrica que varia intensidade e frequência a cada 2 minutos de forma randomizada e com uma alta validade externa, pois o aparelho é portátil e de uso fácil o que facilitaria o uso futuro em domicílio (Figura 5). Para colocar o aparelho é necessário limpar com álcool a região onde o eletrodo será colocado, posteriormente colocar o eletrodo com a superfície de metal em contato com a pele, fixar o fio vermelho e preto nos posicionamentos corretos e ligar. O aparelho não necessita de manuseio para colocar os parâmetros da estimulação.

A)

B)

C)

Figura 5. Aparelho de estimulação usado nesta tese. Os parâmetros de corrente foram: intensidade entre 2mA, 4-6mA; frequência 1-4Hz, 8-12Hz e 60-90Hz; forma da onda retangular bifásica. A) Região onde o aparelho é colocado, punho. B) Superfície a qual os eletrodos são colocados. C) Superfície que fica em contato com a pele. Fonte: elaborada pelo autor.

1.1.6 Exercício físico e modulação da dor

Grandes estudos^(Holth et al., 2008; Landmark et al., 2011) populacionais mostram que indivíduos mais ativos fisicamente têm menor risco de desenvolvimento dor crônica, mostrando assim, que o exercício físico modula a dor. Esta modulação ocorre tanto em nível crônico como em nível agudo (apenas uma sessão de exercício físico)^(Kathleen A. Sluka et al., 2012). Os mecanismos envolvidos na analgesia gerada pelo

exercício físico ainda não estão bem estabelecidos, mas estudos^(Koltyn et al., 2014; Kathleen A. Sluka et al., 2018) apontam para a ativação do sistema de modulação endógeno da dor através da liberação de neuromoduladores como opioides, canabinoides, noradrenalina, serotonina e dopamina, assim como, através da modulação de citocinas anti e pro inflamatórias (Figura 6).

Embora parâmetros de exercício físico que gerem um efeito hipoalgésico mais acentuado são estudados, encontrar a melhor intensidade não é algo fácil pois, existe uma linha muito tênue entre o exercício gerar hipoalgesia e hiperalgesia^(Lima et al., 2017). Até então, estudos^(Naugle et al., 2014; O'leary et al., 2017) mostram que quanto maior a intensidade maior o efeito hipoalgésico, mostrando a relação com PH sanguíneo, liberação de opioides, serotonina e ativação do eixo Hipofise-Pituitária-Adrenais.

Além de modular a dor, o exercício físico reduz as chances de desenvolver doenças como diabetes, hipertensão, obesidade, depressão e câncer, reduzindo assim, os custos com saúde pública. Embora a mudança no estilo de vida de sedentário para ativo estar associada a uma probabilidade menor de desenvolver doenças, a prevalência global (2016) de pessoas com o índice de atividade física insuficiente foi de 27,5%^(Guthold et al., 2018b). Portanto, entender o que mantém estes indivíduos inativos é um aspecto importante para encontrar técnicas que possam modificar este padrão de comportamento.

Dentre os diversos fatores que podem fazer com que um indivíduo mantenha um padrão inativo de comportamento, a dor gerada durante o exercício físico é destacada como o fator chave. A dor durante a prática de exercício físico é caracterizada como desconfortável, o que gera uma afeto negativo pelo exercício reduzindo assim, as chances de aderência^(Williams et al., 2008). Portanto, o uso de técnicas que possam modular a dor durante o exercício físico são promissoras para ajudar na mudança do estilo de vida.

Figura 6. Esquema ilustrativo dos mecanismos envolvidos na hiperalgesia e analgesia induzidas pelo exercício físico. O lado esquerdo da figura mostra os mecanismos relacionados a hiperalgesia que estão associados com o aumento da ativação da subunidade de NR1 nos receptores de NMDA e dos recaptadores de serotonina (SERT) na região do rostro ventro medial (RVM). No lado direito da figura encontram-se os mecanismos relacionados a analgesia, os quais estão associados com o (+) aumento ou (-) redução de ativação de receptores de opioides, serotonina (5-HT) e canabinoides (CB1) em regiões como córtex somatossensorial primário (SI); córtex somatossensorial secundário (SII); ínsula (I); amígdala (AM); córtex cingulado (CC); Rostro ventro medial (RVM); substância cinzenta periaquedutal (SCP) e tegmento pontíneo dorso-lateral (TPDL). Extraída de Lima et al., 2017, adaptada pelo autor.

1.1.7 Testes para avaliar a dor

1.1.7.1 Algometria de pressão

A algometria de pressão é uma técnica que objetiva quantificar a capacidade de percepção e de tolerância dolorosa através de estímulo físico (pressão). Um dos teste mais utilizados é o limiar de dor a pressão que é usado para mensurar o estímulo mais baixo de pressão que é percebido como dor^(Keele, 1954). Este teste avalia a sensibilidade muscular profunda e geralmente é realizado através de um aparelho chamado algômetro de pressão que apresenta uma superfície de borracha ou metal com 1cm² de superfície.

Para realizar o teste, faz-se uma pressão gradativa com a superfície do algômetro na região objetivada e pede-se para o indivíduo relatar o momento exato o qual o estímulo crescente, exercido pelo avaliador através do algômetro, passa a ser doloroso. O algômetro utilizado nesta tese foi da marca Baseline[®].

Figura 7. Algômetro de pressão. Fonte internet:<https://logopedicum.com/producto/dolorimetro-almometro/>

1.1.7.2 Modulação de dor condicionada (MDC)

Modulação de dor condicionada é um teste utilizado para mensurar a eficácia do sistema de modulação inibitório endógeno da dor através da aplicação de dois estímulos dolorosos em um determinado padrão de tempo. Consegue-se avaliar o grau de redução de dor gerado pelo primeiro estímulo através de um estímulo doloroso secundário^(King, 2014). A inibição de dor é consequência da ativação de um sistema complexo de modulação endógeno da dor, portanto a aplicação do MDC pode ajudar a detectar possíveis disfunções neste sistema. O mecanismo relacionado ao MDC é explicado de acordo com o princípio de que um estímulo

nóxico (mecânico, químico, temperatura e/ou visceral) ocasiona inibição das fibras do tipo A δ e C^(Damien et al., 2018).

Nesta tese utilizamos como primeiro estímulo (condicionado) água com temperatura entre 10 e 12 graus e para o segundo estímulo (teste) utilizamos o limiar de dor a pressão com o algômetro. O estímulo condicionado foi realizado no braço dominante (direito) e o estímulo teste foi realizado no braço esquerdo.

1.1.7.3 Escala Visual Analógica (EVA)

Essa medida consiste em uma linha de 10 cm, com âncoras em ambas as extremidades. Numa delas é marcada "leve" e na outra extremidade é indicada "intensa". A magnitude da dor é indicada marcando-se uma linha vertical sobre a escala e uma régua é utilizada para quantificar a mensuração em mm.

1.1.8 Eletroencefalograma (EEG)

O EEG é um exame que analisa a atividade elétrica cortical cerebral espontânea, captada através da utilização de eletrodos colocados sobre o couro cabeludo. O sinal do EEG surge da atividade sináptica sincronizada em populações de neurônios corticais (células piramidais)^(Jackson & Bolger, 2014). O registro do EEG pode ser através da atividade elétrica espontânea ou como potenciais cerebrais evocados. O EEG espontâneo, foi o que utilizamos nesta tese, mede a atividade neural durante estímulos dolorosos em repouso ou tônicos e tem sido utilizado para identificar a fisiopatologia da dor em pacientes com dor crônica e alterações no sistema nervoso central durante intervenção farmacológica e ou terapêuticas^(Prichep et al., 2011).

Alguns objetos de avaliação do traçado de EEG como frequência e amplitude são importantes. A amplitude do EEG é medida em micro-volts de pico-a-pico (μV_{pp}), onde a intensidade deste sinal pode variar de 0 a 200 μV . Este é um dado importante em análises no domínio do tempo. Entretanto partindo-se do ponto que os dados de EEG não são estacionários, o processamento de sinal é focado nas transformadas frequências^(Akay & Mello, 1997). O espectro do sinal EEG pode ser subdividido em diferentes faixas também conhecidas como ritmos cerebrais: alfa (α), beta (β), delta (δ), teta (θ) e gama (γ)^(Cardoso, 2005). O intervalo da onda delta compreende 0.5-3.5 Hz, da teta 4–7 Hz, da alfa 8–13 Hz, da beta 13-30 HZ e da

gama 30-70 Hz^(Buzsaki, 2006).

No contexto da dor, pesquisas recentes apontaram as oscilações na frequência alfa no cérebro como um potencial biomarcador clínico de sensibilidade à dor^(Valentini et al., 2019). Embora a onda alfa apresente destaque no contexto da percepção da dor existem também, alterações em outras faixas de onda, tais como redução da potência na frequência delta e teta e aumento na beta^(Jensen et al., 2008). Estes estudos mostram que a atividade elétrica cortical medida com o EEG está relacionada com a dor, com a resposta ao estímulo doloroso e com a analgesia. No entanto, ainda é um desafio a identificação de padrões específicos no EEG que possam ser biomarcadores para a analgesia. Portanto, propomos estudar as modificações dos padrões de EEG induzidos pela aplicação da ENM, e a relação dessas modificações com a resposta a dor, visando melhor compreender os mecanismos centrais da dor, além de guiar o possível uso terapêutico da ENM.

1.2 Contextualização e Problemática

O comportamento sedentário é identificado como o quarto fator de risco para mortalidade global^(WHO, 2010) e está associado com desenvolvimento de doenças como diabetes, obesidade, acidente vascular cerebral, hipertensão, câncer, doenças ósseas e articulares (osteoporose e osteoartrite), depressão, doença arterial periférica e dor crônica, algumas das quais estão listadas nas 10 principais causas de morte, de acordo com a organização mundial da saúde^(Booth et al., 2011; Kathleen A. Sluka et al., 2012). O sedentarismo também ocasiona mudanças fisiológicas como a redução da atividade do sistema inibitório endógeno da dor^(Flood et al., 2017; Geva & Defrin, 2013; Tesarz et al., 2012) o que pode estar associado as queixas de dor mais recorrentes, assim como o desenvolvimento de dor crônica^(Landmark et al., 2011; Kathleen A. Sluka et al., 2012).

O desconforto gerado pela dor durante o exercício físico é uma das barreiras à adesão^(Jack et al., 2010) e portanto, dificulta a mudança no estilo de vida. A dor gera um afeto negativo em relação ao exercício físico o que ocasiona um gatilho de reforço negativo reduzindo a probabilidade do indivíduo realizar sessões futuras^(Williams et al., 2008), assim como se manter ativo. Embora o exato mecanismo, para facilitação da dor em indivíduos sedentários, ainda não ser bem compreendido, se é proposto que existe menos liberação de opioide devido a abstinência de exercício físico,

aumentando assim, a fosforilação da subunidade NR1 do receptor de NMDA aumentando a expressão do transportador de serotonina, o que resulta em redução da inibição da dor após a entrada nociceptiva^(Kathleen A. Sluka et al., 2018). Portanto, terapias que modulem este sistema de modulação endógeno inibitório da dor, como a Estimulação do Nervo Mediano e exercício físico, são promissoras para reduzir as queixas de dor e aumentar a aderência ao exercício, reduzindo assim, as chances de desenvolver doenças associadas ao comportamento sedentário, minimizando os gastos com saúde pública.

A ENM é um tipo de Estimulação Nervosa Transcutânea (ENT) a qual é frequentemente usada para o tratamento de dor^(Gibson et al., 2017; M. I. Johnson et al., 2015). Embora o exato mecanismo ao qual a ENM atua sobre a modulação da dor ainda não esteja muito consolidado, tem sido postulado que ENM atua via teoria do controle do portão da dor e por ativação de um sistema complexo de modulação endógeno da dor através, principalmente, da ativação de receptores μ de opioides modulando regiões na raiz do corno dorsal da medula espinhal, tálamo, tronco encefálico e córtex cerebral^(Josimari M. DeSantana et al., 2008a). Mecanicamente, ENM tem um componente espinorreticular conectado a neurônios do Sistema de Ativação Reticular Ascendente (SARA)^(Martins & Tavares, 2017), o qual pode ativar várias regiões corticais tais como: córtex somatossensorial primário (S1) e secundário (S2), córtex motor primário (M1), área motora suplementar (AMS), córtex cingulado anterior (CCA) e lobo da ínsula^(Backes et al., 2000; Ferretti et al., 2007; Kara et al., 2010; Klingner et al., 2011; Kocyigit et al., 2012), induzindo mudanças na neuroplasticidade de toda a network relacionada a estas áreas e mudando a resposta ao estímulo ao qual estes sistemas estejam vinculados, dependendo do estado basal deste circuito. O SARA também tem um papel importante na transmissão e modulação da informação nociceptiva e apresenta centros que pertencem ao sistema de modulação da dor, os quais estão envolvidos no balanço bidirecional (redução ou aumento) da resposta da dor^(Martins & Tavares, 2017).

Estudos^(Gomes et al., 2014; Moran et al., 2011a) têm sido desenvolvidos com o objetivo de encontrar parâmetros de ENM que gerem maior hipoalgesia. A intensidade e a frequência da corrente elétrica são parâmetros que apresentam efeitos diferentes quando alterados. Estudos^(Moran et al., 2011a; Pantaleao et al., 2011) tem mostrado que quanto maior a intensidade da corrente maior o efeito hipoalgésico. Já para a frequência,

tanto a alta quanto a baixa, apresentam o mesmo efeito^(J. M. DeSantana et al., 2009; Gomes et al., 2014). Embora alguns parâmetros, como intensidade de corrente mais elevada, gerem um efeito hipoalgésico mais acentuado, estes apresentam um tempo de duração curto devido a habituação neural gerada pelo estímulo repetitivo^(Ai et al., 2013). Portanto, variar os parâmetros (como intensidade e frequência) de estimulação de forma randomizada em uma mesma sessão, poderiam reduzir os efeitos da habituação, aumentando assim, o efeito hipoalgésico.

Embora estudos^(Ferretti et al., 2007; Manganotti et al., 2009) com ressonância magnética funcional tenham mostrado que existem áreas específicas corticais e subcorticais do cérebro que são ativadas durante a ENM, os mecanismos sobre a atividade elétrica cortical que levam a analgesia permanecem incertos. O eletroencefalógrafo é um aparelho com custo mais acessível quando comparado à ressonância magnética, o que facilita seu uso na prática clínica. Estudos com EEG tem revelado que a experiência subjetiva da dor tem sido associada a menor potência das ondas nas frequências delta, teta e alfa e potência relativamente maiores das ondas beta^(Babiloni et al., 2006; Jensen et al., 2008). Portanto, estudos analisando como diferentes parâmetros de ENM alteram a atividade elétrica cortical e sua associação com analgesia, precisam ser explorados, ajudando assim, no entendimento de como o tratamento pode modular a dor, assim como encontrar melhores parâmetros que potencializem o efeito.

No contexto do exercício físico, embora o mesmo provoque dor, ele também é utilizado como uma terapia não farmacológica poderosa para gerar hipoalgesia^(Naugle et al., 2014; Sluka et al., 2018). Estudos experimentais em indivíduos saudáveis e em pacientes demonstraram que os níveis de exercício físico e atividade física podem modular a cognição^(Martin et al., 2016) e excitabilidade e inibição central modulando a dor^(Flood et al., 2017; Koltyn et al., 2014; Tesarz et al., 2012; Vaegter et al., 2014). O princípio pelo qual o exercício físico leva à hipoalgesia tem sido amplamente estudado, porém os mecanismos exatos permanecem desconhecidos. A hipoalgesia^(Lima et al., 2017; Naugle et al., 2014; Tesarz et al., 2012) induzida pelo exercício (EIH – Exercício Induz Hipoalgesia) envolve uma complexidade de fenômenos e sugere que a EIH em nível crônico (várias sessões de exercício) é provavelmente causada por uma combinação de vários fatores como a ativação do sistema opioidérgico endógeno, do sistema imunológico e de vias descendentes de inibição da dor^(Sluka et al., 2018). Tais fatores apresentam associação com a intensidade do exercício físico realizado, mostrando-

se que quanto maior a intensidade do exercício maior EIH^(Naugle et al., 2014; O'leary et al., 2017).

Dentro deste contexto, observa-se a importância de pesquisar sobre i) os efeitos de um novo parâmetro de ENM, com variação de intensidade e frequência de forma randômica, sobre a modulação da dor, tanto em repouso como durante o exercício físico; ii) o efeito da ENM somado ao do exercício físico sobre a dor; iii) as alterações elétricas corticais associadas a este novo padrão de ENM. Este estudo ajudará a ampliar o entendimento sobre os efeitos da ENM sobre a dor em nível periférico e cortical cerebral, trazendo novas perspectivas para facilitar a aderência de indivíduos sedentários ao exercício físico.

1.3 Objetivos

O objetivo primário do presente estudo é analisar os efeitos da ENM, com parâmetros de intensidade e frequência variáveis de forma randomizada, sobre a dor em repouso e durante o exercício físico, além da percepção subjetiva de esforço e performance durante o teste até a exaustão na esteira.

O objetivo secundário é i) analisar se a combinação da ENM com exercício físico irá gerar um efeito somatório potencializando o efeito hipoalgésico; ii) se a ENM gerará alterações corticais cerebrais medidas com EEG.

2.CAPÍTULOS

2.1 ARTIGO 1

**EFFECTS OF MEDIAN NERVE STIMULATION (MNS) COUPLED
WITH PHYSICAL EXERCISE ON PAIN MODULATION: DOUBLE-
BLINDED, RANDOMIZED, CROSS-OVER EXPLORATORY
CLINICAL STUDY**

EFFECTS OF MEDIAN NERVE STIMULATION (MNS) COUPLED WITH PHYSICAL EXERCISE ON PAIN MODULATION: DOUBLE-BLINDED, RANDOMIZED, CROSS-OVER EXPLORATORY CLINICAL STUDY

Fabiana Tenório Gomes da Silva^{a,b}; Marcel Simis^{a,c}; Linamara Rizzo Battistella^c; Aurore Thibaut^{a,d}; Felipe Fregni^{a*}.

^aLaboratory of Neuromodulation, Center of Clinical Research Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

^bPsychology institute, Department of Neurosciences and behavior, University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^cInstitute of Physical Medicine and Rehabilitation, Clinicas HCFMUSP Hospital, Faculty of Medicine, University of Sao Paulo, SP, Brazil.

^dComa Science Group, GIGA-Consciousness, University and Univerisity Hospital of Liège, Liège, Belgium

*Corresponding author:

Felipe Fregni, MD, PhD, MPH.

Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Laboratory of Neuromodulation & Center for Clinical Research. Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School, 96 13th Street, Charlestown, Boston, MA, USA. Tel.: +1 617 952 6153; Fax: +1 617 952 6150; E-mail: fregni.felipe@mgh.harvard.edu.

ABSTRACT

Background: Physical exercise (PE) and median nerve stimulation (MNS) are powerful non-pharmacological tools to control pain. However, the effects of concurrent use of these two techniques have not been explored. Therefore, combining the two treatments could increase their respective effects on pain control. We aim to test whether MNS, using a novel algorithm that varies intensity and frequency of stimulation, combined with PE modulates pain and physical activity performance.

Methods: Twenty-four healthy adults participated in this double-blinded, randomized, cross-over trial. Each subject underwent a control, sham and active MNS. MNS was applied for 20 minutes at rest and then for 10 minutes during the warm-up period on the treadmill. Pain tests were performed at three time-points; at baseline (T0), after stimulation (T1) and after the PE (T2). In addition, during PE, the perceived exertion and pain sensation were assessed.

Results: We found a significant difference in the delta (T1 minus T2) between the active and the sham ($p=0.039$) and between the active and the control ($p=0.041$) for pressure pain threshold (PPT) on the left hand; pain thresholds being higher in the active group. Pain sensation during PE was lower for the active compared to the control group ($p=0.036$). No other differences were identified.

Conclusions: Our findings suggest a modest effect of MNS on pain perception during PE and a supplementary effect of MNS combined with PE on PPT. Although the results are limited, this study investigates a novel approach to analyze the concurrent effect of two techniques that modulate the pain.

Keywords:

Median Nerve Stimulation; Pain Threshold; Conditioned pain modulation (CPM); Physical exercise;

1. Introduction

Sedentary behavior is identified as the fourth risk factor for global mortality⁽¹⁾ and is associated with the development of diseases such as diabetes, obesity, stroke, hypertension, cancer, bone and joint disease (osteoporosis and osteoarthritis), depression, peripheral artery disease, and chronic pain, some of which are listed in the top 10 causes of death, according to the World Health Organization⁽²⁻⁴⁾. Physical inactivity also causes physiological changes such as the reduced activity of the endogenous pain inhibitory system⁽⁵⁻⁷⁾. Although the exact mechanism for pain relief in sedentary individuals is not yet well understood, it is proposed that there is less opioid tone in the brainstem, resulting in pain facilitation after nociceptive entry due to increases in NR1 subunit phosphorylation of the NMDA receptor and increased expression of serotonin transporter⁽⁸⁾ which is associated with more recurrent pain complaints as well as chronic pain development^(3,9). Therefore, strategies that modulate the endogenous pain inhibitory system may reduce the chances of developing chronic pain diseases.

Exercise is a powerful non-pharmacological tool to manage pain. Experimental pain studies in healthy and patients with various conditions have shown that physical exercise may modulate descending pain inhibition pathways modulating the pain^(5,10,7,11). While the underlying mechanisms of the analgesic effects of physical exercise have been widely studied, they still remained to be fully uncovered. According to previous studies⁽¹²⁻¹⁴⁾, exercise-induced hypoalgesia (EIH) involves a complex series of phenomena and is likely caused by a combination of several factors such as activation of the endogenous opioid, cannabinoids, noradrenergic, serotonergic and cardiovascular systems leading to activation of descending pain inhibition pathways. In relation to the activation of central inhibitory pathways, the main relay for pain modulation centrally in the rostral ventromedial medulla (RVM). There is recent evidence for the involvement of the RVM in the analgesia induced by exercise due to the increase opioid release (generated by physical exercise) leading to a reduction of phosphorylation of the NR1 subunit of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor in the RVM, which would result in decreased facilitation of pain^(8,12).

Median Nerve Stimulation (MNS), may be considered as a type of Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) which has been tested to modulate pain in different conditions including healthy and patients with chronic and acute pain^(15,16). Although the exact mechanism of pain relief linked to the application of transcutaneous electrical stimulation is not yet fully understood, it has been postulated that it acts via the gate-control theory of pain

as described by Melzack and Wall⁽¹⁷⁾ which reduces the passage of the pain stimulus to the central nervous system and activates μ -opioid receptors in the spinal cord and the brainstem⁽¹⁸⁾ which lead to an increase of the descending pain-inhibitory activity, thus reducing pain sensation. However, it is essential to note that the effects of peripheral electrical stimulation are likely dependent on the parameters of stimulation. Current research has tried to find the best stimulation patterns that are associated with optimal analgesic effects^(19,20). One interesting option is to use a variation of the parameters of stimulation, especially the intensity and frequency of stimulation. In this present study, we developed an algorithm to vary current intensities and frequencies to optimize MNS effects. We used these parameters in another study showing that this method has a significant effect on motor learning⁽²¹⁾.

Currently, studies have shown that the combination of two modalities of treatment, which can modulate pain inhibition pathways systems lead to greater effects on pain relief than one or the other alone^(22,23). However, the impact of concurrent (simultaneous) methods has not been explored well. In this context, the main goal of our study is to analyze whether MNS (with parameters variation) combined with physical exercise will enhance the analgesic effect compared to physical exercise applied alone or physical exercise combining with sham MNS. Our secondary outcome is to explore the effects of MNS on time to fatigue, ratio perceiver exertion (RPE), and pain perception during physical exercise. Our hypothesis is that MNS combined with physical exercise will increase the PPT and CPM, and the MNS will reduce pain sensation during physical exercise, improving time to fatigue, increasing, thus its analgesic effect.

2. Materials and Methods

2.1 Subjects

Twenty-four healthy right-hand dominant adults (12 women and 12 men; 25 mean age ± 5.53 years; 68.7 ± 16.2 kg; 23.7 ± 5 BMI) volunteered to participate in this study. All subjects completed a medical history questionnaire (PAR-Q) and the International physical activity questionnaire (IPAQ) before being enrolled in the study. **Inclusion criteria were:** i) able to provide informed consent to participate in the study, ii) able to perform physical activities such as treadmill, iii) 18-40 years old iv) Body mass index (BMI) < 27 , v) to be insufficiently active (i.e., categories A or B in the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)). **Exclusion criteria were:** i) hypertension, diabetes, cardiovascular disease, ii) subjects with pacemakers, and/or implantable cardioverter-defibrillators, iii) history of asthma with active

symptomatology in the past year, pulmonary disease or use of inhalers, active smoker, or history of smoking in the last 6 months, iv) physical disability, neurological and/or psychological disorder that precludes safe and adequate testing, v) conditions that may impair the ability to feel pain, vi) mental impairment with limited ability to cooperate, vii) suffering from severe depression (with a score >30 in the Beck Depression Inventory - BECK), viii) history of alcohol or drug abuse within the past 6 months as self-reported, ix) use of antiepileptic and/or hypnotic medications like carbamazepine, valproate acid, gabapentin, zolpidem, etc., x) use of medication with potential cardiovascular influence, xi) history of unexplained fainting spells as self-reported, head injury resulting in more than a momentary loss of consciousness, xii) history of neurosurgery as self-reported, epilepsy, xiv) skin lesion or open wounds around or in area of electrode application, tattoos in upper limb or along the nerve tract, xv) untreated medical conditions, such as significant anemia, important electrolyte imbalance, or hyperthyroidism and xvi) pregnancy or trying to become pregnant in the next 6 months. Subjects were informed about all procedures of the study and gave written informed consent prior to the experiment. This study was approved by the Human Ethics Committee of Psychology Institute of São Paulo University (CAAE: 54812416.7.0000.5561) conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

2.2. Study design

This is a double-blinded, randomized, cross-over trial where subjects received control (i.e., no intervention), sham and active sensorial stimulation on different days (time of washout between the three sessions: 1 to 2 weeks). Subjects were asked to avoid strenuous physical activity and alcohol consumption 48 hours and caffeinated products and exhaustive cognitive activity 24 hours prior to each study session, as well as to maintain a good sleeping pattern and normal dietary habits during the entire duration of the protocol.

The study was performed at the Institute of Physical Medicine and Rehabilitation of Hospital of Clinics of the Medical School of University of São Paulo (IMREA-HC-FM-USP). Each subject completed a total of 4 visits: visit 1: screening and baseline evaluations; visits 2 to 4: interventional visits.

Each subject undertook the following procedures:

- a) Initial screening (exclusion and inclusion criteria) and baseline evaluation: Answer questionnaires (for medical history, depression, anxiety, and physical activity) and

physical evaluation (maximal exercise test); On the same day, body weight (kg) and height (m) were measured. Body mass index was calculated as weight (kg) divided by the square of height in meters (kg/m^2). The subjects performed the maximal exercise test (to find the maximal speed).

- b) Interventional visits: The first interventional visit was made with a minimum interval of one week between one and the initial screening. Pain Pressure Thresholds (PPT), Conditioned pain modulation (CPM), and Time To Fatigue (TTF).

The study protocol is presented in figure 1.

2.3 Procedures

Anxiety assessment

The anxiety status was based on the State-Trait Anxiety Inventory that is a common and important construct in the study of the human experience⁽²⁴⁾. This is a sensitive scale for evaluation of the severity of anxiety.

Depression assessment

The depression was evaluated with the screening Beck Depression Inventory (BDI) score⁽²⁵⁾. For this study, a BDI score > 30 was considered as an exclusion criterion.

Physical activity level assessment

The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)⁽²⁶⁾ was used to assess physical activity level. For this study, insufficient activity (inclusion criteria) were considered for subjects that performed less than 150 minutes of activity per week or less than five days per week.

Maximal exercise test

Each participant underwent an incremental exercise test to determine the maximal treadmill velocity. Firstly, there was a warm-up of five minutes walking at $4\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ on a motorized treadmill (EMBRAMED® 10200). The test consisted of an increase of $1\text{km}/\text{h}$ per minute until volitional exhaustion⁽²⁷⁾. The maximal treadmill velocity

was defined as the velocity achieved during the last full stage before volitional exhaustion. There was no verbal stimulation.

Pressure Pain Threshold (PPT)

PPT was evaluated with an algometer (Baseline® 12-0304), with 1-cm² application surface and recordings displayed in kilograms of force (kgf) to establish the minimum pressure that triggered the pain at the thenar region of both hands. Recordings were taken with pressure applied at a rate of 1 kg.cm⁻².s⁻¹. PPT was performed three times for each side (right and left hand) with an interval of 10 seconds between them. The participants verbally reported the first point when pain (distinct from pressure or discomfort) occurred, then, the algometry was immediately removed, and the corresponding measurement recorded as PPT⁽²⁰⁾. For each PPT, the pain intensity of pressure was also collected using the visual analog scale (VAS)⁽²⁸⁾.

Conditioned pain modulation (CPM)

CPM was induced approximately for 1 min by having subjects immerse their right hand into a water bath maintained at 10-12°C. After 30 seconds, the participant's pain intensity was collected using the VAS. During the following 30 seconds, the PPT procedure was repeated three times on the left hand (with an interval of 10 seconds between them). At the end of the procedure, the participant's pain intensity (VAS) of the hand into the water was asked one more time. CPM was evaluated as the mean difference in pain rating of the test stimulus applied before and during the conditioning stimulus and between the mean difference of the VAS during and in the end of CPM. We used the same protocol before in another study⁽²⁹⁾ except that we tested the left hand.

Median Nerve Stimulation (MNS)

Each session consisted of 20 minutes of electrical stimulation (active or sham) delivered by standard electrodes to the right wrist (median nerve) with the participant sitting on a comfortable chair. The shape of the wave was a constant rectangular wave with a random frequency range (1-4 Hz, 8-12Hz and 60-90 Hz) and intensity levels (2 to 6 mA) that changed every 2 minutes throughout of 20 minutes of stimulation. In the sham procedure, the device was turned on and only applied stimulation for the first and last 30 seconds. To control the condition, the participant stayed seated during the duration of the stimulation time (20 minutes). There was a second application of MNS, which was administered during the warm-

up period on the treadmill; the duration was ten minutes prior to exercise with 70% of maximal velocity.

Time To Fatigue (TTF)

Each experimental visit consisted of a warm-up of ten minutes on the treadmill with the velocity of 4km/h (depending on the randomization, the MNS (sham and active condition) was applied during this warm-up time (10 minutes). After that, the velocity was changed to 70% of the maximal velocity and kept until exhaustion (without MNS). During the second part of the exercise (70% of the maximal speed), the individuals were asked (each 1 minute) about perceived exertion (Borg scale), pain sensation (VAS), and where they feel the pain (subjective question). The test was kept until the individual asked to stop.

Figure 1. Schematic illustration of the experimental protocol performed during the control and two experimental sessions (placebo and real stimulation). The pain tests were: PPT, DNIC, and VAS, which were assessed on three times before and immediately after MNS and after physical exercise.

3. Statistical analysis

The normality of data variance was tested with the Shapiro-Wilk's test, skewness, and kurtosis. In order to compare the values of PPT at rest (right and left side), PPT during CPM and pain sensation our primary outcome, we conducted a Friedman's test to compare between the three conditions (control, sham and active rMNS) and Wilcoxon signed-rank test (two analyses (control x active and sham x active)) when the differences among the groups were found. We used the difference (i.e., delta) between post-stimulation minus post-exercise ((T1-T2) main outcome), before-stimulation minus post-stimulation ((T0-T1) exploratory analysis about MNS effects) where positive values represent hyperalgesia and negative values represent hyporalgesia.

We also used a Friedman's test to compare the values of pain sensation during total time physical exercise at different time points (i.e., 10%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100% of total exercise time), between the three conditions (control, sham and active MNS). For posthoc analyses, we used Wilcoxon signed-rank as.

We considered the p-value as < 0.05 for all the primary outcomes. We did not correct for multiple comparisons given this is an initial exploratory study⁽³⁰⁾.

4. Results

Population

All volunteers had a body mass index (BMI) <27 and were sedentary or insufficiently active, according to the IPAQ. At baseline, participants had a score of 6.95 ± 5.32 (normal) at the Beck depression inventory, a State-Trait Anxiety Inventory score of 36.45 ± 10 (state), and 37.62 ± 9.44 (trait) (scale ranges from 20 to 80).

Primary Outcomes: PPT, CPM and VAS at rest

We did not find a baseline difference for the PPT, VAS and CPM delta between the three conditions. We found a significant difference in PPT left between active and sham ($p=0.039$) and between active and control groups ($p=0.041$) when looking at the difference (i.e., delta) between PPT post-stimulation and post-exercise which show PPT increasing (meaning less pain) in the active group (See figure 2). No other comparisons reached significance level for PPT neither for CPM and VAS at rest (See table 1).

Table I. PPT and VAS (right and left hands) and CPM

	T0-T1	T1-T2		T0-T1	T1-T2
PPT left			PPT right		
Control – active rMNS	Z=0.300 ; p=0.764	Z=-2.115 ; p=0.041	Control – active rMNS	Z=-1.358 ; p=0.175	Z=-0.614 ; p=0.539
Sham – active rMNS	Z=-0.314 ; p= 0.753	Z=-2.115 ; p=0.039	Sham – active rMNS	Z=-1.257 ; p=0.209	Z=-1.300 ; p=0.194
VAS PPT left			VAS PPT right		
Control – active rMNS	Z=-0.246 ; p=0.805	Z=0.263 ; p=0.793	Control – active rMNS	Z=-0.157 ; p=0.875	Z=-0.908 ; p=0.364
Sham – active rMNS	Z=-0.145 ; p=0.885	Z=1.011 ; p=0.312	Sham – active rMNS	Z=-0.072 ; p=0.943	Z=-0.610 ; p=0.542
PPT CPM left			VAS CPM left		
Control – active rMNS	Z=0.071 ; p=0.943	Z=-0.486 ; p=0.627	Control – active rMNS	Z=0.880 ; p=0.379	Z=-0.351 ; p=0.726

Sham – active rMNS	Z=0.257 ; p=0.797	Z=-1.115 ; p=0.265	Sham – active rMNS	Z=-0.233 ; p=0.816	Z=0.207 ; p=0.836
--------------------------	----------------------	-----------------------	--------------------------	-----------------------	----------------------

Figure 2. PPT variation (PPT post stimulation (T1) minus PPT post exercise (T2) for control, sham and active conditions. A significant difference was found between the active and both sham and control conditions (*)

Secondary Outcome: Pain sensation during physical exercise, Time to fatigue, perceived exertion, frequency and pain locations in lower limbs.

Regarding pain sensation (VAS) during physical exercise, we found a significant difference between the active MNS and the control condition at 40% of maximal time of exercise (p=0.036) (see **figure 3**) (the comparison of active vs. sham reached a trend for significance (p=0.09) (see **table 2**). The time to fatigue and perceived exertion were not significantly different between the conditions (See **Table 3**).

Table II. VAS and Perceived exertion during physical exercise.

	10%	20%	40%	60%	80%	100%
VAS_Control – active MNS	Z=-0.181 ; p=0.856	Z=1.477 ; p=0.139	Z=2.190 ; p=0.036	Z=1.061 ; p=0.289	Z=0.194 ; p=0.846	Z=0.612 ; p=0.541
VAS_Sham – active MNS	Z=0.222 ; p=0.824	Z=1.709 ; p=0.086	Z=1.793 ; p=0.094	Z=0.352 ; p=0.725	Z=1.433 ; p=0.152	Z=1.331 ; p=0.183
RPE_Control – active MNS	Z=-0.656 ; p=0.512	Z=-0.693 ; p=0.488	Z=-0.121 ; p=0.904	Z=-0.203 ; p=0.839	Z=0.882 ; p=0.378	Z=-1.18 ; p=0.236
RPE_Sham – active MNS	Z=1.213 ; p=0.225	Z=0.785 ; p=0.433	Z=1.46 ; p=0.144	Z=1.124 ; p=0.213	Z=1.6 ; p=0.109	Z=1.18 ; p=0.235

Figure 3. Graph Visual Analogic Scale (VAS – median scores). A significant difference was found between active MNS and control condition at 40% of the total time of physical exercise (*)

Table III. Time to fatigue and pain local during physical exercise followed control, sham and anodal MNS.

CONDITION	CONTROL	SHAM	ACTIVE	p value
TIME TO FATIGUE	13.0 ± 7.84	13.0 ± 5.99	13.2 ± 7.10	p=0.364

Values are represented as mean ($\pm$ standard deviation).

5. Discussion

This is an exploratory randomized, cross-over and double-blind trial, which shows a synergic effect of MNS plus physical exercise on pain in sedentary people both at rest and during physical exercise. We found that PPT of the left hand increased after physical exercise with active MNS (-0.05 KGS) when compared to the sham (0.08 KGS) and control conditions (0.05 KGS). We found no changes in PPT on the right hand, CPM and VAS at rest. MNS decreased the pain sensation during physical exercise when analyzing for the percentage of time showing the reduction of pain (33.4% less than control) in a specific time point (40% of total time equivalent to 5.28 minutes of physical exercise). Although we show significant differences, the effects were limited to a few outcomes only. In the descriptive statistic, the frequency and pain locations in lower limbs reported during physical exercise were lower in the active condition when compared with control and sham, and these effects did not change the time to fatigue and perceived exertion.

This study explored the effects of MNS combined with physical exercise on the hypoalgesic effects. Our data suggest that combining two treatments which activated the endogenous pain inhibitory systems can lead to a summing analgesic effect when compared with just one treatment alone or physical exercise plus MNS placebo. Our results are in line with previous studies^(22,23), which combined two treatments, such as transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) and TENS; and neuromuscular electrical stimulation and TENS which activate the endogenous pain inhibitory systems showing higher in analgesic effects. These results may be explained by several factors:

- 1) Physical exercise and MNS mechanisms at the cortical, subcortical, and brainstem levels. The cortical related effects of MNS and exercise are likely mainly driven by spinoreticular component connected to the neurons of the ascending reticular

activating system (ARAS), which can activate various regions in the cortex through ventromedial part of the thalamus⁽³¹⁾ which is characterized by its extensive neocortical projection⁽³²⁾. Therefore our results show that MNS combined with physical exercise effects may not be side dependent, due to the wide cortical projection⁽³³⁾ and the part of descendent inhibitory pain pathway has bilateral fibers distribution⁽³⁴⁾;

- 2) The first stimulation could have primed the effect with physical exercise and/or the second stimulation applied during warming period (i.e., first 10 minutes on the treadmill), may have induced a synergistic (summation effect) effect of MNS. These two effects (prime and synergistic) are due of the increased brainstem and brain activity linked to MNS and walking (here warming period) which activate similar areas such as M1, sensorimotor areas, parietal, cingulated anterior cortex and periaqueductal gray (PAG)^(35,36), leading to a reinforcement of MNS effects. Such effects could only be seen on the left side due a) this non-dominant side has a lower threshold^(37,38), and b) this side is less stimulated during the protocol and may not have reached inhibitory systems exhaustion^(39,40).
- 3) Bienenstock-Cooper-Munro (BCM)⁽⁴¹⁾ theory shows that synaptic plasticity depends on the previous level of postsynaptic neuronal activity in which the threshold for LTP induction increases if the previous level of postsynaptic neuronal activity was high. In this present study, the dominant side (right) was stimulated once prior to the physical exercise session, which maybe may have increased the pathway's excitability leading to more difficulty in generating LTP.

MNS induced pain reduction during physical exercise (33.4% compared to control) after 5.28 minutes of exercise (40% of total time) which is in line with a previous study⁽⁴²⁾ evaluating the effect of TENS (continuous pattern of stimulation with the frequency of 100 Hz) on pain. They found a reduction of pain perception (1) during isometric contractions (pain decreased by 12%) and (2) during a cycling exercise (i.e. bike 16.1km on a cycle ergometer as fast as possible; pain decreased between 19,4% and 32,6%). These results support the beneficial effect of MNS during physical exercise on pain perception, which could have a positive impact on sedentary subjects and patients required to perform the physical exercise as well as limit the number of drop-outs in researches.

Interestingly we did not find differences in the PPT to among the conditions to the delta T0-T1 what may reflect no MNS stimulation effects when applied alone or MNS effect was masked by CPM test applied before MNS due the endogenous pain inhibitory systems has a plateau which when it is reached reaches exhaustion and its effects on the pain may not be increased, or it is reduced when another stimulus is applied as explained in prior studies^(39,40). The same results we found to CPM, which we did not find an effect of MNS alone (delta T0-T1) and combined with physical exercise (T1-T2) on CPM. These results are similar to the previous studies that investigated whether the simultaneous application of TENS and CPM⁽⁴⁰⁾ and physical exercise after CPM⁽³⁹⁾ will enhance the analgesic effect compared to each treatment when applied alone. In our study, the CPM test prior MNS, may have masked the MNS effects on the second CPM. Similarly, CPM tested prior to physical exercise may have masked the effects on the third CPM. The masking's hypotheses may be explained due studies showed that PPT changes during CPM are positively correlated with PPT changes during TENS application⁽⁴⁰⁾, and CPM is also positively correlated with physical exercise hypoalgesic effects⁽⁴³⁾, in our study we cannot prove the effect of PPT with just MNS and just Physical exercise due the CPM was did prior the intervention.

6. Study limitations

This study had some limitations, such as the small sample size, and the p-value was not adjusted for multiple comparisons, which may have led to type I or II errors. However, it should be noted that our study has a crossover design, indicating that 24 subjects in our study are equivalent to 72 patients in a parallel study. In addition, within-subjects variability is smaller than between-subjects variability; therefore, this study has more power compared with 24 subjects in a parallel design. In addition, we used CPM, which activates pain inhibitory systems and may have biased the pain-related measures in our study. Therefore, future studies should take into account this issue and design protocols to test CPM without interfering with other measures (e.g., longer washout periods after the CPM and the next test). Finally, we only tested the effects of a single MNS session, while multiple sessions may be needed to induce clinically relevant effects.

7. Conclusions

In conclusion, reducing pain using complementary non-pharmacological techniques could be extremely useful, especially for sedentary people. Although our results show a modest and limited effect, our findings bring a new way to overcome some issues linked to

sedentary behaviors which have been shown to be related to higher pain perception and a decreased activity of the endogenous inhibitory system of pain when compared to active and athletes behavior^(5–7). Therefore, reducing pain sensation during physical exercise and increase pain threshold could improve the adherence to protocols or training of sedentary people and reduce the risks of health problems such as cardiovascular events, stroke, obesity, and chronic pain. However, a deeper understanding of the mechanisms and physiological responses of interaction between the simultaneous application of neuromodulation interventions on pain is still needed. More studies are necessary to clarify this mechanism and understand its responses in a larger population.

8. Acknowledgements

Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Instituto de Medicina Física e Reabilitação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo IMREA (HC FMUSP) and all the volunteers who participated this research.

9. References

1. Organization, World Health. (2010). Global recommendations on physical activity for health: World Health Organization.
2. Booth, Frank W, Roberts, Christian K, & Laye, Matthew J. (2012). Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Comprehensive Physiology*, 2(2), 1143.
3. Sluka KA, O'Donnell JM, Danielson J, Rasmussen LA. Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *Journal of applied physiology*. 2012;114(6):725–733.
4. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *Cmaj*. 2006;174(6):801–809.
5. Flood A, Waddington G, Thompson K, Cathcart S. Increased conditioned pain modulation in athletes. *Journal of sports sciences*. 2017;35(11):1066–1072.
6. Geva N, Defrin R. Enhanced pain modulation among triathletes: a possible explanation for their exceptional capabilities. *PAIN®*. 2013;154(11):2317–2323.
7. Tesarz J, Schuster AK, Hartmann M, Gerhardt A, Eich W. Pain perception in athletes compared to normally active controls: a systematic review with meta-analysis. *Pain*. 2012;153(6):1253–1262.

8. Sluka KA, Frey-Law L, Bement MH. Exercise-induced pain and analgesia? Underlying mechanisms and clinical translation. *Pain*. 2018;159:S91–S97.
9. Landmark T, Romundstad P, Borchgrevink PC, Kaasa S, Dale O. Associations between recreational exercise and chronic pain in the general population: evidence from the HUNT 3 study. *PAIN®*. 2011;152(10):2241–2247.
10. Vaegter HB, Handberg G, Graven-Nielsen T. Similarities between exercise-induced hypoalgesia and conditioned pain modulation in humans. *PAIN®*. 2014;155(1):158–167.
11. Koltyn KF, Brellenthin AG, Cook DB, Sehgal N, Hillard C. Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia. *The Journal of Pain*. 2014;15(12):1294–1304.
12. Lima LV, Abner TS, Sluka KA. Does exercise increase or decrease pain? Central mechanisms underlying these two phenomena. *The Journal of physiology*. 2017;595(13):4141–4150.
13. Naugle KM, Fillingim RB, Riley III JL. A meta-analytic review of the hypoalgesic effects of exercise. *The Journal of pain*. 2012;13(12):1139–1150.
14. Rice D, Nijs J, Kosek E, Wideman T, Hasenbring MI, Koltyn K, et al. Exercise-Induced Hypoalgesia in Pain-Free and Chronic Pain Populations: State of the Art and Future Directions. *The Journal of Pain*. 2019;
15. Gibson W, Wand BM, O’Connell NE. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for neuropathic pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;(9).
16. Johnson MI, Paley CA, Howe TE, Sluka KA. Transcutaneous electrical nerve stimulation for acute pain. *Cochrane database of systematic reviews*. 2015;(6).
17. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;150(3699):971–979.
18. DeSantana JM, Walsh DM, Vance C, Rakel BA, Sluka KA. Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain. *Current rheumatology reports*. 2008;10(6):492.
19. Pantaleao MA, Laurino MF, Gallego NL, Cabral CM, Rakel B, Vance C, et al. Adjusting pulse amplitude during transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) application produces greater hypoalgesia. *The journal of pain*. 2011;12(5):581–590.
20. Moran F, Leonard T, Hawthorne S, Hughes CM, McCrum-Gardner E, Johnson MI, et al. Hypoalgesia in response to transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) depends on stimulation intensity. *The Journal of Pain*. 2011;12(8):929–935.
21. Carvalho S, French M, Thibaut A, Lima W, Simis M, Leite J, et al. Median nerve stimulation induced motor learning in healthy adults: A study of timing of stimulation and type of learning. *European Journal of Neuroscience*. 2018;48(1):1667–1679.

22. Boggio PS, Amancio EJ, Correa CF, Cecilio S, Valasek C, Bajwa Z, et al. Transcranial DC stimulation coupled with TENS for the treatment of chronic pain: a preliminary study. *The Clinical journal of pain*. 2009;25(8):691–695.
23. Moore SR, Shurman J. Combined neuromuscular electrical stimulation and transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of chronic back pain: a double-blind, repeated measures comparison. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 1997;78(1):55–60.
24. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene R, Vagg PR, Jacobs GA. Manual for the State-trait anxiety inventory (form Y self-evaluation questionnaire) consulting psychologists press: Palo Alto. CA; 1983.
25. Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Neto FL, Andrade LH, Wang YP. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2012;34(4):389–394.
26. de Souza Vespasiano B, Dias R, Correa DA. A utilização do questionário internacional de atividade física (IPAQ) como ferramenta diagnóstica do nível de aptidão física: uma revisão no Brasil. *Saúde em Revista*. 2012;12(32):49–54.
27. MacAuley D. Oxford handbook of sport and exercise medicine. Oxford University Press; 2012.
28. Bijur PE, Silver W, Gallagher EJ. Reliability of the visual analog scale for measurement of acute pain. *Academic emergency medicine*. 2001;8(12):1153–1157.
29. Reidler JS, Mendonca ME, Santana MB, Wang X, Lenkinski R, Motta AF, et al. Effects of motor cortex modulation and descending inhibitory systems on pain thresholds in healthy subjects. *The Journal of Pain*. 2012;13(5):450–458.
30. Rubin M. Do p values lose their meaning in exploratory analyses? It depends how you define the familywise error rate. *Review of General Psychology*. 2017;21(3):269–275.
31. Starzl TE, Taylor CW, Magoun HW. Ascending conduction in reticular activating system, with special reference to the diencephalon. *Journal of neurophysiology*. 1951;14(6):461–477.
32. Klockgether T, Schwarz M, Turski L, Sontag K-H. The rat ventromedial thalamic nucleus and motor control: role of N-methyl-D-aspartate-mediated excitation, GABAergic inhibition, and muscarinic transmission. *Journal of Neuroscience*. 1986;6(6):1702–1711.
33. Edlow BL, Takahashi E, Wu O, Benner T, Dai G, Bu L, et al. Neuroanatomic connectivity of the human ascending arousal system critical to consciousness and its disorders. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2012;71(6):531–546.
34. Llorca-Torralba M, Borges G, Neto F, Mico JA, Berrocoso E. Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*. 2016;338:93–113.

35. Hamacher D, Herold F, Wiegel P, Hamacher D, Schega L. Brain activity during walking: a systematic review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2015;57:310–327.
36. Scheef L, Jankowski J, Daamen M, Weyer G, Klingenberg M, Renner J, et al. An fMRI study on the acute effects of exercise on pain processing in trained athletes. *PAIN®*. 2012;153(8):1702–1714.
37. Pauli P, Wiedemann G, Nickola M. Pressure pain thresholds asymmetry in left-and right-handers: associations with behavioural measures of cerebral laterality. *European Journal of Pain*. 1999;3(2):151–156.
38. Özcan A, Tulum Z, Pınar L, Başkurt F. Comparison of pressure pain threshold, grip strength, dexterity and touch pressure of dominant and non-dominant hands within and between right-and left-handed subjects. *Journal of Korean medical science*. 2004;19(6):874–878.
39. Gajjar H, Nahrwold K, Titze C, Hasenbring MI, Vaegter HB. Exercise does not produce hypoalgesia when performed immediately after a painful stimulus. *Scandinavian Journal of Pain*. 2018;18(2):311–320.
40. Liebano RE, Vance CG, Rakel BA, Lee JE, Cooper NA, Marchand S, et al. Transcutaneous electrical nerve stimulation and conditioned pain modulation influence the perception of pain in humans. *European Journal of Pain*. 2013;17(10):1539–1546.
41. Bienenstock EL, Cooper LN, Munro PW. Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *Journal of Neuroscience*. 1982;2(1):32–48.
42. Astokorki AH, Mauger AR. Transcutaneous electrical nerve stimulation reduces exercise-induced perceived pain and improves endurance exercise performance. *European journal of applied physiology*. 2017;117(3):483–492.
43. Lemley K, Hunter S, Bement M. Conditioned Pain Modulation Predicts Exercise-Induced Hypoalgesia in Healthy Adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2015.

Figure 1. Schematic illustration of the experimental protocol performed during the control and two experimental sessions (placebo and real stimulation). The pain tests were: PPT, DNIC, and VAS, which were assessed on three times before and immediately after MNS and after physical exercise.

Figure 2. PPT variation (PPT post stimulation (T1) minus PPT post exercise (T2) for control, sham and active conditions. A significant difference was found between the active and both sham and control conditions (*)

Figure 3. Graph Visual Analogic Scale (VAS – median scores). A significant difference was found between active MNS and control condition at 40% of the total time of physical exercise (*)

2.2 ARTIGO 2

**NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MEDIAN NERVE
STIMULATION: AN EXPLORATORY qEEG STUDY**

NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MEDIAN NERVE STIMULATION: AN EXPLORATORY qEEG STUDY

Fabiana Tenório Gomes da Silva^{a,b*}; Marcel Simis^{a,c}; Aurore Thibaut^{a,d}; Ana Rita Cortelli Donati^{a,e}; Linamara Rizzo Battistella^c; Felipe Fregni^a.

^aLaboratory of Neuromodulation, Center of Clinical Research Learning, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

^bPsychology institute, Department of Neurosciences and behavior, University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^cInstitute of Physical Medicine and Rehabilitation, Clinicas HCFMUSP Hospital, Faculty of Medicine, University of Sao Paulo, SP, Brazil.

^dComa Science Group, GIGA-Consciousness, University and Univerisity Hospital of Liège, Liège, Belgium

^eAssociação de Assistência à Criança Deficiente (AACD)

*Corresponding author:

Fabiana Tenório Gomes da Silva.

Department of Neuroscience and behavior, São Paulo University, Avenue Prof. Mello Moraes, 1721, 05508-030, cidade universitária, São Paulo, Brazil. E-mail:

fabianatgds@hotmail.com

ABSTRACT

Background: Median nerve stimulation (MNS) is a type of peripheral stimulation that has been shown to modulate the pain levels. It is thought that MNS effects are also generated by mechanisms such as changes in cortical brain activity. Therefore understanding the mechanism of MNS on cortical activity, related to pain relief, is an important step to develop optimized parameters stimulation and protocols.

Objectives: The main goal of this present study is to conduct an exploratory analysis to detect changes in absolute power and coherence for delta, theta, alpha, low alpha, high alpha, low beta and high beta waves generated by MNS on cortical brain activity in the fronto-central regions. Our hypothesis is that MNS will change the cortical brain active through of power and coherence.

Methods: Twenty-four healthy right-hand dominant adults (12 women; 25 mean age ± 5.53 years) participated in this double-blinded, randomized, cross-over trial. Each subject underwent a control (i.e., no intervention), sham and active MNS. MNS was applied for 20 minutes at rest. EEG was recorded before (baseline, 10 minutes) and during the stimulation (on-line).

Results: Active MNS had significant differences in the delta for central ($p < 0.05$) region toward reduction and in the high beta for frontal right, frontal left, central right, central left, frontal central and central regions ($p < 0.05$) toward increase when compared with control. Sham MNS had significant differences in the delta for central ($p < 0.05$) region toward reduction and in the high beta for frontal left, central right, central left, frontal central and central regions ($p < 0.05$) toward increase when compared with control. To coherence active MNS induced a significant increase in alpha ($p < 0.05$) as compared with the sham stimulation for the pair of electrodes C3-C4 and sham MNS induced a significant reduction in alpha ($p < 0.05$) as compared with the control condition in the same pair of electrodes.

Conclusions: In conclusion the MNS change the cortical brain active index by power and coherence in specific waves. This study brings new insights of how this treatment (MNS) can to produce a clinical benefit.

Keywords:

Median Nerve Stimulation; Pain; Cortical Brain Activity;

1. INTRODUCTION

Nowadays researches have used neurophysiological measures, such as electroencephalogram (EEG) to study neural correlates of pain processes. The subjective experience of pain has been associated with lower power of waves as delta, theta and alpha activity and relatively higher amplitudes of faster wave (beta) activity⁽¹⁾. Although studies have^(2, 3) shown that there are some specific cortical brain areas which are activated during a painful stimulus the mechanisms on the cortical areas which the therapies lead to analgesia remain unclear. Therefore EEG is currently used in studies^(1, 4, 5) to understand how treatments can modulate pain perception.

Median nerve stimulation (MNS) is a type of peripheral stimulation that has been shown to modulate the pain levels⁽⁶⁾. However, the mechanisms underlying MNS effects on pain relief remain unclear. It is thought that MNS effects are generated by mechanisms such as gate pain control, activation of descending pain modulatory systems and changes in cortical and thalamic activity^(4, 6). In this context the studies have tried to understand how MNS can change brain activity and its correlation with the pain. Previous studies⁽⁷⁻¹¹⁾ using functional magnetic resonance imaging (fMRI) showed that MNS induced an increase in brain activity in several pain-related regions such as somatosensory cortex I (SI) and II (SII), insula, periaqueductal gray, cingulate cortex. Considering that fMRI is not easily available in clinical practice, EEG represents a valuable alternative to investigate how MNS influences cortical activity. Understanding the mechanisms of MNS on cortical activity, related to pain relief, is an important step to develop optimized parameters stimulation and protocols.

In this context, the main goal of this present study is to conduct an exploratory analysis to detect changes in absolute power and coherence for delta, theta, alpha, low alpha, high alpha, low beta and high beta waves generated by MNS on cortical brain activity in the fronto-

central regions. Our hypothesis is that MNS will change the cortical brain active through of power and coherence.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Subjects

Twenty-four healthy right-handed dominant adults (12 women and 12 men; 25 mean age ± 5.53 years; 68.7 ± 16.2 kg; 23.7 ± 5 BMI) volunteered to participate the study. In order to screen the medical history and the physical aptitude, all subjects completed the Physical Activity Readiness Questionnaire (PAR-Q) and the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)⁽¹²⁾ before being enrolled in the study. Inclusion criteria were: i) ability to provide informed consent to participate in the study, ii) age 18-40 years old iii) Body mass index (BMI) < 27 , iv) to be insufficiently active (i.e., categories A or B (subjects that performed less than 150 minutes of activity per week or less than five days per week) in the IPAQ) . Exclusion criteria were: i) hypertension, diabetes, cardiovascular disease, ii) subjects with pacemakers, and/or implantable cardioverter-defibrillators, iii) physical disability, neurological and/or psychological disorder that precludes safe, adequate testing and cooperation , iv) central or peripheral neuropathy impairing the ability to feel, v) presence of visual deficit vi) suffering from severe depression (BDI scoring > 30 vii) history of alcohol or drug abuse within the past 6 months as self-reported, viii) use of antiepileptic and/or sedative/hypnotic medications like carbamazepine, valproate acid, gabapentin, zolpidem, etc., ix) history of neurosurgery, epilepsy, x) skin lesion or open wounds around or at the area of electrode application, tattoos in upper limb or along the nerve tract, xi) pregnancy or intending to become pregnant in the next 6 months. Subjects were informed about all procedures of the study and gave written informed consent prior to the experiment. This study was approved by the Human Ethics Committee of Psychology Institute of São Paulo

University (CAAE: 54812416.7.0000.5561) and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

2.2. Study design

This is a double-blinded, randomized, cross-over trial where subjects received active MNS, sham MNS and a control condition (ie., no intervention) on different days (time of washout between the three 3 sessions: 1 to 2 weeks – **see figure 1**). Subjects were asked to avoid strenuous physical activity and alcohol consumption 48 hours prior to the session as well as to avoid caffeinated products and exhaustive cognitive activity (e.g., play video games for many hours) 24 hours prior to each study session, as well as to maintain a good sleeping pattern during the entire protocol period.

The study was performed at the Institute of Physical Medicine and Rehabilitation of Hospital of Clinics of Faculty of Medicine of University of São Paulo (IMREA-HC-FM-USP).

Each subject undertook the following procedures:

- c) Visit 1: initial screening, considering exclusion and inclusion criterias: questionnaire completion (for medical history, depression and physical activity), physical measurements: body weight (kg) and height (m), body mass index (kg/m^2).
- d) Visits 2 to 4: interventional visits. The interval between the initial screening and visit 2, and the interval between interventional visits were of 1 to 2 weeks (**see figure 1**).

2.3 Median nerve electrical stimulation (MNS)

Each session consisted of 20 minutes of electrical stimulation (active or sham) delivered by standard electrodes to the right wrist with the participant sitting on a comfortable

chair. For the active stimulation, the shape of the wave was a constant rectangular wave with variation of frequency (1-4 Hz, 8-12Hz and 60-90 Hz) and intensity (2 to 6 mA) levels, every 2 minutes as used previously⁽¹³⁾. In the sham procedure, the device upper limb positioning remained unchanged, the stimulation was not applied only for the first and last 30 seconds (ascending and descending ramps). The control procedure was performed by keeping the participant in a seated position during 20 minutes, without the stimulation device.

2.4 EEG Recording

For the three MNS conditions (control, sham and active) EEG was recorded using a 32 channel Brain Vision actiCAP system (Brain Products[®] GmbH, Munich, Germany) labeled in accord with an extended international 10–20 system. All electrodes were referenced online to an electrode placed on the right earlobe and a common ground set at the FPz site. Electrode impedances were maintained below 5 k Ω throughout the experiment. Brain activity was continuously recorded within 0.01–100 Hz bandpass filter, and with a digital sampling rate of 1000 Hz. The EEG signal was amplified and digitized using a BrainAmp DC amplifier (Brain Products GmbH, Munich, Germany) linked to Brain Vision Recorder software (version 2.1, Brain Products GmbH, Munich, Germany).

EEG was recorded before (baseline, 10 minutes) and during the stimulation (on-line). In the baseline, the EEG was initially recorded during 5 min with eyes closed, followed by 5 min with eyes opened. During the stimulation period the participant remained the 20 minutes with eyes opened. While the eyes opened recording period (baseline and stimulation phases), the participants were told to keep their eyes fixed on a point in front of them.

2.5 Analysis of electroencephalographic power and interhemispheric coherence

The raw EEG data was preprocessed and analyzed with EEGLab (Delorme and Makeig 2004) and MATLAB (MATLAB R2012a, The MathWorks Inc., Natick, MA, 2000). Data was initially low-pass filtered with a 35 Hz cutoff and high-pass filtered at 0.5 Hz cutoff. Data containing amplitudes higher than 200 mV were excluded using automatic algorithms while other artifact components were removed by manual inspection. Fast Fourier transformation was performed for 5 sec epochs (Hamming window) with a 50% overlap to calculate power (mV²) for: delta (0.5-3.5), theta (4–8 Hz), alpha (8–13 Hz), and the sub-bands: low-alpha (8–10 Hz), high alpha (10–13 Hz), low beta (13–20 Hz), and high beta (21–30 Hz). We also determined the peak frequency. We analyzed the fronto-central areas. EEG bands were calculated by averaging frequency bins over the EEG bandwidths.

The coherence was calculated for the same bands and sub-bands, using the electrode pairs: F3-F4, F3-C3, C3- C4 and F4-C4. We used “mscohere” function of MATLAB which uses Welch’s averaged modified periodogram method to find the estimated coherence of signal x and y, representing each electrode site.

2.6 Statistical analysis

The normality of data variance was tested by the Shapiro-Wilk’s test, skewness, and kurtosis. In order to compare the values of EEG power and coherence, we conducted a Friedman’s test to compare between the three conditions (control, sham and active MNS) and Wilcoxon signed-rank test when the differences among the groups were found. We used the difference (i.e., delta) between during-stimulation minus baseline to power. We analyzed the period during the stimulation to coherence. We considered the p-value as < 0.05 for all the outcomes. We did not correct for multiple comparisons given this is an initial exploratory study.

3. RESULTS

Twenty-four participants completed the study. EEG data from two subjects were excluded from the analysis due to excessive artifacts in the EEG recording. Therefore, 22 subjects were included in the analysis.

3.1 Power analysis

There were significant differences between the groups (friedman's test) in the power spectrum of the delta and high beta bandwidths (**see figure 2**). In the delta bandwidth, we found differences in the central ($p=0.019$) region; in the high beta we found differences in the frontal right ($p = 0.045$), frontal left ($p < 0.0001$), central right ($p = 0.002$), central left ($p = 0.006$), frontal central ($p = 0.005$), and central ($p < 0.0001$) regions.

3.2 Post hoc analysis

We found a significant difference (Wilcoxon signed-rank test) in the power spectrum of the delta and high beta bandwidths when compared active with control group. In the delta bandwidth, we found differences in the central ($p = 0.031$) region; in the high beta we found differences in the frontal right ($p = 0.028$), frontal left ($p = 0.002$), central right ($p = 0.001$), central left ($p < 0.0001$), frontal central ($p = 0.002$) and central ($p = 0.001$) regions.

We also found a significant difference in the power spectrum of the delta and high beta bandwidths when compared sham with control group. In the delta bandwidth, we found differences in the central ($p = 0.002$) region; in the high beta we found differences in the central right ($p = 0.004$), central left ($p = 0.002$), frontal left ($p = 0.013$), frontal central ($p = 0.001$) and central ($p < 0.0001$) regions.

In sum, we identified that active and sham MNS had an effect towards a reduction of delta power as compared to the control condition in the central region; and towards an increase in high beta as compared to the control condition to all regions (**see figure 2**). Sham and active

stimulation modulated EEG power in the same regions and directions except for frontal right where active stimulation, but not sham, increased beta wave as compared to the control condition.

3.3 Coherence analysis

There were significant differences between groups ($p=0.021$) in alpha bandwidths for the pair of electrodes C3-C4. The Wilcoxon signed-rank test showed differences between control versus sham ($p=0.010$) and active versus sham ($p=0.049$), not between active and control ($p>0.05$) (see **figure 3**). The active stimulation increased the coherence as compared to sham and it did not show difference from control condition. The sham stimulation reduced the coherence when compared to control and active stimulation.

Figure 1. Illustration of interventions

Figure 2. Significant differences in the power between control and sham and control and active condition in EEG power.

Figure 3. Median and SD of the significant differences in the coherence to the pair of electrodes C3-C4 in alpha frequency between *active and sham and # between sham and control.

4. DISCUSSION

This study shows that MNS with variable frequencies (1-4 Hz, 8-12Hz and 60-90 Hz) and intensities (2 to 6 mA) levels induces an effect on quantitative electroencephalogram (qEEG) measurements towards increase the brain activity. Here we showed that active and sham MNS reduced power in delta (central region) and increased in high-beta in the fronto-central regions when compared with control condition, except in the frontal right where just active stimulation could modulate. To coherence, active stimulation did not the coherence when compared with control condition, different from sham which reduced the coherence when compared with control and active.

These results suggest two important findings: 1) MNS had a placebo effect very similar to the active stimulation for almost all the regions, however only the active stimulation modulated the frontal right region, represented by the electrodes F4, F8 and Fp2 (EEG 10-20 system), which are located in the right dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC); 2) Although active condition did not have significant differences to coherence when compared with control condition, the active stimulation modulate the coherence toward of the physiological parameter (control condition) when compared with sham which reduced the coherence in alpha frequency to the pair of electrodes C3-C4.

To power results active and sham MNS showed the same direction in modulate the fronto-central areas increasing high beta and decreasing delta power when compared with the control condition. This result may be related to increase of attentional control, alert, cortical-subcortical interaction⁽¹⁴⁾ and with reduction on perceived intensity and/or unpleasantness

during the pain process⁽¹⁵⁾. MNS may activate the reticular formation that consists of several nucleus and their projections and neurotransmitter (norepinephrine, dopamine, and serotonin, mostly)⁽¹⁶⁾. The reticular formation can be activated by sensory stimulus leading to activation of several cortical regions^(7, 8, 10, 11, 17) such as somatosensory cortex I (SI) and II (SII), insula, periaqueductal gray, cingular cortex, inducing changes in the neuroplasticity in the network related to these areas.

The active MNS could to modulate the DLPFC which usually exhibits activation in response to events related with nociceptive stimuli in healthy subjects, it also relates to differential activation between patients with chronic pain and healthy subjects, showing its contribution for pain modulation⁽¹⁸⁾. Therefore, the DLPFC is presently the target to modulate the pain with non-invasive brain stimulation with tDCS⁽¹⁹⁾ and TMS⁽²⁰⁾ approaches, aiming to modulate the pain level. In this context, by also activating the DLPFC, MNS could lead to hypoalgesia.

Regarding coherence analyses, active and sham MNS induced opposite effects. The active stimulation keep the coherence equal to control condition however the sham reduced (C3-C4) the coherence. Therefore our results show that active MNS can increase the brain active index by power without change the coherence in central areas one different behavior from sham which to increase the brain active needs to reduce the coherence. The results indicate that MNS is reflected by EEG changes and these effects, as well as, its sham effects on the cortical active need to be more explored to understand how MNS can modulate pain.

Previous the studies^(6, 10, 21) have shown that MNS can modulate the pain through of segmental (local) and supraspinal mechanisms. The supraspinal mechanisms or descending control of spinal nociception originates from many brain and brainstem regions and plays a

critical role in determining the experience of both acute and chronic pain⁽¹⁸⁾. In this study active MNS modulated cortical brain regions towards an increase in high beta in fronto-central areas and reduced delta in central areas without change the coherence inter hemisphere. These results can influence new study protocols using MNS in some important points such as 1) How does MNS modulate chronic pain through changes in cortical activation; 2) What areas are involved and how do they communicate? 3) What is the best MNS parameter to enhance hypoalgesia and what is the association with changes in power and coherence?

This study had some limitations such as the small sample size and the p value was not adjusted by multiple analyses, which may have led to type I error. Although this is an exploratory study it brings new insights of how this treatment (MNS) can to produce a clinical benefit. In conclusion the MNS change the cortical brain active index by power and coherence in specific waves.

5. Acknowledgements

Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Instituto de Medicina Física e Reabilitação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo IMREA (HC FMUSP) and all the volunteers who participated this research.

6. References

1. Jensen MP, Hakimian S, Sherlin LH, Fregni F. New insights into neuromodulatory approaches for the treatment of pain. *The journal of Pain*. 2008;9(3):193-9.
2. Melzack R. Pain and the neuromatrix in the brain. *Journal of dental education*. 2001;65(12):1378-82.
3. Derbyshire SW. Exploring the pain “neuromatrix”. *Current review of pain*. 2000;4(6):467-77.

4. Silva JG, Santana CG, Inocência KR, Orsini M, Machado S, Bergmann A. Electrocortical analysis of patients with intercostobrachial pain treated with TENS after breast cancer surgery. *Journal of physical therapy science*. 2014;26(3):349-53.
5. Vasquez AC, Thibaut A, Morales-Quezada L, Leite J, Fregni F. Patterns of brain oscillations across different electrode montages in transcranial pulsed current stimulation. *Neuroreport*. 2017;28(8):421.
6. DeSantana JM, Walsh DM, Vance C, Rakel BA, Sluka KA. Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain. *Current rheumatology reports*. 2008;10(6):492.
7. Kara M, Özçakar L, Gökçay D, Özçelik E, Yörübulut M, Güneri S, et al. Quantification of the effects of transcutaneous electrical nerve stimulation with functional magnetic resonance imaging: a double-blind randomized placebo-controlled study. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2010;91(8):1160-5.
8. Kocyigit F, Akalin E, Gezer NS, Orbay O, Kocyigit A, Ada E. Functional magnetic resonance imaging of the effects of low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation on central pain modulation: a double-blind, placebo-controlled trial. *The Clinical Journal of Pain*. 2012;28(7):581-8.
9. Klingner CM, Hasler C, Brodoehl S, Witte OW. Excitatory and inhibitory mechanisms underlying somatosensory habituation. *Human brain mapping*. 2014;35(1):152-60.
10. Backes W, Mess W, van Kranen-Mastenbroek V, Reulen J. Somatosensory cortex responses to median nerve stimulation: fMRI effects of current amplitude and selective attention. *Clinical neurophysiology*. 2000;111(10):1738-44.
11. Ferretti A, Babiloni C, Arienzo D, Del Gratta C, Rossini PM, Tartaro A, et al. Cortical brain responses during passive nonpainful median nerve stimulation at low frequencies (0.5–4 Hz): an fMRI study. *Human brain mapping*. 2007;28(7):645-53.
12. Matsudo S, Araújo T, Marsudo V, Andrade D, Andrade E, Braggion G. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev bras ativ fís saúde*. 2001;05-18.
13. Carvalho S, French M, Thibaut A, Lima W, Simis M, Leite J, et al. Median nerve stimulation induced motor learning in healthy adults: a study of timing of stimulation and type of learning. *European Journal of Neuroscience*. 2018.
14. Angelidis A, van der Does W, Schakel L, Putman P. Frontal EEG theta/beta ratio as an electrophysiological marker for attentional control and its test-retest reliability. *Biological psychology*. 2016;121:49-52.

15. Lorenz J, Minoshima S, Casey K. Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain*. 2003;126(5):1079-91.
16. Dietrich A, Audiffren M. The reticular-activating hypofrontality (RAH) model of acute exercise. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2011;35(6):1305-25.
17. Klingner CM, Nenadic I, Hasler C, Brodoehl S, Witte OW. Habituation within the somatosensory processing hierarchy. *Behavioural brain research*. 2011;225(2):432-6.
18. Seminowicz DA, Moayedi M. The dorsolateral prefrontal cortex in acute and chronic pain. *The Journal of Pain*. 2017;18(9):1027-35.
19. Mariano TY, van't Wout M, Garnaat SL, Rasmussen SA, Greenberg BD. Transcranial direct current stimulation (tDCS) targeting left dorsolateral prefrontal cortex modulates task-induced acute pain in healthy volunteers. *Pain Medicine*. 2015;17(4):737-45.
20. Graff-Guerrero A, González-Olvera J, Fresán A, Gómez-Martín D, Méndez-Núñez JC, Pellicer F. Repetitive transcranial magnetic stimulation of dorsolateral prefrontal cortex increases tolerance to human experimental pain. *Cognitive brain research*. 2005;25(1):153-60.
21. Choi J, Kim J, Kang E, Lee JM, Cha J, Kim Y, et al. Brain mechanisms of pain relief by transcutaneous electrical nerve stimulation: a functional magnetic resonance imaging study. *European Journal of Pain*. 2016;20(1):92-105.

3.DISSCUSSÃO GERAL

3.1. Estimulação do nervo mediano (ENM) mecanismos periféricos e centrais sobre a modulação da dor

Os resultados encontrados pela análise da variação entre os tempos T1-T0 nos mostram que a ENM não apresentou efeito estatisticamente significativo, quando comparado com controle e ativo, sobre a dor, no sentido de reduzir a percepção subjetiva, avaliada pela EVA, além do aumento do limiar de dor analisados pelo LDP e MDC).

Entretanto a análise de EEG quantitativa mostrou que a estimulação modulou a atividade elétrica cortical no sentido de deixar o cérebro em um estado de alerta. Estes resultados podem ajudar no melhor entendimento de como a ENM com parâmetros de intensidade e frequência variáveis pode atuar sobre a atividade elétrica cortical sem alterar a percepção de dor em nível periférico e trazer novas perspectivas de outros parâmetros de estimulação sobre a modulação da dor.

O efeito da ENM sobre a hipoalgesia apresenta componentes periféricos e centrais. Pela teoria das comportas da dor, as fibras de grande e pequeno calibre projetam-se para raiz do corno dorsal em destaque as lâminas mais superficiais como a II que apresenta a substância gelatinosa, região com interneurônios inibitórios e também células de projeção para o centro superior (cérebro). O estímulo das fibras aferentes de pequeno calibre (fibras tipo A-delta e C) abrem a comporta e as fibras grossas tendem a fechar, impedindo a chegada do estímulo ao neurônio de transmissão. Esta comporta não está apenas sobre o controle da periferia, existindo também uma modulação por um mecanismo descendente de origem central^(Melzack, 1996) chamado de controle descendente de nocicepção (CDN) ou sistema descendente de modulação endógeno da dor, o qual é composto por áreas cerebrais corticais e subcorticais e núcleos no tronco encefálico^(M. M. Heinricher et al., 2009), como discutido na introdução.

Os componentes central e periférico podem responder de formas diferentes de acordo com o padrão de estimulação realizado, tais como: intensidade, frequência, pulso e tempo de aplicação. O uso de tais parâmetros ativam mecanismos de ação diferentes que estão relacionados à ativação de fibras e receptores de opióides específicos como destacados na introdução^(Josimari M. DeSantana et al., 2008b). Portanto o nível de hipoalgesia gerada pelo ENM é dependente da combinação destes parâmetros de estimulação^(Claydon et al., 2011) os quais foram combinados, em nosso estudo, com o objetivo de aumentar o efeito hipoalgésico da

ENM, entretanto esta combinação com variação de frequência e intensidade de forma randomizada não mostrou modular a dor. Estes resultados estão em linha com estudos anteriores que analisaram o efeito da intensidade e da frequência da estimulação sobre a hipoalgesia.

No contexto de intensidade da corrente, os estudos^(Lazarou et al., 2009; Moran et al., 2011b) mostram que existe uma dose-resposta do efeito da NET, com maiores intensidades (entre 22.46 mA e 39.13mA) apresentando maior hipoalgesia. Talvez a intensidade utilizada em nosso estudo (2mA á 6mA) tenha sido sublimiar sensorial o que tenha gerado um efeito não significativo estatisticamente. Para a frequência da corrente, anteriormente foi revelado que a NET de alta frequência causaria analgesia através da liberação de delta opióides endógenos no sistema nervoso central, enquanto a baixa frequência agiria através de receptores opióides μ ^(Josimari M. DeSantana et al., 2008b; K. A. Sluka et al., 2005). Entretanto, nesta última década os estudos tem mostrado que a frequência de pulso da NET não influencia o efeito analgésico quando a intensidade é mantida constante^(Chen et al., 2008; Chen & Johnson, 2009). Outro ponto importante é que a alteração da frequência a cada 3 segundos (4 Hz for 3 s/110 Hz for 3 s), durante 30 minutos de aplicação da estimulação, não alcança um efeito hipoalgésico significativo quando comparado a placebo e controle^(Claydon et al., 2013). Em nosso estudo usamos um tempo maior (2 minutos) para poder variar a frequência e variamos também a intensidade, entretanto os efeitos sobre a hipoalgesia também não foram observados.

Além dos parâmetros de estimulação utilizados em nosso protocolo existe uma outra hipótese que pode explicar o atraso do efeito da estimulação sobre as alterações periféricas. Antes da estimulação foi realizado um teste de MDC e este tem sido mostrado também ativa o sistema de modulação endógeno da dor^(Damien et al., 2018) levando-o a exaustão, da qual qualquer teste aplicado posteriormente, por mais que ative este sistema, terá seu efeito mascarado pelo efeito do MDC. Esta hipótese é revelada em estudos que analisaram o efeito da estimulação nervosa elétrica transcutânea^(Liebano et al., 2013) e exercício físico^(Gajjar et al., 2018) após MDC. Os resultados revelam que o efeito das terapias, não podem ser observados, se o MDC for aplicado previamente.

Embora os estudos revelem que a ENM module a dor também por mecanismos cerebrais, os estudos analisando a relação de alterações corticais e subcorticais, gerados pela ENM, e os níveis de dor são escassos. Portanto nosso

estudo também analisou atividade elétrica cortical com o objetivo de ampliar este conhecimento sobre os efeitos da ENM sobre atividade elétrica cortical. Antes de discutirmos os dados do EEG será debatido, no tópico á seguir, os possíveis mecanismos em nível cerebral, através dos quais a ENM pode gerar hipoalgesia.

3.2. Estimulação do nervo mediano e eletroencefalografia quantitativa (qEEG)

Existe um crescente corpo de estudos com o objetivo de identificar os padrões da atividade cerebral relacionados com o processamento e modulação da dor. Ainda, estudos buscam compreender como possíveis novas terapias, como estimulação do nervo mediano, podem modular o sistema da dor e gerar analgesia.

Entre os instrumentos utilizados para o estudo dos mecanismos da dor, se destaca a eletroencefalografia quantitativa (qEEG), por ser uma técnica segura, não invasiva, de baixo custo e de baixa complexidade técnica para realização^(Moont et al., 2011). Embora possua baixa resolução espacial, o qEEG mede a atividade elétrica cortical resultante da atividade neuronal, sendo uma medida indireta da função cerebral^(Jackson & Bolger, 2014). Assim, nosso estudo usou qEEG para identificar as modificações na atividade elétrica cortical induzidas pela ENM com parâmetros variáveis (intensidade e frequência) de forma randomizada.

3.2.1 Análise da Potência de Bandas do EEG

Nos resultados, referentes a potência medida com qEEG, encontramos que a ENM ativa e placebo apresentou menor potência, na frequência delta, na região central e maior potência, na frequência high-beta, nas regiões fronto-centrais quando comparado com a condição controle. Na região frontal direita, apenas a estimulação ativa, e não a placebo, apresentou maior atividade high-beta em relação a condição controle.

Estudos anteriores demonstraram que o aumento da atividade delta está relacionado ao padrão de sonolência, já a atividade beta nas regiões frontais está associado ao nível de vigília normal e a um estado de alerta mais elevado^(Gola et al., 2012; Kropotov, 2010). Ainda, o aumento da atividade beta em regiões frontais está

associado ao aumento da atividade cognitiva^(Güntekin et al., 2013; Liu et al., 2008). Assim, é provável que tanto a ENM ativa como a placebo inibiram o processo de sonolência e redução da atividade cognitiva que ocorreu durante a condição controle. Ainda é possível que ambas as condições (ENM ativa e placebo) induziram o aumento da atividade do Sistema Reticular Ativador Ascendente (SARA)^(G. Moruzzi, 1964; Yeo et al., 2013), aumentando assim, a frequência high-beta e reduzindo delta. Como não houve diferença entre a condição placebo e ativo para a maioria das regiões cerebrais, provavelmente essa diferença, observada na região frontal direita, está relacionada com o componente cognitivo e placebo da estimulação^(Wager & Atlas, 2015) e não com a corrente elétrica induzida no nervo. Por outro lado, é possível que a ENM ativa induza uma maior ativação do SARA, decorrente do maior estímulo sensitivo, o que pode explicar o fato de que apenas a estimulação ativa mostrou uma maior atividade high-beta cerebral na região frontal direita.

Entre as áreas corticais da região frontal direita, está o córtex pré-frontal dorso lateral (CPDL) direito que é relacionado com processamento de estímulos dolorosos^(Seminowicz & Moayed, 2017). Assim, o maior limiar de dor, na condição ativa em relação a ENM placebo e controle que ocorreu após a atividade na esteira (figura 2 do artigo 1), além da menor sensação de dor durante a atividade física entre a ENM ativa versus a controle, podem estar relacionadas com a maior atividade na região CPDL. Essa indução do aumento da atividade cerebral por estímulos periféricos é conhecida na neurociência como modulação *bottom up* (debaixo para cima).

O papel da região CPDL nos mecanismos da dor tem sido também estudada utilizando a estratégia de neuromodulação *top-down* (de cima para baixo), na qual o estímulo é realizado diretamente no córtex cerebral^(Boggio et al., 2008; Silva et al., 2017). Para isso, uma das técnicas utilizadas é a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC), a qual é uma técnica de neuromodulação não invasiva que usa corrente elétrica constante e de baixa intensidade para modular o potencial de repouso da membrana neuronal, diminuindo ou aumentando a excitabilidade cortical^(Pinto et al., 2018). Estudos utilizando a ETCC mostraram que a estimulação do CPDL induz hipoalgesia, reforçando a hipótese de que a atividade dessa região está relacionada aos mecanismos de controle da dor^(Boggio et al., 2008; Mariano et al., 2016; Silva et al., 2017).

Estudos^(Chang et al., 2001; Huber et al., 2006) com qEEG, em indivíduos saudáveis, revelam que durante um estímulo, seja ele doloroso ou não (inócuo), se é observado uma menor potência das ondas com atividade lenta como delta, teta e alfa e potência relativamente maiores de ondas com atividade mais rápida como beta e gama. Entretanto estas alterações apresentam uma topografia diferente, revelando que diferentes estímulos podem ativar conexões cerebrais diferentes. Nossos resultados mostram que o padrão de atividade cortical relacionado com o processamento da ENM apresenta um padrão próximo aos encontrados até então. Entretanto, as mudanças foram em bandas de ondas (delta e beta) e locais específicos (fronto-centrais), o que pode revelar ativação de diferentes circuitos. Tais diferenças estão relacionadas com o padrão e tipo de estimulação utilizado.

Estas alterações corticais durante a estimulação, podem refletir o resultado de ativação de circuitos corticais envolvidos com analgesia pois, o aumento na sensação subjetiva de dor tem sido associado a uma redução na potência da banda beta em regiões centrais^(Bunk et al., 2018) e nossos resultados revelam que a estimulação teve um efeito contrário, ou seja, aumentou a potência na banda beta. Também, a ENM pode ter ativado o sistema de modulação endógeno da dor descendente pois, durante a estimulação sensorial seja ela abaixo ou no limiar de dor, existe um aumento da ativação do SARA, o qual apresenta núcleos colinérgicos, que como consequência da sua ativação, diminuem a eficácia dos neurônios GABAérgicos no tálamo, facilitando a transferência da informação para regiões corticais e subcorticais as quais também estão relacionadas com a modulação da dor^(Giuseppe Moruzzi & Magoun, 1949).

Embora seja plausível que a maior atividade beta na CPDL esteja relacionada com os resultados do nosso experimento, precisamos destacar que esse é um estudo experimental no qual não foi feita correção para múltiplas análises. Assim esses resultados precisam ser confirmados em estudos futuros.

3.2.2 Análise de Coerência Intra e Inter-hemisférica do EEG

Em relação à análise da coerência intra e inter-hemisférica, a qual mede a relação funcional entre duas regiões cerebrais (dois pares de eletrodos)^(Bowyer, 2016), a

estimulação ativa não apresentou diferença estatística em relação a condição controle para os pares de eletrodos C3-C4. Já a condição placebo apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às condições controle e ativa. Os valores da coerência foram de 0.31 para o ativo, de 0.29 para o placebo e de 0.36 para o controle.

Assim, o valor da coerência da condição placebo foi menor que a ativa e controle. A interpretação mais provável para esse achado é que essa diferença é relacionada à variação natural da atividade cerebral e não ao experimento com ENM. Embora menos provável, outra interpretação é que a ENM ativa inibiu a redução da coerência gerada pelo efeito placebo.

Estudos com estimulação magnética transcraniana (EMT), a qual é uma técnica não invasiva que usa campos magnéticos para estimular ou inibir regiões do cérebro através de uma bobina, revelam que a EMT repetitiva de 1 Hz (gera redução da excitabilidade cortical), aplicada no córtex motor primário, aumenta a coerência inter-hemisférica na banda alfa no córtex motor^(Strens et al., 2002), mostrando a relação do aumento da coerência em regiões centrais na banda alfa com mecanismos inibitórios. Aumentos de coerência inter-hemisféricas em regiões frontais, também podem apontar para um aumento de flexibilidade cognitiva, criatividade e cognição espacial^(Lasaponara et al., 2017). Em nosso estudo, a ENM não aumentou a coerência inter-hemisférica entre os pares de eletrodos C3-C4 (regiões centrais) em relação à condição controle, o que pode refletir o atraso de efeito da estimulação, aplicada de forma isolada, sobre a atividade elétrica cortical e sobre a dor. Embora a condição placebo tenha mostrado reduzir a coerência em relação às condições ativa (maior 13.89%) e controle (maior 19.55%), também não foi observado diferença estatística significativa na modulação da dor, o que pode refletir que i) o efeito placebo difere entre o sistema de modulação bottom up e top-down, o que mostra a importância de mais estudos na compreensão de tais mecanismos e ii) a condição placebo tende a diminuir a conectividade funcional entre áreas centrais corticais, mas isto não reflete alterações na modulação da dor.

Nossos resultados não evidenciaram diferenças estatisticamente significantes, entre a condição placebo e a condição ativa, quanto ao limiar de dor em repouso e a intensidade subjetiva da dor durante a atividade física. Esses resultados são diferentes da nossa hipótese inicial, na qual a ENM placebo teria um efeito analgésico maior que o controle e menor que ENM ativa. Assim, é possível

que a condição placebo tenda a diminuir a conectividade funcional entre áreas centrais corticais, mas isto não reflita alterações na modulação da dor. Ainda, provável que os mecanismos de analgesia induzidos pela EMN ativa sejam diferentes da ENM placebo e que esses efeitos possam ser melhor estudados por outras análises de EEG não exploradas nesse estudo.

Assim como na análise de potência, a análise da coerência é exploratória e não foi corrigida para múltiplas análises, sendo necessário futuros estudos para confirmar esses achados.

3.3 Estimulação do nervo mediano, percepção subjetiva de esforço (PSE) e de dor e rendimento durante teste físico na esteira até exaustão.

Nossos resultados evidenciam que a estimulação ativa modulou a dor gerada pelo exercício físico quando comparada à condição controle ($p=0,036$) e apresentou uma tendência em relação à placebo ($p=0.09$). A diferença entre condição ativa versus controle se deu com 40% do tempo total de teste na esteira que equivale a 5'28 minutos de teste. A redução na percepção de dor gerada pela condição ativa foi bem expressiva (33.4%) em relação à controle. Destacando também, que apesar de não termos encontrado diferenças estatísticas significantes além do período de 40% de teste, dos 20% aos 80%, os indivíduos relataram uma percepção subjetiva de dor menos acentuada que as outras condições. Em relação à PSE e performance não foi encontrado diferenças estatísticas significantes.

Nossos dados estão em linha com estudo^(Astokorki & Mauger, 2017) realizado previamente que analisou os efeitos da NET (100 Hz / intensidade no limiar motor) sobre a percepção subjetiva de dor durante o exercício físico na esteira (completar 16,1 Km no menor tempo possível). Os resultados revelaram que a estimulação reduziu a percepção de dor durante o exercício, mas não a PSE. Já em outro estudo^(Menezes et al., 2018), com um outro tipo de exercício físico, exercício de resistência, o mesmo parâmetro de NET (100 Hz / intensidade no limiar motor) não conseguiu modular a percepção subjetiva de dor. Estes dados mostram que os efeitos do NET podem ser dependentes do tipo de exercício, destacando também os parâmetros de intensidade e grupos musculares presentes na tarefa a ser realizada.

Um aspecto importante em nossos resultados é que a estimulação ativa reduziu da percepção subjetiva da dor, mas não alterou a PSE nem o rendimento

(tempo de exercício). Estes dados vão de acordo com Marcora (2009) que pressupõem que sinais sensoriais de músculos esqueléticos, coração e pulmões não atingem a consciência como PSE que é um componente fundamental quando se analisa rendimento. A PSE está envolvida com fatores cognitivos e motivacionais como tempo para se chegar á exaustão e as estratégias para modulá-la. Em nosso estudo a percepção subjetiva de esforço não foi modulada pela estimulação, justificando assim, o atraso em melhorar o rendimento durante o teste até a exaustão.

Assim, a ENM tem o potencial de ser utilizada como um método para melhorar a adesão de indivíduos sedentários a prática de exercício físico, devendo essa hipótese ser testada em futuros estudos. Isso porque indivíduos sedentários apresentam um sistema de modulação de inibição de dor menos ativado que indivíduos ativos e atletas, o que pode deixar o exercício menos prazeroso devido ao relato de percepção subjetiva de dor mais elevado^(Flood et al., 2017; Tesarz et al., 2012). Assim, a ENM, em tese, pode reduzir a percepção subjetiva da dor, tornando o exercício mais prazeroso, o que aumenta a probabilidade de repetir esse comportamento (exercício)^(Helfer et al., 2015; Williams et al., 2008).

3.4 Efeito somatório da estimulação do nervo mediano combinada com exercício físico sobre a modulação da dor.

Como realizado no nosso estudo, outros estudos testaram a interação de duas técnicas de analgesia, havendo estudos com interações sinérgicas, neutras e até negativas^(Boggio et al., 2009; Schabrun et al., 2013). Entre os aspectos que podem influenciar a interação de duas terapias, está a forma como essas são combinadas, podendo ser concomitante ou sequencial. Assim, a interação de duas técnicas pode ter resultados diferentes dependendo da forma como são aplicadas. Entre os mecanismos que influenciam essa interação está a teoria da metaplasticidade homeostática^(Yee et al., 2017) que propõem que circuitos neurais tendem a manter um equilíbrio fisiológico de atividades inibitórias e excitatórias. Em nosso estudo analisamos o efeito somatório da ENM e exercício físico sobre a dor. Observou-se que a estimulação ativa combinada com o exercício aumentou o limiar de dor a pressão, para mão esquerda, quando comparada com as condições placebo e controle.

Esse resultado mostra que a ENM teve um efeito sinérgico positivo com o exercício físico, no aumento do limiar de dor. Uma das hipóteses é de que ambas ajam em mecanismos semelhantes, incluindo a ativação de sistemas endógenos como o de opioídes, canabinoides, noradrenalina e dopamina, além da modulação de circuitos da dor no sistema nervoso central. No entanto, essa é uma análise exploratória que não foi corrigida para múltiplas análises.

Nossos resultados também revelam que nas três condições testadas, não houve modificação nos testes MDC e EVA, sugerindo a ausência de efeito sobre o sistema de modulação endógeno inibitório da dor e a percepção subjetiva de dor, respectivamente. Nossa hipótese era que a ENM combinada com o exercício físico tivesse um efeito somatório, o que potencializaria a ativação do sistema de modulação endógeno de dor e reduziria a percepção subjetiva. Assim, era esperado que o efeito para a condição controle (somente atividade física) fosse menor quando comparado à estimulação. Entre as hipóteses para a ausência do efeito da ENM combinada com exercício físico sobre o sistema de modulação endógeno da dor, medido com o teste MDC, é que este teste ativa o sistema de modulação endógeno da dor até o mesmo alcançar um platô^(Gajjar et al., 2018; Liebano et al., 2013). O teste MDC foi realizado antes do exercício físico para as três condições e pode ter mascarado o efeito isolado do exercício físico (condição controle) assim como, o efeito somatório da ENM combinada com o exercício, já que o sistema de modulação endógeno da dor foi levado à exaustão antes da aplicação das técnicas.

4.CONCLUSÕES

Este é um estudo com desenho duplo-cego, cruzado e randomizado mostrando efeito sinérgico da ENM combinada com exercício físico sobre a modulação da dor em pessoas sedentárias durante o exercício físico e em repouso. Também revela que a ENM gera mudanças na atividade elétrica cortical cerebral indexadas pela potência e coerência cortical.

Nossos resultados suportam a hipótese de que a ENM, combinada com a atividade física, modula a atividade cerebral, produzindo efeito analgésico. Futuros estudos são necessários para confirmarem esses achados e testarem o potencial uso da ENM na adesão à atividade física por pessoas sedentárias. Ainda, novos estudos com EEG são necessários para um entendimento mais profundo dos mecanismos e respostas fisiológicas da modulação da dor.

5.SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O presente estudo explorou a possibilidade do uso da ENM na modulação da dor. Demonstramos a melhora na dor durante o exercício físico, com o potencial uso na adesão do exercício por pessoas sedentárias, além do tratamento da dor. Futuros estudos podem melhor compreender esses efeitos i) testando diferentes parâmetros de estimulação, assim como diferentes intensidades e tipos de exercício físico; ii) replicar o experimento em outras populações, como indivíduos com dor crônica e atletas; iii) estudar fatores psicológicos como o prazer e desprazer durante o exercício físico e se o uso da estimulação irá modular tais fatores; iv) utilizando outros métodos de análise do EEG; v) utilizando outros instrumentos de avaliação neurofisiológica, com a estimulação magnética transcraniana (EMT) e vi) protocolos que analisem o efeito crônico (um número mais elevado de sessões) do uso das duas terapias (exercício e ENM) combinadas e seus efeitos sobre a dor, assim como, a assiduidade ao protocolo.

7.REFERÊNCIAS

- Akay, M., & Mello, C. (1997). Wavelets for biomedical signal processing. *Proceedings of the 19th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 'Magnificent Milestones and Emerging Opportunities in Medical Engineering'* (Cat. No. 97CH36136), 6, 2688–2691.
- Astokorki, A. H., & Mauger, A. R. (2017). Transcutaneous electrical nerve stimulation reduces exercise-induced perceived pain and improves endurance exercise performance. *European journal of applied physiology*, 117(3), 483–492.
- Babiloni, C., Brancucci, A., Del Percio, C., Capotosto, P., Arendt-Nielsen, L., Chen, A. C., & Rossini, P. M. (2006). Anticipatory electroencephalography alpha rhythm predicts subjective perception of pain intensity. *The Journal of Pain*, 7(10), 709–717.
- Backes, W. H., Mess, W. H., van Kranen-Mastenbroek, V., & Reulen, J. P. H. (2000). Somatosensory cortex responses to median nerve stimulation: FMRI effects of current amplitude and selective attention. *Clinical neurophysiology*, 111(10), 1738–1744.
- Boggio, P. S., Amancio, E. J., Correa, C. F., Cecilio, S., Valasek, C., Bajwa, Z., Freedman, S. D., Pascual-Leone, A., Edwards, D. J., & Fregni, F. (2009). Transcranial DC stimulation coupled with TENS for the treatment of chronic pain: A preliminary study. *The Clinical journal of pain*, 25(8), 691–695.
- 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. *European journal of neurology*, 15(10), 1124–1130.
- Booth, F. W., Roberts, C. K., & Laye, M. J. (2011). Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Comprehensive Physiology*, 2(2), 1143–1211.
- Bourne, S., Machado, A. G., & Nagel, S. J. (2014). Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurgery Clinics*, 25(4), 629–638.
- Bowyer, S. M. (2016). Coherence a measure of the brain networks: Past and present. *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2(1), 1.
- Bunk, S. F., Lautenbacher, S., Rüsseler, J., Müller, K., Schultz, J., & Kunz, M. (2018). Does EEG activity during painful stimulation mirror more closely the noxious stimulus intensity or the subjective pain sensation? *Somatosensory & motor research*, 35(3–4), 192–198.
- Buzsaki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press.

- Cardoso, R. R. (2005). Uma estratégia de modelagem tridimensional para mapeamento de EEG de superfície. *Universidade Federal de Uberlândia*.
- Chang, P., Arendt-Nielsen, L., Graven-Nielsen, T., Svensson, P., & Chen, A. C. (2001). Different EEG topographic effects of painful and non-painful intramuscular stimulation in man. *Experimental brain research*, 141(2), 195–203.
- Chen, C.-C., & Johnson, M. I. (2009). An investigation into the effects of frequency-modulated transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on experimentally-induced pressure pain in healthy human participants. *The Journal of Pain*, 10(10), 1029–1037.
- Chen, C.-C., Tabasam, G., & Johnson, M. I. (2008). Does the pulse frequency of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) influence hypoalgesia?: A systematic review of studies using experimental pain and healthy human participants. *Physiotherapy*, 94(1), 11–20.
- Claydon, L. S., Chesterton, L. S., Barlas, P., & Sim, J. (2011). Dose-specific effects of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on experimental pain: A systematic review. *The Clinical journal of pain*, 27(7), 635–647.
- Claydon, L. S., Chesterton, L. S., Barlas, P., & Sim, J. (2013). Alternating-frequency TENS effects on experimental pain in healthy human participants: A randomized placebo-controlled trial. *The Clinical journal of pain*, 29(6), 533–539.
- Cohen, M., Quintner, J., & van Rysewyk, S. (2018). Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain reports*, 3(2).
- Damien, J., Colloca, L., Bellei-Rodriguez, C.-É., & Marchand, S. (2018). Pain modulation: From conditioned pain modulation to placebo and nocebo effects in experimental and clinical pain. In *International review of neurobiology* (Vol. 139, p. 255–296). Elsevier.
- DeSantana, J. M., Da Silva, L. F. S., De Resende, M. A., & Sluka, K. A. (2009). Transcutaneous electrical nerve stimulation at both high and low frequencies activates ventrolateral periaqueductal grey to decrease mechanical hyperalgesia in arthritic rats. *Neuroscience*, 163(4), 1233–1241.
- DeSantana, Josimari M., Walsh, D. M., Vance, C., Rakel, B. A., & Sluka, K. A. (2008a). Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain. *Current rheumatology reports*, 10(6), 492.

- DeSantana, Josimari M., Walsh, D. M., Vance, C., Rakel, B. A., & Sluka, K. A. (2008b). Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain. *Current rheumatology reports*, 10(6), 492.
- D'Mello, R., & Dickenson, A. H. (2008). Spinal cord mechanisms of pain. *British journal of anaesthesia*, 101(1), 8–16.
- Dumith, S. C., Hallal, P. C., Reis, R. S., & Kohl III, H. W. (2011). Worldwide prevalence of physical inactivity and its association with human development index in 76 countries. *Preventive medicine*, 53(1–2), 24–28.
- Ferretti, A., Babiloni, C., Arienzo, D., Del Gratta, C., Rossini, P. M., Tartaro, A., & Romani, G. L. (2007). Cortical brain responses during passive nonpainful median nerve stimulation at low frequencies (0.5–4 Hz): An fMRI study. *Human brain mapping*, 28(7), 645–653.
- Flood, A., Waddington, G., Thompson, K., & Cathcart, S. (2017). Increased conditioned pain modulation in athletes. *Journal of sports sciences*, 35(11), 1066–1072.
- Forss, N., Hari, R., Salmelin, R., Ahonen, A., Hämäläinen, M., Kajola, M., Knuutila, J., & Simola, J. (1994). Activation of the human posterior parietal cortex by median nerve stimulation. *Experimental brain research*, 99(2), 309–315.
- Gajsar, H., Nahrwold, K., Titze, C., Hasenbring, M. I., & Vaegter, H. B. (2018a). Exercise does not produce hypoalgesia when performed immediately after a painful stimulus. *Scandinavian Journal of Pain*, 18(2), 311–320. <https://doi.org/10.1515/sjpain-2018-0024>
- Gajsar, H., Nahrwold, K., Titze, C., Hasenbring, M. I., & Vaegter, H. B. (2018b). Exercise does not produce hypoalgesia when performed immediately after a painful stimulus. *Scandinavian journal of pain*, 18(2), 311–320.
- Geva, N., & Defrin, R. (2013). Enhanced pain modulation among triathletes: A possible explanation for their exceptional capabilities. *PAIN®*, 154(11), 2317–2323.
- Gibson, W., Wand, B. M., & O'Connell, N. E. (2017). Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for neuropathic pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9.
- Gola, M., Kamiński, J., Brzezicka, A., & Wróbel, A. (2012). Beta band oscillations as a correlate of alertness—Changes in aging. *International Journal of Psychophysiology*, 85(1), 62–67.

- Goldberg, D. S., & McGee, S. J. (2011). Pain as a global public health priority. *BMC public health*, 11(1), 770.
- Gomes, A. de O., Silvestre, A. C., Silva, C. F. da, Gomes, M. R., Bonfleur, M. L., & Bertolini, G. R. F. (2014). Influence of different frequencies of transcutaneous electrical nerve stimulation on the threshold and pain intensity in young subjects. *Einstein (São Paulo)*, 12(3), 318–322.
- Güntekin, B., Emek-Savaş, D. D., Kurt, P., Yener, G. G., & Başar, E. (2013). Beta oscillatory responses in healthy subjects and subjects with mild cognitive impairment. *NeuroImage: Clinical*, 3, 39–46.
- Guthold, R., Stevens, G. A., Riley, L. M., & Bull, F. C. (2018a). Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: A pooled analysis of 358 population-based surveys with 1· 9 million participants. *The Lancet Global Health*, 6(10), e1077–e1086.
- Guthold, R., Stevens, G. A., Riley, L. M., & Bull, F. C. (2018b). Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: A pooled analysis of 358 population-based surveys with 1· 9 million participants. *The Lancet Global Health*, 6(10), e1077–e1086.
- Hardy, C. J., & Rejeski, W. J. (1989). Not what, but how one feels: The measurement of affect during exercise. *Journal of sport and exercise psychology*, 11(3), 304–317.
- Heinricher, M. M., Morgan, M. M., Tortorici, V., & Fields, H. L. (1994). Disinhibition of off-cells and antinociception produced by an opioid action within the rostral ventromedial medulla. *Neuroscience*, 63(1), 279–288.
- Heinricher, M. M., Tavares, I., Leith, J. L., & Lumb, B. M. (2009). Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Research Reviews*, 60(1), 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.009>
- Heinricher, MARY M., & Morgan, M. M. (1999). Supraspinal mechanisms of opioid analgesia. *Opioids in pain control: basic and clinical aspects University Press, Cambridge*, 46–69.
- Helfer, S. G., Elhai, J. D., & Geers, A. L. (2015). Affect and exercise: Positive affective expectations can increase post-exercise mood and exercise intentions. *Annals of Behavioral Medicine*, 49(2), 269–279.
- Holth, H. S., Werpen, H. K. B., Zwart, J.-A., & Hagen, K. (2008). Physical inactivity is associated with chronic musculoskeletal complaints 11 years later: Results

- from the Nord-Trøndelag Health Study. *BMC musculoskeletal disorders*, 9(1), 159.
- Huber, M. T., Bartling, J., Pachur, D. v, Woikowsky-Biedau, S., & Lautenbacher, S. (2006). EEG responses to tonic heat pain. *Experimental brain research*, 173(1), 14–24.
- Jack, K., McLean, S. M., Moffett, J. K., & Gardiner, E. (2010). Barriers to treatment adherence in physiotherapy outpatient clinics: A systematic review. *Manual therapy*, 15(3), 220–228.
- Jackson, A. F., & Bolger, D. J. (2014). The neurophysiological bases of EEG and EEG measurement: A review for the rest of us. *Psychophysiology*, 51(11), 1061–1071.
- Jensen, M. P., Hakimian, S., Sherlin, L. H., & Fregni, F. (2008). New insights into neuromodulatory approaches for the treatment of pain. *The journal of Pain*, 9(3), 193–199.
- Johnson, M. (2007). Transcutaneous electrical nerve stimulation: Mechanisms, clinical application and evidence. *Reviews in pain*, 1(1), 7–11.
- Johnson, M. I., Paley, C. A., Howe, T. E., & Sluka, K. A. (2015). Transcutaneous electrical nerve stimulation for acute pain. *Cochrane database of systematic reviews*, 6.
- Júnior, J. S., Nicholas, M. K., Pimenta, C. A. M., & Asghari, A. (2012). Biopsychosocial predictors of pain, incapacity and depression in Brazilian chronic pain patients. *Revista Dor*, 13, 111–8.
- Kara, M., Özçakar, L., Gökçay, D., Özçelik, E., Yörübulut, M., Güneri, S., Kaymak, B., Akıncı, A., & Çetin, A. (2010). Quantification of the effects of transcutaneous electrical nerve stimulation with functional magnetic resonance imaging: A double-blind randomized placebo-controlled study. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 91(8), 1160–1165.
- Keele, K. D. (1954). Pain-sensitivity tests: The pressure algometer. *The Lancet*, 263(6813), 636–639.
- King, C. D. (2014). A possible mechanism underlying conditioned pain modulation. *Pain*, 155(6), 1047–1048.
- Klaumann, P. R., Wouk, A., & Sillas, T. (2008). Patofisiologia da dor. *Archives of veterinary science*, 13(1).

- Klingner, C. M., Nenadic, I., Hasler, C., Brodoehl, S., & Witte, O. W. (2011). Habituation within the somatosensory processing hierarchy. *Behavioural brain research*, 225(2), 432–436.
- Kocyigit, F., Akalin, E., Gezer, N. S., Orbay, O., Kocyigit, A., & Ada, E. (2012). Functional magnetic resonance imaging of the effects of low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation on central pain modulation: A double-blind, placebo-controlled trial. *The Clinical journal of pain*, 28(7), 581–588.
- Koltyn, K. F., Brellenthin, A. G., Cook, D. B., Sehgal, N., & Hillard, C. (2014). Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia. *The Journal of Pain*, 15(12), 1294–1304.
- Kropotov, J. D. (2010). *Quantitative EEG, event-related potentials and neurotherapy*. Academic Press.
- Landmark, T., Romundstad, P., Borchgrevink, P. C., Kaasa, S., & Dale, O. (2011). Associations between recreational exercise and chronic pain in the general population: Evidence from the HUNT 3 study. *PAIN®*, 152(10), 2241–2247.
- Lasaponara, S., Mauro, F., Carducci, F., Paoletti, P., Tombini, M., Quattrocchi, C. C., Mallio, C. A., Errante, Y., Scarciolla, L., & Ben-Soussan, T. D. (2017). Increased alpha band functional connectivity following the Quadrato Motor Training: A longitudinal study. *Frontiers in human neuroscience*, 11, 282.
- Lazarou, L., Kitsios, A., Lazarou, I., Sikaras, E., & Trampas, A. (2009). Effects of intensity of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on pressure pain threshold and blood pressure in healthy humans: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *The Clinical journal of pain*, 25(9), 773–780.
- Liebano, R. E., Vance, C. G., Rakel, B. A., Lee, J. E., Cooper, N. A., Marchand, S., Walsh, D. M., & Sluka, K. A. (2013). Transcutaneous electrical nerve stimulation and conditioned pain modulation influence the perception of pain in humans. *European Journal of Pain*, 17(10), 1539–1546.
- Lima, L. V., Abner, T. S., & Sluka, K. A. (2017). Does exercise increase or decrease pain? Central mechanisms underlying these two phenomena. *The Journal of physiology*, 595(13), 4141–4150.
- Lin, Y.-Y., Shih, Y.-H., Chen, J.-T., Hsieh, J.-C., Yeh, T.-C., Liao, K.-K., Kao, C.-D., Lin, K.-P., Wu, Z.-A., & Ho, L.-T. (2003). Differential effects of stimulus

- intensity on peripheral and neuromagnetic cortical responses to median nerve stimulation. *Neuroimage*, 20(2), 909–917.
- Liu, T., Shi, J., Zhao, D., & Yang, J. (2008). The relationship between EEG band power, cognitive processing and intelligence in school-age children. *Psychology science*, 50(2), 259.
- Manganotti, P., Formaggio, E., Storti, S. F., Avesani, M., Acler, M., Sala, F., Magon, S., Zoccatelli, G., Pizzini, F., & Alessandrini, F. (2009). Steady-state activation in somatosensory cortex after changes in stimulus rate during median nerve stimulation. *Magnetic resonance imaging*, 27(9), 1175–1186.
- Mariano, T. Y., van't Wout, M., Garnaat, S. L., Rasmussen, S. A., & Greenberg, B. D. (2016). Transcranial direct current stimulation (tDCS) targeting left dorsolateral prefrontal cortex modulates task-induced acute pain in healthy volunteers. *Pain Medicine*, 17(4), 737–745.
- Martin, K., Staiano, W., Menaspà, P., Hennessey, T., Marcora, S., Keegan, R., Thompson, K. G., Martin, D., Halson, S., & Rattray, B. (2016). Superior inhibitory control and resistance to mental fatigue in professional road cyclists. *PloS one*, 11(7).
- Martins, I., & Tavares, I. (2017). Reticular formation and pain: The past and the future. *Frontiers in neuroanatomy*, 11, 51.
- Melzack, R. (1996). Gate control theory: On the evolution of pain concepts. *Pain forum*, 5, 128–138.
- Mendell, L. M. (2011). Computational functions of neurons and circuits signaling injury: Relationship to pain behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(Supplement 3), 15596–15601.
- Menezes, M. A., Pereira, T. A., Tavares, L. M., Leite, B. T., Neto, A. G., Chaves, L. M., Lima, L. V., Da Silva-Grigolito, M. E., & DeSantana, J. M. (2018). Immediate effects of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) administered during resistance exercise on pain intensity and physical performance of healthy subjects: A randomized clinical trial. *European journal of applied physiology*, 118(9), 1941–1958.

- Moont, R., Crispel, Y., Lev, R., Pud, D., & Yarnitsky, D. (2011). Temporal changes in cortical activation during conditioned pain modulation (CPM), a LORETA study. *PAIN®*, 152(7), 1469–1477.
- Moran, F., Leonard, T., Hawthorne, S., Hughes, C. M., McCrum-Gardner, E., Johnson, M. I., Rakel, B. A., Sluka, K. A., & Walsh, D. M. (2011a). Hypoalgesia in response to transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) depends on stimulation intensity. *The Journal of Pain*, 12(8), 929–935.
- Moran, F., Leonard, T., Hawthorne, S., Hughes, C. M., McCrum-Gardner, E., Johnson, M. I., Rakel, B. A., Sluka, K. A., & Walsh, D. M. (2011b). Hypoalgesia in response to transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) depends on stimulation intensity. *The Journal of Pain*, 12(8), 929–935.
- Morton, D. L., Sandhu, J. S., & Jones, A. K. (2016). Brain imaging of pain: State of the art. *Journal of pain research*, 9, 613.
- Moruzzi, G. (1964). Reticular influences on the EEG. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 16(1–2), 2–17.
- Moruzzi, Giuseppe, & Magoun, H. W. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 1(1–4), 455–473.
- Naugle, K. M., Naugle, K. E., Fillingim, R. B., Samuels, B., & Riley III, J. L. (2014). Intensity thresholds for aerobic exercise–induced hypoalgesia. *Medicine and science in sports and exercise*, 46(4), 817.
- O’leary, T. J., Collett, J., Howells, K., & Morris, M. G. (2017). High but not moderate-intensity endurance training increases pain tolerance: A randomised trial. *European journal of applied physiology*, 117(11), 2201–2210.
- Ossipov, M. H., Dussor, G. O., & Porreca, F. (2010). Central modulation of pain. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 3779–3787.
- Pantaleao, M. A., Laurino, M. F., Gallego, N. L., Cabral, C. M., Rakel, B., Vance, C., Sluka, K. A., Walsh, D. M., & Liebano, R. E. (2011). Adjusting pulse amplitude during transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) application produces greater hypoalgesia. *The journal of pain*, 12(5), 581–590.
- Pinto, C. B., Costa, B. T., Duarte, D., & Fregni, F. (2018). Transcranial direct current stimulation as a therapeutic tool for chronic pain. *The journal of ECT*, 34(3), e36.

- Prichet, L. S., John, E. R., Howard, B., Merkin, H., & Hiesiger, E. M. (2011). Evaluation of the pain matrix using EEG source localization: A feasibility study. *Pain medicine*, 12(8), 1241–1248.
- Schabrun, S. M., Chipchase, L. S., Zipf, N., Thickbroom, G. W., & Hodges, P. W. (2013). Interaction between simultaneously applied neuromodulatory interventions in humans. *Brain stimulation*, 6(4), 624–630.
- Scholz, J., Finnerup, N. B., Attal, N., Aziz, Q., Baron, R., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Cruccu, G., & Davis, K. D. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain. *Pain*, 160(1), 53–59.
- Seminowicz, D. A., & Moayedi, M. (2017). The dorsolateral prefrontal cortex in acute and chronic pain. *The Journal of Pain*, 18(9), 1027–1035.
- Silva, A. F., Zortea, M., Carvalho, S., Leite, J., da Silva Torres, I. L., Fregni, F., & Caumo, W. (2017). Anodal transcranial direct current stimulation over the left dorsolateral prefrontal cortex modulates attention and pain in fibromyalgia: Randomized clinical trial. *Scientific reports*, 7(1), 1–11.
- Sluka, K. A., Vance, C. G. T., & Lisi, T. L. (2005). High-frequency, but not low-frequency, transcutaneous electrical nerve stimulation reduces aspartate and glutamate release in the spinal cord dorsal horn. *Journal of neurochemistry*, 95(6), 1794–1801.
- Sluka, Kathleen A., Frey-Law, L., & Bement, M. H. (2018). Exercise-induced pain and analgesia? Underlying mechanisms and clinical translation. *Pain*, 159, S91–S97.
- Sluka, Kathleen A., O'Donnell, J. M., Danielson, J., & Rasmussen, L. A. (2012). Regular physical activity prevents development of chronic pain and activation of central neurons. *Journal of applied physiology*, 114(6), 725–733.
- Strens, L. H., Oliviero, A., Bloem, B. R., Gerschlag, W., Rothwell, J. C., & Brown, P. (2002). The effects of subthreshold 1 Hz repetitive TMS on cortico-cortical and interhemispheric coherence. *Clinical Neurophysiology*, 113(8), 1279–1285.
- Tesarz, J., Schuster, A. K., Hartmann, M., Gerhardt, A., & Eich, W. (2012). Pain perception in athletes compared to normally active controls: A systematic review with meta-analysis. *Pain*, 153(6), 1253–1262.
- Vaegter, H. B., Handberg, G., & Graven-Nielsen, T. (2014). Similarities between exercise-induced hypoalgesia and conditioned pain modulation in humans. *PAIN®*, 155(1), 158–167.

- Valentini, E., Halder, S., McInnersey, D., Cooke, J., & Romei, V. (2019). Assessing the specificity of the relationship between brain alpha oscillations and tonic pain. *bioRxiv*, 787283.
- Wager, T. D., & Atlas, L. Y. (2015). The neuroscience of placebo effects: Connecting context, learning and health. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(7), 403–418.
- WHO. (2010). *Global recommendations on physical activity for health*—Google Acadêmico.https://scholar.google.com.br/scholar?hl=ptBR&as_sdt=0%2C5&q=Global+recommendations+on+physical+activity+for+health&btnG=
- Williams, D. M., Dunsiger, S., Ciccolo, J. T., Lewis, B. A., Albrecht, A. E., & Marcus, B. H. (2008). Acute affective response to a moderate-intensity exercise stimulus predicts physical activity participation 6 and 12 months later. *Psychology of sport and exercise*, 9(3), 231–245.
- Yee, A. X., Hsu, Y.-T., & Chen, L. (2017). A metaplasticity view of the interaction between homeostatic and Hebbian plasticity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1715), 20160155.
- Yeo, S. S., Chang, P. H., & Jang, S. H. (2013). The ascending reticular activating system from pontine reticular formation to the thalamus in the human brain. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 416.

8. Anexos

ANEXO A - Certificado emitido pelo Comitê de Ética

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EFEITOS DO TREINAMENTO SENSORIAL SOBRE A MODULAÇÃO DA DOR, COGNIÇÃO E TEMPO DE FADIGA EM ADULTOS SAUDÁVEIS.

Pesquisador: FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 54812416.7.0000.5561

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.681.160

Apresentação do Projeto:

Trata-se de Emenda de projeto de doutorado aprovado em maio de 2016 que propõe a utilização da estimulação sensorial como forma de reduzir o nível de dor. Estudo experimental, duplo-cego, randomizado do tipo crossover que será realizado no Instituto de Medicina Física e Reabilitação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IMREA HC FM USP), com uma amostra de 24 indivíduos (12 do sexo feminino) que receberão três intervenções: só exercício, estimulação sensorial ativa com exercício e placebo com exercício. A pesquisadora apresenta emenda solicitando aprovação para modificar o ergômetro bicicleta para esteira. Justifica que, por consenso entre os pesquisadores envolvidos, a alteração do ergômetro bicicleta para esteira deixaria os dados mais consistentes, pois o padrão motor requerido na esteira reflete o dia a dia da população escolhida; dentro das análises fisiológicas de respostas ao exercício físico, a esteira requer uma participação muscular mais global, quando comparada a bicicleta que apresenta um padrão mais localizado para membros inferiores, o que causaria uma fadiga mais rápida e uma sobrecarga cardíaca mais elevada nos voluntários devido a posição sentada, o que reduz o débito cardíaco e faz com que as respostas cardíacas sejam mais intensas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Avaliar os efeitos do treinamento sensorial sobre o limiar da dor. Objetivos Específicos:

- Avaliar os efeitos do treino sensorial sobre o tempo para se chegar a fadiga em um exercício em esteira com carga constante.
- Avaliar os efeitos do treinamento sensorial sobre a atividade oscilatório espontânea cerebral do eletroencefalograma (EEG).
- Explorar os efeitos do treinamento sensorial no desempenho cognitivo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Estão descritos os riscos dos seguintes procedimentos: Estimulação sensorial, Eletrocefalografia, Eletrocardiograma, Frequência respiratória, Teste de Esforço, Teste sensorial (Limiar de Dor á pressão-LDP e Controle inibitório nocivo descendente-CIND) e Avaliações cognitivos-comportamentais/questionários de autorrelato. Menciona-se que esses procedimentos representam um risco não significativo para seres humanos saudáveis. Os indivíduos podem experimentar uma leve coceira ou formigamento na área sob os eletrodos. Os indivíduos serão solicitados a relatar imediatamente qualquer possível desconforto que venham a sentir durante a estimulação. O sujeito pode optar por interromper este estímulo, a qualquer momento, se eles não se sentirem confortáveis em continuar. Se o indivíduo se sentir cansado durante o teste ou desconfortável em responder quaisquer perguntas pessoais, ele será informado de que está autorizado a fazer uma pausa a qualquer momento durante o experimento e que pode acabar com a sua participação a qualquer momento. Durante o procedimento de testes um médico estará sempre no local e em caso de efeitos adversos graves, o plano de procedimento de emergência será ativado e o sujeito será acompanhando enquanto houver necessidade, sem limite de tempo.

Benefícios: Os resultados deste estudo podem beneficiar o futuro subsequente de indivíduos se a estimulação sensorial provar ser eficaz em melhorar o limiar da dor dos mesmos, o tempo para a fadiga e o funcionamento cognitivo. Espera-se que em um futuro próximo as informações obtidas a partir da pesquisa proposta possam ser úteis como um meio para aumentar o limiar de dor do indivíduo saudável, o tempo para fadiga e desempenho cognitivo, assim como, encorajar novas pesquisas a utilizarem o protocolo da presente pesquisa em grupos especiais como indivíduos com dores crônicas e com fadiga prematura.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto apresenta fundamentação teórica e justificativa apropriada sobre tema relevante para área do conhecimento. Como participantes, serão recrutados 24 indivíduos (12 do sexo feminino) com idade entre 18 e 40 anos, índice de massa corporal menor que 27, ser capaz de realizar o teste na esteira; não praticar atividade física intensa mais de duas vezes por semana

ou moderada por mais de cinco vezes por semana em seu tempo livre e realizar menos de 150min/semana de atividade física leve (estes critérios classificam o nível de sedentarismo de acordo com a ACSM) e apresentar atestado médico que comprove a aptidão para realizar as atividades propostas (testes em esteira ergométrica). Os critérios de exclusão estão listados e envolvem condições clínicas e comportamentais que contraindicam a participação no estudo. Os participantes serão recrutados por meio de anúncios de internet, e-mail, jornal, propagandas em transporte público e redes sociais. Os procedimentos do estudo estão descritos detalhadamente, bem como os riscos e desconfortos de cada um deles. Cada sujeito terá que completar um total de 4 visitas: visita de triagem e de avaliação de linha de base (visita 0), e visitas de intervenção (visita 1, 2 e 3). Para minimizar os potenciais efeitos de repercussão em todas as sessões de estimulação e de exercício sem estimulação, haverá um período de wash-out de uma semana entre as visitas 1, 2 e 3. Menciona-se também o controle e garantia da qualidade que inclui o plano de procedimentos de emergência do IMREA HC FM USP que está preparado para lidar com situações de emergência com certificação da Commission on Accreditation of Rehabilitation Facilities (CARF).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta carta de anuência da Diretora Executiva do Instituto de Medicina Física e Reabilitação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para realização da pesquisa com a alteração do ergômetro para esteira.

Os ajustes relativos à alteração do ergômetro estão incluídos de forma adequada no Projeto detalhado e no Formulário da Plataforma Brasil.

O TCLE está redigido em forma de convite à participação no estudo com a alteração do ergômetro para esteira, descreve brevemente os procedimentos que o participante deverá realizar; menciona os direitos fundamentais dos participantes conforme Resolução 466/2012.

Recomendações:

Não há recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A Emenda apresentada não apresenta óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Se o projeto prevê aplicação de TCLE, todas as páginas do documento deverão ser rubricadas pelo pesquisador e pelo voluntário e a última página assinada por ambos, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEPH de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEPH antes de ser implementada. De acordo com a Res. CNS 466/12, o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS o relatório final do projeto desenvolvido, conforme preenchimento de Protocolo disponível na página do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do IPUSP, do site do IPUSP. Em seguida, o protocolo preenchido deverá ser enviado ao CEPH pela Plataforma Brasil, ícone Notificação, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Auto r	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_742551_E1.pdf	24/06/2016 16:48:40		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DEMONSTRATIVO_DE_INFRAESTRUTURA.pdf	24/06/2016 16:37:42	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTA_DE_ANUENCIA.pdf	24/06/2016 16:36:26	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	24/06/2016 16:36:08	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DETALHADO.pdf	24/06/2016 16:35:58	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	CARTA_CEPH.pdf	10/05/2016 14:13:38	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	10/05/2016 13:51:13	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	29/03/2016 17:05:38	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_PATROCINADOR.pdf	29/03/2016 16:57:38	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Outros	ESCALA_ANALOGICA_VISUAL_PARA_DOR.pdf	23/03/2016 21:04:58	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito

Outros	ESCALA_SUBJETIVA_ESFORCO.pdf	23/03/2016 21:03:06	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_PESQUISADOR.pdf	23/03/2016 20:53:24	FABIANA TENORIO GOMES DA SILVA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	NAO_APLICAVEL.pdf	23/03/2016 20:45:44	FABIANA TENÓRIO GOMES DA SILVA	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	23/03/2016 19:44:26	FABIANA TENORIO GOMES DA SILVA	Aceito
Brochura Pesquisa	BROCHURA_PESQUISA.pdf	23/03/2016 19:42:47	FABIANA TENORIO GOMES DA SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 16 de
Agosto de 2016

Assinado por: Helena Rinaldi Rosa (Coordenador)

ANEXO B - Certificado de submissão do artigo 1

Heliyon

Ter, 22/10/2019 18:51

EFFECTS OF MEDIAN NERVE STIMULATION (MNS) COUPLED WITH PHYSICAL EXERCISE ON PAIN MODULATION: DOUBLE-BLINDED, RANDOMIZED, CROSS-OVER TRIAL by Dr Felipe Fregni

Dear Gomes da Silva,

You have been listed as a contributing author for the above referenced manuscript. Please confirm whether you are a contributing author by clicking one of the following links.

Yes, I made a significant contribution to this manuscript and meet the criteria for authorship (detailed in the Guide for Authors of Heliyon)

<https://www.editorialmanager.com/heliyon/l.asp?i=334987&l=3TF2OQM3>. You may be asked to register to complete this confirmation. Once complete, you will be able to view the status of the submission as it goes through the editorial process by logging in at <https://www.editorialmanager.com/heliyon/>.

No, I did not contribute significantly to this manuscript and do not meet the criteria for authorship: <https://www.editorialmanager.com/heliyon/l.asp?i=334988&l=H7RFFIA4>.

If, for any reason, the above links do not work, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/heliyon/>.

Thank you in advance for your confirmation.

Kind regards,
Heliyon

More information and support

FAQ: What is Editorial Manager Co-Author registration?
https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28460/supporthub/publishing/kw/co-author+editorial+manager/

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: <https://www.elsevier.com/authors>.

FAQ: How can I reset a forgotten password? https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/kw/editorial+manager/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial

Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following

URL: <https://www.editorialmanager.com/heliyon/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

ANEXO C - Certificado de submissão do artigo 2

Neuroscience Letters <eesserver@eesmail.elsevier.com>

Qui, 21/11/2019 10:04

- Você;
- fabianatgds@usp.br

□

*** Automated email sent by the system ***

Re: NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MEDIAN NERVE STIMULATION: AN EXPLORATORY qEEG STUDY

by FABIANA TENÓRIO SILVA, MASTER; Marcel Simis; Aurore Thibaut; Ana R Cortelli Donati; Linamara R Battistella; Felipe Fregni
Research paper

Dear Mrs. SILVA,

Your submission entitled "NEUROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MEDIAN NERVE STIMULATION: AN EXPLORATORY qEEG STUDY" has been received for consideration in Neuroscience Letters.

You will be able to check on the progress of your manuscript by logging on to the Elsevier Editorial System as an author:

<https://ees.elsevier.com/nsf/>

Your username is: fabianatgds@hotmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/nsf/automail_query.asp.

Your paper will be given a manuscript number shortly and you will then receive an e-mail with this number for your reference.

Thank you for submitting your manuscript to Neuroscience Letters. Should you have any questions, please feel free to contact our office.

Kind regards,

Neuroscience Letters
Email: nsf@elsevier.com