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

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA EM DIFERENTES REGIÕES CORTICAIS NA TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Isis Suruagy Correia Moura

RECIFE | 2015

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

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA EM DIFERENTES REGIÕES CORTICAIS NA TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

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

Área de concentração: Neurociências

Orientadora: Profª Drª Kátia Karina do Monte-Silva
Co-orientadora: Profª Drª Armele Dornelas de Andrade

RECIFE | 2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

M929e Moura, Isis Suruagy Correia.
Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua em diferentes regiões corticais na tolerância ao exercício de indivíduos saudáveis / Isis Suruagy Correia Moura. – 2015.
111 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Kátia Karina do Monte-Silva.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2015.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Estimulação elétrica. 2. Atividade motora. 3. Exercício. I. Monte-Silva, Kátia Karina do (Orientadora). II. Título.

612.665 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2016-136)

ISIS SURUAGY CORREIA MOURA

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA EM DIFERENTES REGIÕES CORTICAIS NA TOLERÂNCIA AO EXERCÍCIO DE INDÍVIDUOS SAUDÁVEIS

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

Aprovada em: 17/11/2015

BANCA EXAMINADORA

_____

Profª Drª Kátia Karina do Monte-Silva
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profº Drº Marcelo Cairrão Araújo Rodrigues
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª Drª Shirley Lima Campos
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profº Drº Tony Meireles dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª Drª Daniela Cunha Brandão
Universidade Federal de Pernambuco

“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”.

John F. Kennedy

AGRADECIMENTOS

Considero que a elaboração de uma tese é um produto coletivo, embora sua redação, responsabilidade e estresse seja predominantemente individual. Várias pessoas contribuíram para que este trabalho chegasse a ser concluído. A todas elas registro minha gratidão.

A Deus por estar sempre presente na minha vida, e tornar tudo possível;

A minha queria amiga, mãe e espelho, Divanise Suruagy, pela grandiosa ajuda em mais uma etapa de vida vencida;

Ao querido noivo Alexandre, pela paciência durante os meus momentos de tensão, preocupação, cansaço e mau humor; por seu interesse, ajuda e compreensão. E a minha Luísa, que ainda nem nasceu, mas já contribuiu bastante ficando quetinha no meu ventre mesmo nos momentos de angustia e estresse.

A amiga e "filha adotiva" Tuane Rodrigues pelo carinho e constate disponibilidade em ajudar.

A todos meus amigos e colegas de doutorado;

Ao amigo Luis Paulo, que no decorrer de mestrado e doutorado se tornou não apenas amigo, mas um verdadeiro irmão e companheiro de luta.

A orientadora Profa. Dra. Katia Monte-Silva por proporcionar o estudo de um tema relevante e compreensão em momentos difíceis durante o doutorado.

A co-orientador Profa. Dra. Armele Dornelas pela ajuda na tese e pelos conhecimentos compartilhados.

A toda família LANA pela grande ajuda, principalmente na fase de coleta de dados e em especial a Adriana Baltar, pela enorme disponibilidade, constante incentivo e ajuda em todas as fases do doutorado, sempre indicando a direção a ser tomada nos momentos de maior dificuldade.

Ao meu eterno mestre e amigo Leão, pelo incentivo constante em desenvolver o saber científico.

A todos os queridos voluntários da pesquisa, sem as quais esta pesquisa não poderia ter sido realizada.

RESUMO

Estudos recentes têm desafiado o paradigma atual da fisiologia do exercício, onde os mecanismos que determinam a tolerância ao exercício estão relacionados a aspectos dos sistemas cardiovascular, respiratório, metabólico e mecanismos neuromusculares, passando a enfatizar o papel crucial desempenhado pelo cérebro na regulação do desempenho no exercício. Assim, a estimulação cerebral não-invasiva, como por exemplo, a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) vem sendo utilizada para aprimorar o desempenho e a tolerância ao exercício físico. Embora os resultados desta associação sejam considerados promissores, poucos estudos, até o momento, avaliaram a associação da ETCC com o exercício físico dinâmico. Esta tese apresenta dois artigos originais realizados com o propósito de promover o progresso na pesquisa da associação entre a ETCC e a excitabilidade cortical com o exercício físico. O primeiro estudo foi realizado para investigar os efeitos de diferentes intensidades de exercício na excitabilidade corticoespinal em exercício dinâmico. Nesta pesquisa, 18 indivíduos saudáveis participaram de um estudo crossover com três diferentes protocolos de exercícios em cicloergômetro: (i) 10 min a 75% Wmax (intensidade alta); (ii) 15 min a 60% Wmáx (intensidade moderada) ou (iii) 30 min a 45% Wmáx (intensidade baixa). A sessão controle foi feita com indivíduos em repouso. A excitabilidade cortical foi avaliada pela estimulação magnética transcraniana (EMT). Os resultados deste estudo são apresentados no artigo intitulado " Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability in healthy humans: a pilot study ", os resultados sugerem que a diminuição da excitabilidade corticoespinal foi encontrada apenas na sessão de exercício de intensidade alta. O segundo estudo foi realizado a fim de investigar se a ETCC, no córtex motor (M1) ou córtex temporal esquerdo (T3), melhoram a tolerância ao exercício e verificar os efeitos da ETCC na excitabilidade cortical de indivíduos saudáveis não atletas. Os resultados deste estudo são apresentados no artigo intitulado: " Does tDCS might be effective to improve physical performance and attenuate effort perception during maximal dynamic exercise in non-athletes? ". Os resultados apontam que a ETCC não foi eficaz em melhorar o desempenho em exercício dinâmico máximo, todavia a ETCC anódica aplicada na área motora da perna (M1) pode aumentar a excitabilidade cortical de indivíduos saudáveis.

Palavras chave: Estimulação elétrica. Atividade motora. Exercício.

ABSTRACT

Contemporary'studies have challenged the current paradigm of exercise physiology, where mechanisms determining exercise tolerance have focused on the cardiovascular, respiratory, metabolic and neuromuscular mechanisms, by emphasising the crucial role played by the brain in the regulation of exercise performance. Thus, non-invasive brain stimulation, as for exemple, transcranial direct current stimulation (tDCS) has recently been used to improve performance and tolerance to physical exercise. Although, the results from this associations could be promising, a few studies are reported with association of tDCS with dynamic exercise. This thesis presents two original articles conducted with the purpose of progress in the researching of the association of tDCS and excitability cortical with physical exercise. The first study was done in order to investigate effects of different intensities of locomotor exercise on corticospinal excitability. In this study, 18 healthy subjects participated in a crossover design study of three different exercise protocols on a cycle ergometer: (i) 10 min at 75% Wmax (high intensity); (ii) 15min at 60% Wmax (moderate intensity) or (iii) 30 min at 45% Wmax (low intensity). A control session was done with subjects at rest. Cortical excitability was evaluated trough transcranial magnetic stimulation (TMS). The results of this study are shown in the article entitled "Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability in healthy humans: a pilot study" and the results suggest that decrease in corticospinal excitability was found only in the session of exercise of high intensity. The second study was performed in order to determine whether tDCS, in motor cortex (M1) or left temporal cortex (T3), improve exercise tolerance in healthy non-athlete subjects and verify the effects of tDCS on cortical excitability of healthy subjects. The results of this study are shown in the article titled: Does tDCS might be effective to improve physical performance and attenuate effort perception during maximal dynamic exercise in non-athletes?. The results pointed out that tDCS is not be effective to improve performance in maximal dynamic exercise, but anodal tDCS in M1 might increase cortical excitability in lower limbs motor cortex.

Keywords: Electrical stimulation. Motor activity. Exercise.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	analysis of variance
CAPES	coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
cm^2	centímetros quadrados
CVM	contração voluntária máxima
Cz	vertex
dC	depois de cristo
EMG	eletromiografia
EMT	estimulação magnética transcraniana
ETCC	estimulação transcraniana por corrente contíua
FACEPE	fundação de amparo à ciência e tecnologia do estado de Pernambuco
FC	frequência cardíaca
FCmáx	frequência cardíaca máxima
IPAQ	international Physical Activity Questionnaire
LANA	laboratório de Neurociência Aplicada
LM	limiar motor ativo
LTD	long Term Depression
LTP	long Term Potentiation
M1	córtex motor
mA	miliampére
Min	minuto
NMDA	N-metil D-Aspartato
PEM	potencial evocado motor
PSE	percepção subjetiva do esforço
RF	reto femoral
RPM	rotações por minutos

SNC	sistema nervoso central
T3	córtex temporal esquerdo
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TIM	teste incremental máximo
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VL	vasto lateral
VM	vasto medial
W	watts
Wmáx	watts máximo

LISTA DE TABELAS

APÊNDICE A

Table 1. Participants characteristics 68

Table 2. Mean (± standard deviations) of heart rate (hr) [1], borg rating of perceived exertion (rpe) [2] and power (watts) during exercise protocols on a cycle ergometer.....69

APÊNDICE B

Table 1. Characteristics of subjects before each experimental session expressed in mean (±sd) 94

Table 2. Mean (±sd) of maximum power (max-p), time to exhaustion (te) and maximum heart rate (max-hr) in maximal incremental test (mit) for each experimental sessions (anodal tdcs on m1 and t3, cathodal tdcs on m1 and t3 and sham tdcs). 95

Table 3. Mean (±se) of baseline-standardized root mean square (rms) after maximal incremental test (mit) obtained by surface electromyography assessment for the vastus lateralis (vl), rectus femoris (rf) and vastus medialis (vm) muscles after experimental sessions (anodal tdcs on m1 and t3, cathodal tdcs on m1 and t3 and sham tdcs).....95

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Ilustração do mecanismo fisiológico durante (primeira linha) e após etcc (segunda linha da figura) anódica (lado direito) e catódica (lado esquerdo da figura) em animais 26

MÉTODOS

Figura 2. Desenho esquemático do estudo 1.. 33

Figura 3. Desenho esquemático do estudo 2 36

APÊNDICE A

Figure 1.experimental course 67

Figure 2. Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability. 70

Figure 3. Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability are depend on the physical activity level of subjects 72

APÊNDICE B

Figure 1. Experimental design.....93

Figure 2. Local rating of perceived exertion (local rpe) (a), and wholly body rating of perceived exertion (wb rpe) (b) during maximal incremental test (mit) in the experimental sessions (anodal tdcs on m1 and t3, cathodal tdcs on m1 and t3 and sham tdcs) versus %exercise duration (25%, 50%, 75% and 100% of total duration of the mit)l 96

Figure 3. Blood lactate levels in the experimental sessions (anodal tdcs on m1 and t3, cathodal tdcs on m1 and t3 and sham tdcs) before (baseline), after transcranial direct current stimulation (post-tdcs) and after maximal incremental test (mit).....97

Figure 4. Baseline-standardized motor evoked potential (mep) amplitudes before (baseline), after tdcs and after maximal incremental test (mit), 5 (t5), 10 (t10) and 15 (t15) min after mit for each experimental session (anodal on m1 and t3, cathodal on m1 and t3, and sham).....98

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO 15
2. INTRODUÇÃO 17
3. REVISÃO DA LITERATURA 19
3.1 Exercício físico e fadiga 19
3.2 Excitabilidade corticoespinal e exercício físico 21
3.3 Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) 23
3.4 ETCC e exercício físico 27
4. HIPÓTESES DO ESTUDO 29
4.1 Hipótese do estudo 1 30
4.2 Hipótese do estudo 2 30
5. OBJETIVOS 30
5.1 Objetivo geral 30
5.1.1 Objetivo geral do estudo 1 ..... *30*
5.1.2 Objetivo geral do estudo 2 ..... *30*
5.2 Objetivos específicos 30
5.2.1 Objetivos específicos do estudo 1 ..... *30*
5.2.2 Objetivos específicos do estudo 2 ..... *31*
6. MÉTODOS 31
6.1 Local e período dos estudos 31
6.2 Aspectos Éticos 32
6.3 População /Amostra 32
6.4 Critérios de elegibilidade 32
6.5 Delineamento metodológico 33
6.6 Procedimentos para coleta de dados 43
6.7 Processamento e análise de dados 44
7. RESULTADOS 44
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS 45
REFERENCIAS 47
APÊNDICE A 52
APÊNDICE B 74
APÊNDICE C 99
APÊNDICE D 103
APÊNDICE E 106
APÊNDICE F 107
ANEXO I 109

ANEXO II 110
ANEXO III 111

1. APRESENTAÇÃO

Esta tese faz parte da linha de pesquisa "Métodos Eletrofisiológicos em Medicin Neurociência", da área de concentração "Neurociências" do Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco – Níveis Mestrado e Doutorado.

Esta linha de pesquisa da área de Neurociências (Pós-graduação em Neuropsiquiatria) está em conformidade com a linha "aplicabilidade de técnicas de estimulação cerebral na reabilitação de pacientes neurológicos" seguida pelo Laboratório de Neurociência Aplicada (LANA), onde os estudos realizados têm direcionado a atenção para: (i) entender como as técnicas de estimulação transcraniana interferem no controle motor de sujeitos saudáveis, (ii) verificar as repercussões terapêuticas da aplicação das estimulações transcranianas na recuperação e/ou reabilitação de pacientes neurológicos e (iii) associar o uso de estimulações transcranianas com técnicas tradicionais da fisioterapia. A presente tese enquadra-se no tópico (i) já que se propôs a investigar a influência da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) excitatória e inibitória no exercício físico, buscando entender o processo de da aplicação desta técnica na tolerância e desempenho no exercício de indivíduos saudáveis.

Os dados obtidos com este estudo resultaram em contribuições científicas, como: (i) publicação de resumo: Anais do VI Simpósio internacional em neuromodulação, 2014, (São Paulo/ Agosto 2014) (Anexo I), sendo premiado com menção honrosa no mesmo evento em 2014 (Anexo II), (ii) orientação de bolsista de iniciação científica (FACEPE) Marina de Freitas Berenguer; (iii) submissão de artigo original intitulado "Intensity-dependent effects of physical exercise and physical activity level on corticospinal excitability in healthy human: a pilot study" – estudo 1 (Revista: The American Journal of Sport Medicine - qualis A1 para Medicina II da CAPES - Apêndice A); (iv) elaboração e submissão de outro artigo intitulado "Does tDCS might be effective to improve physical performance and attenuate effort perception during maximal dynamic exercise in non-athletes?" a ser submetido para revista The American Journal of Sport Medicine (qualis A1 para Medicina II da CAPES) – estudo 2, produtos da presente tese (Apêndice B). A elaboração desta tese foi realizada na forma artigos científicos, conforme a "Proposta para apresentação de Dissertação/Tese nos Programas de Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde da UFPE", baseada em Souza MSL. Guia para redação e apresentação de teses, editora Coopmed, 4ª ed, 2012. Dessa forma, o presente exemplar está estruturado em cinco seções da seguinte forma:

Seção I: introdução, apresentando brevemente o tema, e contendo revisão da literatura, hipótese e objetivos do estudo;

Seção II: métodos;

Seção III: resultados, apresentados no formato de artigos originais;

Seção IV: considerações finais;

Referências;

Apêndices e Anexos

2. INTRODUÇÃO

A fadiga é o principal fator limitante do desempenho físico, sua compreensão em situações de exercício tem sido um dos aspectos mais estudados nas últimas décadas com diversas propostas de modelos tentando explicar o que leva ao seu desenvolvimento (ABBISS & LAURSEN, 2005; MARCORA E STAIANO, 2010). A mesma pode resultar da falha de um ou mais dos seguintes componentes: fibra muscular, membrana da fibra, junção neuromuscular, motoneurônios e/ou alterações supraespinais, o que lhe confere um caráter multifatorial, sendo dividida em: periférica e central (SESBOÜÉ & GUINCESTRE, 2006).

Apesar das dificuldades em determinar as causas da fadiga, nas últimas décadas obtiveram-se dados mais objetivos de que a mesma pode também ocorrer por alterações na excitabilidade cortical (SIDHU et al., 2012; ROSS et al., 2007). Tem sido proposto que durante exercícios estáticos fatigantes, ocorre um aumento da amplitude do potencial evocado motor (PEM) indicando um aumento na excitabilidade cortical, porém no fim do exercício a amplitude do PEM é reduzida, sugerindo uma diminuição na excitabilidade do córtex motor (GANDEVIA, 2001). Estudos mostram que em exercícios envolvendo grandes grupamentos musculares, tais como ciclismo de alta intensidade e maratona, a amplitude do PEM permanece diminuída por um longo período após o exercício ter cessado (SIDHU et al., 2012; ROSS et al., 2007). Alterações fisiológicas provocadas por exercícios aeróbios exaustivos podem influenciar a capacidade de resposta do córtex motor (MCDONNEL et al., 2013).

Ainda são escassos os estudos que avaliam a excitabilidade corticoespinal utilizando exercícios dinâmicos nas diferentes faixas de tempo e intensidade (fatigante e não fatigante), desta forma não se conhece, principalmente, o comportamento do córtex frente a intensidades leve e moderada (SIDHU et al., 2012). Assim, torna-se importante a realização de pesquisas que investiguem o comportamento da excitabilidade corticoespinal após a realização de

sessões de exercício físico dinâmico, visando possibilitar o entendimento do comportamento do córtex nas diferentes faixas de intensidades de exercício fatigantes e não fatigantes.

Dentre as ferramentas utilizadas para tentar retardar e entender o processo da fadiga, a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) vem ganhado destaque (OKANO et al., 2015; COGIAMANIAN et al., 2007). A ETCC é uma técnica capaz de promover modulação cortical, caracterizada pela aplicação de corrente de baixa intensidade através de um par de elétrodos sobre o crânio (ânodo e cátodo), no qual os efeitos resultantes da aplicação da ETCC são dependentes do posicionamento dos eletrodos e da polaridade aplicada: a ETCC anódica aumenta, enquanto a ETCC catódica diminui a excitabilidade cortical (NITSCHE et al., 2003a; NITSCHE E PAULUS, 2000).

Também são escassos os estudos que relacionam a ETCC com as diferentes regiões cerebrais no exercício físico dinâmico, tais como o córtex motor primário (M1) e o córtex temporal esquerdo (T3), em indivíduos saudáveis. Cogiamanian et al. (2007) demonstraram que a ETCC anódica aplicada sob M1 foi capaz de retardar a fadiga durante um exercício isométrico de baixa intensidade, sugerindo a ETCC como uma técnica promissora na ciência do esporte. As regiões anatômicas exatas do sistema nervoso central (SNC) que parecem se relacionar com a modulação das sensações corporais ainda são desconhecidas. No entanto, são crescentes as evidências da participação do córtex insular, do córtex cingulado anterior e do tálamo, por exemplo, no mecanismo de regulação da percepção subjetiva do esforço (PSE) durante o exercício (LAMBERT, ST CLAIR GIBSON & NOAKES, 2005; STEINS et al., 2007).

Okano et al. (2015), demonstraram que a ETCC anódica aplicada sobre T3 melhorou o desempenho físico e diminuiu a PSE de atletas de ciclismo em teste incremental máximo (TIM). Os autores, apesar de não avaliarem a excitabilidade cortical, sugeriram que a ETCC foi capaz de estimular o córtex insular e modular a atividade do sistema nervoso autonômico e

a PSE, indicando que esta região pode desempenhar um papel crucial na regulação do desempenho integrando sinais fisiológicos e psicológicos. Recentemente Silva et al. (2015) em um estudo de relato de caso, demonstraram que a ETCC anódica aplicada em M1 de um indivíduo com lesão medular melhorou a tolerância ao exercício em cicloergômetro de membros superiores. Eles atribuíram este achado à prováveis modulação do sistema nervoso autônomo, da dor e a redução da PSE promovida pela ETCC. Portanto, apesar de poucos estudos, a ETCC vem sendo considerada como uma provável ferramenta eficaz a ser aplicada na área do esporte para tentar melhorar a tolerância ao exercício e protelar a fadiga central.

Apesar do potencial uso da ETCC na ciência do exercício, nenhum estudo até o momento verificou o efeito da estimulação em diferentes regiões cerebrais. Assim, considerando que a ETCC é uma ferramenta capaz de modular a excitabilidade, este estudo se propõe a investigar os efeitos da ETCC aplicada sobre T3 e M1 na tolerância ao exercício em TIM de indivíduos saudáveis.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Exercício físico e fadiga

A busca permanente por mecanismos que explicam a instauração bem como meios de protelar a fadiga, nas mais diversas modalidades esportivas, tem motivado inúmeras pesquisas e publicações relacionadas ao tema na ciência do esporte. A capacidade de sustentar o exercício é de suma importância para praticantes de exercício físico e atletas, por outro lado a pobre tolerância está fortemente associada com doença cardiovascular e mortalidade na população em geral (MARCORA & STAIANO, 2010).

A causa da fadiga que ocorre no exercício de alta intensidade têm sido alvo de várias controvérsias entre os pesquisadores da área (MARCORA & STAIANO, 2010). A teoria mais popular diz que esta forma de exercício é limitada devido a uma base periférica, ou seja,

existe uma insuficiência metabólica induzida pela função contrátil do músculo esquelético (fadiga periférica), que independe da ativação muscular reduzida das saídas eferentes do córtex motor (fadiga central) (NOAKES & ST CLAIR GIBSON, 2004). Esta teoria clássica surgiu na década de 20, quando formularam um dos mais antigos modelos da fisiologia do exercício, denominado modelo de equilíbrio dinâmico. Uma das suposições desse modelo é que o término do exercício, operacionalmente determinado no ponto de queda da manutenção de uma potência mecânica pré-determinada geralmente chamada de fadiga ou exaustão (BOUCLIN, CHARBONNEAU & RENAUD, 1995), ocorre devido ao acúmulo de metabólitos provindos da anaerobiose muscular, ou pela depleção de substratos energéticos (LAMBERT, ST CLAIR GIBSON & NOAKES, 2005; NOAKES, ST CLAIR GIBSON & LAMBERT, 2004).

Nos últimos séculos, a complexidade dos mecanismos envolvidos no processo de fadiga e suas implicações para o desempenho físico foram amplamente investigadas. Porém, ainda existem muitas perguntas a serem respondidas. St Clair Gibson & Noakes (2004) argumentam que, se o modelo de "fadiga periférica" é correto, então não existe nenhum valor nas sensações físicas e emocionais que surgem no final do exercício quando a capacidade de trabalho começa a declinar. Assim, surgem algumas questões que ainda merecem ser elucidadas: se o desempenho no exercício é regulado perifericamente nos músculos, por que esses sintomas se desenvolvem? Por que o cérebro deve ser informado dos acontecimentos periféricos que estão além do seu controle? Nenhuma resposta consciente do cérebro pode parar os eventos metabólicos periféricos que, progressivamente inibem a contração do músculo esquelético causando o término do exercício? (NOAKES, ST CLAIR GIBSON & LAMBERT, 2005).

Nessa direção surge o modelo integrativo de regulação central do esforço sugerido por Noakes, St Clair Gibson & Lambert (2001). Neste modelo, denominado de modelo do

governador central, a manutenção do equilíbrio nas variáveis fisiológicas seria assegurada pelas ações do SNC, o qual utilizaria a PSE como um marcador do tempo total possível de exercício. O cérebro subconsciente, que é modulado por sinais aferentes dos sistemas periféricos como o sistema nervoso periférico, coração, pulmões e músculo esquelético, regularia a taxa metabólica e produziria a sensação consciente de esforço, vista como uma estratégia para assegurar que o exercício seja executado dentro dos limites de segurança (ST CLAIR GIBSON et al., 2003).

No entanto, permanece a incerteza sobre qual área do cérebro é responsável pelo controle do governador central, suspeita-se que exista relação com a região cortical (LAMBERT, ST CLAIR GIBSON & NOAKES, 2005). Evidências demonstram que estruturas como o córtex motor (M1), córtex insular, córtex pré-frontal medial e o tálamo estão envolvidos no mecanismo de regulação da PSE e modulação autonômica cardiovascular durante o exercício (WILLIAMSON, 2010).

Apesar das dificuldades em determinar as causas, nas últimas décadas tem sido obtido dados mais objetivos de que a fadiga pode estar relacionada com alterações da excitabilidade cortical. Por exemplo, estudos utilizando estimulação magnética transcraniana (EMT) durante e após a realização de exercícios fatigantes revelaram que podem ocorrer mudanças na excitabilidade do córtex motor provocadas pelo exercício (GANDEVIA, 2001). Essas mudanças parecem depender do tipo e intensidade do exercício realizado (HOLLGE et al., 1997).

3.2 Excitabilidade corticoespinal e exercício físico

Diversos estudos demonstram que quando aplicada a estimulação magnética transcraniana (EMT), em músculos relaxados, após o exercício que não induz exaustão muscular, a amplitude dos PEMs é aumentada indicando aumento na excitabilidade. Este fenômeno é denominado “facilitação pós-exercício”. No entanto, uma diminuição da

amplitude dos PEMs pode ocorrer quando o exercício é prolongado até a fadiga muscular ou sensação subjetiva de fadiga, "depressão pós-exercício" (BRASIL NETO, COHEN & HALLETT, 1994; GOODALL et al., 2014). Tem sido sugerido que a facilitação pós-exercício depende de mecanismos facilitadores e potenciação de curto prazo, dentro do córtex. Já a depressão pós-exercício pode depender de mecanismos intracorticais de depressão pós-ativação do reflexo H na medula (depressão de transmissão sináptica ou aumento da inibição pré-sináptica), ou depressão de longo prazo (*long term depression*). A depressão pós-exercício tem sido considerada a contrapartida eletrofisiológica da fadiga (LIEPERT et al., 1996).

Tem sido proposto que durante exercícios de contração isométrica (estáticos), a resposta muscular medida através da amplitude do PEM é aumentada, porém, ao exercício ser cessado, essa resposta muscular é reduzida, sugerindo haver uma diminuição na excitabilidade do córtex motor (BRASIL NETO, COHEN & HALLETT, 1994; GANDEVIA, 2001). Tais alterações, também, podem ocorrer em outras formas de exercício, por exemplo, em exercícios envolvendo exercícios locomotores (dinâmico), como no ciclismo de alta intensidade (SIDHU et al, 2012) e na simulação de maratona (ROSS et al., 2007). O interessante é que, quando exercícios envolvendo grande massa muscular foram realizados, a amplitude do PEM ficou diminuída por um longo período após o exercício ter sido cessado. Por outro lado, também são documentados estudos nos quais a amplitude do PEM, após a realização de exercícios, não se altera (SIDHU et al, 2012; 2013).

Os mecanismos específicos que influenciam o SNC durante ou após modificações frente a diferentes tipos de exercícios são controversos (BRINK-ELFEGOUN et al, 2007; AMANN & DEMPSEY, 2008). Modos distintos de exercício podem resultar em sinais de feedback aferentes diferentes para o SNC e/ou efeitos centrais diretos através modulações cerebrais intrínsecas e consciente percepção de esforço (GANDEVIA, 2001; MARCORA, 2009). No entanto, grandes variações entre as modalidades de exercício, no montante de

trabalho muscular, e a consequente demanda cardiorrespiratórias e outros fatores, tais como taxa de consumo de oxigenação cerebral também podem explicar as diferenças nas respostas corticoespinais após exercício dinâmico vs. estático e fatigante vs. exercício não-fatigantes (DEMPSEY et al, 2008; PERIARD et al, 2011; SIDHU et al, 2013).

Assim, diante de diferentes resultados na excitabilidade cortical que variam de acordo com a natureza do exercício, são necessários mais estudos que possam esclarecer os mecanismos que envolvem estas diferenças. Ainda são escassos os estudos que utilizam exercícios (aeróbios) nas diferentes faixas de tempo e intensidade, desta forma pouco se conhece sobre o comportamento da excitabilidade cortical frente a intensidades mais leves e não fatigantes (SIDHU et al., 2012).

3.3 Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC)

3.3.1 Histórico

Os primeiros registros da terapia elétrica datam de 43-48 dC, com o uso de peixes elétricos no tratamento da dor (STAGG & NITSCHE, 2011; UTZ et al., 2010). Outros marcos foram as experiências com eletricidade em animais e humanos de Galvani's e Volta, em meados de 1790, que iniciou a aplicação clínica de estimulação de corrente contínua. A descoberta da eletroconvulsoterapia terapia na década de 1930, no entanto, levou a uma abrupta perda de interesse na técnica (UTZ et al., 2010). Em 1960, a terapia elétrica teve um breve retorno e seus efeitos foram sistematicamente investigados. Apesar desse temporário interesse, a técnica foi mais uma vez abandonada, devido aos progressos dos medicamentos no tratamento de transtornos psiquiátricos (STAGG & NITSCHE, 2011).

A partir do estudo realizado por Nitsche & Paulus (2000), iniciou-se um conhecimento mais aprofundado sobre os mecanismos básicos da eletroterapia cerebral não-invasiva sendo fundamental para o aumento da popularidade dessa técnica até os dias atuais.

3.3.2 Método e aspectos de segurança

Na ETCC, uma fraca corrente elétrica (0,4- 2 mA) é continuamente aplicada, através de dois eletrodos, posicionados no couro cabeludo, resultando em uma densidade de corrente entre 0.03 – 0.08 mA/cm2, promovendo efeitos que dependem do posicionamento e da polaridade dos eletrodos (NITSCHE et al., 2003a; UTZ et al., 2010). Quanto à polaridade aplicada, a ETCC pode ser anódica que aumenta a excitabilidade cortical ou catódica que diminui (NITSCHE & PAULUS, 2000). Quando aplicados por alguns minutos, os efeitos de tais estímulos persistem por um longo período de tempo, mesmo após cessar o estímulo elétrico e são dependentes da intensidade e duração (NITSCHE et al., 2003a).

A ETCC é considerada, de acordo com a literatura publicada, uma técnica segura uma vez que não causa efeito térmico sob os eletrodos, não eleva os níveis de enolase específica do neurônio (marcador de dano de neurônios), não causa edemas ou alterações na barreira hematoencefálica e no tecido cerebral (NITSCHE et al., 2003b; NITSCHE E PAULUS, 2001). Além disso, Liebetanz & Koch, et al. (2009), evidenciaram que lesões no cérebro após estimulação catódica em animais, só ocorreram quando é aplicada uma densidade de corrente total de 52400C/m^2, valores estes superiores aos utilizados nos protocolos com humanos que variam entre 171 e 480 C/m^2. No entanto, devido à passagem de corrente elétrica, os indivíduos podem sentir um leve formigamento no local onde está localizado o eletrodo, por alguns segundos após inicio da estimulação (NITSCHE et al., 2003b; NITSCHE & PAULUS, 2001).

3.3.3 Aplicabilidade

Atualmente, a maior parte dos estudos publicados com ETCC aplicada em seres humanos apresenta dados referentes aos seus efeitos em funções visuais, cognitivas e motoras

(UTZ et al., 2010). Sua aplicação possui um vasto campo de aplicabilidade na medicina, funcionando como coadjuvante no tratamento de distúrbios neurológicos, como por exemplo: doença de Parkinson (BOGGIO et al., 2006a; FREGNI et al., 2006), acidente vascular cerebral (BOGGIO et al., 2006b), depressão (BOGGIO et al., 2007) e dor crônica (FREGNI et al., 2007). No entanto, os resultados preliminares disponíveis apontam não apenas para a efetividade clínica e terapêutica da técnica, mas também para a possibilidade de melhorias no desempenho físico (COGIAMANIAN et al., 2007; OKANO et al., 2015; SILVA et al., 2015), podendo assim, ser utilizado como um importante recurso ergogênico em modalidades esportivas. Porém, até a presente data ainda são escassos os estudos que relacionam a ETCC com o desempenho físico, principalmente em exercícios dinâmicos.

3.3.4 Mecanismos de ação da ETCC

O mecanismo de ação da ETCC ainda não está totalmente explicado. Tem sido frequentemente, demonstrado que o estimulo da corrente anódica, aumenta a taxa de disparos espontâneos e a excitabilidade cortical pela despolarização das membranas dos neurônios, enquanto a corrente catódica promove uma hiperpolarização neuronal e, consequentemente, uma diminuição nos disparos neuronais e da excitabilidade (NITSCHE et al., 2003a; NITSCHE & PAULUS, 2001; UTZ et al., 2010) (Figura 1).

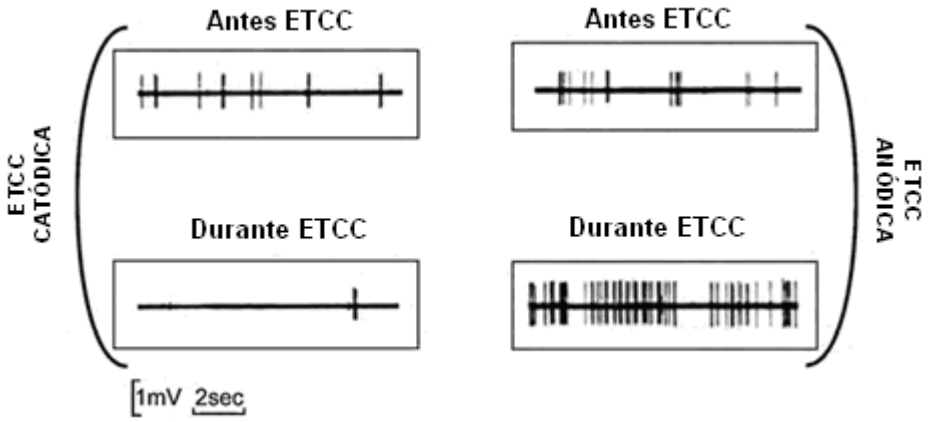


Figura 1. Ilustração do mecanismo fisiológico durante (primeira linha) e após ETCC (segunda linha da figura) anódica (lado direito) e catódica (lado esquerdo da figura) em animais (adaptado de UTZ et al., 2010).

Estudos farmacológicos revelaram que bloqueadores dos canais iônicos voltagem dependentes, tais como: flunarizine (inibidor do canal de cálcio) e carbamazepina (inibidor do canal de sódio), diminuem, ou até mesmo, eliminam os efeitos da ETCC anódica (NITSCHE et al., 2003c). Por outro lado, a dextrometorfan antagonista do receptor N-metil-D-aspartado (NMDA) elimina os efeitos pós ETCC, tanto para a estimulação anódica quanto catódica (NITSCHE et al., 2003c), enquanto D-cyclocerin, agonista desse receptor, prolonga o efeito de excitabilidade pós ETCC anódica (NITSCHE et al., 2004b).

Baseado nesses achados Liebetanz et al. (2002) e Nitsche et al. (2003c) evidenciariam a importância desses receptores na promoção dos efeitos em longo prazo da ETCC, principalmente quando se considera o crescente conhecimento sobre o envolvimento dos receptores NMDA em relação aos mecanismos de plasticidade cortical, como os de potenciação de longo-prazo (LTP) ou depressão de longo-prazo (LTD).

Resultados semelhantes do papel do receptor NMDA e os potenciais de LTP e LTD foram encontrados pelo mesmo grupo de pesquisadores em resposta à anfetamina (NITSCHE et al., 2004b). Com administração do propanolol, antagonista β-adrenérgico, ocorreu

diminuição dos efeitos pós-ETCC anódica e catódica, indicando que uma determinada quantidade de atividade adrenérgica parece ser necessária para consolidação de ambos os mecanismos de neuroplasticidade (NITSCHE et al., 2004b). Já Ardolino et al. (2008) consideraram que os efeitos duradouros da ETCC têm mecanismos de ação baseados em mudanças da função da membrana neuronal. Os autores consideraram que tais mudanças podem ter como base alterações das proteínas transmembranas e mudanças na concentração de hidrogênio com base na eletrólise induzida pela exposição constante ao campo elétrico.

Os efeitos após ETCC também são afetados por neuromoduladores, como a dopamina, acetilcolina e adrenalina (LIEBETANZ et al., 2002; NITSCHE, et al., 2004b; KUO et al., 2007). A partir dessas informações, Nitsche et al. (2009) aplicaram a ETCC associada com Citalopram (inibidor da re-captação de serotonina) para aumentar a atividade serotoninérgica. Obteve-se como resultado, uma ação mais duradora da ETCC anódica (até a noite do dia posterior à estimulação), ocorrendo o inverso com a estimulação catódica. Esses achados sugerem que o Citalopram pode facilitar os efeitos facilitatórios da excitação anódica.

3.4 ETCC e exercício físico

Durante o exercício ocorrem mudanças nas vias motoras com aumento da excitabilidade do córtex motor (M1), sugerindo um incremento na saída motora na tentativa de manter o desempenho físico. Entretanto, quando tal incremento não é suficiente para permanência da força, instaura-se a fadiga (TAYLOR & GANDEVIA, 2001; TAYLOR et al., 2000). A EMT sobre o córtex motor humano revela alterações no PEM após contrações voluntárias máximas fatigantes em indivíduos saudáveis, sugerindo que essa ferramenta é capaz de ajudar no entendimento da instauração da fadiga, principalmente em nível supraespinhal (TAYLOR & GANDEVIA, 2001; TODD et al., 2003).

Assim, é importante a realização de estudo que possam contribuir com a identificação de recursos que possibilitem o retardo e/ou compreensão do processo de fadiga e que, consequentemente, possa favorecer o desempenho físico. A ETCC é um tipo de estimulação cerebral que, graças as crescentes pequisas realizadas para melhor entendimento dos mecanismos subjacentes a sua aplicação, vem consolidando seu uso de forma considerável e cada vez mais abrangente (UTZ et al., 2010). Estudos prévios revelaram que a ETCC anódica aplicada sobre o córtex motor, com intensidades de 1mA por 20 minutos, melhorou a função da mão não dominante de sujeitos saudáveis (BOGGIO et al. 2006). Coggiamanian et al. (2007) investigaram o efeito da ETCC sobre a fadiga e o desempenho físico de sujeitos saudáveis em exercícios isométricos de membros superiores (flexores do cotovelo contralaterais ao córtex motor estimulado), demonstrando a efetividade desta técnica de estimulação cerebral na modulação da fadiga neuromuscular. Os resultados obtidos sugeriram que a ETCC anódica pode aumentar a atividade neuronal supraespinhal, favorecendo uma facilitação prolongada sobre os neurônios corticoespinais. Desse modo, a ETCC anódica promoveu melhoras no desempenho físico em exercício isométrico submáximo, quando comparada às condições de estimulação catódica e placebo.

Resultados semelhantes foram observados por Williams et al. (2013), estes verificaram que a estimulação cerebral excitatória realizada durante uma contração submáxima sustentada (20% CVM) aumentou o tempo para a indução da fadiga em mais de 30%, e prolongou o período de tempo que os sujeitos pudessem manter um elevado grau de esforço medido pela PSE.

Diante da complexidade dos mecanismos envolvidos no desempenho físico e no desenvolvimento da fadiga, principalmente em nível de SNC, surge uma série de estudos recentes utilizando EMT para monitorar as alterações causadas pelo ciclismo na função motora, obtidas pela medida do PEM (GOODALL et al., 2014). No entanto, ainda são

escassos trabalhos associando o uso da EMT como método para avaliar o efeito da ETCC sobre o processo de instauração da fadiga em exercício dinâmico, como por exemplo o ciclismo.

Okano et al. (2015), verificaram que a ETCC anódica, aplicada sobre T3, foi capaz de induzir campos elétricos para o córtex insular e modular a atividade do sistema nervoso autonômico e a PSE com consequente melhora no desempenho físico de ciclistas no TIM. No entanto, neste estudo não foi avaliada a excitabilidade corticoespinal dos atletas em nenhuma etapa do experimento. Mais recentemente Silva et al. (2015), estudando o desempenho de um indivíduo lesionado medular, em cicloergômetro de mão, verificaram que a ETCC anódica, aplicada em M1, causou uma melhoria da tolerância ao exercício, provavelmente devido à modulação do sistema nervoso autônomo e da dor, caracterizada por uma PSE reduzida.

Apesar do potencial uso da ETCC como uma técnica promissora na ciência do esporte, até o momento nenhum estudo foi realizado para verificar o papel da ETCC em diferentes regiões do córtex no desempenho físico de indivíduos saudáveis, bem como sua resposta na excitabilidade corticoespinal em exercício dinâmico de alta intensidade. Assim, considerando que a ETCC é uma ferramenta capaz de modular a excitabilidade, e que estruturas como o córtex insular e motor estão relacionados com a PSE durante o exercício exaustivo, estudos que se proponham a investigar os efeitos da ETCC no desempenho em TIM tornam-se de bastante relevância para o entendimento do mecanismo da fadiga e sua relação com a excitabilidade corticoespinal.

4. HIPÓTESES DO ESTUDO

A presente pesquisa teve como hipóteses:

4.1 Hipótese do estudo 1

O exercício físico de intensidade moderada aumenta a excitabilidade corticoespinal de indivíduos saudáveis independente do seu nível de atividade física.

4.2 Hipótese do estudo 2

A ETCC anódica irá aumentar a excitabilidade corticoespinal e melhorar o desempenho físico de indivíduos saudáveis no teste incremental máximo.

5. OBJETIVOS

A presente pesquisa teve como objetivos:

5.1 Objetivo geral

5.1.1 Objetivo geral do estudo 1

Avaliar as mudanças na excitabilidade corticoespinal após a realização de exercício físico dinâmico com diferentes intensidades.

5.1.2 Objetivo geral do estudo 2

Investigar os efeitos da ETCC, aplicada no córtex motor e córtex temporal esquerdo, no desempenho físico no teste incremental máximo de indivíduos saudáveis.

5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Objetivos específicos do estudo 1

- Verificar as mudanças na amplitude do PEM após a realização de exercício físico dinâmico com intensidades leve, moderada e alta.

-Investigar as mudanças na amplitude do PEM em indivíduos irregularmente ativo, ativo e muito ativo.

5.2.2 Objetivos específicos do estudo 2

- Em indivíduos saudáveis submetidos à ETCC real comparar com os efeitos da ETCC *sham* sobre:

  - ✓ o tempo até a exaustão no teste incremental máximo
  - ✓ a excitabilidade corticoespinal
  - ✓ a atividade elétrica muscular
  - ✓ a frequência cardíaca
  - ✓ a PSE geral e local
  - ✓ o lactato sanguíneo

- Analisar a associação das mudanças na excitabilidade corticoespinal com o tempo até a exaustão no teste incremental máximo após a estimulação transcraniana por corrente contínua anódica e catódica;

SEÇÃO II

6. MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada em dois estudos que são descritos em detalhes abaixo.

6.1 Local e período dos estudos

Realizado no Laboratório de Neurociência Aplicada (LANA) no Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) entre maio de 2013 e outubro de 2015.

6.2 Aspectos Éticos

Os presentes estudos foram conduzidos respeitando a Declaração de Helsinki (1964) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE sob o CAAE: 24630413.0.0000.5208 (Anexo III). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C) antes do início da pesquisa, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da saúde e receberam todas as informações sobre o experimento. Os voluntários estiveram cientes dos objetivos e procedimentos experimentais, assim como a respeito dos riscos e benefícios de sua participação e que, a qualquer momento, durante a realização da pesquisa, poderiam retirar-se da mesma sem nenhum prejuízo em sua relação com a instituição que apoiou o presente estudo ou com o pesquisador.

6.3 População /Amostra

A amostra do presente estudo foi aleatória e não probabilística, por conveniência ou "acidental" e foi recrutada nos centros da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

6.4 Critérios de elegibilidade

A população foi composta de indivíduos saudáveis, de ambos os sexos, maiores de 18 anos. Os critérios de exclusão foram: presença de implante metálico ou qualquer outro dispositivo metálico no corpo; gravidez; histórico de crises convulsivas e epilepsia; presença de marcapasso, desordens neurológicas, desordens musculo-esqueléticos que afetassem o desempenho motor. Os voluntários que estavam fazendo uso de medicações ansiolíticas, antidepressivas, anabolizantes ou qualquer outro medicamento que alterasse o nível de excitabilidade cortical também foram excluídos.

6.5 Delineamento metodológico

6.5.1 Estudo 1

6.5.1.1 Desenho do estudo

Um estudo do tipo cross-over, pseudo-randomizado e controlado.

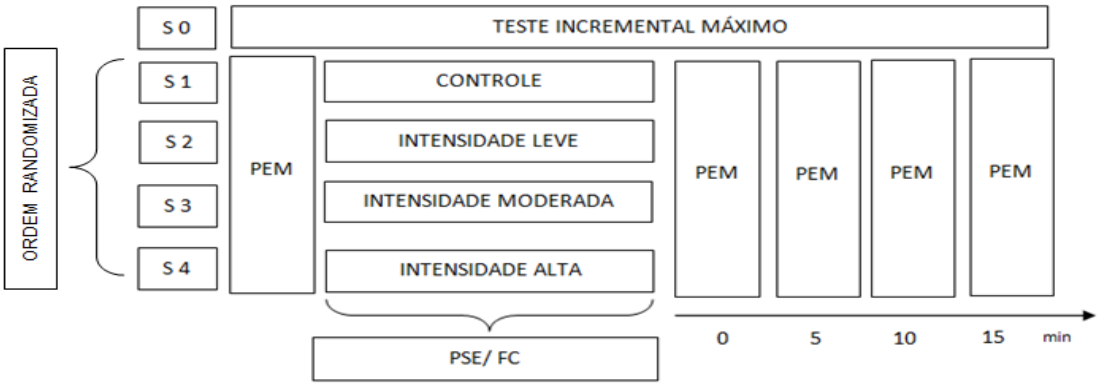


Figura 2. Desenho esquemático do estudo 1. S0: sessão 0; S1: sessão 1; S2: sessão; S3: sessão 3; S4: sessão 4; FC: frequência cardíaca; PSE: percepção subjetiva do esforço; PEM: potencial evocado motor.

6.5.1.2 Procedimentos experimentais

Os voluntários foram submetidos às seguintes sessões experimentais:

(i) Exercício de intensidade leve;
(ii) Exercício de intensidade moderada;
(iii) Exercício de intensidade alta;
(iv) Controle (repouso).

As sessões foram realizadas com um intervalo mínimo de 48 horas entre elas. A ordem das sessões foi randomizada e controladas entre os voluntários por meio de uma tabela de sequência aleatória gerada pelo site *www.randomization.com*.

O nível de atividade física dos indivíduos foi classificado em muito ativo, ativo e irregularmente ativos pelo International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). Este questionário foi validado para a populaçãoo brasileira (MATSUDO et al., 2001).

6.5.1.3 Protocolo de intervenção

Antes das sessões experimentais (sessão 0), os sujeitos foram submetidos a um TIM para determinar sua potência máxima tolerada (Wmax). O TIM foi executado em cicloergômetro de frenagem mecânica da Monark®, equipado com ciclocomputador capaz de mensurar a cadência (modelo Alfa-200 da ntaEchowell®) medida em rotações por minuto (rpm). O TIM consistiu, inicialmente, de um aquecimento de três minutos de duração, com potência de 15 W, mantendo uma cadência de pedalada de 70 rpm. Imediatamente após o aquecimento foi realizado o teste incremental máximo, com o ajuste da potência para 25 W, mantendo a cadência em 70 rpm, e efetuando incrementos de 25 W.min-1 (para mulheres) e 50 W.min-1 (para homens), até a ocorrência da exaustão relatada (o indivíduo solicitar a parada do teste) ou a incapacidade de manutenção da cadência estabelecida (< 70 rpm) por mais de cinco segundos consecutivos (Okano et al., 2015).

Exercício físico

O experimento incluiu três sessões experimentais (sessões de 1, 2 e 3). Em cada sessão, um dos três protocolos de exercício no cicloergômetro foi testado: (i) 10 min a 75% Wmáx (intensidade alta); (ii) 15 min a 60% Wmáx (intensidade moderada) ou (iii) 30 min a 45% Wmáx (intensidade leve). Uma sessão controle (sessão 4) foi feita com indivíduos em repouso.

Em todas as sessões experimentais, durante o exercício, a frequência cardíaca (FC) foi registrada por meio de um monitor cardíaco (Polar RS800, Polar Electro, Kempele,

Finlândia). Além disso, a cada 3 minutos a escala de PSE (BORG, 1982) foi exibida para os voluntários estimarem a sua percepção do esforço.

Os voluntários foram instruídos a abster-se de exercícios vigorosos e evitar o consumo de cafeína, álcool e tabaco durante 24 h antes de cada sessão experimental.

6.5.1.4 Métodos de avaliação

Excitabilidade corticoespinal

Para detectar mudanças na excitabilidade cortical, a avaliação da atividade cerebral foi realizada através da EMT de pulso simples (EMT - NeuroMS, Neurosoft, Rússia), no início da sessão experimental (basal), imediatamente após, 5, 10 e 15 minutos após de exercício físico. Para isto, os voluntários eram instruídos a sentar em uma cadeira e buscar uma posição confortável. Foi utilizada uma bobina de figura de oito magnética (7 cm de diâmetro) ligado a um estimulador magnético (Neurosoft Ltd., Rússia; campo magnético de 2,2 Tesla). A bobina foi posicionada tangencialmente ao crânio, com o punho apontando para trás e lateralmente a um ângulo de 45° a partir da linha média. Inicialmente, estímulos únicos de EMT foram administrados sobre M1 para determinação do hotspot do primeiro interósseo dorsal, para determinar e marcar região com com maiores amplitudes do PEM, medida através de eletromiógrafo (NeuroMep Micro, Neurosoft, Rússia)

6.5.1.5 Processamento e análise de dados

Foi realizada uma análise descritiva para a caracterização da amostra, utilizando medidas de tendência central e de dispersão (média, desvio padrão e erro padrão) para as variáveis contínuas e medidas de frequência para as variáveis categóricas. O teste de Komolgorov-Smirnov foi realizado para verificar a normalidade dos dados.

As médias da amplitude dos PEMs após as sessões foram normalizadas com valores basais obtidos antes de cada sessão. A fim de verificar se havia diferença nas condições iniciais antes de cada sessão, uma ANOVA one way foi realizada para a amplitude do PEM no baseline. Uma ANOVA de medidas repetidas foi realizada considerando tempo (antes, imediatamente e a cada 5 minutos nos 15 subsequentes após o exercício) e condição (intensidade leve, moderada, alta e repouso) como fatores "intra sujeitos". O teste t pareado foi realizado como post hoc para verificar se há diferença na comparação entre os tempos e entre os grupos.

Todas as análises foram feitas usando o programa SPSS para Windows (version 18.0, SPSS, Chicago, IL) e o nível de significância estabelecido foi de α<0,05. Na ANOVA de medidas repetidas, o teste de Mauchly de esfericidade foi checado e a correção de Greenhouse-Geiser foi realizada quando apropriado.

6.5.2 Estudo 2

Um estudo do tipo cross-over, randomizado, sham-controlado e duplo cego. O Desenho esquemático do estudo encontra-se na figura 3.

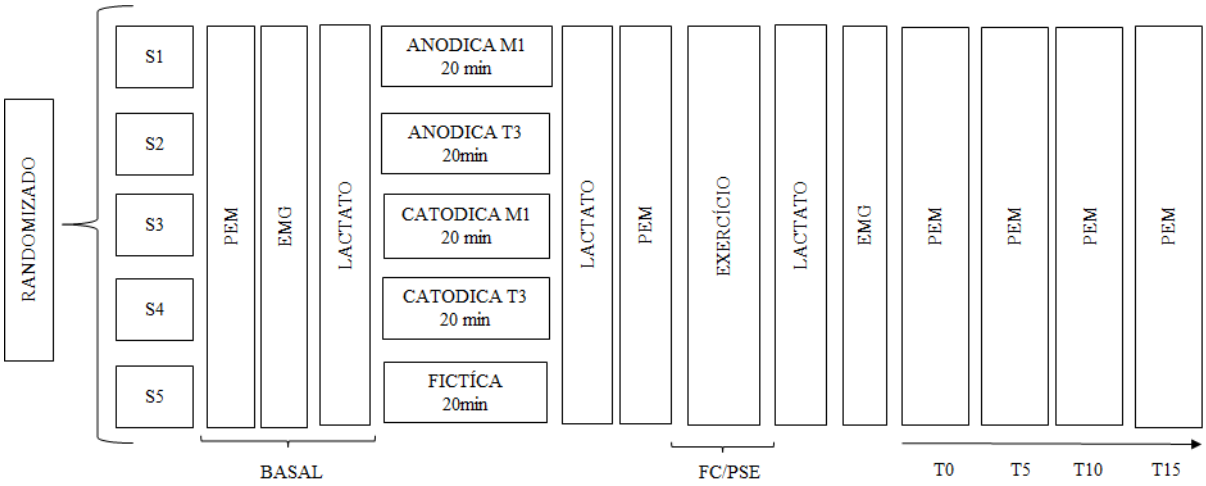


Figura 3. Desenho esquemático do estudo 2**.** S1: sessão 1; S2: sessão; S3: sessão 3; S4: sessão 4; S5: sessão 5; PEM: potencial evocado motor; EMG: eletromiografia de superfície;

M1: córtex motor; T3: crtex temporal esquerdo; FC: frequência cardíaca; PSE: percepção subjetiva do esforço; T: tempo; T0: após exercício; T5: 5 minutos após exercício; T10: 10 minutos após exercício; T15: 15 minutos após exercício.

6.5.2.1 Randomização, sigilo de alocação e "cegamento"

A randomização foi realizada a partir de sequência numérica aleatória gerada por meio do site *www.randomization.com* por um pesquisador externo ao presente estudo, não envolvido com o recrutamento, intervenção ou coleta de dados. A referida sequência serviu para informar em caráter aleatório em qual ordem de condição de estimulação dever-se-ia alocar o indivíduo recrutado.

O "cegamento" do estudo foi planejado para que os participantes não fossem informados sobre em qual grupo estavam alocados. O estudo foi caracterizado como duplo cego já que nem o voluntário nem o pesquisador principal envolvido com a avaliação tinham acesso à alocação dos participantes por grupo no estudo. O equipamento usado facilitou a realização do cegamento á que o mesmo possibilita que a estimulação programada possa reduzir sua intensidade em curso gradualmente, por meio de rampa descendente, até o nível zero de intensidade sem que o participante perceba. A discreta irritação cutânea percebida por alguns voluntários após a instalação do estímulo dá lugar a subsequente acomodação dos mecanismos de percepção tátil em ambos os grupos de forma a não permitir ao voluntário identificar a que grupo ele pertence (voluntário "cego"). No grupo *sham*, mesmo depois de cessada a estimulação (30 segundos depois) e a intensidade da corrente baixar para zero mA, os eletrodos permaneciam no escalpe dos voluntários até que o cronômetro sinalizasse, por meio de alarme o término do tempo destinado à ETCC (20 minutos) tal qual ocorria no grupo experimental.

Os parâmetros para estimulação fictícia utilizados no presente estudo respeitam os protocolos de cegamento já estabelecidos na literatura para essa finalidade, de forma que ela

considera a ETCC como capaz de possibilitar a implementação de estudos com perfeito *sham*, sendo considerada excelente ferramenta para utilização em ensaios clínicos do tipo duplo cego (GANDIGA, HUMMEL, COHEN, 2006).

Nos dias de sessão experimental, o pesquisador auxiliar de posse do envelope, checava a alocação do voluntário, procedia a programação do equipamento de ETCC informada no envelope e ligava o equipamento e o cronômetro de mesa. Posteriormente, um pesquisador que também não tinha conhecimento sobre a qual grupo pertencia o voluntário realizava o teste incremental máximo, o EMG e análise da excitabilidade corticoespinal de todos os participantes do estudo independente do grupo a que pertenciam seguindo rigorosamente o protocolo.

6.5.2.2 Procedimentos experimentais

Os voluntários foram submetidos às seguintes sessões experimentais:

(i) Aplicação da ETCC anódica no córtex motor (M1);

(ii) Aplicação da ETCC catódica no córtex motor (M1);

(iii) Aplicação da ETCC anódica no córtex temporal esquerdo (T3);

(iv) Aplicação da ETCC catódica no córtex temporal esquerdo (T3);

(v) Aplicação da ETCC *sham* (M1 e T3)

As sessões foram realizadas com um intervalo mínimo de 48 horas entre elas. A ordem das sessões foi randomizada e contrabalanceada entre os voluntários.

6.5.2.3 Protocolo de intervenção

ETCC

Uma corrente elétrica contínua foi aplicada através de eletrodos de superfície por meio de um eletroestimulador (*Neuroconn* - Alemanha). Os eletrodos utilizados nos

experimentos são compostos por borracha condutora de eletricidade e foram envoltos por esponjas embebidas em soro fisiológico.

Durante a sessão de ETCC, os voluntários foram instruídos a sentar em uma cadeira e buscar uma posição confortável. Os parâmetros de estimulação usados foram: intensidade de 2 mA e duração de 20 minutos (NITSCHE et al., 2003). O sistema 10-20 de posicionamento foi utilizado para determinar o posicionamento dos eletrodos. Para estimulação anódica em M1 seguiu-se o protocolo porosto por Kaski et al. (2013), onde o ânodo (9x4 – 36 cm^2) foi posicionado sobre Cz e o cátodo sobre protuberância occipital (5x7 – 35 cm^2). Para estimulação catódica, o posicionamento foi invertido. Já para a região T3, seguiu-se o protocolo de Okano et al. (2015), onde os eletrodos que foram utilizados tiveram dimensões de 5x7cm (35cm^2). Para estimulação anódica o eletrodo positivo (ânodo) foi fixado sobre o córtex temporal no hemisfério esquerdo e o cátodo sobre a região supraorbitária contralateral. Para estimulação catódica, o posicionamento foi invertido.

Na estimulação fictícia (*sham*) foi feita uma randomização para que ambas as montagens, tanto na região T3 quanto no M1 fossem aplicadas. Durante as sessões de ETCC *sham* foram empregados os mesmos procedimentos das sessões de ETCC ativa, no entanto, o aparelho de estimulação foi desligado 30 segundos após o início da estimulação (NITSCHE et al., 2008).

TIM

O TIM foi executado em cicloergômetro de frenagem mecânica da Monark®, equipado com ciclocomputador capaz de mensurar a cadência (modelo Alfa-200 da ntaEchowell®) medida em rotações por minuto (rpm). O TIM consistiu, inicialmente, de um aquecimento de três minutos de duração, com potência de 15 W, mantendo uma cadência de pedalada de 70 rpm. Imediatamente após o aquecimento foi realizado o teste incremental

máximo, com o ajuste da potência para 25 W, mantendo a cadência em 70 rpm, e efetuando incrementos de 25 $W.min^{-1}$ (para mulheres) e 50 $W.min^{-1}$ (para homens), até a ocorrência da exaustão relatada (o indivíduo solicitar a parada do teste) ou a incapacidade de manutenção da cadência estabelecida (< 70 rpm) por mais de cinco segundos consecutivos.

6.5.2.4 Medidas de desfecho

6.5.2.4.1 Desfecho primário

Para o desfecho primário foi estabelecido o desempenho físico no teste incremental máximo. Como medidas para avaliação usou-se: tempo para exaustão, Watts máximo e PSE.

Tempo para exaustão

O desempenho físico foi avaliado pelo tempo, em segundos, de permanência no TIM até a ocorrência da exaustão, que foi considerada quando os participantes não conseguiam manter uma cadência de 70 rpm durante 5 segundos ou quando os indivíduos voluntariamente encerravam o teste

Watts máximo

A potência máxima (watts máximo) atingida pelo voluntário foi definida como a mais alta intensidade sustentada no cicloergômetro durante mais de 1 minuto.

PSE

A escala de Borg 6-20 foi utilizada para estimar esforço percebido pelo organismo durante o exercício – PSE geral (Borg, 1982) e a escala de Borg 0-10 foi utilizada para estimar a percepção do cansaço em nível muscular, nos membros inferiores – PSE local (BORG, 1998). A cada minuto durante o TIM, as escalas de PSEs foram exibidas na frente

dos voluntários que foram convidados a apontar o número que melhor descrevia sua percepção de esforço no momento.

6.5.2.4.2 Desfechos secundários

A excitabilidade corticoespinal, o lactato sanguíneo, as respostas elertromiográficas e FC foram estabelecidas como desfechos secundários.

Excitabilidade corticoespinal

Para detectar mudanças na excitabilidade cortical, a avaliação da atividade cerebral foi realizada através da EMT de pulso único (EMT - NeuroMS, Neurosoft, Rússia), no incício da sessão experimental, após o protocolo da ETCC e após o TIM. Para isto, os voluntários eram instruídos a sentar em uma cadeira e buscar uma posição confortável. Foi utilizada uma bobina de figura de oito magnética (7 cm de diâmetro) ligado a um estimulador magnético (Neurosoft Ltd., Rússia; campo magnético de 2,2 Tesla). A bobina foi posicionada tangencialmente ao crânio, com o punho apontando para trás e lateralmente a um ângulo de 45° a partir da linha média. Inicialmente, estímulos de EMT foram administrados sobre CZ para determinação do hotspot do músculo quadríceps (vasto lateral direito), para determinar e marcar região com maiores amplitudes de PEM, medida através de eletromiógrafo (NeuroMep Micro, Neurosoft, Rússia)

Para avaliar os efeitos da ETCC ativa/sham combinada com o exercício, antes de cada sessão, a intensidade do estimulador magnético foi aplicado de acordo com 170% do limiar motor ativo. A determinação do limiar motor ativo (LMa), definido como a menor intensidade requerida do aparelho de EMT para se obter um PEM de pelo menos 50μV observados no eletromiógrafo – EMG (ROSSINI et al., 1994) foi feita no músculo em contração isométrica com uma caneliera que representava 2% da massa corporal do voluntário. Para captação do

sinal EMG, foram utilizados eletrodos de superfície descartáveis posicionados sobre o ventre do músculo vasto lateral conforme as diretrizes preconizadas pelas normas de Avaliação padronizada não invasiva de eletromiografia de superfície (Surface Electromyography for the Non-Invasive Assessment of Muscles – SENIAM).

Após cada sessão de estimulação e o TIM, a mesma intensidade do estimulador definida antes da sessão foi utilizada e 20 PEMs foram registrados para avaliar o comportamento da excitabilidade cortical.

A excitabilidade corticoespinal foi avaliada: no início da sessão experimental (basal), após a ETCC, após o TIM e 5, 10 e 15 minutos após o término do TIM.

Lactato sanguíneo

Níveis de lactato sanguíneo foram medidos antes e depois do ETCC, e após o término do TIM. Foi utilizado um analisador portátil Accusport® Lactate Analyser, validado por Fell et al., 1998.

EMG

Sinais de eletromiografia (EMG) foram registrados nos músculos do quadríceps femoral direito (reto femoral, vasto lateral e vasto medial), antes (basal) e imediatamente após o TIM usando eletrodos tetra superfície polar (Ag-AgCl, de 8 mm de diâmetro, a distância intereletrodos de 25 mm, traço 1, Nikomed, Huntingdon valley, PA) longitudinalmente ao longo dos dois ventres musculares e com o eletrodo de referência colocado sobre a patela, segundo o protocolo SENIAM (surface electromyography for the noninvasive assessment of muscles). Os sinais da EMG foram ampliados (1.000 vezes), filtrado (10-500 Hz), e amostrados a 2000 Hz utilizando um 16-bit sistema de aquisição de dados (EMG system, SP). Para avaliação do sinal eletromiográfico foi solicitado ao voluntário que sentasse em uma

cadeira fixa e realizasse extensão da perna direita com uma caneleira com 10% da sua massa corporal por 1 minuto de duração.

FC

A frequência cardíaca foi registrada no repouso e a cada minuto do TIM usando um monitor cardíaco Polar® RS 800.

6.6 Procedimentos para coleta de dados

Os sujeitos elegíveis, após conceder autorização para participar do estudo por meio do TCLE, foram convidados a responder a um questionário semiestruturado com fins de realizar anamnese com relação a aspectos sócio demográficos (idade, sexo, estado civil, massa corporal, altura) e de estilo de vida - ficha de avaliação (Apêndice D). Também foi aplicado o inventário de dominância lateral de Edimburgo (Oldfield, 1971) (Apêndice D) e o Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) – versão curta para determinar o nível de atividade física dos indivíduos, onde foram classificados em muito ativo, ativo e irregularmente ativos (Apêndice D) (MATSUDO et al., 2001). Antes de cada sessão, os indivíduos informavam a duração e qualidade do sono, a motivação para a participação da sessão, a nível cansaço, tempo de jejum e o nível de concentração durante a realização do TIM e era anotado em uma ficha de evolução (Apêndice F).

Foram adotados procedimentos dietéticos para minimizar diferenças nas concentrações de glicogênio muscular entre as sessões experimentais e aspectos dietéticos que pudessem interferir no desempenho físico dos voluntários entre as sessões. Os indivíduos foram solicitados a relatar a sua ingestão alimentar nas últimas 24h. A dieta foi registrada e copiada e orientações para manter o mesmo padrão alimentar para as demais visitas foram realizadas

por uma nutricionista esportiva. Também foram instruídos com relação a ingestão hídrica, a não realizar exercícios extenuantes e a exclusão de cafeína nas 24h antecedentes as sessões experimentais.

Nos dias das sessões experimentais a intervenção se deu na seguinte ordem sequencial: (i) EMG basal; (ii) EMT basal; (iii) ETCC; (iv) EMT pós ETCC, (v) TIM, (vi) EMG pós TIM e (vii) EMT pós TIM, 5 minutos, 10 minutos e 15 minutos.

6.7 Processamento e análise de dados

As análises foram realizadas com o software SPSS (V.18.0, Chicago, EUA). Os dados serão apresentados como médias e desvio padrão para variáveis contínuas e freqüência para variáveis categóricas. A distribuição dos dados foi analisada pelo teste Shapiro-Wilk, e os resultados mostraram uma distribuição de Gauss normal. Para verificar diferença antes de cada sessão, foram aplicados o teste do qui-quadrado ou Kruskal Wallis. ANOVA de medidas repetidas foi utilizada para avaliar diferença entre os momentos (Basal, pós ETCC, pós exercício, 5, 10 e 15 minutos pós exercício) e o tipo de estimulação (ETCC anódica, catódica ou sham). Para o tempo de exaustão, potência (W) e lactato foi calculado o percentual da diferença entre as três condições (anódica, catódica e sham para cada áera estimulada). Quando apropriado, post hoc análises foram realizadas com o teste t de Student pareado. Teste de esfericidade de Mauchly foi verificado e a correção de Greenhouse-Geisser aplicada quando necessário.

SEÇÃO III

7. RESULTADOS

Os resultados serão apresentados em forma de artigo científico original, o artigo do estudo 1 (Apêndice A) foi submetido para a revista: The American Journal of Sport Medicine

(qualis A1 para Medicina II da CAPES) e o artigo estudo 2 (Apêndice B) será submetido para a mesma revista.

SEÇÃO IV

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, no estudo 1 foi demonstrado que o exercício físico modifica a excitabilidade corticoespinal, mas que este efeito é dependente da intensidade do exercício (leve, moderado ou intenso) e do nível de atividade física do sujeito (irregularemente ativo, ativo ou muito ativo). Os resultados demosntraram que houve diminuição na excitbilidade após exercício de alta intensidade com duração de 10 min e não foi encontrada alteração após exercício de intensidade leve com duração de 30 minutos e de moderada por 15 minutos. Além disso, foi observado que os efeitos do exercício físico sobre a excitabilidade corticoespinal só estavam presentes em indivíduos muito ativos.

No estudo 2, contrariando a hipótese, não foi observado melhora no desempenho físico no teste incremental máximo de indivídos não atletas após a aplicação da estimulação transcraniana por corrente contínua anódica ou catódica sobre o córtex motor primário ou sobre o córtex temporal esquerdo. No entanto, um aumento da excitabilidade cortical na área dos membros inferiores foi observado após a ETCC anódica aplicada do córtex motor primário.

Considera-se que os resultados dos estudos contribuem para a compreensão do comportamento do córtex cerebral frente a diferentes faixas de intensidade e tempo de exercício, bem como na relação da ETCC com o exercício físico dinâmico. No entanto, estudos mais sistemáticos são precisos para explorar a interação dinâmica de exercício e ETCC, a fim de conseguir combinações adequadas de estimulação cerebral para aumentar o desempenho em exercício dinâmico com indivíduos saudáveis e tentar entender o paradigma contemporâneo de fadiga em que iniciar o exercício e termina no cérebro com a percepção de esforço como um fator importante que limita o exercício.

Como perspectivas futuras, acredita-se que a realização de estudos na mesma linha de investigação seja de grande valia também em diferentes populações, como por exemplo, pacientes com desordens neurológicas, já que a integridade do córtex cerebral pode alterar o nível basal de atividade cerebral e repercutir sobre os mecanismos de regulação homeostática

desses indivíduos. Outra questão a ser investigada é a influência de diferentes tipos de atividade física quando combinados à ETCC sobre a plasticidade sináptica tanto de indivíduos saudáveis como de pacientes. Esta compreensão é clinicamente relevante uma vez que as técnicas de estimulação cerebral não invasiva vem sendo amplamente estudadas e parecem ser ferramentas promissoras no neurodiagnóstico e sobretudo na neurorreabilitação, além disso nos últimos anos estudos com a ETCC vem crescedo no campo da ciência do esporte tentando investigar sua relação com a fadiga, percepção do esforço e sistema nervoso autônomo, desta forma em futuro próximo a ETCC poderá ser uma ferramenta valiosa no entendimento de como se dá a participação do cérebro no processo da instauração da fadiga.

REFERENCIAS

ABBISS, C.R.; LAURSEN PB. Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling. **Sports Medicine**, 10, 8, 65-98, 2005.

AMANN, M.; DEMPSEY, J.A. Locomotor muscle fatigue modifies central motor drive in healthy humans and imposes a limitation to exercise performance. **Journal of Physiology**, 586, 161-173, 2008.

ARDOLINO, G.; BOSSI, B.; BARBIERI, S.; PRIORI, A. Non-synaptic mechanisms underlie the after-effects of cathodal transcutaneous direct current stimulation of the human brain. **Journal of Physiology**, 568(Pt 2):653–663, 2008.

BOGGIO, P.S.; ALONSO-ALONSO, M.; MANSUR, C.G.; RIGONATTI, S.P.; SCHLAUG, G.; PASCUAL-LEONE, A. Hand function improvement with low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the unaffected hemisphere in a severe case of stroke. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, 85, 11, 927-930, 2006b.

BOGGIO, P. S.; NUNES, A.; RIGONATTI, S. P.; NITSCHE, M. A.; PASCUAL-LEONE, A.; FREGNI, F. Repeated sessions of noninvasive brain DC stimulation is associated with motor function improvement in stroke patients. **Restorative neurology and neuroscience**, 25, 2, 123-129, 2007.

BOGGIO, P.S.; FERRUCCI, R.; RIGONATTI, S.P.; COVRE, P.; NITSCHE, M.; PASCUAL-LEONE, A. Effects of transcranial direct current stimulation on working memory in patients with Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences,** 249, 1, 31-38, 2006a.

BORG, G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine Science Sports Exercise**, 14, 5, 377-381, 1982.

BOUCLIN, R.; CHARBONNEAU, E.; RENAUD, J.M. Na+ and K+ effect on ontractility of frog sartorius muscle: implication for the mechanism of fatigue. **American Journal of Physiology,** 268, 37, 1528-1536, 1995.

BRASIL-NETO, J.P.; COHEN, L.G.; HALLETT, M. Central fatigue as revealed by post-exercise decrement of motor evoked potentials. **Muscle Nerve**, 17, 713-719, 1994.

BRINK-ELFEGOUN, T.; KAIJSER, L.; GUSTAFSSON, T.; EKBLOM, B. Maximal oxygen uptake is not limited by a central nervous system governor. **Journal of Applied Physiology**, 102, 781-786, 2007.

COGIAMANIAN, F.; MARCEGLIA, F.; ARDOLINO, G., BARBIERI, S.; PRIORI A. Improved isometric force endurance after transcranial direct current stimulation over the human motor cortical areas. **European Journal of Neuroscience**, 26, 1, 242-249, 2007.

DEMPSEY, J.A.; AMANN, M.; ROMER, L.M.; MILLER, J.D. Respiratory system determinants of peripheral fatigue and endurance performance. **Medicine Science of Sports Exercise**, 40, 457-461, 2008.

FELL, J.W.; RAYFIELD, J.M.; GULBIN, J.P.; GAFFNEY, P.T. Evaluation of the Accusport Lactate Analyser. **International Journal of Sports Medicine**, 19, 3, 199-204, 1998.

FREGNI, F.; BOGGIO, P.S.; SANTOS, M.C.; LIMA, M.; VIEIRA, A.L.; RIGONATTI, S.P. Noninvasive cortical stimulation with transcranial direct current stimulation in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, 21, 10, 1693-1702, 2006.

FREGNI, F.; FREEDMAN, S.; PASCUAL-LEONE, A. Recent advances in the treatment of chronic pain with non-invasive brain stimulation techniques. **Lancet Neurology,** 6, 2, 188-191, 2007.

GANDEVIA, SC. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiological Reviews**, 81, 4, 1725–1789, 2001.

GANDIGA, P.C.; HUMMEL, F.C.; COHEN, L.G. Transcranial DC stimulation (tDCS): a tool for double-blind sham-controlled clinical studies in brain stimulation. **Clinical Neurophysiology**, 117, 4, 845-850, 2006.

GOODALL, S; HOWATSON, G.; ROMER, L.; ROSS, E. Transcranial magnetic stimulation in sport science: a. commentary. **European Journal of Sport Science**, 14, 1, 332-340, 2014.

HOLLGE, J.; KUNKEL, M.; ZIEMANN, U.; TERGAU, F.; GEESE, R.; REIMERS, CD. Central fatigue in sports and daily exercises. A magnetic stimulation study. **International Journal of Sports Medicine**, 18, 11, 614-617, 1997.

LIEPERT, J.; KOTTERBA, S.; TEGENTHOFF, M.; MALIN, J.P. Central fatigue assessed by transcranial magnetic stimulation. **Muscle Nerve**, 19, 11, 1429-1434, 1996.

JOYNER, M.J.; SALTIN, B. Exercise physiology and human performance: systems biology before systems biology. **Journal of Physiology**, 86, 1, 9-16, 2008.

KASKI, D.; DOMINGUEZ, R. O.; ALLUM, J. H.; BRONSTEIN, A. M. Improving Gait and Balance in Patients With Leukoaraiosis Using Transcranial Direct Current Stimulation and Physical Training An Exploratory Study. **Neurorehabilitation and neural repair**, 27, 9, 864-871, 2013.

KUO, M.F.; GROSCH, J.; FREGNI, F.; PAULUS, W.; NITSCHE, M.A. Focusing effect of acetylcholine on neuroplasticity in the human motor cortex. **The Journal of Neuroscience**, 27, 52, 14442-14447, 2007.

LAMBERT, E.V.; ST CLAIR GIBSON A.; NOAKES, TD. Complex systems model of fatigue: integrative homoeostatic control of peripheral physiological systems during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, 39, 1, 52-62, 2005.

LIEBETANZ, D.; KOCH, R.; MAYENFELS, S.; KÖNIG, F.; PAULUS, W.; NITSCHE, M.A. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats. **Clinical Neurophysiology,** 120, 16,1161-1167, 2009.

LIEBETANZ, D.; NITSCHE, M.A; TERGAU, F.; PAULUS, W. Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulationinduced after-effects of human motor cortex excitability. **Brain**, 125, 10, 2238–2247, 2002.

MARCORA, S.M.. Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. **Journal of Applied Physiology**, 106, 2060-2062, 2009.

MARCORA, S.M.; STAIANO, W. The limit to exercise tolerance in humans: mind over muscle? **European Journal of Applied Physiology**, 109, 4, 763-770, 2010.

MATSUDO, S.; ARAÚJO, T.; MARSUDO, V.; ANDRADE, D.; ANDRADE, E.; BRAGGION, G. Questinário internacional de atividade f1sica (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Revista brasileira de atividade física e saúde**, 6, 2, 05-18, 2001.

MCDONNELL, M.N.; BUCKLEY, J.D.; OPIE, G.M.; RIDDING, M.C.; SEMMLER, J.G. A single bout of aerobic exercise promotes motor cortical neuroplasticity. **Journal of Applied Physiology**, 114, 1174–1182, 2013.

MCKENNA, M.J; HARGREAVES, M. Resolving fatigue mechanisms determining exercise performance: integrative physiology at its finest. **Journal of Applied Physiology,** 104, 1, 286-287, 2008.

NITSCHE, M.A.; GRUNDEY, J.; LIEBETANZ. D.; LANG, N.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Catecholaminergic consolidation of motor cortical neuroplasticity in humans. **Cerebral Cortex**, 14, 11, 1240-1245, 2004b.

NITSCHE, M.A.; JAUSSI, W.; LIEBETANZ, D.; LANG, N.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Consolidation of human motor cortical neuroplasticity by D-cycloserine. **Neuropsychopharmacology**, 29, 8, 1573–1578, 2004a.

NITSCHE, M.A.; KUO, M.F.; KARRASCH, R.; WACHTER, B.; LIEBETANZ, D.; PAULUS, W. Serotonin affects transcranial direct current-induced neuroplasticity in humans. **Biological Psychiatry**, 66, 5, 503-508, 2009.

NITSCHE, M.A.; LIEBETANZ, D.; ANTAL, A.; LANG, N.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Modulation of cortical excitability by weak direct current stimulation-technical, safety and functional aspects. **Supplements to Clinical Neurophysiology**, 56, 255-276, 2003a.

NITSCHE, M.A.; LIEBETANZ, D.; LANG, N.; ANTAL, A.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans. **Clinical Neurophysiology**, 114, 11, 2220-2222, 2003b.

NITSCHE, M. A.; PAULUS, W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. **Journal of Physiology**, 527 Pt 3, 633-639,15, 2000.

NITSCHE, M. A.; PAULUS, W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. **Neurology**, 57, 10, 1899-1901, Nov 27, 2001.

NITSCHE, M.A.; COHEN, L.; WASSERMAN, E.; PRIORI, A.; LANG, N.; ANTAL, A. Transcranial direct current stimulation: State of the art. **Brain Stimulation**, 1, 206-223, 2008.

NITSCHE, M.A.; FRICKE, K.; HENSCHKE, U.; SCHLITTERLAU, A.; LIEBETANZ, D. Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. **Journal of Physiology**, 553 1, 293–301, 2003c.

NOAKES, T.D.; ST CLAIR GIBSON, A. Logical limitations to the "catastrophe" models of fatigue during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, 38, 5, 648-694, 2004.

NOAKES, T.D.; ST CLAIR GIBSON, A.; LAMBERT, E.V. From catastrophe to complexity: a novel model of integrative central neural regulation of effort and fatigue during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, 38, 4, 511-514, 2004.

OLDFIELD, R.C. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. **Neuropsychologia**, 9, 97-113, 1971.

OKANO, A.H.; FONTE, E.B.; MONTENEGRO, R.A.; FARINATTI, P.D.; CYRINO, E.S.; LI L.M. Brain stimulation modulates the autonomic nervous system, rating of perceived exertion and performance during maximal exercise. **British Journal of Sports Medicine**, 49,18, 1213-1218. 2015.

PÉRIARD, J.D.; CAILLAUD, C.; THOMPSON, M.W. Central and peripheral fatigue during passive and exercise-induced hyperthermia. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 43, 1657-1665, 2011.

ROSS, E.Z.; MIDDLETON, N.; SHAVE, R.; GEORGE, K.; NOWICKY, A. Corticomotor excitability contributes to neuromuscular fatigue following marathon running in man. **Experimental physiology**, 92, 2, 417-426, 2007.

SESBOÜÉ, B.; GUINCESTRE, J.Y. Muscular fatigue. **Annales de Réadaptation et de Médecine Physique**, 49, 6, 257-264, 2006.

SIDHU, S.K.; CRESSWEL, A.G.; CARROLL, TJ. Motor cortex excitability does not increase during sustained cycling exercise to volitional exhaustion. **Journal of Applied Physiology**, 113, 3, 401-409, 2012.

SIDHU, S.K.; CRESSWELL, A.G.; CARROLL, T.J. Corticospinal responses to sustained locomotor exercises: moving beyond single-joint studies of central fatigue. **Sports Medicine**, 43, 1, 437-449, 2013.

SILVA, F.T.G; RÊGO, J.T.P.; RAULINO, F.R.; SILVA, M.R.; REYNAUD, F.; EGITO, E.S.T.; DANTAS, P.M.S. Transcranial direct current stimulation on the autonomic modulation and exercise time in individuals with spinal cord injury. A case report. **Autonomic Neuroscience**, [Epub ahead of print], 2015.

ST CLAIR GIBSON, A.; BANDEN, D.A.; LAMBERT, M.I.; LAMBERT, E.V.; HARLEY, Y.X.; HAMPSON, D. The conscious perception of the sensation of fatigue. **Sports Medicine,** 33, 3, 167-176, 2003.

ST CLAIR GIBSON, A.; NOAKES, T.D. Evidence for complex system integration and dynamic neural regulation of skeletal muscle recruitment during exercise in humans. **British Journal of Sports Medicine**, 38, 6, 797-806, 2004

STAGG, C.J.; NITSCHE, M.A. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. **Neuroscientist**, 7, 1, 37-53, 2011.

TAYLOR, J.L.; PETERSEN, N.; BUTLER, J.E.; GANDEVIA, S.C. Ischaemia after exercise does not reduce responses of human motoneurones to cortical or corticospinal tract stimulation. **Journal of Physiology**, 15, 3, 793-801, 2000.

TAYLOR JL, GANDEVIA SC. Transcranial magnetic stimulation and human muscle fatigue. **Muscle Nerve**, 24, 1, 18-29, 2001.

TODD, G.; TAYLOR, J.L.; GANDEVIA, S.C. Measurement of voluntary activation of fresh and fatigued human muscles using transcranial magnetic stimulation. **Journal of Physiology**, 551, 2, 661-671, 2003.

UTZ, K.S.; DIMOVA, V.; OPPENLANDER, K.; KERKHOFF, G. Electrified minds: transcranial direct current stimulation (tDCS) and galvanic vestibular stimulation (GVS) as methods of non-invasive brain stimulation in neuropsychology--a review of current data and future implications. **Neuropsychologia**, 48, 10, 2789-2810., 2010.

WILLIAMS, P.S.; HOFFMAN, R.L.; CLARK, B.C. Preliminary evidence that anodal transcranial direct current stimulation enhances time to task failure of a sustained submaximal contraction. **PLoS One**, 9, 12, e81418, 2013.

WILLIAMSON, J.W. The relevance of central command for the neural cardiovascular control of exercise. **Experimental Physiology**, 95, 11, 1043–1048, 2010.

APÊNDICE A - ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL – ESTUDO 1

Title: Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability in healthy humans: a pilot study.

Authors: Moura, Isis#1; Baltar, Adriana#1; Gomes, Luis#2; Andrade, Armele#3; Monte-Silva, Katia#1
#These authors contributed equally to this work.

Affiliation: 1Applied Neuroscience Laboratory, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; 2. Universidade Tirandentes Sergipe; 3 Department of Physical Therapy, Universidade Federal de Pernambuco

Contact information: Katia Monte-Silva; 1Applied Neuroscience Laboratory, Universidade Federal de Pernambuco, Department of Physical Therapy. Av. Prof. Moraes Rego s/n 50670-900 Recife, Brazil. , phone: +55 81-2126 7579 / FAX: +55 81-2126 8491; monte.silvakk@gmail.com.

ABSTRACT: The aim of this study was to verify the effects of different intensities of locomotor exercise on corticospinal excitability. 18 healthy subjects (27.6 ± 6.5 years, 57.6 ± 5.8kg, and 166.0 ± 0.08cm) participated in a crossover design study of three different exercise protocols on a cycle ergometer: (i) 10 min at 75% Wmax (high intensity); (ii) 15min at 60% Wmax (moderate intensity) or (iii) 30 min at 45% Wmax (low intensity). The protocols were assigned in random order in separate sessions. A control session was done with subjects at rest. Corticospinal excitability was assessed before (baseline) and every 5 min for 15min after the end of exercise/rest (time: 0, 5, 10 and 15) by measurement of the motor evoked potential elicited by single pulse transcranial magnetic stimulation in the relaxed first-dorsal interosseus muscle. The Wmax was initial workload at 15W; increments of 25 W/min until inability to sustain the cadence of 70 rpm for longer than 5s. Compared to the resting session, a significant decrease in the motor evoked potential amplitudes was found only in the session of exercise of high intensity. This result seems depend on the level of physical activity of subject. No change was found after rest, low and moderate exercises. These findings suggest that changes in the corticospinal excitability depend on exercise intensity and level of physical activity of subjects.

INTRODUCTION

The specific mechanisms that influence the central nervous system (CNS) changes during or after different types of exercises are controversial (Brink-Elfegoun et al., 2007; Amann & Dempsey, 2008). Distinct modes of exercise may result in differential afferent feedback signals to CNS and/or direct central effects via intrinsic brain modulations and conscious perceived of effort (Gandevia, 2001; Marcora, 2009). However, great variations among exercise modalities in the amount of muscle work, and the consequent cardiorespiratory demands and other factors such as cerebral oxygenation consumption rate may also explain the differential corticospinal responses after dynamic vs. static exercise (Dempsey et al., 2008; Périard et al., 2011; Sidhu et al., 2013).

There have been some reports in which transcranial magnetic stimulation (TMS) has been used to test the effects of physical exercise on corticospinal excitability (Goodall et al., 2014; Verin et al., 2004; Ross et al., 2010). Its effects on the responsiveness of corticospinal cells appear to be dependent on the type of exercise (dynamic vs static) (Brasil-Neto JP, 1994; Sidhu et al., 2013; Goodall et al., 2014). Some of dynamic exercises (exercises involving multiple limb muscles) do not change the amplitude of motor evoked potentials (MEPs) (Sidhu et al., 2012; 2013). However, reduction in the amplitude of MEPs for at least 20 min after fatiguing exercise has also been documented (Brasil-Neto JP, 1994; Racinais et al., 2007). Decrease in the amplitudes of MEPs after fatiguing exercise, a phenomenon called post-exercise MEP depression, and an increase in MEP amplitudes after non-fatiguing exercise, a phenomenon called post-exercise MEP facilitation are shown in static exercise, but are not observed in some dynamic exercise (Brasil-Neto JP, 1994; Sidhu et al., 2012). Other studies suggested some differences in cortical and spinal responses to dynamic exercise (e.g. locomotor) versus static exercise (e.g. single-joint) (Gandevia, 2001; Taylor & Gandevia, 2004; Sidhu et al., 2013; Goodall et al., 2014).

There is little evidence about whether the effect of exercise on corticospinal excitability is also dependent on the exercise intensity. To the best of our knowledge, Hollge et al. (1997) were the first who evaluated the influence of different dynamic exercise with different intensities on the TMS-induced MEP amplitude. They demonstrated distinct responses on excitability mainly between exhaustive (high intensity) and non-exhaustive exercise (low intensity). Furthermore, few researches have investigated corticospinal excitability after dynamic non-exhaustive exercise with different intensities. Therefore, the present study was designed to test the hypothesis that differences in MEPs amplitude would occur after dynamic non-exhaustive exercise with different intensities.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Eighteen healthy subjects participated in this crossover study. The level of physical activity of subjects were categorised into very active (2 women and 3 men), active (8 women) and irregularly active (4 women and 1 men) by International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) (Matsudo et al., 2001). All participants were informed of the procedures and risks before giving written informed consent to participate in the research. Approval for study procedures was obtained from the Institutional Research Ethics Committee and was performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

Maximal incremental exercise test

Before the experimental sessions (session 1), the subjects were submitted to maximal incremental exercise test to find out their maximal tolerated power (Wmax). For the test, participants sat on the cycle ergometer ERGO-FIT® model 167 cycle, Pirmansens, Germany) with similar riding position (saddle and handlebar height and position) and were asked to

begin cycling at 70 rpm during a warm-up phase (3 min) at a work load of 15W. The work rate was then increased by 25W per minute until exhaustion when participants could not keep a cadence of 70 rpm for 5 seconds or when the subjects voluntarily terminated the test. During the test, the subjects were verbally encouraged to continue for as long as possible. Wmax was defined as the highest work load sustained by the subject for longer than 1 min.

Experimental design

The protocol included three experimental sessions (sessions 2, 3 and 4) which were conducted in a randomized crossover design. In each session, one of three different exercise intensities on a cycle ergometer was tested: (i) 10min at 75% Wmax (high intensity); (ii) 15min at 60% Wmax (moderate intensity) or (iii) 30 min at 45% Wmax (low intensity). A control session (session 5) was done with subjects at rest. The sessions were separated by at least two days.

In all experimental sessions, during the exercise, the heart rate (HR) was continuously registered using an HR recorder (Polar RS800, Polar Electro, Kempele, Finland). In addition, the Borg Rating of Perceived Exertion (RPE) (Borg, 1982) was used to estimate whole-body perceived exertion. Every three minutes during exercise, the RPE was displayed in front of the subjects who were asked to point the number that the best described their perceived exertion (number 7 represents unloaded cycling while number 19 indicates an exertion similar to exhaustive cycling) (Borg, 1982).

The volunteers were instructed to refrain from vigorous activities and to avoid the consumption of caffeine, alcohol and tobacco for 24 h prior to each session. For all exercise time, the laboratory temperature (19 ± 1°C) remained constant in order to minimize environmental influence.

Monitoring of motor corticospinal excitability

Before and after each session, the corticospinal excitability was assessed by MEPs elicited by TMS. For this, the subjects were seated in a comfortable chair with head and arm rests. Single-pulse TMS was applied using a figure-of-eight magnetic coil (7 cm diameter) connected to a magnetic stimulator (Neurosoft Ltd., Russia; peak magnetic field=2.2 tesla). The coil was held tangentially to the skull, with the handle pointing backwards and laterally at an angle of 45° from midline. The optimal position was defined as the site where stimulation resulted in the largest MEPs. Surface EMG was recorded from the left first interosseous dorsal (FID) with AgCl electrodes in a belly-tendon montage. The signals were amplified and filtered with a time constant of 80 ms and a low-pass filter of 5.0 Hz, then digitized at an analogue-to-digital rate of 20 kHz and further relayed into a laboratory computer using the Neuro-MEP-Micro software (Neurosoft Company, Russia). The intensity was adjusted to elicit, on average, baseline MEPs of 1 mV peak-to-peak amplitude and was kept constant for the post-stimulation assessments. Twenty MEPs were recorded at frequency of 0.25 Hz at baseline and every 5, 10 and 15 minutes.

The design of the experiment is showed in figure 1.

(Figure 1)

Statistical analysis

Individual MEP amplitude means were calculated for each time bin, including baseline and post-exercise/rest time points. The post- exercise/rest MEPs were normalized intra-individually and are given as baseline ratios. In order to verify any difference in the conditions before each session ANOVA one way were employed.

A repeated measure ANOVA was calculated using the within-subject factors “time course” (baseline, 0,5,10 and 15min) and “exercise protocols” (low, moderate, high intensity

and rest) and the dependent variable MEP amplitude. Also by repeated measure ANOVA, the behaviour of excitability after physical exercise was also analysed considering the level of physical activity of the subjects. Post hoc analyses were performed with a student paired-samples t test when appropriate. The Mauchly test of sphericity was checked and the Greenhouse-Geisser correction was performed, if necessary. The data were analyzed using the program SPSS (version 18.0). Was considered significant for all statistical analysis p value of <0.05.

RESULTS

Table 1 shows the characteristics of sample and averaged values HR and RPE obtained during each exercise protocols and work load correspondent are given in the table 2.

(Table 1)

(Table 2)

The results of the ANOVA one way showed that MEP amplitudes did not differ significantly in baseline measurements among the sessions. The repeated measures ANOVA revealed a significant effect of time ($F= 5.968$, $p=0.002$) and exercise protocol ($F=3.473$, $p=0.039$), but not for interaction exercise protocol ($F=1.929$, $p=0.102$). As showed by the post hoc test, exercise of high intensity decreases significantly corticospinal excitability until 15 min after the end of exercise when compared to baseline and resting condition. Compared to baseline MEPs, a significant inhibition of corticospinal excitability was observed also after exercise of low-intensity. No change on excitability was found after rest or moderate-intensity exercise (Figure 2).

(Figure 2)

Figure 3 plots the mean (±SE) of baseline-standardized MEP amplitude change over the course of the session of high-intensity (3A), moderate-intensity (3B) and low-intensity exercise (3C) for groups of subjects classified as very active, active or irregularly active, according to IPAQ. The post hoc test revealed a significant corticospinal excitability reduction only after session with exercise of high- intensity in very active subjects when compared to baseline condition and to the resting/control session.

(Figure 3)

DISCUSSION

The present study evaluated the effect of a single session of dynamic exercise with three different intensities modifies in the corticospinal excitability. The results demonstrate decrease in the MEP amplitude after high intensity exercise for 10 min. No changed was found after low and moderate-intensity exercise.

This pattern of change after high intensity exercise is similar to that observed after sustained single-joint contraction (Hoffman et al., 2009; McNeil et al., 2011) fatiguing running exercise (Ross et al., 2007), strength exercises (Höllge et al., 1997) and after maximal incremental treadmill exercise (Verin et al., 2004). Most studies that found a reduction of the MEP amplitude are those which used fatiguing exercise (Brasil-Neto JP, 1994; Höllge et al., 1997; Ross et al., 2007). Despite the intense exercise (75% Wmax) used in our study not be considered fatiguing, the intensity and duration that were used probably were enough to promoted accumulation of fatigue metabolites and corresponding increased firing of muscle metabosensitive receptors, or other acute exercise-induced responses that are common to

fatiguing exercise (Sidhu et al., 2013). Although the precise cellular mechanisms underlying post-exercise MEP depression are unclear, Sammi et al. (1997) hypothesize that exercise may modify synaptic transmission within the motor cortex for several minutes in a way similar to that in which high-frequency microstimulation of a synaptic pathway leads to depressed transmission.

In contrast to our results, previous TMS studies (Sidhu et al., 2009; Goodall et al., 2012) that used cycling exercise of similar high intensity (80% Wmax) and longer duration (~45min) reported no changes in MEP responses measured either in vastus lateralis (Goodall et al., 2012) or rectus femoris muscles (Sidhu et al., 2009). One reason for this discrepancy might be due the place where the corticospinal excitability was evaluated, in the cortical representation area of non-exercised muscle (our study) in contrast to exercised muscle (previous studies) (Sidhu et al., 2009; Goodall et al., 2012). However, contrary to this hypothesis, Takahashi et al., 2011 showed that intense exercise of leg muscles leads to pronounced effects on the corticospinal and corticocortical excitability of two non-exercised arm muscles (FID and biceps brachi). Therefore, exhaustive exercise of large muscle groups might cause a widespread cerebral deoxygenation and affects the excitability of circuits in the non-exercised area of motor cortex (Rasmussen et al., 2010).

In contrast to the effects of high-intensity exercise, no change on corticospinal excitability was found after low and moderate-intensity exercise in our study. Similar findings have been demonstrated by previous studies (McDonnell et al., 2013; Smith et al., 2014). It is likely that non-fatiguing dynamic exercises of low and moderate intensity are unable to influence non-exercised muscles cortical area. However, a recent study reported that even when measured in the muscles directly involved in the exercise, a period of sustained cycling did not significantly influence motor cortex excitability (Sidhu et al., 2012). This response pattern in corticospinal responsiveness differs from that observed after non-fatiguing single-

joint contraction, which corticospinal excitability increases markedly (Samii et al., 1996; Samii et al., 1997). For example, Samii et al. (1996) observed the amplitude of MEPs induced by TMS from the resting muscle after 30-second periods of non-fatiguing isometric exercises of the extensor carpi radialis was on average more than twice the pre-exercise value. Given that the amount of muscle work and associated oxygen demands are considerable different to the two modes of exercise (single-joint vs. locomotor exercises), these and other differences in their associated systemic physiological consequences may explain the contrasting corticospinal responses (Sidhu et al., 2012).

The differences among the systemic physiological consequences, such as hyperthermia, arterial hypoxemia, decreases in cerebral oxygenation, respiratory muscle loading, and brain catecholamines, occasioned by different exercise intensities may also help to explain the variable responses of central nervous system drive to high and low/moderate levels of exercise intensity in our study. This seems to happen because different modes of exercise may result in different afferent feedback signals to the central nervous system and/or direct central effects via intrinsic brain modulations and conscious perceptions of effort (Gandevia, 2001; Marcora, 2009). The significant reduction of MEPs amplitudes when the subjects were submitted to high intensity protocol of exercise in our study may be related to intrinsic brain regulation mechanisms related to an increased internal sense of effort and/or mental stress and support the concept of central fatigue as a protective mechanism (Gandevia, 2001). Alternatively, the lack of changes in excitability of the cortical cells after low/moderate exercises may be due to these modes of exercises have been unable to trigger the intrinsic brain regulation mechanisms.

The central response to the level of exercise intensity seems also depend on the levels of physical activity of subject. We demonstrated that behavior of the corticospinal excitability after dynamic exercise differs among the volunteers with different levels of physical activity

according to IPAQ. Highly active individuals had significant inhibition of excitability only after exercise of high-intensity. This finding demonstrates that in addition to the type, duration and intensity of exercise performed, the level of physical activity of the subjects may have influence the modulation of brain and spinal cord projections to exercising lower limb muscles during dynamic tasks like cycling. Cirilo et al., (2009) found that regular physical activity, primarily involving lower limb muscles, was accompanied by increased motor cortex plasticity in a small hand muscle compared with sedentary reinforcing that there are differences in behavior of brain and spinal cord according to level of physical activity.

In a previous study, it was showed that, the physically very active subjects had an increased neuroplastic response to a non-invasive brain stimulation protocol (Paired associate stimulation) when compared with sedentary individuals (Cirillo et al., 2009). This result provides evidence that high levels of physical activity maintained over an extended period of time can enhanced the capacity for cortical plasticity. This supposed neuroplastic capacity enhancement associated to level of physical activity of individual may, in part, explain why physical activity has a positive effect on memory and executive function (Cotman & Berchtold, 2002). Another point to be considered is the production of lactate during exercise, studies have found that blood lactate concentration can influence the level of cortical excitability, mainly in the motor cortex (Coco et al., 2010). It is suggested that during vigorous exercise, the accumulation of lactate in the blood reflects that the oxygen supply was inadequate to meet the energy requirements of the working muscle during the exercise (Myers & Ashley, 1997). Coco et al., (2010) showed that after acute and exhaustive exercise, the increases in blood lactate concentration are accompanied by decreased motor threshold, indicating an increase in the excitability of the motor cortex proportional concentrations of this metabolite. It is proven that individuals with better fitness level produce a smaller amount of blood lactate than irregular active subjects (Myers & Ashley, 1997), it is proven that

individuals with better fitness level produce a smaller amount of blood lactate, this may be one explanation of the decrease in corticospinal excitability only in very active subject during high-intensity exercise. However, these possibilities are speculative and more research is needed to confirm these findings.

The current study has some limitations that should be considered. Firstly, it is important to note that although the exercise was intended to be predominantly a lower limb exercise, the subjects were allowed to use their hands to grip the handle bars of the stationary ergometer. It is therefore theoretically possible, that minimal use of the hands for stabilisation during the intervention may have affected to the findings. Another limitation is that blood lactate levels may have influence in cortical excitability and different intensities of exercise may alter their concentration in the blood, thus analysis during and after different intensities of exercise may help to understand the responsiveness of corticospinal cells mainly in very active subjects. More studies, comparing the excitability corticoespinal in subjects with different levels of physical activity, and different representations of motor cortex (i.e., exercised muscle) are need to elucidate the mechanisms responsible for this effect.

In conclusion, our result highlights that changes in the corticospinal excitability depend on exercise intensity, duration and level of physical activity of subjects.

DECLARATION OF CONFLICT ON INTEREST

The author declare no conflict of interest

REFERENCES

Amann, M. & Dempsey, J.A. (2008) Locomotor muscle fatigue modifies central motor drive in healthy humans and imposes a limitation to exercise performance. *The Journal of physiology*, 586, 161-173.

Booth, M.L., Ainsworth, B.E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J.F. & Oja, P. (2003) International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 195, 3508-1381.

Borg, G.A. (1982) Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*, 14, 377-381.

Brasil-Neto JP, C.L., Hallett M. (1994) Central fatigue as revealed by post-exercise decrement of motor evoked potentials. . *Muscle Nerve*, 17, 713-719.

Brink-Elfegoun, T., Kaijser, L., Gustafsson, T. & Ekblom, B. (2007) Maximal oxygen uptake is not limited by a central nervous system governor. *Journal of Applied Physiology*, 102, 781-786.

Cirillo, J., Lavender, A.P., Ridding, M.C. & Semmler, J.G. (2009) Motor cortex plasticity induced by paired associative stimulation is enhanced in physically active individuals. *The Journal of physiology*, 587, 5831-5842.

Coco, M., Alagona, G., Rapisarda, G., Costanzo, E., Calogero, R.A., Perciavalle, V. & Perciavalle, V. (2010) Elevated blood lactate is associated with increased motor cortex excitability. *Somatosensory & motor research*, 27, 1-8.

Cotman, C.W. & Berchtold, N.C. (2002) Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in neurosciences*, 25, 295-301.

Dempsey, J.A., Amann, M., Romer, L.M. & Miller, J.D. (2008) Respiratory system determinants of peripheral fatigue and endurance performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 40, 457-461.

Gandevia, S. (2001) Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological reviews*, 81, 1725-1789.

Goodall, S., González-Alonso, J., Ali, L., Ross, E.Z. & Romer, L.M. (2012) Supraspinal fatigue after normoxic and hypoxic exercise in humans. *The Journal of physiology*, 590, 2767-2782.

Goodall, S., Howatson, G., Romer, L. & Ross, E. (2014) Transcranial magnetic stimulation in sport science: A commentary. *European journal of sport science*, 14, S332-S340.

Hoffman, B.W., Oya, T., Carroll, T.J. & Cresswell, A.G. (2009) Increases in corticospinal responsiveness during a sustained submaximal plantar flexion. *Journal of Applied Physiology*, 107, 112-120.

Höllge, J., Kunkel, M., Ziemann, U., Tergau, F., Geese, R. & Reimers, C. (1997) Central fatigue in sports and daily exercises. A magnetic stimulation study. *International journal of sports medicine*, 18, 614-617.

Marcora, S. (2009) Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. *Journal of Applied Physiology*, 106, 2060-2062.

Matsudo, S., Araújo, T., Marsudo, V., Andrade, D., Andrade, E. & Braggion, G. (2001) Questinário internacional de atividade f1sica (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev. bras. ativ. fís. saúde*, 6, 05-18.

McDonnell, M.N., Buckley, J.D., Opie, G.M., Ridding, M.C. & Semmler, J.G. (2013) A single bout of aerobic exercise promotes motor cortical neuroplasticity. *Journal of Applied Physiology*, 114, 1174-1182.

McNeil, C.J., Giesebrecht, S., Gandevia, S.C. & Taylor, J.L. (2011) Behaviour of the motoneurone pool in a fatiguing submaximal contraction. *The Journal of physiology*, 589, 3533-3544.

Myers, J. & Ashley, E. (1997) Dangerous curves a perspective on exercise, lactate, and the anaerobic threshold. *CHEST Journal*, 111, 787-795.

Périard, J.D., Caillaud, C. & Thompson, M.W. (2011) Central and peripheral fatigue during passive and exercise-induced hyperthermia. *Med Sci Sports Exerc*, 43, 1657-1665.

Racinais, S., Girard, O., Micallef, J.-P. & Perrey, S. (2007) Failed excitability of spinal motoneurons induced by prolonged running exercise. *Journal of neurophysiology*, 97, 596-603.

Rasmussen, P., Nielsen, J., Overgaard, M., Krogh-Madsen, R., Gjedde, A., Secher, N.H. & Petersen, N.C. (2010) Reduced muscle activation during exercise related to brain oxygenation and metabolism in humans. *The Journal of physiology*, 588, 1985-1995.

Ross, E.Z., Middleton, N., Shave, R., George, K. & Nowicky, A. (2007) Corticomotor excitability contributes to neuromuscular fatigue following marathon running in man. *Experimental physiology*, 92, 417-426.

Samii, A., Wassermann, E., Ikoma, K., Mercuri, B. & Hallett, M. (1996) Characterization of postexercise facilitation and depression of motor evoked potentials to transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 46, 1376-1376.

Samii, A., Wassermann, E.M. & Hallett, M. (1997) Post-exercise depression of motor evoked potentials as a function of exercise duration. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Electromyography and Motor Control*, 105, 352-356.

Sidhu, S.K., Bentley, D.J. & Carroll, T.J. (2009) Locomotor exercise induces long-lasting impairments in the capacity of the human motor cortex to voluntarily activate knee extensor muscles. *Journal of Applied Physiology*, 106, 556-565.

Sidhu, S.K., Cresswell, A.G. & Carroll, T.J. (2012) Motor cortex excitability does not increase during sustained cycling exercise to volitional exhaustion. *Journal of Applied Physiology*, 113, 401-409.

Sidhu, S.K., Cresswell, A.G. & Carroll, T.J. (2013) Corticospinal responses to sustained locomotor exercises: moving beyond single-joint studies of central fatigue. *Sports Medicine*, 43, 437-449.

Smith, A.E., Goldsworthy, M.R., Garside, T., Wood, F.M. & Ridding, M.C. (2014) The influence of a single bout of aerobic exercise on short-interval intracortical excitability. *Experimental brain research*, 232, 1875-1882.

Takahashi, K., Maruyama, A., Hirakoba, K., Maeda, M., Etoh, S., Kawahira, K. & Rothwell, J.C. (2011) Fatiguing intermittent lower limb exercise influences corticospinal and corticocortical excitability in the nonexercised upper limb. *Brain stimulation*, 4, 90-96.

Taylor, J. & Gandevia, S. (2004) Noninvasive stimulation of the human corticospinal tract. *Journal of Applied Physiology*, 96, 1496-1503.

Verin, E., Ross, E., Demoule, A., Hopkinson, N., Nickol, A., Fauroux, B., Moxham, J., Similowski, T. & Polkey, M.I. (2004) Effects of exhaustive incremental treadmill exercise on diaphragm and quadriceps motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation. *Journal of Applied Physiology*, 96, 253-259.

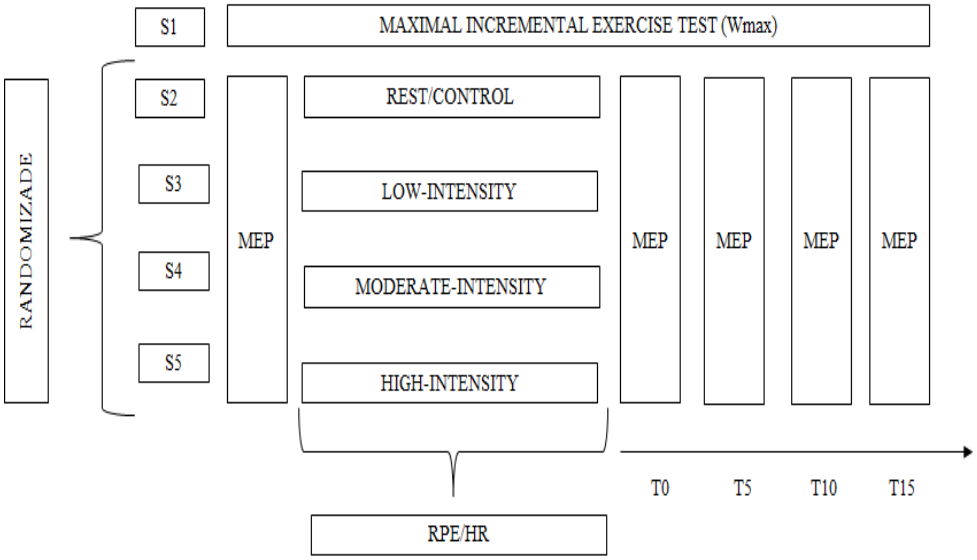


Figure 1.Experimental course. In session 1, subjects were submitted to maximal incremental exercise test to find out their maximal tolerated power (Wmax). In sessions 2, 3 and 4, the effect of different exercise protocols on motor cortex excitability, as monitored via motor evoked potential (MEP) elicited by single pulse transcranial magnetic stimulation (TMS), was explored. Specifically, high (10min at 75% Wmax); moderate (15min at 60% Wmax) and low intensity (30 min at 45% Wmax) were compared with control session (session 5) with subjects at rest. The excitability was monitored every 5 min for one quarter of an hour (T0, T5, T10 and T15) after the end of exercise/rest.

Table 1. Participants characteristics

Variable	
Age (years) mean(±SD)	27.6 (±6.5)
Gender n(%)	
Male	4 (22.3%)
Female	14 (77.7%)
Weight (Kg) mean(±SD)	57.6 (±5.8)
Height (cm) mean(±SD)	1.66 (±0.08)
Physical activity[1] n(%)	
Irregularly active	5 (28%)
Active	8 (44%)
Very active	5 (28%)
Wmax mean (±SD)	197.7 (±60.2)
Irregularly active	153 (±48.3)
Active	178 (±14.5)
Very active	265 (±62.7)

[1]Determined by IPAQ; [2]Determined by the maximal incremental exercise test (Watts)

Table 2. Mean (± standard deviations) of heart rate (HR) [1], Borg rating of perceived exertion (RPE) [2] and power (watts) during exercise protocols on a cycle ergometer.

Exercise Protocols	HR	RPE	Power
High intensity (10min at 75% Wmax)	163.3 ±10.6	15.5 ±2.0	148.3 ±45.1
Moderate intensity (15min at 60% Wmax)	149.4 ±9.2	13.0 ±1.4	118.6 ±36.1
Low intensity (30 min at 45% Wmax)	135.0 ±2.9	10.2 ±1.0	89.0 ±27.1

[1] Bpm, beat per minute; [2] score of Borg scale

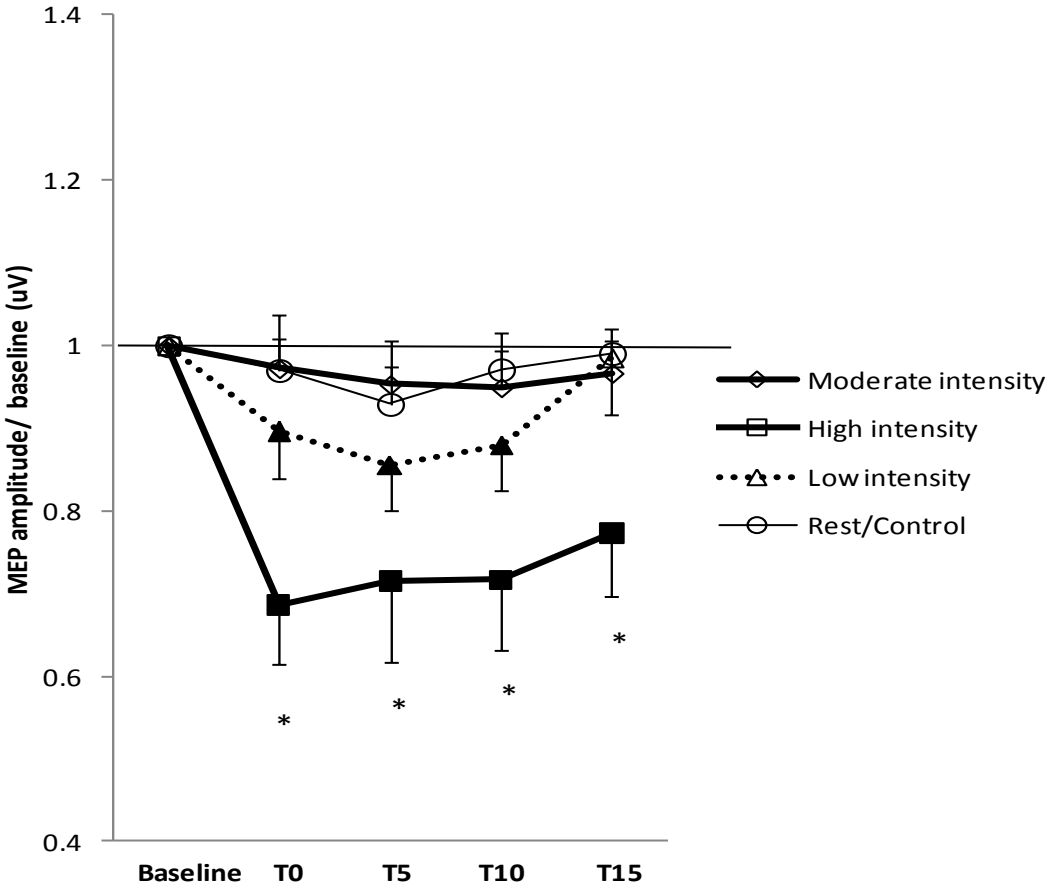
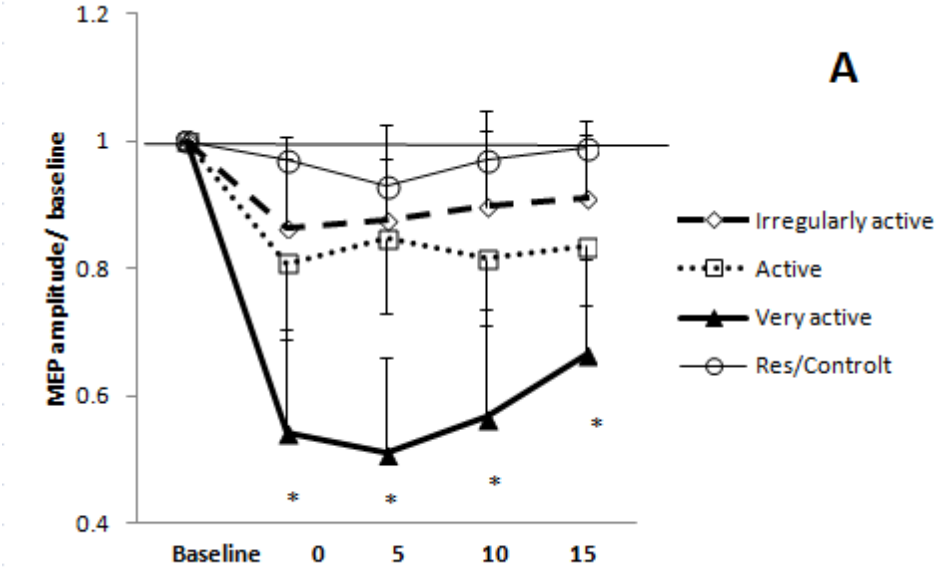
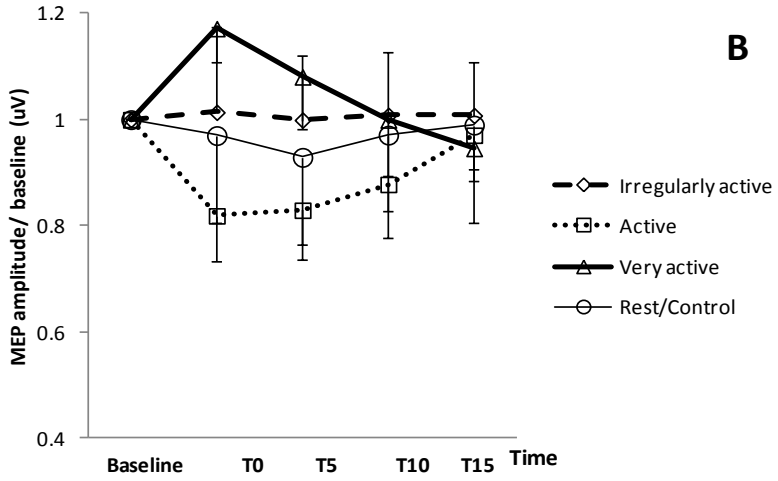


Figure 2. Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability. Shown are the mean (±SE) of baseline-standardized motor evoked potential (MEP) amplitudes before (baseline) and after (0, 5, 10 e 15 min) exercise/rest condition. Filled symbols indicate significant deviations of the post-exercise/rest MEP amplitudes from baseline values; *significant deviations of rest condition


A
MEP amplitude/ baseline
1.2
1
0.8
0.6
0.4
Baseline
0
5
10
15
*
Irregularly active
Active
Very active
Res/Controlt


B
MEP amplitude/ baseline (uV)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
Baseline
T0
T5
T10
T15
Time
Irregularly active
Active
Very active
Rest/Control

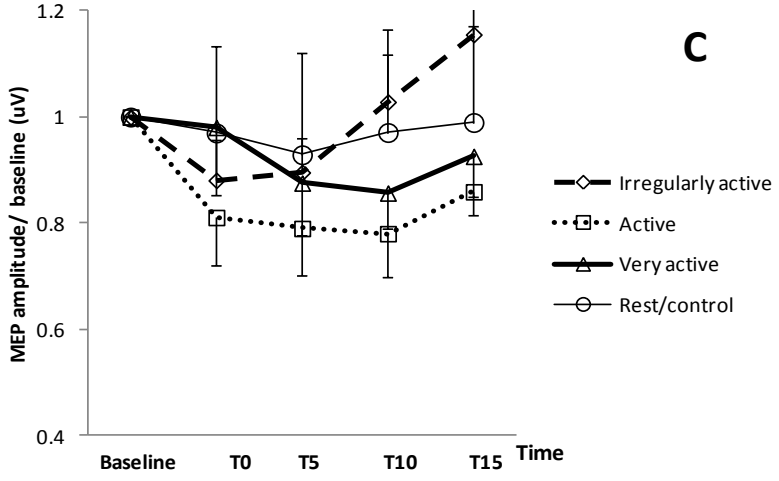

C
MEP amplitude/ baseline (uV)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
Baseline
T0
T5
T10
T15
Time
Irregularly active
Active
Very active
Rest/control

Figure 3. Intensity-dependent effects of physical exercise on corticospinal excitability are depend on the physical activity level of subjects. The time course plots show the effect of different intensities of exercise, high-intensity (3A), moderate-intensity (3B) and low-intensity (3C). Shown are the mean (±SE) of baseline-standardized motor evoked potential (MEP) amplitudes before (baseline) and after (0, 5, 10 e 15 min) exercise/rest condition. Filled symbols indicate significant deviations of the post-exercise/rest MEP amplitudes from baseline values; *significant deviations of rest condition.

Manuscript Submission

AMJSPORTS/2015/184416 - Version 1

Submission progress:

- Submission Guide
- Manuscript Basics
- Abstract and Cover Letter
- Reviewer Suggestions/Exclusions
- Author List
- Questions
- Keywords
- Manuscript Files
- Submission Proofing

Submission Confirmation

Your submission is now complete. Thank you for submitting your work to The American Journal of Sports Medicine.

Your manuscript has been given the ID AMJSPORTS/2015/184416. Please use this to refer to your manuscript in any communications.

You may check on the status of your submission at any time by visiting your author area.

You can direct any other inquiries regarding this submission to dtilton@ajsm.org.

© 2015 The American Journal of Sports Medicine

APÊNDICE B - ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL – ESTUDO 2

Title: **Does tDCS might be effective to improve physical performance and attenuate effort perception during maximal dynamic exercise in non-athletes?**

Authors: Moura, Isis#1; Baltar, Adriana#1, Dorbelas, Armele 2; Monte-Silva, Katia1

#These authors contributed equally to this work.

Affiliation: 1Applied Neuroscience Laboratory, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; 2 Department of Physical Therapy, Universidade Federal de Pernambuco

Contact information: Katia Monte-Silva; 1Applied Neuroscience Laboratory, Universidade Federal de Pernambuco, Department of Physical Therapy. Av. Prof. Moraes Rego s/n 50670-900 Recife, Brazil. , phone: +55 81-2126 7579 / FAX: +55 81-2126 8491; monte.silvakk@gmail.com.

ABSTRACT: The perception of effort is a factor in limiting the exercise tolerance. Consequently, to modulate cerebral areas involved in effort perception regulation by transcranial direct current stimulation (tDCS) might influence on the performance of exercise. The aim of this study was to test the effects of tDCS, using different electrode positioning and montages, on physical performance in maximum incremental test of healthy non-athlete subjects. Twelve subjects (aged 26.8±2 years, 9 women) participated in a double-blinded, crossover, sham-controlled design study. Subjects received one of five different tDCS protocols: (i) anodal tDCS on the primary motor cortex (M1) (a-tDCS/M1), (ii) anodal tDCS on the left temporal cortex (T3) (a-tDCS/T3), (iii) cathodal tDCS on M1 (c-tDCS/M1), (iv) cathodal on T3 (c-tDCS/T3) or (v) sham tDCS. The protocols were assigned in random order in separate sessions. In each session, after tDCS, the volunteers performed the maximal incremental exercise test (MIT) on the cycle ergometer. As measures for evaluation of physical performance (primary outcome) during the MIT were used: time to exhaustion (TE), maximum power (MAX-P) and Borg Rating of Perceived Exertion (RPE) scale. In addition, as secondary outcome measures, we assessed lower limb corticospinal excitability, electrical muscular activity and lactate levels. The results showed that tDCS (anodal or cathodal) applied over T3 or M1 was not able to influence electrical muscular activity and lactate levels and to increase physical performance during MIT of healthy non-athlete subjects. However, our data confirmed that the a-tDCS on M1 increases lower limb cortical excitability.

INTRODUTION

Classically, it is proposed that metabolic capacity is the limiting factor of exercise endurance. In view of this paradigm, fatigue is a multifactorial process that involves physiological adjustments in the nervous system and the muscle throughout the contraction (Barry & Enoka, 2007). However, there are situations as, for example, the limitation to endurance exercise with large muscle groups, where it is not possible to explain using this paradigm (Marcora, 2009; Kayser, 2003). Thus, an alternative and current model of exercise physiology has emphasized the role of brain in the regulation of exercise performance (Noakes, St Clair Gibson & Lambert, 2004). In this model, the brain determines the end of exercise, when some sensations such as the sense of effort become more intense that is tolerable (Kayser, 2003). Thus, the perception of effort becomes a factor in limiting the exercise tolerance. Consequently, to modulate cerebral areas involved in effort perception regulation by non-invasive brain stimulation might influence on the performance of exercise. Indeed, Okano et al. (2015) have demonstrated that the time to exhaustion during incremental maximal cyclist test increased when the transcranial direct current stimulation (tDCS) was applied over the left temporal cortex (T3).

The tDCS is a non-invasive brain stimulation technique that by application of a weak direct electrical current (1–2 mA) in the scalp is able to modulate spontaneous cortical electrical activity in the human brain in a painless and reversible way (Nitsche & Paulus, 2000). The nature of these modulations depends on stimulation polarity: anodal stimulation (a-tDCS) increases cortical activity, which is decreased by cathodal tDCS (c-tDCS) (Nitche et al., 2008). There are some evidences that tDCS-induced neuronal activity changes are associated with improvement of exercise performance (Okano et al., 2015) and fatigue resistance (Cogiamanian et al., 2007; Williams, Hoffman, & Clark, 2013). These results pointed out to potential use of this brain stimulation technology to exercise and sport science.

Modulation of two main cortical areas has been targeted to interfere in the exercise performance: primary motor cortex (M1) and T3. The mechanisms underlying the influence of M1 and T3 on exercise performance remain to be elucidated. Previous studies suggested that electrical stimulation applied over T3 could indirectly influence insular cortex function and, consequently, influence the autonomic cardiovascular control during the exercise (Okano et al., 2015). The insular cortex has been implicated in the control of cardiac autonomic function in humans (Williamson et al., 1999). In a similar way, there are evidences indicating that the application of tDCS on M1 interferes in motor drive from the cortex to spinal motor pool and, consequently, improves exercise performance in the upper limbs (Williams et al., 2013). However, there are currently no studies investigating the effect to tDCS over M1 on exercise using the lower limbs (Angius et al., 2015). Thus, beyond the obvious need for further studies to corroborate the efficacy of tDCS in improving the dinamic exercise performance, attention also must be directed in order to determine which electrode positioning and montage of tDCS are more effective in modulating the perception of effort and in improving exercise performance.

In the present study, we tested tDCS effects, using different electrode positioning and montage, on exercise tolerance and on lower limb cortical excitability in healthy non-athlete subjects. We hypothesized that a-tDCS, in both areas, would prolong the time to exhaustion relative to sham or cathodal stimulation for increasing motor cortical excitability and reduce perception of effort.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twelve healthy, right-handed, adult subjects (aged 26.8± 2 years, 9 women), recruited from the university community, were includes in the study. All participants were informed of the procedures and risks before giving written informed consent to participate in the research. Approval for study procedures was obtained from the Institutional Research Ethics Committee and was performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

Prior to participation, each subject attended an orientation session in which they completed a series of questionnaires to confirm they were free from any known neurologic disorder, cardiovascular disease, or musculoskeletal injury in the lower extremities. None had history of pregnancy, cardiac pacemaker and surgery involving metallic implants. All subjects were right handed according the Edinburgh Handedness Inventory (Oldfied, 1971). The level of physical activity of subjects were categorised into very active (n= 4), active (n=4) and irregularly active (n=4) by International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) (Matsudo et al., 2001).

Experimental design

The experiment was conducted in a double-blinded, crossover, sham-controlled design. Volunteers visited the laboratory five times, respecting at least 48 hours of interval between each session. This time has been suggested as a good interval to minimize carry-over effects of tDCS (Nitsche et al., 2008).

In each session, subjects first rested for 10 min. Initially, cortical excitability, electrical muscular activity and lactate level were measured. After, they received one of five tDCS protocols: (i) anodal tDCS on M1 (a-tDCS/M1), (ii) anodal tDCS on T3 (a-tDCS/T3), (iii) cathodal tDCS on M1 (c-tDCS/M1), (iv) cathodal tDCS on T3 (c-tDCS/T3) or (v) sham tDCS. The order of the stimulation protocols was randomized among participants. Immediately after tDCS, cortical excitability and lactate level were again measured and, then,

the volunteers performed the maximal incremental exercise test (MIT). During the MIT, time to exhaustion (TE), maximum power (MAX-P) and rating of perceived exertion (RPE) were measured. Finally immediately after the MIT, the cortical excitability, electrical muscular activity and lactate level were again analyzed. A schematic representation of the experimental design can be seen in the figure 1.

Figure 1

Transcranial direct current stimulation

Direct current (2mA; 20min) was transferred by saline-soaked surface sponge electrodes and delivered by a clinical microcurrent stimulator (NeuroConn - Germany) with a maximum output of 2 mA. For a-tDCS/M1, the anode electrode (36 cm2) was centred over Cz and the cathodal electrode (35 cm2) over inion (10-20 EGG system); for c-tDCS/M1, the electrodes position was inverted. This electrode arrangement is known to result in significant excitability changes in the lower limb motor cortex of both hemispheres simultaneously (Kaski et al., 2013)**.** For a-tDCS/T3, the anodal electrode (35 cm^2) was placed over T3 and the cathode electrode (35 cm^2) was placed over the contralateral supraorbital area (Fp2). For c-tDCS/T3, the electrodes position was inverted. In the sham condition (sham-tDCS), the electrodes were placed in the same positions as for tDCS/T3 or tDCS/M1 montage randomly, but the current was turned off after 30s. Volunteers and researchers involved in evaluations were blinded to the tDCS protocol.

Maximal incremental exercise test (MIT)

For the test, participants sat on the cycle ergometer (ERGO-FIT® model 167 cycle, Pirmansens, Germany) with similar riding position (saddle and handlebar height and position)

and were asked to begin cycling at 70 rpm during a warm-up phase (3 min) at a workload of 15W. The work rate was then increased by 25W (women) or 50W (men) per minute until exhaustion when participants could not keep a cadence of 70 rpm for 5 seconds or when the subjects voluntarily terminated the test, this moment was considered the time to exhaustion (TE). During the test, the subjects were verbally encouraged by researcher to continue for as long as possible. Maximum power (MAX-P) was defined as the highest workload sustained by the subject for longer than 1 min. Heart rate (HR) was recorded by a HR monitor (S810i, PolarTM, Finland) with an acquisition rate set at 1000 Hz, during all the MIT. All experimental sessions were performed at the same period of the day at the same temperature (19 ± 1°C) to avoid any influence of circadian rhythm and minimize environmental influence.

Also, during the MIT, the Borg 6-20 RPE scale was used to estimate whole-body (WB) perceived exertion during exercise – WB RPE (Borg, 1982) and the adapted Borg 0-10 RPE was used to estimate perceived exertion in lower extremities – local RPE (Borg, 1998). Every minute during exercise, the RPEs were displayed in front of the subjects who were asked to point the number that the best described their perceived exertion. The subjects received strong verbal encouragement, from the same researcher, during all tests in order to achieve the highest possible performance. In addition, they were instructed to refrain from vigorous activities and to avoid the consumption of caffeine, alcohol and tobacco for 24 h prior to each session.

Monitoring of motor corticospinal excitability

The corticospinal excitability was assessed by MEPs elicited by transcranial magnetic stimulation (TMS). For this, the subjects were seated in a comfortable chair with head and arm rests. Single-pulse TMS was applied using a figure-of-eight magnetic coil (7 cm diameter) connected to a magnetic stimulator (Neurosoft Ltd., Russia; peak magnetic

field=2.2 tesla). Surface EMG was recorded from the right quadriceps muscle (vastus lateralis) with AgCl electrodes in a belly-tendon montage. The coil was centered over Cz. The optimal position was defined as the site in which stimulation resulted in the largest MEPs. When single-pulse TMS was applied, the volunteer was requested to realize knee extension at 120° with weight of 2% of their body mass in the ankle. After each pulse, their foot resting on a support. The signals were amplified and filtered with a time constant of 80 ms and a low-pass filter of 5.0 Hz, then digitized at an analogue-to-digital rate of 20 kHz and further relayed into a laboratory computer using the Neuro-MEP-Micro software (Neurosoft Company, Russia). Twenty MEPs were recorded at frequency of 0.25 Hz at baseline, after tDCS and immediately and 5, 10, 15 minutes after MIT.

For each experimental session, the intensity of the stimulator was adjusted at 170% of the active motor threshold (aMT). The aMT is defined as the minimum stimulus intensity that produced a liminal EMG response (more than 200 μV) during isometric contraction (Rossini, 1994). The software TMS motor threshold assessment (http://clinicalresearcher.org/software.ht) was used to determine the aMT.

Surface electromyography assessment

Electromyography (EMG) signals were recorded for 60 seconds from the active right quadriceps femoris muscle (rectus femoris, vastus lateralis and vastus medialis) using bipolar configuration and technique of electrode placement followed the standards recommended by SENIAM (SENIAM, 2011). The reference electrode was positioned over the patella. To evaluate the EMG signals was requested to volunteer to sit on a fixed chair and performed an extension of the right leg with a charge of 10% of their body mass. EMG was recorded at baseline and immediately after MIT. The signals were amplified (1,000x), band-pass filtered (10–500 Hz), and sampled at 2,000 Hz using a 16-bit data acquisition system (EMG system,

SP). For analysis of EMG signal, the last 30 seconds of register was considered and the root mean square (RMS) of muscle activity was used.

Additional measurements

For additional control, the capillary blood lactate levels were measured by portable lactate analyser (Accutrend Plus) in seven subjects before and after tDCS, and after the end of MIT. In addition, before each session, subjects informed daily self-reports of sleep duration and quality of sleep, motivation to participation, tiredness level and fasting time.

To minimize differences in starting muscle glycogen concentrations, subjects were asked to record their diet of 24 hours before the first visit. The dietary was copied and returned to the subject with instructions to follow the same diet before each subsequent visit. Researcher asked to subject to avoid exercise practice in the 24-h period before each visit.

Statistical analysis

All analyses were performed using the SPSS software (V.18.0, Chicago, USA). Data are reported as means and SD for continuous variables and frequency for categorical variables. The distribution of all data was analyzed by the Shapiro–Wilk test.

To verify any difference among the conditions before each session, depending on whether the variables were categorical or continuous, Chi-square test or Kruskal Wallis test were employed. For the analysis of the cortical excitability measurements and electromyography signals, the post MEPs and post RMS were normalized intra-individually and are given as baseline ratios. Friedman test was done to verify difference in MEPs, RMS and lactate levels among sessions and when necessary, the Wilcoxon test was used as post hoc test. Maximum power and time to exhaustion were analyzed by one-way ANOVA. The analysis of local and WB RPE were done by Kruskal Wallis test, considering each time period

corresponding to 25%, 50%, 75% and 100% of total duration of the MIT. The Mauchly test of sphericity was checked and the Greenhouse-Geisser correction was performed, if necessary. A P-value of less than 0.05 was considered significant for all statistical analyses.

RESULTS

Measurements for number of hours and quality of sleep, fasting time, motivation for session, tiredness level, MEP amplitude and lactate level are similar in the baseline time as shown in the table 1.

Table 1

One-way ANOVA showed no difference among the sessions for MAX-P (p=0.974) and TE in the MIT (p=0.997). The same results were demonstrated by Kruskal Wallis test (X2= 3.15; p=0.532) for maximum heart rate (MAX-HR) at the end of MIT (Table 2).

Table 3 depicts the baseline-standardized RMS obtained by EMG of the vastus lateralis (VL), vastus medialis (VM) and rectus femoris (RF) muscles after MIT for each experimental session. The Friedman test revealed no effects of experimental sessions on muscle activities (VL: X2=8.31, p=0.503; VM: X2=9.99, p=0.351; RF: X2=18.74, p=0.270).

Table 2

Table 3

Figure 2 shows the local RPE (A) and WB RPE (B) at 25%, 50%, 75% and 100% of total duration of the MIT in all experimental sessions. Kruskal Wallis test showed that the local and WB RPE were not different across the sessions when plotted against perceptual exercise

duration ($p>0.05$). The blood lactate levels in all sessions are shown in figure 3. Friedman test revealed significance difference for lactate levels among the sessions ($X2 = 67.93$; $p=0.000$). Compared to baseline, post hoc test revealed a significant enhancement in the level of lactate after MIT in all sessions.

Figure 2

Figure 3

For MEP data, the Friedman test ($X2=66.2$, $p =0.000$) revealed significance difference for a-tDCS/M1 ($X2=14.0$; $p= 0.016$) and c-tDCS/T3 ($X2=20.0$; $p= 0.001$). Compared to baseline, for a-tDCS/M1, the post hoc demonstrated increases lower limb cortical excitability for all times. For c-tDCS/T3, the post hoc demonstrated difference for 5, 10 and 15 minutes with increases of cortical excitability after MIT in comparison to baseline. Compared to sham condition, it was only observed increases in MEP amplitude for the a-tDCS/M1 after tDCS application (Figure 4).

Figure 4

DISCUSSION

Contrary to our hypothesis, we found that tDCS (cathodal or anodal) applied over T3 or M1 of healthy non-athlete subjects was not able to increase performance and the time to exhaustion during MIT. However, our data confirmed that the a-tDCS over M1 increases lower limb cortical excitability.

These results are inconsistent with some previous studies that have demonstrated that anodal tDCS over primary motor cortex improves performance in specific tasks involving

voluntary contraction (Cogiamanian et al., 2007; Reis & Fritsch, 2011; Tanaka, et al. 2009; Tanaka et al., 2011; Williams, Hoffman, & Clark, 2013). It is important to note that these studies differ from ours in several relevant aspects. For example, Cogiamanian et al. (2007) observed tDCS effects on the performance of a submaximal isometric motor task at 35% of the maximum voluntary contraction. Tanaka et al. (2009) have demonstrated that tDCS enhances the maximal pinch force of toe and Williams et al. (2013) found an enhancement of time to task failure of a sustained submaximal contraction. Thus, tDCS on M1 would be effective to improve muscle performance assessed by low-intensity exercises or very specific tests, but not, on the maximal performance of larger muscle groups, as used in our study.

Also, different results from ours, an improvement of exercise performance (4%) during MIT, were observed after single sessions of anodal tDCS over T3 in cyclist athletes (Okano et al. 2015). According to these researchers, the basic idea for performance improvement during MIT may be explained by factors such as lower RPE during the exercise, increased time to complete vagal withdrawal during exercise, and increased cortical excitability of the area stimulated by a-tDCS. The difference among the results of studies could be, in part, explained by the hypothesis that when compared with athletes, in healthy subjects there would be a ceiling effect of tDCS upon the performance. Indeed, studies have suggested that in non-athletes, the reasons for cessation of exercise can be different than athletes (Kaiser, 2003). Since that in non-athletes at the end of exercise, maximal metabolic capacity is generally not reached (below maximum cardiovascular capacity and no indirect evidence of muscular fatigue), other reasons must be proposed an unusually strong perceived exertion that led to the cessation of exercise (Kayser, 2003). Probably, in these subjects, the sensation related to the exercise may led their central nervous system to impose an ‘‘early’’ switch-off. One could simply call this ‘‘lack of motivation’’ to drive full muscle recruitment (Noakes, St Clair Gibson & Lambert, 2004). Thus, the fact of not having used athletes in this

study, different from Okano'study, may explain the lack of improvement in performance and RPE reduction in MIT.

Relating also with the populations of studies, researches suggests that single session a-tDCS may be more effective when combined with rehabilitation programs for individuals with performance deficits after injury or disease, where there may be greater potential to further enhance performance, due to suboptimal cortical excitability, inhibition, and descending drive (Humel et al., 2006; Tanaka, 2011). Silva et al. (2015), in study of case report, also find improvement in the exercise tolerance in the MIT on the arm crank ergometer after a-tDCS M1 in individual with spinal cord injury. So, it is feasible to think that a-tDCS effect would be more likely to occur in subjects with diseases characterized by hypo-excitability of motor areas, than in healthy populations. This may also explain no significant results in improved performance in maximal dynamic exercise with healthy non-athletes subjects. Another possibility to explain the lack of tDCS effects on the time to exhaustion in MIT is that the benefits of the only one single session tDCS might not be enough sufficient to improve performance in non-athletes. Probably several consecutive sessions of tDCS may produced a cumulative affect with performance benefits or could be applied during (and not prior to) the exercise performed until fatigue, since there is preliminary evidence demonstrating that tDCS would be effective to bolster the capacity to exercise under such conditions (Reis et al., 2009; Williams, Hoffman, & Clark, 2013).

In summary, since the physical performance was not influenced by tDCS over M1 or T3 in present study, in contrast to most of studies, it is reasonable to suggest that the effectiveness of such stimulation may depend on of several factors such: type of contraction demand (i.e., isometric vs. dynamic), muscle mass recruited (large vs. small muscle groups), level of activity (athletes vs. non-athletes), health status (healthy vs. sick), number of sessions of tDCS (single vs several) or timing (before vc during exercise) which can influence the

magnitude of motor cortex requirements. In fact, such factors might help explaining the controversial results found on the tDCS effects on physical performance. A more thorough investigation with these factors would provide comprehensive understanding of the underlying mechanisms of tDCS that contributing to the improvement of performance in dynamic exercise.

The second purpose of the study was to use single pulse TMS to evaluated changes in cortical excitability after tDCS in lower limb motor cortex. While it is a common experimental approach to evoke MEPs in upper limb, a few studies have reported the effects of tDCS applied over the lower limb primary motor cortex M1 largely because of difficulties in evaluating tDCS effects on this area (Madhavan & Stinear, 2010).

Our data confirmed that atDCS on M1 increases cortical excitability compared to sham tDCS, but no changes were found after c-tDCS. This study shows that, similar to previous researches in the hand corticospinal tract (Nitche & Paulus, 2001; Nitsche et al., 2003), a-tDCS M1 can be used to increase excitability of the leg corticospinal. In contrast to the hand, marked decreases in the strength of corticospinal projections to the leg did not occur when using equivalent intensities of cathodal stimulation (Jeffery et al., 2007). These findings is in line with studies of Jeffery et al. (2007) when conclude that a-tDCS applied near the vertex induced an increase in motor excitability and with Kim et al. (2012), that used fMRI to examine the modulating effects of a-tDCS on lower limb motor cortex responses and also showed modulates cerebral cortical activity in healthy individuals.

On the other hand, also similar to our data Jeffery et al. (2007) not finding changes in MEP amplitudes after cathodal stimulation. Probably the hyperpolarizing current weld applied across leg motor areas likely failed to reduce intracortical facilitation and increase intracortical inhibition, two factors that are associated with the suppression of MEPs in the hand motor cortex in response to c-tDCS (Nitsche et al. 2005). The difficulty in reducing

cortical excitability by c-tDCS may be due to the fact that leg motor cortex having fewer inhibitory circuits than the hand motor cortex, or cathodal current might be less effective in the leg motor cortex because of the different orientation and position of the leg motor cortex relative to the scalp (Miranda et al., 2006). Thus, further experiments where electrode position and current intensity are modified are needed to resolve these issues.

No change in MEPs amplitude was found after a-tDCS T3 or c-tDCS T3. Since the primary aim of the our study was to determine whether tDCS improve exercise tolerance in healthy subjects and study previous suggest that non-invasive brain stimulation over T3 modulates the perception of effort and exercise performance (Okano et al., 2015), we supposed that there could be communicating vias between temporal or insular cortex to the motor cortex (M1) which could increase its excitability in this area, however this hypothesis it has not been confirmed.

In conclusion, tDCS was not able to increase the time to exhaustion or RPE during MIT in healthy individuals. These results may suggest that this technique would not be effective to improve performance in maximal dynamic exercise in non-athletes. In practical terms, despite the fact that some evidence suggest that tDCS might be effective to improve physical performance and attenuate effort perception during submaximal static exercise in healthy and unhealthy subjects, our data suggest that this would not be true during maximal dynamic exercise in healthy and non-athlete subjects. On the other hand, our data confirmed that the a-tDCS M1 protocol used in this study might increase cortical excitability in lower limbs motor cortex.

In this context, more systematic studies are need to explore the dynamic interaction of exercise and tDCS in order to achieve adequate combinations of brain stimulation to increase the performance in dynamic exercise to healthy subjects and try to understand the contemporary paradigm of fatigue where exercise starts and ends in the brain with the

perception of effort as an important factor that limits exercise. Furthermore, a better understanding of the neurophysiological mechanisms of healthy subjects associated with movement has become essential because of the emergence of tDCS in research settings where cortical excitability of the lesioned motor system. This knowledge may then guide the development of effective physical rehabilitation interventions.

REFERENCES

Angius L, Hopker JG, Marcora SM1, Mauger AR. (2015). The effect of transcranial direct current stimulation of the motor cortex on exercise-induced pain. Eur J Appl Physiol. 2015 Nov;115(11):2311-9.

Barry BK, Enoka RM. (2007). The neurobiology of muscle fatigue: 15 years later. Integr Comp Biol. 47(4):465-73.

Borg GA (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. Med Sci Sports Exerc. 14(5):377–81.

Cogiamanian F, Marceglia S, Ardolino G, Barbieri, S, & Priori A. (2007). Improved isometric force endurance after transcranial direct current stimulation over the human motor cortical areas. Eur J of Neuros, 26, 242-249.

Hummel F & Cohen LG. (2005). Improvement of motor function with noninvasive cortical stimulation in a patient with chronic stroke. Neurorehabilitation Neural Repair, 19, 14-19.

Jeffery DT, Norton JA, Roy FD & Gorassini MA. (2007). Effects of transcranial direct current stimulation on the excitability of the leg motor cortex. Exp Brain Res, 182, 281-287.

Kayser B. Exercise starts and ends in the brain. (2003). Eur J Appl Physiol;90(3-4):411-9. Jul 19.

Kim CR, Kim DY, Kim LS, Chun MH, Kim SJ, Park CH. (2012). Modulation of cortical activity after anodal transcranial direct current stimulation of the lower limb motor cortex: a functional MRI study. Brain Stimul. 2012 Oct;5(4):462-7.

Madhavan S, Stinear JW. (2010). Focal and bi-directional modulation of lower limb motor cortex using anodal transcranial direct current stimulation. Brain Stimul. 2010 Jan;3(1):42.

Marcora S. (2009). Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. J Appl Physiol;106:2060-62.

Matsudo S, Araújo T, Marsudo V, Andrade D, Andrade E & Braggion G. (2001). Questinário internacional de atividade f1sica (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. Rev. bras. ativ. fís. saúde, 6,05-18.

Miranda PC, Lomarev M, Hallet M. (2006). Modeling the current distribution during transcranial direct current stimulation. Clin Neurophysiol 117:1623–1629

Nitsche MA, Seeber A, Frommann K, Klein CC, Rochford C, Nitsche MS, Fricke K, Liebetanz D, Lang N, Antal A, Paulus W, Tergau F. (2005). Modulating parameters of excitability during and after transcranial direct current stimulation of the human motor cortex. J Physiol,568:291–303

Nitsche MA, & Paulus W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. Journal of Physiology, 527 Pt 3, 633-639.

Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, Priori A, Lang N, Antal A, Pascual-Leone A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. Brain Stimulation, 1, 206-23.

Nitsche MA, Schauenburg A, Lang N, Liebetanz D, Exner C, Paulus W & Tergau F. (2003). Facilitation of implicit motor learning by weak transcranial direct current stimulation of the primary motor cortex in the human. J Cogn Neurosci, 15, 619-626.

Nitsche MA, Paulus W. (2001). Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. Neurology;57:1899–1901.

Noakes TD, St Clair Gibson A, Lambert EV. (2004). From catastrophe to complexity: a novel model of integrative central neural regulation of effort and fatigue during exercise in humans. Br J Sports Med;38(4):.511-4.

Okano AH, Fonte EB, Montenegro RA, Farinatti PD, Cyrilo ES, Li LM, et al. (2015). Brain stimulation modulates the autonomic nervous system, rating of perceived exertion and performance during maximal exercise. Br J Sports Med, 2015;49(18):1213-8. Feb 27.

Oldfield RC. (1971). The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. Neuropsychologia, 9, 97-113.

Reis J & Fritsch B. (2011). Modulation of motor performance and motor learning by transcranial direct current stimulation. Current Opinion in Neurology, 24, 590-596.
Reis J, Schambra HM, Cohen LG, et al. (2009). Noninvasive cortical stimulation enhances motor skill acquisition over multiple days through an effect on consolidation. Proc Natl Acad Sci U S A;106(5):1590–5.

Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, et al. (1994). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots:basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 91:79-92.

Silva FTG, Rêgo JTP, Raulino FR, Silva MR, Reynaud F, Egito EST, Dantas PMS. (2015). Transcranial direct current stimulation on the autonomic modulation and exercise time in individuals with spinal cord injury. A case report. Auton Neurosci; Aug [Epub ahead of print].
Surface Electromyography for the Non-Invasive Assessment of Muscles. (2011). SENIAM Retrieved 2009 Mar 04, from http://seniam.org/

Tanaka S, Hanakawa T, Honda M & Watanabe K. (2009). Enhancement of pinch force in the lower leg by anodal transcranial direct current stimulation. Exp Brain Research, 196, 459-465.

Tanaka S, Takeda K, Otaka Y, Kita K, Osu R, Honda M,Watanabe K. (2011). Single session of transcranial direct current stimulation transiently increases knee extensor force in patients with hemiparetic stroke. Neuroreh and Neural Repair, 25, 565-569.

William PS, Hoffman RL & Clark BC. (2013). Preliminary evidence that anodal transcranial direct current stimulation enhances time to task failure of a sustained submaximal contraction. PLoS One, 8,e81418.

Williamson JW, McColl R, Mathews D. (1999) Activation of the insular cortex is affected by the intensity of exercise. J Appl Physiol 1999;87:1213–9.

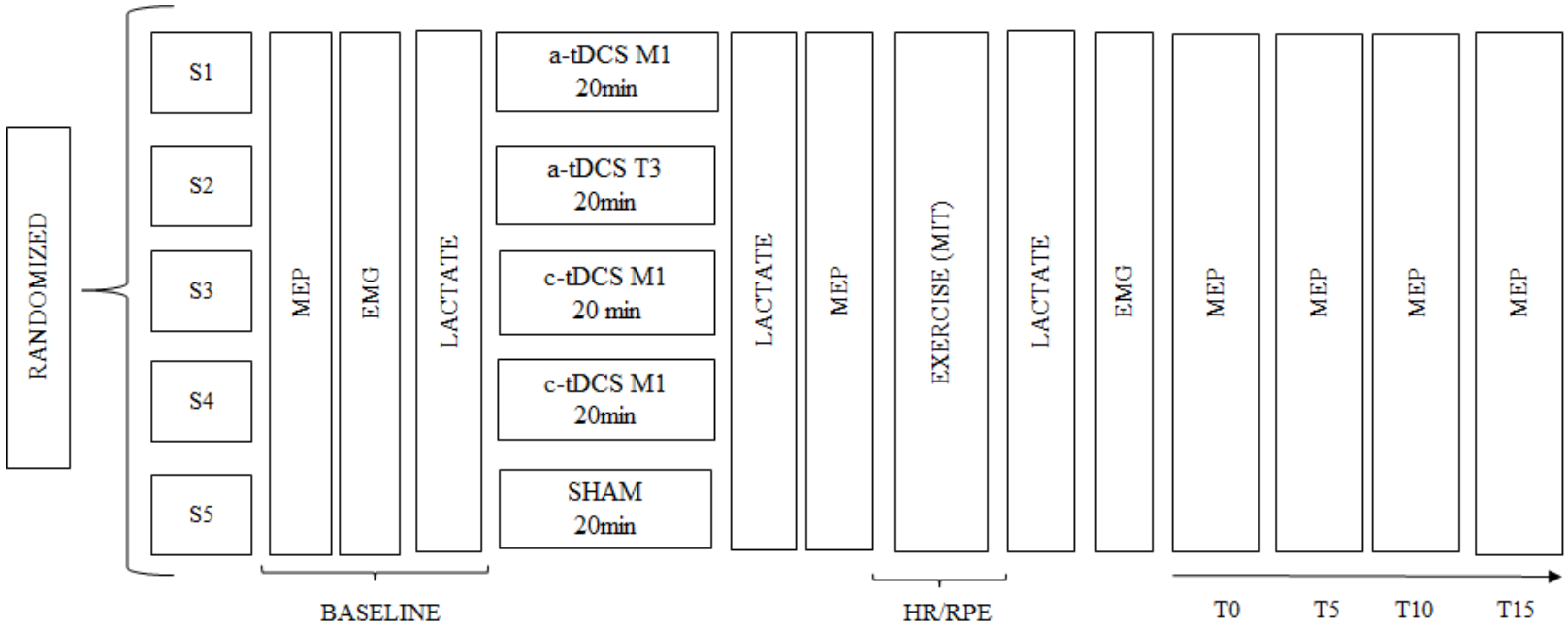


Figure 1. Experimental Design. In five experimental sessions (s1 to s5), the subjects were submitted to assessments of cortical excitability though transcranial magnetic stimulation (TMS)-induced motor evoked potential (MEP), electrical muscular activity though electromyography (EMG) and lactate level, before (baseline), after tDCS protocol application and immediately after maximal incremental exercise test (MIT). Cortical excitability were also recorded 5 (T5), 10 (T0), 15 (T15) minutes after MIT. TMS was applied over the motor cortical representational area of the right vastus lateralis (VL) muscle to elicit MEPs. Five different tDCS protocols were applicate (2mA for 20 minutes): (i) anodal tDCS on motor cortex (a-tDCS M1), (ii) anodal tDCS on left temporal cortex (a-tDCS T3), (iii) cathodal tDCS on motor cortex (c-tDCS M1), (iv) cathodal tDCS on left temporal cortex (c-tDCS T3) and (v) sham tDCS.

Table 1. Characteristics of subjects before each experimental session expressed in mean (±SD)

	c-tDCS/T3	c-tDCS/M1	a-tDCS/M1	a-tDCS/T3	Sham tDCS	P value
Sleep hours (min)	357.5 (±90.8)	345.0 (±55.0)	382.5 (±71.3)	355.0 (±55.5)	351.2 (±98.7)	0.643#
Sleep quality[1]	7.6 (±1.7)	6.4 (±2.2)	7.4 (±2.5)	7.2 (±1.5)	7.7 (±1.2)	0.758*
Fasting time (min)	92.5 (±51.8)	100.0 (±71.3)	95.0 (±37.2)	105.0 (±71.7)	104.1(±71.1)	0.990#
Motivation[2]	3.1 (±0.3)	3.4 (±0.5)	4.0 (±0.8)	3.2 (±0.8)	3.1 (±0.6)	0.386*
Tiredness level[3]	4.9 (±2.2)	4.0 (±1.7)	4.7 (±2.4)	4.5 (±2.1)	4.7 (±2.6)	0.812*
MEP (mV)	0.6 (±0.3)	0.7 (±0.4)	0.7 (±0.4)	0.7 (±0.3)	1.1 (±0.1)	0.482#
Lactate (mmol/l)	1.4 (±0.6)	2.0 (±0.8)	1.6 (±0.4)	1.7 (±0.7)	1.9 (±1.2)	0.727#

T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS=transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal

[1] measured by scale from 10 (excellent) to 0 (terrible); [2] measured by a scale from 0 (no motivation) to 5 (extremely motivated); [3] measured by a scale from 10 (completely rest) to 0 (very tired); * Chi square test; # Krukal Wallis.

Table 2. Mean (±SD) of maximum power (MAX-P), time to exhaustion (TE) and maximum heart rate (MAX-HR) in maximal incremental test (MIT) for each experimental sessions (anodal tDCS on M1 and T3, cathodal tDCS on M1 and T3 and sham tDCS).

	c-tDCS/T3	c-tDCS/M1	a-tDCS/M1	a-tDCS/T3	Sham tDCS
MAX-P (W)	185.4±71.1	181.3±71.1	187.5±78.6	189.6±73.6	187.5±71.3
TE (s)	372.7±62.6	376.8±53.4	390.0±54.8	388.1±58.8	380.5±64.4
MAX-HR (bpm)	171.3±14.6	167.2±14.4	170.9±14.7	175.6±12.0	175.3±14.03

W=watts, s=seconds, T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS=transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal.

Table 3. Mean (±SE) of baseline-standardized root mean square (RMS) after maximal incremental test (MIT) obtained by surface electromyography assessment for the vastus lateralis (VL), rectus femoris (RF) and vastus medialis (VM) muscles after experimental sessions (anodal tDCS on M1 and T3, cathodal tDCS on M1 and T3 and sham tDCS).

	c-tDCS/T3	c-tDCS/M1	a-tDCS/M1	a-tDCS/T3	Sham tDCS
VL	1.0±0.5	1.3±0.7	1.3±0.7	1.2±0.5	1.3±0.4
RF	1.1±0.6	1.1±0.5	1.4±0.7	1.6±0.7	1.6±0.7
VM	1.4±0.7	1.3±0.5	1.4±1.1	1.0±0.3	1.3±0.6

T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS=transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal

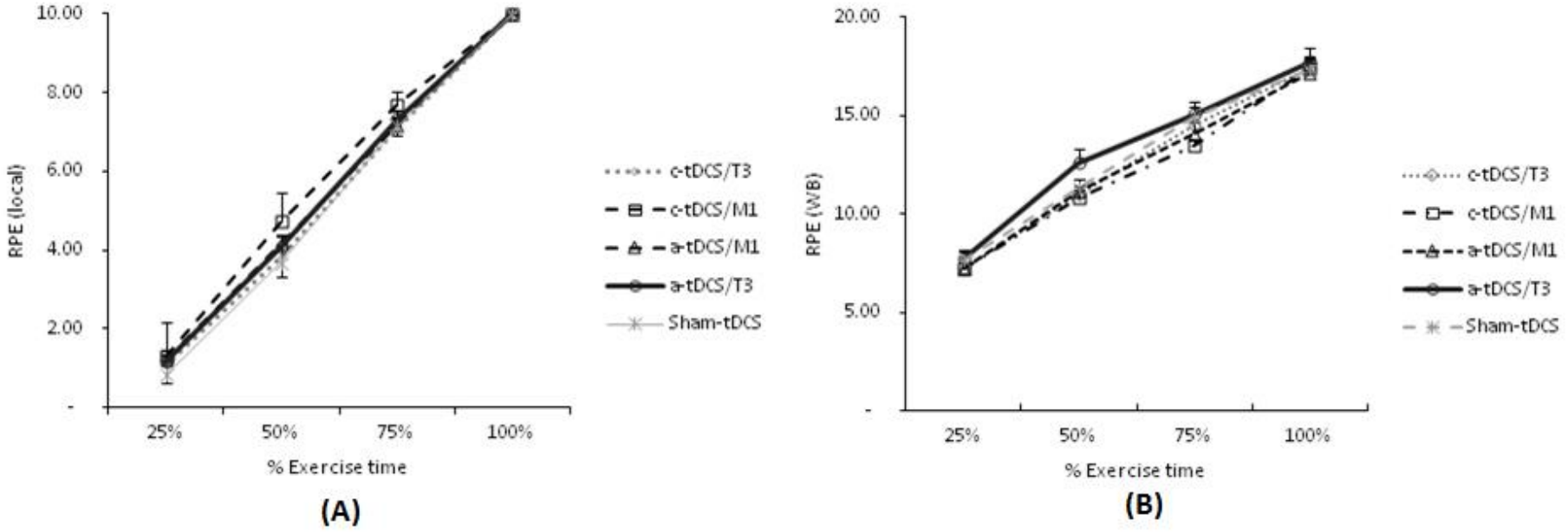


Figure 2. Local rating of perceived exertion (local RPE) (A), and wholly body rating of perceived exertion (WB RPE) (B) during maximal incremental test (MIT) in the experimental sessions (anodal tDCS on M1 and T3, cathodal tDCS on M1 and T3 and sham tDCS) versus %exercise duration (25%, 50%, 75% and 100% of total duration of the MIT). T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS=transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal

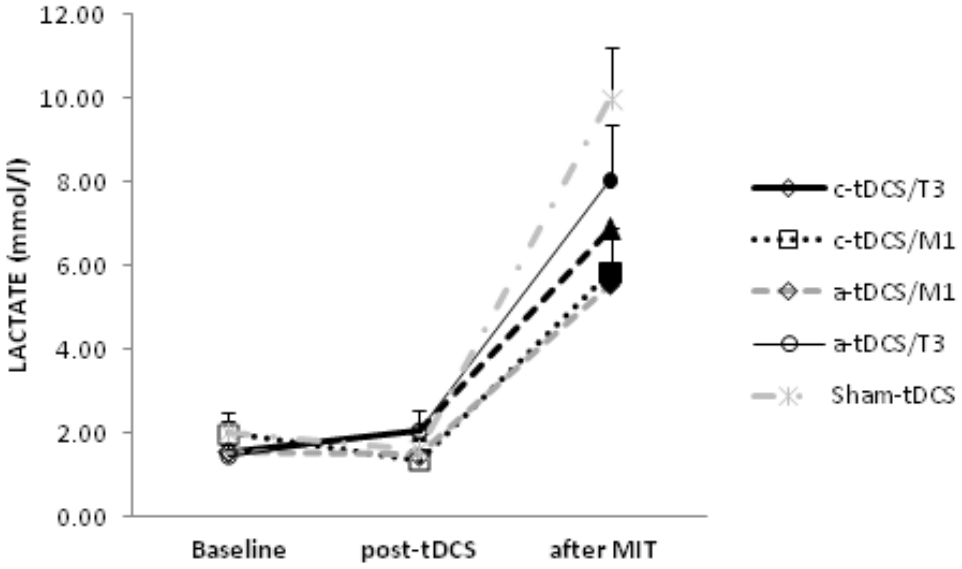


Figure 3. Blood lactate levels in the experimental sessions (anodal tDCS on M1 and T3, cathodal tDCS on M1 and T3 and sham tDCS) before (baseline), after transcranial direct current stimulation (post-tDCS) and after maximal incremental test (MIT). Filled symbols indicate significant deviations of the after MIT from baseline values. T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS=transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal

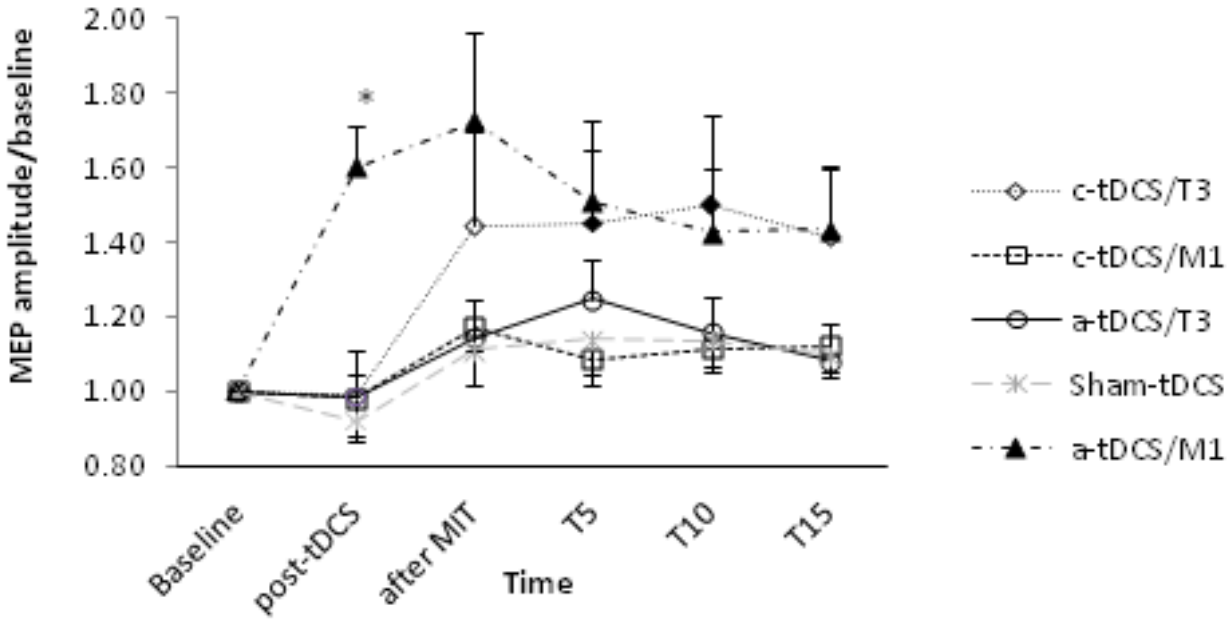


Figure 4. Baseline-standardized motor evoked potential (MEP) amplitudes before (baseline), after tDCS and after maximal incremental test (MIT), 5 (T5), 10 (T10) and 15 (T15) min after MIT for each experimental session (anodal on M1 and T3, cathodal on M1 and T3, and sham). Filled symbols indicate significant deviations of the post-tDCS, and after MIT MEP amplitudes from baseline values. *significant deviations of sham condition. T3= left temporal cortex, M1 =motor cortex, tDCS= transcranial direct current stimulation, c=cathodal, a=anodal

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – ESTUDO 1 e 2

(de acordo com a resolução nº 466/12)

Convidamos o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa "Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua em diferentes regiões corticais na fadiga central de indivíduos saudáveis", que está sob a responsabilidade da pesquisadora: Isis Suruagy Correia Moura, com endereço Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Fisioterapia. Av. Prof. Moraes Rego,1235 - Cidade Universitária. Recife/Pe-Brasil CEP: 50670-901. Telefone: (81) 2126-8939, Fax: (81) 2126-8939 (87) 96440744 e email: isis_suruagy@yahoo.com.br para contato da pesquisador responsável (inclusive ligações a cobrar) e está sob a orientação de: Drª Kátia Monte-Silva com telefones para contato: (81) 2126-7579 (81) 8863-1322, e-mail]: monte.silvakk@gmail.com. Também participam também desta pesquisa: Adriana Baltar do Rêgo Maciel com telefones: (81) 2126-7579 (81) 91296401.

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

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Objetivo da pesquisa o propósito do estudo será investigar os efeitos de uma técnica capaz de excitar o cérebro, de forma não invasiva, na fadiga de indivíduos saudáveis.

Justificativa do trabalho: esta pesquisa justifica-se pelo fato de tentarmos viabilizar uma forma de potencializar o desempenho em exercícios físicos e entender os mecanismos que levam a fadiga, através dos efeitos neuromodulatórios de técnicas que estimulam o cérebro e, posteriormente, sugerir sua utilização não campo do esporte.

Procedimentos da pesquisa: você receberá informações a respeito do estudo e receberá uma cópia deste termo de consentimento para o seu registro. Se concordar em participar do estudo, você

participará inicialmente de 3 sessões de exercício (primeira etapa) e posteriormente de 5 sessões de técnica de estimulação transcraniana e exercício físico (segunda etapa). A estimulação poderá ser fictícia, anódica ou catódica. É importante esclarecer que não será dito se você foi ou não submetido à estimulação. Para as sessões de estimulação, você sentará em uma cadeira confortável e uma corrente elétrica não dolorosa será aplicada sobre a sua cabeça e o exercício físico será realizado em uma bicicleta ergométrica. É importante esclarecer que não será permitida a escolha da técnica terapêutica a qual você será submetido.

Riscos: o estudo oferece pouco risco à sua saúde, uma vez que as técnicas empregadas já são bem estabelecidas e serão realizadas sob a supervisão de pesquisadores experientes. Os exercícios serão realizados conforme as recomendações da Organização Mundial de Saúde (2010), no entanto apesar de pouco provável, desconfortos mínimos como, por exemplo: tonturas, cansaço e mal estar após os exercícios físicos poderão acontecer, porém o seu comportamento físico será observado atentamente durante a realização dos testes e a qualquer sinal de anormalidades, observado ou relatado, o teste será interrompido. Apesar do baixo risco o teste que determina a carga máxima será acompanhado por um cardiologista para não colocar em risco sua saúde. É possível que no início da estimulação do cérebro, você sinta formigamento e/ou coceira na área estimulada, estas sensações desaparecerão em alguns minutos. Também é possível que o você sinta um desconforto na medição do lactato sanguíneo no momento em que a lanceta perfura um pequeno orifício na ponta do seu dedo indicador.

Vale ressaltar que os padrões internacionais de segurança estão sendo seguidos. Dessa forma, sugere-se que fique atento e entre em contato imediatamente caso sinta qualquer anormalidade, evitando dirigir ou operar máquinas perigosas caso sinta sonolência

Benefícios: através de sua participação na pesquisa, você receberá o benefício de obter conhecimento a respeito da sua atividade cerebral de repouso. Além disso, espera-se contribuir para compreensão do mecanismo da associação das técnicas de estimulação transcraniana com o exercício físico. Por fim, você estará contribuindo para a consolidação dessas técnicas como ferramenta que pode potencializar

o desempenho em exercícios físicos e entender o mecanismo que leva a fadiga durante pratica de exercício.

As informações desta pesquisa serão confidencias e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados em pastas de arquivo, sob a responsabilidade da pesquisadora, no endereço (acima informado), pelo período de no mínimo 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores (ressarcimento de despesas). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

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

_____

(Assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A):

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo _____(colocar o nome completo da pesquisa)_____, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante:_____

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE D - FICHA DE AVALIAÇAO - ESTUDOS 1 E 2

DATA: ___ /___ /_____ HORÁRIO:_____ IDENTIFICAÇÃO Nº:_____

AVALIADOR: _____

ANAMNESE

Nome:_____

_____ Data de Nasc.: ___ /___ /_____ Idade: ____ Sexo: ____ Est.Civil_____

Peso:_____Alt:_____

Celular:_____Naturalidade:_____Nacionalidade:

_____

Utiliza alguma medicação? ( ) sim ( ) não. Se

sim,qual(is)?_____

Etilista SIM ( ) NÃO ( ) Tabagista SIM ( ) NÃO ( ) DUM:

(mulheres):_____

Posição eletrodos EMG

Vasto lateral:_____ Reto femoral:_____ Vasto medial:_____

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

( ) Gestação

( ) Implantes metálicos intracranianos

( ) Diagnóstico de doenças neurológicas ou doença reumato-ortopédica que impossibilitem a

( ) Epilepsia/crise convulsiva

( ) Abuso de droga / álcool nos últimos 6 meses

( ) Marcapasso cardíaco

( ) Uso de fármacos que alterem a excitabilidade

( ) Uso de esteroides anabolizantes ou suplementação com termogênico

( ) Diabético

( ) Hipertenso

MEDIDAS COMPORTAMENTAIS

Inventário de Dominância Lateral de Edimburgo (Oldfield, 1971)

Por favor, indique sua preferência no uso das mãos nas seguintes atividades pela colocação do sinal + na coluna apropriada. Onde a preferência é tão forte que você nunca usaria a outra mão a menos que fosse forçado a usá-la, coloque ++. Se em algum caso a mão utilizada é realmente indiferente, coloque + em ambas as colunas.

Algumas das atividades requerem ambas as mãos. Nestes casos a parte da tarefa, ou objeto, para qual preferência manual é desejada é indicada entre parênteses.

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

	ESQUERDA	**DIREITA**
1. Escrever		
2. Desenhar		
3. Arremessar		
4. Uso de tesouras		
5. Escovar os dentes		
6. Uso de faca (sem garfo)		
7. Uso de colher		
8. Uso de vassoura (mão superior)		

Questionário Internacional de Atividade Física – versão curta

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

Para responder as questões lembre que:

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

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

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

Dias _____ por SEMANA ( ) Nenhum

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

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

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

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

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

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

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

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

APÊNDICE E - FICHA ACOMPANHAMENTO EXPERIMENTOS – ESTUDO 1

VOLUNTÁRIO: _____

SESSÃO: _____ Data: _____ / _____ / _____ Horário: _____ Código:_____

Horas de sono:_____ Qualidade do sono:_____Tempo de jejum:_____ D.U.M:_____

Quão motivado você está para participar desta sessão? ( ) nem um pouco ( ) um pouco ( ) mais ou menos ( ) muito ( ) extremamente

De 0 a 10 qual é o seu nível de cansaço hoje? _____

Tempo do exercício:_____Intensidade do exercício:_____

MEDIDAS

Intensidade do PEM:_____

	Basal	**1 m**	**2 m**	**3 m**	**4 m**	**5 m**	**6 m**	**7m**	**8 m**	**9m**	**10m**
BORG geral (6-20)											
BORG local (0 – 10)											
FC											
	Basal	**11m**	**12m**	**13m**	**14m**	**15m**	**16m**	**17m**	**18 m**	**19m**	**20m**
BORG geral (6-20)											
BORG local (0 – 10)											
FC											
	Basal	**21m**	**22m**	**23m**	**24m**	**25m**	**26m**	**27m**	**28 m**	**29m**	**30m**
BORG geral (6-20)											
BORG local (0 – 10)											
FC											

Comentário:_____
_____

APÊNDICE F -FICHA ACOMPANHAMENTO EXPERIMENTOS – ESTUDO 2

VOLUNTÁRIO: _____

SESSÃO: _____ Data: _____ / _____ / _____ Horário: _____ Código:_____

Horas de sono:_____ Qualidade do sono:_____Tempo de jejum:_____ D.U.M:_____

Lactato inicial:_____ Lactato pós ETCC: _____ Lactato depois do exercício:_____

Quão motivado você está para participar desta sessão? ( ) nem um pouco ( ) um pouco ( ) mais ou menos ( ) muito ( ) extremamente

De 0 a 10 qual é o seu nível de cansaço hoje? _____

MEDIDAS

Intensidade do PEM:_____ Limiar motor ativo:_____

	Basal	**1 m**	**2 m**	**3 m**	**4 m**	**5 m**	**6 m**	**7m**	**8 m**	**9m**	**10m**
BORG geral (6-20)											
BORG local (0 – 10)											
FC											
	Basal	**11m**	**12m**	**13m**	**14m**	**15m**	**16m**	**17m**	**18 m**	**19m**	**20m**
BORG geral (6-20)											
BORG local (0 – 10)											
FC											

Qual o nível de atenção você teve durante o exercício? ( ) nem um pouco ( ) pouco ( ) mais ou menos ( ) muito ( ) extremamente

Comentário:_____
_____

OBS: Fazer o recordatório de 24h

Refeição/hora	**Preparação**	**Medida caseira**
Café da manhã		
Lanche da manhã		
Almoço		
Lanche da tarde		
Jantar		
Lanche da noite		

ANEXO I - Publicação de resumo: Anais do VI Simpósio internacional em neuromodulação, 2014.

VI SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

Certificamos que

O trabalho intitulado **"Efeitos de diferentes intensidades de exercício físico na excitabilidade corticoespinal de indivíduos saudáveis"**, dos autores MARINA BERENGUER, ISIS SURUAGY, MANNALY BRAGA, ADRIANA BALTAR, KÁTIA MONTE-SILVA, foi apresentado em formato de pôster no dia 25 de agosto de 2014 por Marina Berenguer, no VI Simpósio Internacional em Neuromodulação, realizado em São Paulo/SP.

Felipe Fregni, MD, PhD, MP
Diretor do Laboratório em Neuromodulação, HMS-Boston
Professor Associado de Neurologia, Harvard Medical School

Paulo Sérgio Boggio
Diretor do Laboratório de Neurociência Cognitiva e Social
Coordenador de Pesquisa do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Presbiteriana Mackenzie

ANEXO II - PREMIAÇÃO TRABALHO: VI Simpósio internacional em neuromodulação, 2014.

VI SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

Certificamos que

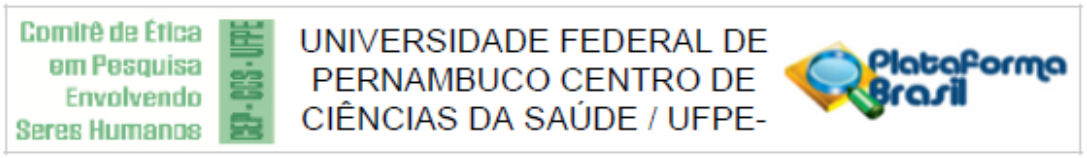
Isis Suruagy

Apresentou o trabalho intitulado "**Efeito de diferentes intensidades de exercício físico na excitabilidade corticoespinal de indivíduos saudáveis**" em formato Apresentação Oral, no VI Simpósio Internacional em Neuromodulação, em São Paulo, no dia 27 de Agosto de 2014. O trabalho dos autores (Marina Berenguer, Isis Suruagy, Mannaly Braga, Adriana Baltar, Kátia Monte-Silva) foi premiado no Simpósio.

Felipe Fregni, MD, PhD, MP
Diretor do Laboratório em Neuromodulação, HMS-Boston
Professor Associado de Neurologia, Harvard Medical School

Coordenador de Pesquisa do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Presbiteriana Mackenzie

ANEXO III – Parecer Comitê de Ética em Pesquisa Estudo 1 e 2



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua associada ao exercício aeróbio na fadiga central de indivíduos saudáveis

Pesquisador: ISIS SURUAGY CORREIA MOURA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24630413.0.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 560.060

Data da Relatoria: 24/03/2014

Apresentação do Projeto:

Indicado na relatoria inicial.

Objetivo da Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Indicado na relatoria inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Indicado na relatoria inicial.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Indicado na relatoria inicial.

Recomendações:

Sem recomendação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado