



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

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA  
NO PROCESSAMENTO SENSORIAL E NA MEMÓRIA DE TRABALHO EM  
DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS.**

Júlia Schirmer Saldanha

Porto Alegre

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA  
NO PROCESSAMENTO SENSORIAL E NA MEMÓRIA DE TRABALHO EM  
DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS.**

Júlia Schirmer Saldanha

Orientador: Prof. Dr. Wolnei Caumo

Tese apresentada como requisito parcial para  
obtenção de título de Doutor em Medicina:  
Ciências Médicas pela Universidade Federal  
do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2020



## **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Luciana Paula Cadore Stefani  
(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Marcia Chaves  
(PPGCM-UFRGS)

Profa. Dra. Luciana da Conceição Antunes  
(UFSC)

Profa. Dra. Joice Dickel Segabinazi  
(PUC-RS)

*“If I have seen further it is by standing on the  
shoulders of Giants.”(Isaac Newton)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Wolnei Caumo, que acreditou em mim e me apoiou e me guiou nesta jornada. Agradeço por partilhar seu conhecimento e experiência que, sem dúvida, ultrapassam o campo científico, adentrando o cuidado e a empatia com os pacientes. Ressalto que sua história de vida é uma inspiração para todos que com o senhor convivem. Eu o reconheço como um grande líder, que inspira os alunos, sempre oportuno e assertivo nas críticas que faz e que jamais mede esforços para impulsionar a evolução dos acadêmicos. Agradeço-lhe, também, por trazer o curso Principles and Practice of Clinical Research (PPCR), da Harvard T.H.Chan School of Public Health, para o Hospital de Clínicas de Porto Alegre e, conseqüentemente, incentivando os alunos a participarem, o que certamente foi decisivo na qualidade do aprendizado. .

Agradeço ao meu coorientador Maxciel Zortea – que me deu atenção e grande auxílio em todos os momentos, partilhando comigo sua extraordinária sabedoria. Mais que um mestre, foi um amigo ao longo desses quatro anos. Fica-me a certeza de que jamais encontraria coorientador melhor para me conduzir.

A todos os colegas do Laboratório de Dor & Neuromodulação, agradeço pela amizade, companheirismo e compartilhamento do conhecimento. Vocês têm a minha admiração e o meu respeito pela escolha diária de fazer Ciência, enfrentando os inúmeros percalços. Obrigada, também, por doarem afetos que levarei para sempre e os quais, em breve, farão parte da minha saudade e das minhas melhores lembranças. E, de maneira muito especial, agradeço às alunas de iniciação científica Cibely Bavaresco e Aline Domingues, que foram incansáveis e brilhantes na ajuda que me prestaram na condução do estudo e coleta de dados.

Agradeço ao Prof. Dr. Michael Nitsche pelo acolhimento e oportunidade de doutorado sanduíche no laboratório IFADO, referência de excelência na área de estudo de neuromodulação, no período de Outubro de 2018 a Abril 2019 . Agradeço Ao Prof. Dr. Michael Nitsche e a Prof. Dr. Min-Fang Kuo por partilharem, comigo, o conhecimento. E pela disposição de me auxiliarem na conquista do meu doutorado.

Agradeço ao Prof. Dr. Felipe Fregni, por ter-me recebido em seu laboratório em Boston - *Laboratory of Neuromodulation - Spaulding Rehabilitation Hospital - Harvard Medical School*, em Maio de 2016. E nem só me recebeu, mas igualmente contribuiu na estruturação de boa parte da minha pesquisa.

Agradeço a todos os participantes desta pesquisa, cujo altruísmo e disposição de

ajudar o próximo me causaram um grande impacto positivo – o qual ficará nas minhas memórias afetivas. .

Agradeço aos funcionários da recepção e segurança do Centro de Pesquisa Clínica (CPC) e da Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas (UAMP) por nos ajudarem o tanto quanto o fazem. Pessoas que sempre nos dispensaram uma atenção especial e carinhosa.

Agradeço à equipe do serviço administrativo do Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas (PPGCM), sempre disponível ao longo destes quatro anos.

Agradeço a minha família e aos meus amigos que são a base da minha vida e cujo apoio e torcida pelo meu sucesso foram fundamentais para que eu pudesse enfrentar os desafios que enfrentei, ao longo desses quatro anos. Desejo, imensamente, retribuir toda essa generosidade e tolerância e, sobretudo, nunca decepcioná-los.

À CAPES, agradeço pelo auxílio financeiro para a Bolsa de Doutorado Especial para Pesquisa Médica e Doutorado Sanduíche no Exterior.

Agradeço ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (GPPG-HCPA) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE-HCPA), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento dos projetos.

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao PPGCM, pela oportunidade de aprendizado. E aos professores da banca de defesa, os quais aceitaram o convite.

## RESUMO

A estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) é uma técnica neuromodulatória com potencial para auxiliar no tratamento da dor crônica e outras condições clínicas. O efeito da ETCC, no entanto, está associado com a plasticidade cerebral, de modo que fatores que influenciam nesta plasticidade podem alterar os resultados obtidos com a estimulação gerando variabilidade nos resultados da técnica. A idade é um fator importante que modula a plasticidade, de modo que especificar a idade em protocolos de ETCC pode elevar a eficácia do método, possibilitando o uso mais assertivo em protocolos de pesquisa, como também em tratamentos clínicos.

No **primeiro estudo** apresentamos uma revisão sistemática e meta-análise sobre o efeito da ETCC nas medidas de dor em crianças, adolescentes e idosos, com a finalidade de compilar evidências sobre o impacto da idade na resposta à ETCC aplicada em montagens de importância no estudo da dor: córtex motor primário (M1) e córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC). **Métodos:** Realizamos uma revisão sistemática pesquisando os seguintes bancos de dados: PubMed, EMBASE e Science Direct usando os termos de pesquisa que foram adaptados de acordo com MeSh ou Entree: [(“Adolescent” OR “Children” OR “Elderly” ) AND (“tDCS” ) AND (“Pain” OR “Pain threshold”) AND ( “dorsolateral prefrontal cortex” OR “Motor cortex)]. Pré-selecionamos 228 artigos, 13 foram incluídos na revisão sistemática. A meta-análise incluiu 4 estudos para desfechos de nível de dor e 3 estudos pra limiar de dor, que foram classificados como baixo risco de viés. Apenas estudos com idosos foram incluídos na meta-análise. **Resultados:** Para desfecho de nível de dor os dados apresentaram considerável heterogeneidade ( $I^2 = 60\%$ ), foi então aplicado um modelo de efeitos aleatórios. Um total de 96 pacientes recebeu estimulação ativa e a maioria dos estudos favorece a ETCC ativa, mostrando uma redução significativa ( $P = 0,002$ ) dos níveis de dor quando comparada à sham. A diferença de média padronizada foi de  $-0,76$  (IC 95% =  $-1,24, -0,28$ ). Para desfecho de limiar de dor 88 idosos receberam ETCC ativa, mas a análise combinada dos estudos não mostrou diferença quando comparado a sham. Apenas dois estudos foram incluídos para o efeito da ETCC na dor em adolescentes. Os estudos foram divergentes em suas conclusões: um estudo com o uso de ETCC anodal sobre córtex pré-frontal relatou redução de escores de dor, enquanto o outro estudo relatou aumento da sensibilidade à dor. **Conclusão:** Nossos achados sugerem um efeito favorável da ETCC na redução da dor em idosos. No entanto, o número de estudos



incluídos foi pequeno e houve heterogeneidade de protocolos e condições clínicas da população do estudo.

O **segundo estudo** teve como objetivo comparar os efeitos da ETCC anodal sobre o DLPFC e o M1 em adolescentes, adultas e idosas. O desfecho primário foi o limiar de dor pelo calor (HPT), enquanto os desfechos secundários foram o desempenho na tarefa de memória de trabalho (WM), dor moderada ao estímulo térmico e a tolerância ao estímulo térmico. Nossa hipótese foi que o efeito da ETCC seria de maior magnitude em adolescentes, quando a ETCC fosse realizada sobre o DLPFC. **Métodos:** Foram incluídas 30 mulheres saudáveis, destros, com idade entre 15 e 16 anos (adolescentes, n = 10), 30 a 40 anos (adultas, n = 10) e 60 a 70 anos (idosas, n = 10). Neste estudo cruzado e cego, as participantes receberam três sessões de intervenção: ETCC sobre o DLPFC esquerdo, ETCC sobre M1 esquerdo e estimulação simulada. O intervalo entre as sessões foi de pelo menos 7 dias e com alocação randomizada. Durante a estimulação as participantes realizaram tarefas *online* de WM. A intensidade e duração da estimulação ativa foi de 2 mA por 30 min. O HPT foi avaliado antes e após a estimulação. As participantes realizaram n-back, uma tarefa de avaliação de WM, durante e também após a ETCC. Para medidas de desfecho foi avaliada a variação percentual do HPT do pré para o pós ETCC e para o desempenho da WM foi avaliado pela tarefa de n-back após a estimulação. **Resultados:** Um modelo de *Generalized Estimating Equation* (GEE) revelou que a ETCC anodal sobre o DLPFC reduziu o HPT em adolescentes em 3,5%. Em adultos jovens, a ETCC anodal sobre M1, mas não sobre o DLPFC, aumentou o HPT significativamente em comparação com ETCC simulada. Nenhum efeito significativo para HPT foi encontrado no grupo de idosas. Para memória de trabalho o tempo de resposta para acertos foi reduzido para ETCC anodal sobre o DLPFC em adolescentes, em comparação com os outros dois grupos. **Conclusão:** Esses achados sugerem que a ETCC anodal modula a percepção da dor e as funções cognitivas de forma diferenciada de acordo com a idade e a área de estimulação, com maiores efeitos em adolescentes alcançados via ETCC sobre o DLPFC.

A partir dos estudos realizados concluímos que a ETCC modula sensibilidade à dor de maneira distinta para adolescentes, adultos e idosos. No entanto, também a montagem de ETCC apresenta interação com o fator idade para os resultados da estimulação. Na literatura, no entanto há poucos estudos que abordam o uso da ETCC em medidas de dor para crianças, adolescentes ou idosos. Assim, estudos com rigor

metodológico devem ser buscados nestas faixas etárias para melhor elucidar o efeito da ETCC no nível de dor e possível impacto no ambiente clínico.

**Palavras chave:** Estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC), limiar de dor, memória de trabalho, idade, neuroplasticidade, Teste quantitativo sensorial.

## ABSTRACT

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a neuromodulatory technique that has potential to aid in the treatment of chronic pain and other clinical conditions. However tDCS has large variability of effects, what brings inconsistency to the method. Since the effect of tDCS is associated with brain plasticity, factors that influence this plasticity, such as chronological age, modify the response to the method and must be addressed in clinical and research protocols. Individualizing age can improve tDCS protocols efficacy, allowing the proper use of the technique in research and in clinical setting.

In the first study, we evaluated in a systematic review and meta-analysis the existing literature on the effect of tDCS on pain level for children, adolescents and elderly. We aimed to review the knowledge of tDCS effect on pain scores for these particular age groups to elucidate tDCS effect on pain outcomes considering age as a influence factor on two tDCS montages used for the study of pain: primary motor cortex (M1) and dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC). **Methods:** We have conducted a systematic review searching the following databases: PubMed, EMBASE, and Science Direct using the following search terms which were adapted according to MeSh or Entree: [(“Adolescent” OR “Children” OR “Elderly”) AND (“tDCS”) AND (“Pain” OR “Pain threshold”) AND (“dorsolateral prefrontal cortex” OR “Motor cortex)] up to April 20th, 2020. We preselected 228 articles, 13 of which were included in the systematic review, only two studies included adolescents, and none was retrieved with children. The meta-analysis included five studies that showed a lower risk of bias, only studies with elderly. First, we analyzed studies with pain score outcomes (n=4), and the second we analyzed studies that the outcome was the pain threshold (n=3). **Results:** A random-effects model was applied due to data having considerable heterogeneity (I<sup>2</sup> = 60% for pain score). A total of 96 subjects received active stimulation, and most of the studies indicate a favorable effect for active tDCS to reduce the pain score compared to sham tDCS (P =0.002). The standardized mean difference was -0.76 (CI 95% = -1.24 to -0.28). For the pain threshold, 88 elderly received active tDCS. However, the analysis of combined data did not present statistical differences. We included two studies with adolescents, that were divergent in their conclusions: one study using anodal tDCS over the prefrontal cortex reported a reduction in pain scores, contrarily the second study reported an increase in pain sensitivity. **Conclusion:** Our findings suggest a favorable effect of a-tDCS to reduce pain for elderly. Nevertheless the number of included studies was small, and heterogeneity for clinical condition and protocols was present.

The objective of the second study was to compare effects of anodal (a)-tDCS over the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), and primary motor cortex (M1) in adolescents, young adults and elderly . Primary outcome was heat pain threshold (HPT), and secondary outcomes were working memory (WM) performance, heat moderate pain and heat pain tolerance. We hypothesized that the effect of tDCS would be the largest in adolescents for the DLPFC tDCS. **Methods:** We included 30 healthy women within the age ranges of 15 to 16 (adolescents, n= 10), 30 to 40 (young adults, n=10), and 60 to 70 (elderly, n=10) years. In this crossover single-blinded study, participants received three intervention sessions (a-tDCS over the left DLPFC, a-tDCS over left M1, and sham stimulation), separated by at least 7 days coupled with WM online task performance in randomized order. Active stimulation intensity and duration were 2 mA and 30 min, respectively. HPT was evaluated before and after stimulation. Participants performed an n-back WM task during, and also after tDCS. For outcome measures, WM performance after stimulation was evaluated. **Results:** Generalized Estimating Equation (GEE) revealed that

a-tDCS over the DLPFC reduced HPT in adolescents (3.5%). In young adults, a-tDCS over M1, but not the DLPFC, enhanced HPT significantly compared to sham. No significant effect for HPT was found in the elderly group. Response time for hits was reduced for a-tDCS over the DLPFC in adolescents, as compared to the other two groups. **Conclusions:** These findings suggest that a-tDCS modulates pain perception and cognitive functions differentially according to age and target area of stimulation, with larger effects in adolescents achieved via tDCS over the DLPFC.

From the studies we have developed, we concluded that tDCS modulates sensitivity to pain in a different way for adolescents, adults and the elderly. However, the tDCS montage also presents interaction with the age factor for the results of stimulation. In the literature, however, there are few studies that address the use of tDCS for pain measures in children, adolescents or elderly. Thus, further studies with methodological rigor should be sought in these age groups to better elucidate the effect of tDCS on pain and the possible impact on the clinical setting.

### **Keywords**

Transcranial direct current stimulation (tDCS), heat pain threshold, working memory, age, adolescents, elderly, young adults, quantitative sensory testing

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Mecanismos de plasticidade sináptica. A) receptores AMPA e NMDA são necessários para desencadear processos que geram LTP ou LTD através do influxo de cálcio pós-sináptico pelos receptores NMDA. B) Aumento de densidade de receptores AMPA na LTP enquanto a LTD apresenta diminuição da densidade destes. AMPAR: receptor ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazole propiônico;  $Ca^{2+}$ : cálcio; CAMKII: proteína cinase II dependente de CaM;  $Mg^{2+}$ : magnésio; NMDAR: receptor Ácido N-metil-D-aspártico; PP1: proteína fosfatase 1. .... 28
- Figura 2** Evolução do processo de maturação cerebral durante a infância e a adolescência. A imagem representa a diminuição do volume de substância cinzenta definido para cada área cortical dos 5 aos 20 anos de idade. A barra lateral demonstra em unidade o volume de substância cinzenta..... 31
- Figura 3** Parâmetros de ETCC que influenciam na resposta..... 35
- Figura 4** Fatores que modulam a plasticidade induzida por métodos de neuromodulação não invasiva. NBS: estimulação cerebral não invasiva..... 36
- Figura 5** Axônios aferentes primários do estímulo nociceptivo. Figura A) característica e velocidade de resposta. Figura B) sinapse com o segundo neurônio em lâminas específicas no corno dorsal da medula. .... 41
- Figura 6** Mecanismos de sinalização da dor. Linha contínua representado via anterolateral do sistema ascendente: compreende os sistemas espinotalâmico, espinoreticular e espinomesencefálico. Linha tracejada representa via eferente modulatória da dor. Processos da via somatossensorial destacados no processamento do estímulo nociceptivo: *transdução, transmissão, modulação e percepção*. RVM: medula rostral ventromedial; PAG: substância cinzenta periaqueductal. .... 43
- Figura 7** Sistema para integração de informações com os componentes tradicionais de memória de trabalho de Baddeley e a inclusão do componente *Buffer* Episódico..... 48
- Figura 8** Mapa Conceitual..... 54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Estratégia de busca de referências bibliográficas.....	23
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ACC: Córtex Cingulado Anterior – do Inglês *Anterior Cingulate Cortex*
- AMPA: ácido a-amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazolepropiónico
- AMY: Amígdala – do Inglês *Amygdala*
- BDI-II: Inventário de depressão de Beck – II – do Inglês *Beck Depression Inventory II*
- BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro – do Inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*
- BOLD: sinal dependente do nível de oxigenação sanguínea – do Inglês *Blood Oxygen level Dependent*
- CAMKII: proteína cinase II dependente de CaM – do Inglês *Calmodulin-dependent protein kinase II*
- COMT: enzima Catecol-O-Metil Transferase – do Inglês *Catechol-O-methyltransferase*
- CPF: Córtex pré-frontal
- CPT: *Cold Pressor Task*
- DLPFC: Córtex Pré-frontal Dorsolateral – do Inglês *Dorsolateral Prefrontal Cortex*
- EEG: Eletroencefalograma
- EMT: Estimulação Magnética Transcraniana
- EMG: Eletromiógrafo
- ERP: Potenciais relacionados ao eventos – do Inglês *Event Related Potential*
- ETCC: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua
- GABA: ácido gama-aminobutírico
- HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- IDATE: Inventário de Ansiedade Traço-Estado
- INS: Insula
- LTD: Depressão sináptica de longa duração – do inglês *long-term depression*
- LTP: Potencialização sináptica de longa duração – do inglês *long-term potentiation*
- MEP: Potencial Motor Evocado – do Inglês *Motor Evoked Potential*
- mPFC: Córtex Pré-frontal Medial – do Inglês *Medial Prefrontal Cortex*
- MT: Limiar Motor – do Inglês *Motor Threshold*
- M1: Córtex Motor Primário
- NBS: Estimulação cerebral não invasiva – do Inglês *Non-invasive Brain Stimulation*
- NMDA: Ácido N-metil-D-aspártico
- PAG: Substância cinzenta periaquedutal – do Inglês *Periaqueductal Gray*

PCC: Córtex Cingulado Posterior – do Inglês *Posterior Cingulate Cortex*

PP1: Proteína Fosfatase1 – do Inglês *Protein Phosphatase 1*

QST: Teste quantitativo sensorial – do Inglês *Quantitative Sensory Testing*

RVM: Medula Rostral Ventromedial – do Inglês *Rostral Ventromedial Medulla*

TDAH: Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

tDCS: Transcranial direct current stimulation

trkB: Receptor proteína-tirosina quinase B – do Inglês *Tropomyosin receptor kinase B*

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA</b> .....	<b>23</b>
2.1.	ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR INFORMAÇÕES .....	23
2.2.	ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA: UM MÉTODO TERAPÊUTICO SECULAR.....	24
2.3.	NEUROPLASTICIDADE .....	26
2.3.1.	Mecanismos de plasticidade Sináptica.....	26
2.3.2.	Maturação Cerebral .....	29
2.3.3.	Adolescência .....	30
2.3.4.	Senescência Cerebral.....	31
2.4.	ETCC - MECANISMO DE AÇÃO .....	33
2.4.1	Fatores relacionados ao Efeito da ETCC .....	36
2.5	PROCESSAMENTO FISIOLÓGICO DA DOR .....	40
2.6	MODULAÇÃO DA DOR PELA ESTIMULAÇÃO CORTICAL .....	43
2.7	MEMÓRIA DE TRABALHO.....	47
2.7.1	Memória de Trabalho e Estimulação Transcraniana.....	49
<b>3</b>	<b>MAPA CONCEITUAL</b> .....	<b>53</b>
<b>4</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>57</b>
6.1.	OBJETIVO GERAL.....	57
6.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	57
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>58</b>
	<b>ARTIGO I</b> .....	<b>73</b>
	<b>ARTIGO II</b> .....	<b>120</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>158</b>
<b>8</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	<b>160</b>
	<b>ANEXO 1 PRISMA— checklist of information to include when reporting systematic review or meta-analysis</b> .....	<b>162</b>
	<b>ANEXO 2 CONSORT—2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial</b> .....	<b>164</b>
	<b>ANEXO 3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - responsáveis</b> .....	<b>166</b>
	<b>ANEXO 4 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>169</b>
	<b>ANEXO 5 PRODUÇÃO DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO</b> .....	<b>173</b>
	<b>ANEXO 6 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS</b> .....	<b>181</b>

## APRESENTAÇÃO

**Esta tese está estruturada em seis capítulos:**

Capítulo I – Introdução

Capítulo II – Revisão da literatura

Capítulo III – Justificativa, mapa conceitual e objetivos

Referências da revisão da literatura

Capítulo IV – Artigos

Capítulo V – Considerações finais e perspectivas futuras

Capítulo VI - Anexos

## 1 INTRODUÇÃO

A Estimulação transcraniana de corrente contínua (ETCC) é uma técnica de neuromodulação aplicada sobre o escalpo que utiliza aplicação de corrente elétrica contínua de baixa intensidade que circula entre dois eletrodos (NITSCHKE et al., 2008). Seu efeito imediato deve-se à modulação do potencial de membrana celular por mudança de fluxo iônico, que pode aumentar a despolarização ou a hiperpolarização neuronal. A despolarização é gerada por estímulos anódicos e cursa com aumento da excitabilidade, enquanto a hiperpolarização é produzida por estímulos catódicos que diminuem a excitabilidade (NITSCHKE e PAULUS, 2000). Enquanto os efeitos agudos são explicados por mudanças no potencial elétrico mediado pelo fluxo iônico, os efeitos sustentados devem-se a mecanismos de plasticidade sinápticos definidos como potenciação de longa duração (*long term potentiation* - LTP) ou depressão de longa duração (*long term depression* - LTP).

Esta técnica tem mostrado resultados positivos para condições clínicas como síndromes dolorosas crônicas (Zortea et al., 2019), depressão (Brunoni et al., 2017), ansiedade (Stein et al., 2020) e na memória de trabalho (Mylius et al. 2012; Souza et al., 2018). A memória de trabalho está comprometida em doenças com comprometimento neuropsicológico tais como depressão (Christopher e Macdonald, 2005), doença de Parkinson (Lewis et al., 2003), esquizofrenia (Brébion et al., 2014; Kim, 2004), doença de Alzheimer (Kirova, Bays e Lagalwar, 2015), transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Barkley, 1997). Essa técnica de neuromodulação vem conquistando espaço por ser de baixo custo, poucos efeitos adversos e quando presentes transitórios (ANTAL et al., 2017). Além disso, existe a possibilidade de ser feita em domicílio com equipamento desenvolvido em nosso laboratório (CARVALHO et al., 2018).

A montagem dos eletrodos da ETCC é selecionada a partir da região cortical, alvo, que varia de acordo com o objetivo da estimulação. No estudo da dor a estimulação aplicada sobre o córtex motor primário (M1) modula vias envolvidas com os núcleos talâmicos laterais e com o córtex sensitivo, seus efeitos estão relacionados à modulação de aspetos sensório-discriminativas da dor, tais como limiar, qualidade da dor, localização e intensidade (MORTON, SANDHU e JONES, 2016). Enquanto a estimulação aplicada sobre o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo modifica redes neurais envolvidas no processamento afetivo emocional do estímulo nociceptivo.

Especula-se que o efeito observado na aplicação sobre o córtex pré-frontal (CPF) seja mediado pela modulação de redes neurais conexas ao núcleo talâmico medial e o sistema límbico (MORTON; SANDHU; JONES, 2016). Ainda a ETCC sobre CPF parece mediar melhora no desempenho de memória de trabalho através da estimulação sobre funções executivas da memória de trabalho associadas ao CPF (D'ESPOSITO, et al. 2000).

No entanto, ainda se conhece pouco sobre fatores que podem modificar a magnitude de efeito e a variabilidade entre os sujeitos encontrados na ETCC. Além dos fatores relacionados à técnica como a intensidade de corrente, tempo de estimulação e montagem de eletrodos, seu efeito é dependente do estado de plasticidade de cada indivíduo. Em sendo assim, dependente dos diversos fatores que influenciam a plasticidade, tais como idade, hormônios gonadais (sexo), psicofármacos, tipologia circadiana, polimorfismos genéticos, atividade física. (RIDDIS e ZIEMANN, 2010).

Dentre esses fatores que modulam a plasticidade cerebral, a idade cronológica também é um fator de grande importância e que deve ser mais bem compreendido. Até o presente o efeito da idade em protocolos de estudos da ETCC relacionados à dor ou memória de trabalho não tem recebido a devida consideração.

O cérebro, ao longo das duas primeiras décadas de vida, passa pelo processo de maturação com a mielinização e a seleção sináptica (SOWELL et al., 2003). Em especial, a adolescência é um período de acentuada neuroplasticidade, em que ocorre a maturação da região do lobo frontal (KONRAD, FIRK e UHLHAAS, 2013). Esta é uma das maiores diferenças do cérebro do adolescente comparado ao do adulto (SOWELL et al., 1999). O Lobo cerebral pré-frontal também é o mais afetado no processo fisiológico de senescência (RESNICK et al., 2003). Na senescência cerebral, os principais achados são a redução do número de neurônios, da espessura cortical (TERRY, DETERESA e HANSEN, 1987) e de fibras mielinizadas (MARNER et al., 2003). Também, na senescência cerebral há uma menor capacidade para desencadear processos de LTP (BARNES, 1979). Como pode ser observado, o córtex pré-frontal exibe grande variação na plasticidade ao longo da vida, o que fundamenta a hipótese que a estimulação do córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) possa apresentar efeito distintos desta técnica entre os grupos etários. A diferença de efeito da estimulação por idade foi sugerida, também, em estudos que compararam diretamente adultos jovens e idosos para efeito de ETCC anodal sobre DLPFC. Nesses estudos, o efeito da ETCC em reduzir afeto negativo, melhorar recuperação de memória (PETER et al., 2019) e aumentar desempenho de memória associativa (LEACH et al., 2019) foi encontrado apenas para

adultos jovens.

Enquanto o CPF evidencia variabilidade morfológica e funcional acentuada entre as faixas etárias, o córtex motor apresenta maturação completa na adolescência e uma menor alteração morfológica na senescência cerebral (SOWELL, THOMPSON e TOGA, 2004). Embora o córtex motor apresente características mais estáveis ao longo da vida, tem sido demonstrado que o efeito da ETCC sobre M1 varia entre as diferentes faixas etárias. Quando avaliado o efeito da ETCC em M1 sobre a excitabilidade da via motora, mensurada pelo MEP, foi encontrado diferença de efeito entre adolescentes e adultos jovens. A estimulação catodal sobre M1 com uma intensidade de corrente de 1mA em adultos, causou redução da excitabilidade da via corticoespinal (BATSIKADZE et al., 2013; NITSCHKE e PAULUS, 2000), enquanto em adolescentes aumentou a excitabilidade (MOLIADZE et al., 2015). Outro estudo demonstrou diferença entre adultos jovens e idosos para variabilidade de MEP em um protocolo de estimulação associativa emparelhada (PAS), com uma redução linear conforme a idade da magnitude da variação de MEP após PAS, tanto para incremento quanto diminuição desse (MULLER-DAHLHAUS et al., 2008). Estas evidências sugerem que o efeito da ETCC aplicada em M1 são também modulados pela idade.

Considerando o exposto, e que a matriz das linhas de investigação do laboratório de Dor e Neuromodulação estão voltadas para a compreensão dos efeitos da estimulação transcraniana na regulação de processos de fisiológicos, fisiopatológicos e terapêuticos, este estudo investigou o impacto da idade no efeito da ETCC. E, se há convergência deste efeito entre a idade e a montagem. Para responder a esta questão nesta tese apresentamos dois estudos com objetivos complementares. No primeiro estudo apresentamos uma revisão sistemática e meta-análise sobre o efeito da ETCC nas medidas de dor em crianças, adolescentes e idosos, com a finalidade de compilar evidência sobre o impacto da idade como fator mediador da resposta a ETCC aplicada no M1 e no DLPFC. O segundo estudo teve como objetivo comparar os efeitos da ETCC anodal sobre o DLPFC e o M1 em adolescentes, adultas e idosas. O desfecho primário foi o limiar de dor pelo calor (HPT, avaliado em graus Celsius), enquanto os desfechos secundários foram o desempenho na tarefa de memória de trabalho (WM), a dor moderada ao estímulo térmico e tolerância ao estímulo térmico. Nossa hipótese foi que o efeito da ETCC seria de maior magnitude em adolescentes, quando a ETCC fosse realizada sobre o DLPFC. Esta tese está apresentada de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio

Grande do Sul e originou uma revisão sistemática e meta-análise submetido a *Frontiers in Human Neuroscience* e um artigo aceito na *Frontiers in Aging Neuroscience*.

## 2 REVISÃO SISTEMATIZADA DA LITERATURA

### 2.1. ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

Esta revisão da literatura está focada em investigar o efeito de ETCC para diferentes grupos etários: adolescentes, adultos e idosos, os quais apresentam propensão basal à neuroplasticidade distinta. Os desfechos de interesses são o limiar de dor e a memória de trabalhos e a intervenção em estudo e a ETCC anódica aplicada sobre o M1 e o DLPFC. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: MEDLINE (PubMed), EMBASE, SciELO e Lilacs, sem período delimitado. Foram realizadas buscas por meio dos descritores [MeSH (MEDLINE/PubMed) , Emtree (EMBASE), DeCS (Lilacs)], além de palavras-chave quando os termos não foram encontrados: (1) *adolescent or teen or teenager or youth*; (2) *young adult or adult*; (3) *elderly or aged*; (4) *transcranial direct current stimulation or tDCS* ; (5) *neuroplasticity or neuronal plasticity*; (6) *pain threshold* ; (7) *pain*; (8) *working memory*; (9) *dorsolateral prefrontal cortex or DLPFC*; (10) *motor cortex or M1*. Inicialmente os termos foram investigados individualmente, para depois agrupá-los.. A tabela 1 sintetiza a estratégia de busca das referências bibliográficas usadas, com base nos aspectos que estruturam o objetivo do estudo.

Os artigos foram rastreados por meio dos títulos e resumos e, após a exclusão das duplicações e leitura dos *abstracts* para confirmação da relação com os temas, 126 artigos foram selecionados para a leitura completa. A partir da leitura dos artigos selecionados foi realizada busca ativa de artigos que envolvem os termos de pesquisa através das referências dos artigos selecionados, esses artigos de referência também foram incluídos. Além desta busca sistematizada e voltada aos fatores em estudo e aos desfechos, também foram consultados livros, textos, artigos de revisão e artigos de ciência básica – para que fosse possível a construção do racional teórico relacionado aos aspectos conceituais, processos fisiológicos e mecânicas.

**Tabela 1** Estratégia de busca de referências bibliográficas

	PubMed	Embase	Lilacs	SciELO
“Adolescent”	2.084.811	1.738.031	83.017	16.323
“Young Adult”	9.568.302	9.161.850	191.682	21.991
“Elderly”	5.340.915	4.586.938	54.445	26.839

“tDCS”	5.506	7.399	49	46
“Neuroplasticity”	77.065	87.178	164	204
“Pain Threshold”	24.268	21.147	294	16.269
“Pain”	818.695	1.301.577	23.601	16.857
“Working Memory”	53.339	50.435	182	1.371
“DLPFC”	52.881	12.581	304	5
“M1”	97.930	14.014	341	163
“Adolescent” AND “tDCS”	536	230	3	0
“Young Adult” AND “tDCS”	2.163	3.890	9	1
“Elderly” AND “tDCS”	1.103	993	8	3
“Pain” AND “tDCS”	474	1.079	9	7
“Pain” AND “tDCS” AND “M1”	139	316	0	2
“Pain” AND “tDCS” AND “DLPFC”	77	135	0	1
“Pain Threshold” AND “tDCS”	59	101	0	0
“Pain Threshold” AND “tDCS” AND “M1”	33	64	0	0
“Pain Threshold” AND “tDCS” AND “DLPFC”	13	23	0	0
“Working Memory” AND “tDCS”	352	533	0	2
“Adolescent” AND “Young Adult” AND “Elderly” AND “tDCS”	145	0	0	0
“Adolescent” AND “Young Adult” AND “Elderly” AND “tDCS” AND “Pain Threshold”	5	0	0	0
“Adolescent” AND “Young Adult” AND “Elderly” AND “tDCS” AND “Working Memory”	11	0	0	0
“Adolescent” AND “Young Adult” AND “Elderly” AND “tDCS” AND “Working Memory” AND “Pain Threshold”	0	0	0	0

## 2.2. ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA: UM MÉTODO TERAPÊUTICO SECULAR

É importante entender como aconteceu a evolução da ciência nesta área do conhecimento ao longo da história. O registro do uso da eletricidade como método terapêutico remete-nos às primeiras décadas da era cristã, quando acidentalmente a dor da gota foi aliviada pelo choque elétrico ao contato com um peixe torpedo. A partir deste evento, o tratamento com o peixe torpedo passou a ser recomendado para tratamento da dor como também epilepsia (KELLAWAY, 1946). Seu uso no contexto da ciência ocorreu então em 1780, quando Galvani demonstrou a contração elétrica do músculo da rã e desenvolveu a bateria de corrente contínua (bateria galvânica) (ZAGO et al., 2008). Então, em 1874, foi apresentada a documentação da primeira estimulação elétrica do cérebro humano num indivíduo acordado, quando o córtex motor foi exposto durante o desbridamento de um foco de osteomielite em uma área do couro cabeludo. Foi observada contração muscular à estimulação elétrica, mas não à estimulação mecânica.

No século XIX, e desta forma, iniciou-se o uso da estimulação por corrente contínua para o tratamento de transtornos neurológicos e psiquiátricos, ganhando



popularidade entre os psiquiatras. Também é deste momento que datam os primeiros estudos experimentais para avaliar o efeito da estimulação elétrica. No entanto, possivelmente devido a resultados controversos, falta de conhecimento de mecanismos neurofisiológicos e uma popularização na crença de efeito apenas por sugestão (placebo), o uso da estimulação elétrica foi abandonado na década de 30 na psiquiatria (SARMIENTO; SAN-JUAN; PRASATH, 2016). A utilização da técnica, todavia, continuou sendo empregada para tratamento de transtornos neuromusculares ou de dor periférica (BRUNONI et al., 2012). De modo que, no início do século XX, surgiu a estimulação para o tratamento da dor crônica por eletrodos implantados: o primeiro estimulador elétrico projetado especificamente para aliviar a dor. Posteriormente, surgiu a estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS) e os procedimentos estereotáxicos.

Em 1964, Lippold e Rudfearn (1964) reportaram diferença de efeito anodal e catodal da estimulação. Para a estimulação por corrente direta anodal relataram incremento da atenção, do humor e da atividade motora, enquanto a estimulação catodal cursou com apatia (LIPPOLD e REDFEARN, 1964). Em 1969, Reynolds demonstrou que a estimulação da área periventricular de ratos produziria analgesia profunda a ponto de permitir que fossem operados (REYNOLDS, 1969). Após um então período de menor atenção a estimulação elétrica contínua estudos de Priori et al, 1998 e Nitsche & Paulus 2000, reintroduziram a técnica e demonstraram que a estimulação por corrente contínua transcraniana é segura e induz mudanças na excitabilidade cortical dependentes da polaridade utilizada (NITSCHKE; PAULUS, 2000; PRIORI et al., 1998).

Deste modo o uso da ETCC de baixa intensidade (1-2 mA) direcionada ao escalpo via dois eletrodos (cátodo e ânodo), com uma perspectiva fundamentada em neurociência ocorreu há pouco mais de duas décadas (NITSCHKE e PAULUS, 2000). Desde então inúmeras publicações têm sido feitas com resultados promissores. Por ser uma técnica não invasiva, apresentar baixo custo e fácil aplicação em comparação com outras técnicas de neuroestimulação, a ETCC vem conquistando espaço no meio clínico e apresenta-se como alternativa não farmacológica com grande potencial de benefício no tratamento de doenças crônicas (LEFAUCHEUR et al., 2017). Outra característica da técnica, e de grande relevância para o uso clínico, é a baixa incidência de efeitos adversos, que se caracterizam por serem de baixa gravidade e transitórios, tais como: cefaleia, tontura, náusea, prurido, eritema ou irritação cutânea no local de aplicação dos eletrodos (BRUNONI et al., 2011; ZEWDIE et al., 2020). No entanto, ainda existe muito para ser explorado para compreender os efeitos da técnica e a relação com o princípio

fundamental que permeia os efeitos da terapia com eletricidade: a remodelação dos processos sinápticos disfuncionais, um processo mediado pela neuroplasticidade.

### 2.3. NEUROPLASTICIDADE

Neuroplasticidade se refere à habilidade intrínseca de o sistema nervoso responder e se adaptar a estímulos e demandas internas ou do ambiente (KOLB; GIBB, 2014). Compreende uma série de alterações funcionais e estruturais que culminam em remodelação neuronal, formação de novas sinapses e surgimento de novos neurônios. Estes processos podem ser de curto ou longo prazo, como exemplo, a memória de curto e longo prazo (PASCUAL-LEONE et al., 2011). A plasticidade pode ser considerada um índice da capacidade neuronal de adaptar a função as diferentes demandas. Donoghue et al. (1996) definiu neuroplasticidade como “qualquer mudança morfológica ou funcional em neurônios, ou em vias neuronais, dependente de experiências”. Afirmando que o cérebro é um órgão plástico e pode sofrer mudanças ao longo da vida, de acordo com estímulos a que é exposto (DONOGHUE e HESS, 1996).

Virtualmente toda experiência pode alterar, pelo menos de maneira breve, estrutura ou função cerebral e, como resultado, alterar o comportamento. Embora o conhecimento sobre os princípios que determinam e regulam a neuroplasticidade ainda é inicial (KOLB e GIBB, 2014) é possível apontar que alterações do comportamento correlacionam-se com alterações ao nível estrutural como ganho ou perda de sinapses, ou funcional com aumento, ou diminuição da eficácia sináptica (CARONI, DONATO e MULLER, 2012).

Estas alterações sinápticas estão relacionadas com a expressão de genes e eventos moleculares e não são lineares. Isto induz a suposição errônea, que os comportamentos positivos, tais como o aprendizado, está relacionado a adição de sinapses, enquanto o comportamento negativo, como os relacionados ao estresse estão relacionados com a perda de sinapses. O que ocorre é que a maioria das mudanças de comportamento está relacionada com ambas, a adição e a subtração de sinapses (KOLB e GIBB, 2014).

#### 2.3.1 Mecanismos de plasticidade Sináptica

A plasticidade sináptica pode ser de curto ou longo prazo. A plasticidade de curto prazo é gerada por estímulos breves, apresenta duração de milissegundos até alguns minutos ou horas e gera mudanças transitórias de comportamento, de vias neuronais ou

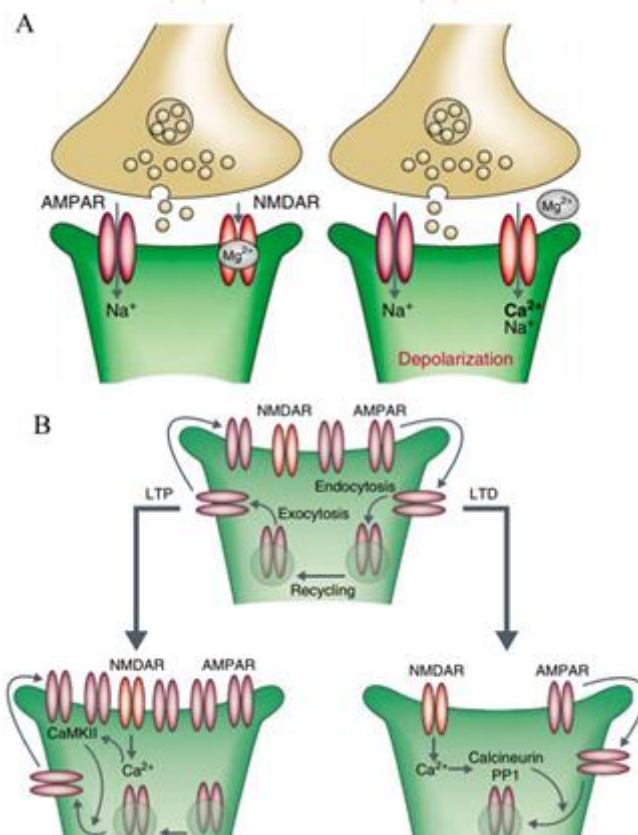
memória de curto prazo (ZUCKER e REGEHR, 2002). Plasticidade sináptica de curto prazo ocorre por aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  no neurônio pré-sináptico que altera processos bioquímicos, os quais regulam a liberação de neurotransmissores e aumentam a liberação desses na fenda sináptica. Além dos neurônios pré-sináptico e pós-sináptico a célula da Glia parece estar associada à plasticidade sináptica de curta duração (ARAQUE, CARMIGNOTO e HAYDON, 2001) pelo seu papel na degradação e limpeza dos neurotransmissores livres na fenda sináptica. A célula da Glia parece regular a plasticidade pela velocidade que imprime neste processo ou por liberar substâncias ativas na fenda sináptica (ARAQUE, CARMIGNOTO e HAYDON, 2001; BERGLES, DIAMOND e JAHR, 1999).

Durante a atividade sináptica, LTP e LTD são desencadeados pela ativação dos receptores NMDA (N-methyl-D-aspartic acid). Em uma sinapse em estado funcional basal o glutamato liberado pelo neurônio pré-sináptico liga-se aos receptores AMPA (amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) e NMDA do neurônio pós-sináptico. Inicialmente o glutamato, no entanto ativa apenas o fluxo de sódio pelos receptores AMPA desencadeando a despolarização do neurônio pós-sináptico. Quando ocorre a despolarização do neurônio pós-sináptico o íon de magnésio que bloqueia os receptores NMDA é deslocado e o fluxo de sódio e cálcio pelos receptores NMDA é iniciado (figura 1A) (MALENKA e NICOLL, 1993). A elevação do nível de cálcio atinge então um limiar que ativa uma cascata de quinases ocasionando por fim o aumento da densidade de receptores AMPA no terminal pós-sináptico modulando assim a plasticidade sináptica em LTP (BREDT e NICOLL, 2003).

Os receptores sinápticos apresentam um ciclo fisiológico entre a membrana sináptica e compartimentos intracelulares e com a indução de LTP ocorre um aumento da exocitose de receptores AMPA e estabilização desses na membrana pós-sináptica (Figura 1B). A fase tardia da LTP cursa com a remodelação estrutural das espículas sinápticas (LUSCHER et al., 2000) com aumento do seu tamanho ou criação de novas espículas (MATSUZAKI et al., 2004; YUSTE e BONHOEFFER, 2001). A exata cascata de sinalização intracelular que desencadeia a LTP ainda é imprecisa, no entanto, a participação da CAMKII (proteína cinase II dependente de CaM) parece estar fortemente associada aos processos de LTP (BARRIA et al., 1997).

Estudos com animais demonstraram que formação de LTP fora inibida para camundongos *knock down* para CAMKII (SILVA et al., 1992). Na LTD, o neurônio pós-sináptico sofre uma despolarização parcial e apenas parte dos receptores NMDA são

desbloqueados (SELIG et al., 1995), isso resulta num aumento modesto no nível de cálcio no neurônio pós-sináptico, mas suficiente para desencadear uma cascata metabólica com ativação de fosfatases, como calcineurina e PP1 (proteína fosfatase 1) (CUMMINGS et al., 1996). A ativação da cascata de fosfatases na LTD ocasiona um aumento da endocitose dos receptores AMPA, e diminui a concentração desses receptores na membrana sináptica (BEATTIE et al., 2000). Estudos experimentais com a inibição de calcineurina e PP1 no neurônio pós-sináptico impediram que ocorresse o processo de LTD (KIRKWOOD e BEAR, 1994; MORISHITA et al., 2001; MULKEY et al., 1994).



**Figura 1** Mecanismos de plasticidade sináptica. A) receptores AMPA e NMDA são necessários para desencadear processos que geram LTP ou LTD através do influxo de cálcio pós-sináptico pelos receptores NMDA. B) Aumento de densidade de receptores AMPA na LTP enquanto a LTD apresenta diminuição da densidade destes. AMPAR: receptor ácido a-amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazole propiônico; Ca<sup>2+</sup>: cálcio; CaMKII: proteína cinase II dependente de CaM; Mg<sup>2+</sup>: magnésio; NMDAR: receptor Ácido N-metil-D-aspartico; PP1: proteína fosfatase 1. **Fonte:** Adaptado de CITRI e MALENKA, 2008.

Observa-se que diferentes padrões de atividade podem, portanto, desencadear efeito bidirecional sobre a atividade sináptica: de potenciação ou depressão de longa ação. A LTP e LTD são mecanismos subjacentes a neuroplasticidade dependente de experiência, e importantes para a ETCC, pois se defende que o efeito desta técnica neuromodulatória seja regulado e mediado por processos de plasticidade sináptica (STAGG e NITSCHKE, 2011). A partir deste racional e plausível relacionar os efeitos da ETCC com a maturação e com a senescência cerebral.

### **2.3.2. Maturação Cerebral**

A maturação cerebral é um fenômeno que se desenvolve nas primeiras duas décadas de vida e compreende dois fenômenos principais, a mielinização e a seleção sináptica (SOWELL, THOMPSON e TOGA, 2004). A mielinização é o processo responsável por gerar camadas de mielina ao nível axonal, as quais são originadas de projeções de oligodendrócitos. É um evento importante, pois a bainha de mielina permite o aumento da velocidade na transmissão de potenciais de ação do axônio. A mielinização definitiva decorre de um processo inicial de mielinização generalizada e indiscriminada, este processo é então seguido de um refinamento com seleção de axônios que permanecerão mielinizados. Esta seleção é guiada pela atividade dos axônios, promovendo a mielinização de maneira atividade dependente. Assim, ocorre o fortalecimento de circuitos neurais específicos de acordo com estímulos, ou seja, de acordo com a atividade neuronal (HINES et al., 2015).

Estudos com ratos afastados do convívio social de 21 a 35 dias de vida, idade na qual ocorre a mielinização, apresentaram alteração da mielinização do córtex pré-frontal e um prejuízo na interação social e na memória de trabalho. Este achado mostra que a atividade neuronal regula o processo de mielinização e que a experiência pode alterar este processo (HINES et al., 2015). A mielinização inicia no final do segundo semestre de vida intrauterina e se prolonga até a segunda década de vida.

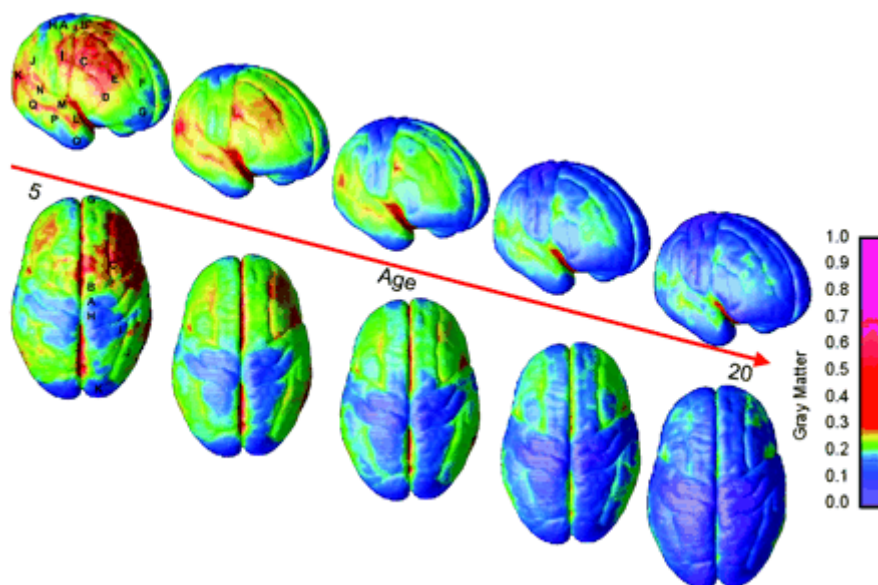
Benes et al., (1994) examinaram o cérebro de 164 indivíduos de 0 a 76 anos, e encontraram um aumento de 95% de mielinização na primeira e segunda década de vida. O dado quando corrigido para tamanho cerebral ainda apresentou um aumento de 92% na comparação de grupos de indivíduos de 0 a 9 anos e 10 a 19 anos, sugerindo que o processo de mielinização ocorre de maneira mais proeminente na segunda década de vida (BENES, TURTLE e KHAN, 1994).

Um estudo que acompanhou 13 crianças e adolescentes entre 4 e 21 anos com ressonância nuclear magnética cerebral realizada a cada 2 anos por um período total de 8 a 10 anos de seguimento dos voluntários, descreveu o processo de maturação cerebral como não linear . A maturação inicia pelo córtex parietal, mais especificamente em córtex somatossensorial primário e então progride rostralmente para córtex frontal e caudal e lateralmente para córtex occipital , parietal e temporal. No córtex frontal a maturação do giro pré-central ocorre cedo, ainda na infância, enquanto o córtex pré-frontal é o último a apresentar este processo. O estudo ressalta ainda que o DLPFC apresenta processo de maturação somente no final da adolescência (Figura 2) (GOGTAY et al., 2004).

Outro fenômeno presente na maturação cerebral é a seleção sináptica. Huttenlocher et al. 1979 registraram a redução da densidade sináptica, que ocorre durante a infância e a adolescência, em estudos *post-mortem* (HUTTENLOCHER, 1979). Apesar de não poder ser demonstrado diretamente por neuroimagem, estudos com ressonância nuclear magnética relataram um afinamento da substância cinzenta em córtex frontal e parietal durante a infância e adolescência, e que crianças de 8 a 10 anos têm significativamente mais substância cinzenta cortical, comparado a adultos, quando ajustado para o tamanho cerebral (JERNIGAN e TALLAL, 1990; SOWELL, THOMPSON e TOGA, 2004). A menor espessura da substância cinzenta do córtex pré-frontal em crianças e adolescentes com idade entre 7 e 16 anos foi correlacionada com melhor desempenho em testes de memória (SOWELL et al., 2001) indicando que a maturação cerebral é um processo necessário para o aprimoramento de sistemas e capacidades cerebrais mais especializadas e está correlacionado com o desenvolvimento cognitivo.

### **2.3.3. Adolescência**

A adolescência é um período do desenvolvimento cerebral que se destaca por grande neuroplasticidade devido ao processo de maturação cerebral apresentado acima (KONRAD, FIRK e UHLHAAS, 2013). Este processo, característico desse período da vida é necessário para o apropriado desenvolvimento intelectual e emocional. A diferença fundamental entre os cérebros dos adolescentes e dos adultos está na intensidade de neuroplasticidade do lobo frontal (SOWELL et al., 1999). Processo essencial para a resposta de inibição, regulação emocional, e organização, funções com processamento regulado pelo lobo frontal, cujo processo de maturação está em curso na adolescência (KONRAD, FIRK e UHLHAAS, 2013).



**Figura 2** Evolução do processo de maturação cerebral durante a infância e a adolescência. A imagem representa a diminuição do volume de substância cinzenta definido para cada área cortical dos 5 aos 20 anos de idade. A barra lateral demonstra em unidade o volume de substância cinzenta. **Fonte:** Reproduzido de GOGTAY et al., 2004.

#### 2.3.4. Senescência Cerebral

A senescência cerebral é um processo fisiológico associado ao envelhecimento e compreende alterações morfológicas e funcionais inclusive alterando plasticidade sináptica (SOWELL, THOMPSON e TOGA, 2004). Alterações morfológicas do processo de senescência cerebral se caracterizam por redução de fibras mielinizadas (MARNER et al., 2003) e redução do tamanho dos neurônios (TERRY, DETERESA e HANSEN, 1987). O processo de mielinização ocorre em algumas regiões até a quinta década, quando a mielinização cerebral é máxima, seguida pelo início do declínio, com a redução das fibras mielinizadas (BENES et al., 1994). A redução do volume cortical parece ocorrer por diminuição do tamanho neuronal e não do número destes. Estudos in vivo com uso de ressonância magnética comprovam a diminuição do tamanho dos neurônios, com conseqüente perda do volume de substância cinzenta. Este processo é também acompanhado por perda de volume de substância branca (GOOD et al., 2001).

Um estudo longitudinal que estudou a perda do tecido cerebral ao longo de quatro anos de acompanhamento de 92 indivíduos idosos com média de idade de 79.5 (+6,4) anos com ressonância nuclear magnética demonstrou perda de substância branca e substância cinzenta mesmo no subgrupo de idosos considerados muito saudáveis. As

maiores perdas de volume foram localizadas em lobos frontal e parietal, enquanto lobos occipital e temporal apresentaram menores reduções do volume. A avaliação dos ventrículos cerebrais demonstrou aumento de tamanho no seguimento de 4 anos, mais pronunciado para participantes de maior idade (RESNICK et al., 2003).

Comparado a adultos jovens, idosos apresentam significativamente menor perfusão e menor metabolismo de oxigênio na substância cinzenta cortical, assim como uma menor densidade desta em todo o cérebro (SOWELL et al., 2004). Ao nível celular, estudos com animais demonstraram que na senescência a plasticidade sináptica é reduzida, particularmente pelo declínio dos processos de LTP (BARNES, 1979; REX et al., 2005). Com o envelhecimento ocorre um desfavorecimento para indução e manutenção de LTP, assim como uma redução da fase tardia da LTP (BARNES e MCNAUGHTON, 1983; BARNES, RAO e HOUSTON, 2000). Enquanto na senescência, ocorre uma facilitação para indução da LTD (NORRIS, KOROL e FOSTER, 1996). Esta maior propensão à LTD pode estar relacionada com a homeostase do  $Ca^{2+}$ . Em estudos experimentais, animais idosos apresentam maior concentração basal de  $Ca^{2+}$  nos neurônios do hipocampo, isso ativa fosfatases que medeiam a LTD fazendo que, mesmo estímulos fracos, induzam a LTD (FOSTER e NORRIS, 1997).

O efeito da senescência também tem sido demonstrado com diminuição da funcionalidade em aspectos cognitivos, avaliados pela velocidade de processamento, memória de trabalho, aprendizagem, memória e raciocínio. Contudo, apesar das mudanças neurofisiológicas, idosos mantêm comportamento adaptado a diversas atividades de vida diária (GOH e PARK, 2009). Segundo Goh e Park (2009), é possível que ocorra um processo de compensação, em que outras redes neurais principalmente nas áreas frontais, são recrutadas para auxiliar no bom desempenho de funções específicas (GOH e PARK, 2009). Este fenômeno é demonstrado em idosos pela ativação frontal bilateral para realização de tarefas cognitivas, enquanto que em adultos jovens a atividade é lateralizada: como exemplo a memória de trabalho verbal é processada no hemisfério esquerdo e memória de trabalho espacial no hemisfério direito (REUTER-LORENZ et al., 2000). O processo de senescência cerebral desencadeia mecanismo compensatório onde áreas cerebrais adicionais são recrutadas, expandindo a atividade cortical para processamento de informações e compensação para o declínio funcional em outra atividade ou área cortical (REUTER-LORENZ e CAPPELL, 2008).



## 2.4. ETCC - MECANISMO DE AÇÃO

Os efeitos desencadeados com o uso desta técnica ocorrem por gradiente iônico sob os eletrodos catodal e anodal, de modo que na região do corpo dos neurônios sob o ânodo, ocorre aumento do potencial de membrana, enquanto sob o eletrodo catódico ocorre hiperpolarização do corpo neuronal (REINHART et al., 2017). Como mencionado ao longo desta revisão os efeitos persistentes da ETCC devem-se a plasticidade sináptica de LTP e LTD e a reorganização dos circuitos neuronais, criando conexões neuronais mais duradouras. Outro fator que contribui para a ação neuromodulatória da ETCC é a secreção do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). A neurotrofina BDNF está envolvida em diversas formas de plasticidade sináptica (AKANEYA et al., 1997; LU, 2003), sua secreção é dependente de cálcio e de ativação de receptores NMDA (BALKOWIEC e KATZ, 2002).

A maioria das ações celulares do BDNF são mediadas por seu receptor de alta afinidade, o receptor proteína-tirosina quinase B (Tropomyosine Receptor Kinase B – trkB), abundante durante o desenvolvimento, e amplamente distribuído no sistema nervoso central (SNC) de animais adultos, sugerindo um papel contínuo para BDNF durante a vida (MERIGHI et al., 2008). Um estudo experimental com ETCC anodal sobre lâminas de M1 de camundongos aumentou o potencial excitatório pós-sináptico, no entanto, este efeito foi nulo para camundongos knockout para o gene de BDNF ou quando receptores TrkB do BDNF foram bloqueados (FRITSCH et al., 2010).

O efeito da ETCC também é determinado por parâmetros intrínsecos ao método como: intensidade de corrente, tempo de estimulação, montagem de eletrodos e polaridade (Figura 3). A corrente da ETCC é determinada em miliamperes e o efeito é dependente da intensidade da corrente, mas não de maneira linear. Embora estudos realizados há quase duas décadas tenham demonstrado que estimulações mais longas e com maior intensidade de corrente geravam efeitos mais proeminentes sobre a excitabilidade cortical mensurada por potencial evocado motor (MEP) (NITSCHKE e PAULUS, 2000), um estudo recente demonstrou que em adultos jovens a estimulação anódica sobre M1 com intensidade de 0,5mA, 1mA, 1,5mA e 2mA por 20 minutos produziu aumento da excitabilidade cortical similar. Ao testar a estimulação catódica sobre a mesma área, no entanto apenas a intensidade de 1mA produziu redução sustentada da excitabilidade cortical (JAMIL et al., 2017).

Outro estudo demonstrou que a estimulação catódica com 1mA gerou inibição

cortical, enquanto a intensidade de corrente de 2mA aumentou a excitabilidade, efeito contrário ao esperado (BATSIKADZE et al., 2013). Em adolescentes o mesmo efeito antagônico ocorre com a estimulação catódica de 1mA que produziu efeito excitatório (MOLIADZE et al., 2015). Esta resposta reversa foi relacionada ao influxo excessivo de cálcio, com carga suficiente para desencadear fenômeno de LTP e não de LTD (BATSIKADZE et al., 2013; LISMAN, 2001). Estudo que avaliou o efeito anódico de 1 e 2mA na memória de trabalho e na fluência verbal encontrou efeito com a corrente de 2mA, mas não com 1mA (BOGGIO et al., 2006; IYER et al., 2005). Quanto a duração da estimulação, estudo conduzido por Monte-Silva et al (2013) demonstrou que a estimulação anódica com 1mA por 13 minutos aumentou a excitabilidade, e que no tempo estendido de 26 min ocorreu inibição (MONTE-SILVA et al., 2013).

Outros estudos têm demonstrado que estimulação breve de ETCC por alguns segundos não induz efeitos duradouros após cessado a estimulação, no entanto protocolos com duração superior a 10 minutos modificam excitabilidade cortical com duração de até uma hora (NITSCHKE et al., 2008; NITSCHKE e PAULUS, 2000). Logo, a intensidade da corrente utilizada, assim como o tempo de estimulação, ambos modulam o efeito esperado da ETCC e devem ser considerados nos protocolos de estudo ou tratamento.

Finalmente, a montagem dos eletrodos da ETCC é escolhida de acordo com objetivo terapêutico e altera o efeito da neuromodulação. Para o tratamento da dor duas regiões têm sido alvos de investigação: DLPFC e o M1 (VASEGHI, ZOGHI e JABERZADEH, 2014; ZORTEA et al., 2019). A literatura mostra que protocolos que utilizam a mesma intensidade de corrente e o mesmo tempo de estimulação produziram efeitos distintos nos níveis de dor, que foi relacionando a região de aplicação da ETCC. Boggio et al (2008) demonstrou que a estimulação anódica de 2mA por 5 min sobre M1 e sobre o DLPFC elevou o limiar de dor em 8.3% e 10%, respectivamente. No mesmo estudo, a estimulação do córtex occipital não produziu efeito no limiar de dor comparado a estimulação simulada (BOGGIO et al. 2008). Outro estudo que avaliou desempenho em memória de trabalho demonstrou que, ao alterar a posição do eletrodo de DLPFC para M1, o efeito da ETCC sobre o desfecho era anulado (FREGNI et al., 2005).

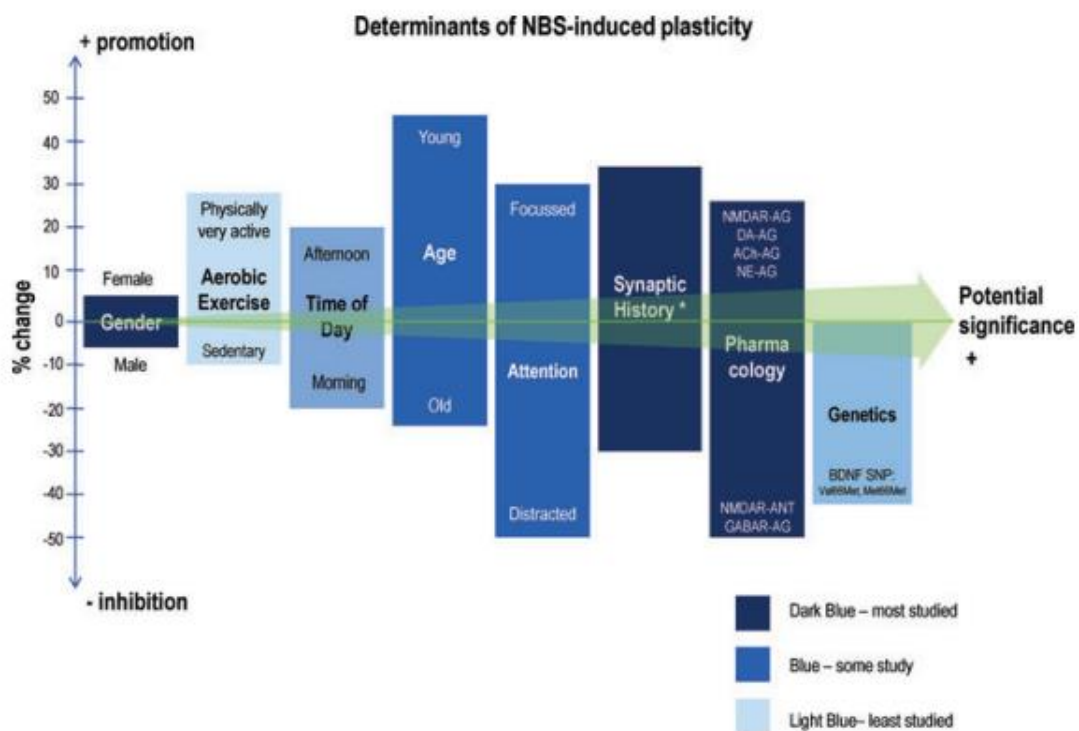


**Figura 3** Parâmetros de ETCC que influenciam na resposta

Além dos efeitos locais sobre a plasticidade sináptica, a ETCC também modula redes neuronais (FRANCIS, GLUCKMAN e SCHIFF, 2003) e pode interferir na conectividade funcional, sincronização e atividades oscilatórias em várias redes corticais e subcorticais. Polanía et al. (2011) demonstrou por medidas de eletroencefalograma (EEG) que a estimulação anódica sobre M1 aumenta a conectividade funcional em áreas pré-motoras, motoras e áreas sensório-motoras no hemisfério estimulado (POLANIA et al., 2011). Outro estudo que avaliou o efeito da estimulação anódica sobre M1 por neuroimagem demonstrou aumento do fluxo sanguíneo em áreas corticais de M1, sensório-motoras e também de áreas subcorticais (LANG et al., 2005). Estudo com ressonância nuclear magnética funcional com sinal BOLD (sinal dependente do nível de oxigenação sanguínea) demonstrou que a estimulação catódica em M1 diminuiu a atividade cortical em área motora suplementar, mas não encontrou alterações em M1. Este achado sugere uma distribuição espacial do efeito da ETCC (BAUDEWIG et al., 2001). A estimulação anódica com 2mA sobre o DLPFC influenciou a atividade de áreas cerebrais frontais aferido por EEG distantes do eletrodo com ativação do giro fronto-medial, do córtex cingulado anterior (ACC) e do córtex subgenual (KEESER et al., 2011a).

### 2.4.1. Fatores relacionados ao Efeito da ETCC

As técnicas de estimulação cerebral não invasivas permitem um entendimento único de aspectos da fisiologia, plasticidade e características de comportamento cortical. No entanto, há limitações com os modelos atuais que potencialmente restringem o seu uso. Especialmente importante é o fato que a resposta à estimulação é altamente variável (RIDDING; ZIEMANN, 2010). Visto que o efeito da ETCC é dependente da propensão à neuroplasticidade basal de cada indivíduo, fatores que modulam a capacidade plástica de cada indivíduo afetam a resposta ao método. Estes fatores podem ser intrínsecos, como fatores genéticos e da estrutura do cérebro, e outros como sexo, psicofármacos, exercício, tipologia circadiana, processos cognitivos e a idade. Este conjunto de variáveis pode permear variabilidade interpessoal dos efeitos da ETCC. Estes fatores são apresentados na Figura 4.



**Figura 4** Fatores que modulam a plasticidade induzida por métodos de neuromodulação não invasiva. NBS: estimulação cerebral não invasiva. **Fonte:** Ridding e Ziemann 2010.

A capacidade de induzir plasticidade com uso de técnicas de neuromodulação é reduzida com a idade em indivíduos saudáveis ou com condições clínicas (FATHI et al., 2010; MULLER-DAHLHAUS et al., 2008). Alterações de senescência cerebral comprometem a plasticidade em idosos como já apresentado, no entanto a redução do

volume cerebral também causa um aumento da distância entre o couro cabeludo onde os eletrodos de ETCC são posicionados e o córtex (RESNICK et al., 2003) associado a um menor pico de campo elétrico sob o eletrodo de ETCC com a evolução da idade (THOMAS, DATTA e WOODS, 2018). Contrariamente estudos demonstram que crianças comparadas a adultos com os mesmos parâmetros de ETCC apresentam um pico de campo elétrico e densidade de corrente, que é pelo menos 1,5 vezes maior. Este fenômeno é associado a parâmetros como menor espessura do crânio e maior volume de líquido cefalorraquidiano (MINHAS et al., 2013). O impacto da espessura do crânio foi demonstrado num modelo de dispersão espacial da corrente elétrica. Em regiões com osso mais delgado o campo elétrico apresentou maior força. Além disso, usando modelo de regressão, foi demonstrado que a espessura do líquido cefalorraquidiano e a profundidade dos giros corticais também influenciam na distribuição do campo elétrico (OPITZ et al., 2015).

Polimorfismos genéticos também exercem influência na plasticidade sináptica e o gene que codifica o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) tem um papel significativo para promover mudanças na eficácia sináptica (BRAMHAM, 2008; LU, 2003). Um único polimorfismo no gene do BDNF, o qual é presente numa percentagem substancial da população, ocasiona a substituição de um aminoácido (valina para metionina) no códon 66 (Val66Met). O polimorfismo Val66Met está associada à redução na resposta neuroplástica observada após uma tarefa de aprendizagem motora simples, em comparação com aqueles sem este polimorfismo (KLEIM et al., 2006). Outro estudo demonstrou que o efeito da ETCC na excitabilidade da via corticospinal avaliada pelo MEP foi mais acentuado em sujeitos sem o polimorfismo do BDNF Val66Met (CHEERAN et al., 2008). Esses resultados fornecem evidências que o polimorfismo genético do BDNF está envolvido na mediação de plasticidade do córtex humano. Um pequeno número de estudos também avaliou a influência de polimorfismos do gene da enzima Catecol-O-Metil Transferase (COMT) que regula o metabolismo das aminas, dentre elas o efeito foi avaliado sobre o metabolismo da dopamina. Enzima responsável por degradar 60% da dopamina do córtex pré-frontal (KAROUM, CHRAPUSTA e EGAN, 1994).

O polimorfismo funcional Val158Met desta enzima está associado a maior degradação das aminas, e por reduzir sua concentração na fenda sináptica (LOTTA et al., 1995). Em participantes saudáveis o efeito da ETCC sobre funções executivas, como atenção e inibição de resposta foi influenciado pelo polimorfismo da COMT. Indivíduos

com polimorfismo Val158Met não apresentaram resposta a ETCC anódica sobre o DLPFC. Em contrapartida, indivíduos homocigóticos para metionina apresentaram piora de desempenho a estimulação anódica, desta forma os polimorfismos da COMT parecem regular o efeito da ETCC em funções cognitivas (PLEWNIA et al., 2013).

A diferença entre os sexos para indução de plasticidade também deve ser considerado, já que o estrogênio pode facilitar a plasticidade sináptica (WOOLEY e SCHWARTZKROIN, 1998). Um estudo que avaliou efeito de ETCC anodal sobre DLPFC na excitabilidade cortical aferida por potenciais evocados associados ao EEG demonstrou que mulheres com altos níveis de estrogênio apresentaram maior aumento na amplitude de componentes P200, significativamente diferente dos homens. O mesmo estudo não demonstrou diferença na amplitude destes componentes entre mulheres apresentando altos níveis de estrogênio sérico e mulheres com baixos níveis deste hormônio, ou entre homens e mulheres de baixo nível de estrogênio (LEE et al., 2018). Kuo et al., (2006) também demonstrou que há diferença entre homens e mulheres para o resultado de ETCC catodal: mulheres apresentaram efeito de LTD de maior duração quando comparado a homens (KUO, PAULUS e NITSCHKE, 2006). Para a ETCC aplicada em córtex visual, no entanto, não houve diferença entre homens e mulheres para estimulação catodal, e apenas para a ETCC anodal houve um efeito facilitatório significativamente maior em mulheres (CHAIEB, ANTAL e PAULUS, 2008). Esses achados indicam que mulheres parecem ser mais responsivas a ETCC, no entanto esta característica pode estar dependente dos níveis hormonais de estrogênio, assim como o protocolo utilizado ou a área cortical estimulada.

Outro parâmetro intrínseco, e que modula o efeito da ETCC, é a sensibilidade cortical basal de cada participante ao estímulo de EMT refletindo a excitabilidade cortical basal: participantes que necessitam de maior intensidade de TMS para induzir MEP de 1mV apresentam menor efeito de ETCC anodal sobre M1 na excitabilidade cortical (JAMIL et al. 2017).

Relacionado a fatores modificáveis do efeito da ETCC, as manipulações farmacológicas fornecem informações complementares sobre os mecanismos subjacentes à indução de plasticidade por técnicas de estimulação cerebral não invasiva e abordam principalmente neurotransmissores associados com a plasticidade sináptica. Fármacos antagonistas do receptor de NMDA bloqueiam tanto os efeitos inibitórios quanto os facilitatórios, quando aplicada estimulação por EMT e ETCC (HUANG et al., 2007; FRITSCH et al., 2010; NITSCHKE et al., 2003). Medicamentos como Lorazepam e

Baclofeno, que são moduladores dos receptores GABAérgicos, atrasam ou bloqueiam respectivamente fenômeno de LTP induzido por técnicas de neuromodulação (MCDONNELL, OREKHOV e ZIEMANN, 2007; NITSCHKE et al., 2004a).

Além de fármacos que modulam sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas, medicações com efeito sobre o sistema dopaminérgico também foram avaliadas: o bloqueio de receptores de dopamina D2 com o uso da Sulpirida anula o efeito LTP ou LTD para protocolos de ETCC (NITSCHKE et al., 2006), enquanto o uso de L-Dopa previamente a uma estimulação com ETCC anodal em M1 resultou em um efeito de LTD e não LTP como esperado (KUO, PAULUS e NITSCHKE, 2008). Finalmente, com o uso de Rivastigmina, um inibidor da acetilcolinaesterase, ocorreu bloqueio do efeito de LTP, e uma redução no efeito de LTD (KUO et al., 2007). Ainda estudos sugerem a participação de monoaminas adrenérgicas na plasticidade sináptica, pois o uso de Propranolol, um bloqueador  $\beta$ -adrenérgico, diminui o tempo de duração dos efeitos induzidos por ETCC, enquanto o uso de anfetamina-d, um fármaco adrenérgico indireto, prolongou a duração de plasticidade sináptica LTP induzida por ETCC anodal (NITSCHKE et al., 2004b). Em relação ao efeito da serotonina na plasticidade sináptica induzida por ETCC o uso do Citalopram, inibidor da recaptação da serotonina, aumentou a magnitude de efeito da ETCC anodal e quando aplicado ETCC catodal o efeito obtido também fora de LTP e não de LTD como esperado, favorecendo assim a plasticidade sináptica excitatória cortical (NITSCHKE et al., 2009b).

A resposta de plasticidade à estimulação cerebral também é modulada pela hora do dia em que o protocolo é realizado: a maior indução de plasticidade com técnica de neuromodulação ocorre à noite, quando comparado ao período da manhã, um efeito que pelo menos em parte está associado com a variação rítmica do cortisol. Níveis de cortisol na saliva foram negativamente associados com o efeito da estimulação sobre a excitabilidade cortical (SALE, RIDDING e NORDSTROM, 2008). Também estudos animais demonstram que a plasticidade é modulada pelo ritmo circadiano em camundongos, onde lâminas de hipocampo realizadas à noite apresentaram até 70% maior potenciação após estimulação de alta frequência quando comparado a lâminas diurnas (CHAUDHURY, WANG e COLWELL, 2005).

O impacto da atividade física sobre o efeito de ETCC também foi demonstrado. A atividade física pode facilitar a neuroplasticidade e quando associada a técnicas neuromodulatórias modula o efeito do método (STEINBERG, PIXA e FREGNI, 2019). Participantes que praticavam atividade física regular apresentaram maior resposta de LTP

para um protocolo de neuromodulação do que participantes sedentários (CIRILLO et al., 2009). A atividade física aeróbica regular, também foi demonstrada que modula a plasticidade e aprimora o aprendizado e a memória (KRAMER e ERICKSON, 2007; VAN PRAAG, 2009). Finalmente, o envolvimento cognitivo também modula a plasticidade em áreas motoras corticais. A capacidade de plasticidade cortical motora, induzida por técnicas de neuromodulação é reduzida em condições de elevada exigência cognitiva, tais como resolver problemas aritméticos (STEFAN, WYCISLO e CLASSEN, 2004). Da mesma forma, foi demonstrado que a plasticidade cortical motora induzida por ETCC anódica está reduzida durante a realização de teste de inteligência (ANTAL et al., 2007) relatando o impacto que demandas cognitivas podem apresentar na indução de plasticidade em áreas corticais não diretamente envolvidas com o desempenho da tarefa. No entanto quando tarefa de memória de trabalho é associada à ETCC sobre DLPFC, área cortical relacionada com a memória de trabalho e funções executivas, em protocolo de treinamento em múltiplos dias (MASHAL e METZUYANIM-GORELICK, 2019) ou em protocolos de única estimulação com a realização da tarefa durante a estimulação (MANCUSO et al., 2015) pode potencializar o efeito da ETCC o que resulta em uma maior acurácia no desempenho destas tarefas.

## 2.5. PROCESSAMENTO FISIOLÓGICO DA DOR

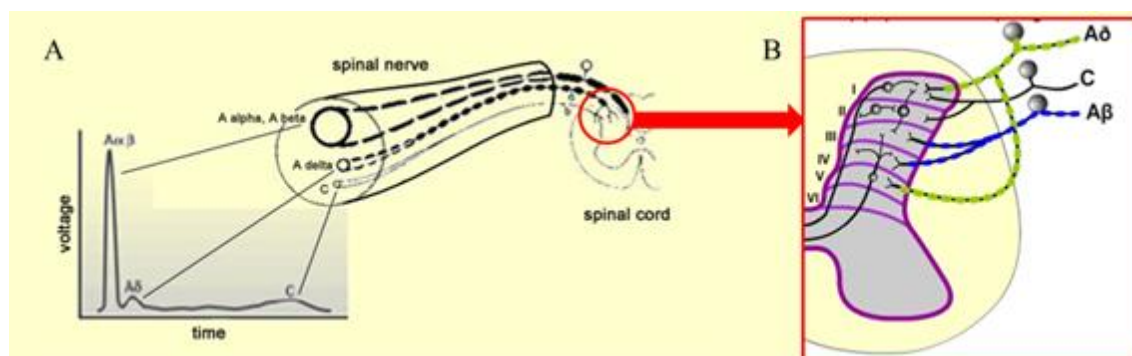
A dor aguda é uma resposta fisiológica a estímulos nociceptivos. Ocorre através da ativação da via nociceptiva por estímulos diversos, tais como pressão térmica ou química. Quando o estímulo atinge o limiar de dor, ativa terminações nervosas denominadas nociceptores, classificados em polimodais e mecanotermorreceptores. Uma vez ativados, ocorre o potencial de membrana e a despolarização neuronal. A sequência de eventos que seguem para o processamento do estímulo nociceptivo engloba quatro momentos: *transdução*, *transmissão*, *modulação* e *percepção* (Figura 6) (MEYR; STEINBERG, 2008).

A *transdução* ocorre pela ativação dos terminais nociceptivos. Estes estão divididos entre receptores mecânicos, térmicos ou químicos. Receptores mecânicos são ativados pela deformação física do receptor que causa abertura de canais de membrana e permite a despolarização do terminal nervoso. Os receptores térmicos respondem ao calor e ao frio, os receptores de calor começam responder com estímulos a partir de 30 °C, mas a maioria das fibras é ativada com temperaturas entre 42 a 45°C. Os receptores químicos



são ativados por íons e citocinas específicas, na sua maioria oriundas da inflamação (MEYR e STEINBERG, 2008).

Após a *transdução* ocorre a *transmissão pelos axônios* do primeiro neurônio localizado no gânglio da raiz dorsal que se conecta ao segundo neurônio no corno dorsal da medula espinhal. Duas classes de fibra aferente são encontradas na transmissão do estímulo nociceptivo agudo: fibras A- $\delta$  e fibras C (RAJA, HOOT e DOUGHERTY, 2011b). As fibras A- $\delta$ , mielinizada e de pequeno calibre, são ativadas por estímulos mecânicos ou térmicos e conduzem a velocidade até 25x mais rápido que a fibra C. Estes estímulos adentram no corno dorsal da medula e fazem sinapse com neurônios das lâminas II e IV. Estímulos nociceptivos mecânicos, térmicos e químicos são conduzidos pelas fibras C, que adentram na medula pelo trato de Lissauer e fazem sinapse com neurônios do corno dorsal da medula das laminas I e II (Figura 5). As fibras A- $\delta$  transmitem o estímulo com mais velocidade que as fibras do tipo C - responsáveis pela “primeira dor”, caracterizada por ser aguda e bem localizada. Enquanto as fibras C conduzem a dor caracterizada como segunda dor, também chamada dor dolente, descrita como sensação de queimação ou ardência (MEYR e STEINBERG, 2008). As fibras A- $\alpha$  e A- $\beta$  são mielinizadas e grossas, caracterizadas por condução rápida de estímulos com baixo limiar, não nociceptivos, como o tato e propriocepção (JULIUS, 2001). Embora não estejam envolvidas na percepção nociceptiva da dor fisiológica, em condições de dor patológica como na dor crônica, estas fibras podem ser recrutadas e passam a transmitir sinais percebidos como dor, como ocorre no fenômeno da alodinia (ARCOURT e LECHNER, 2015).

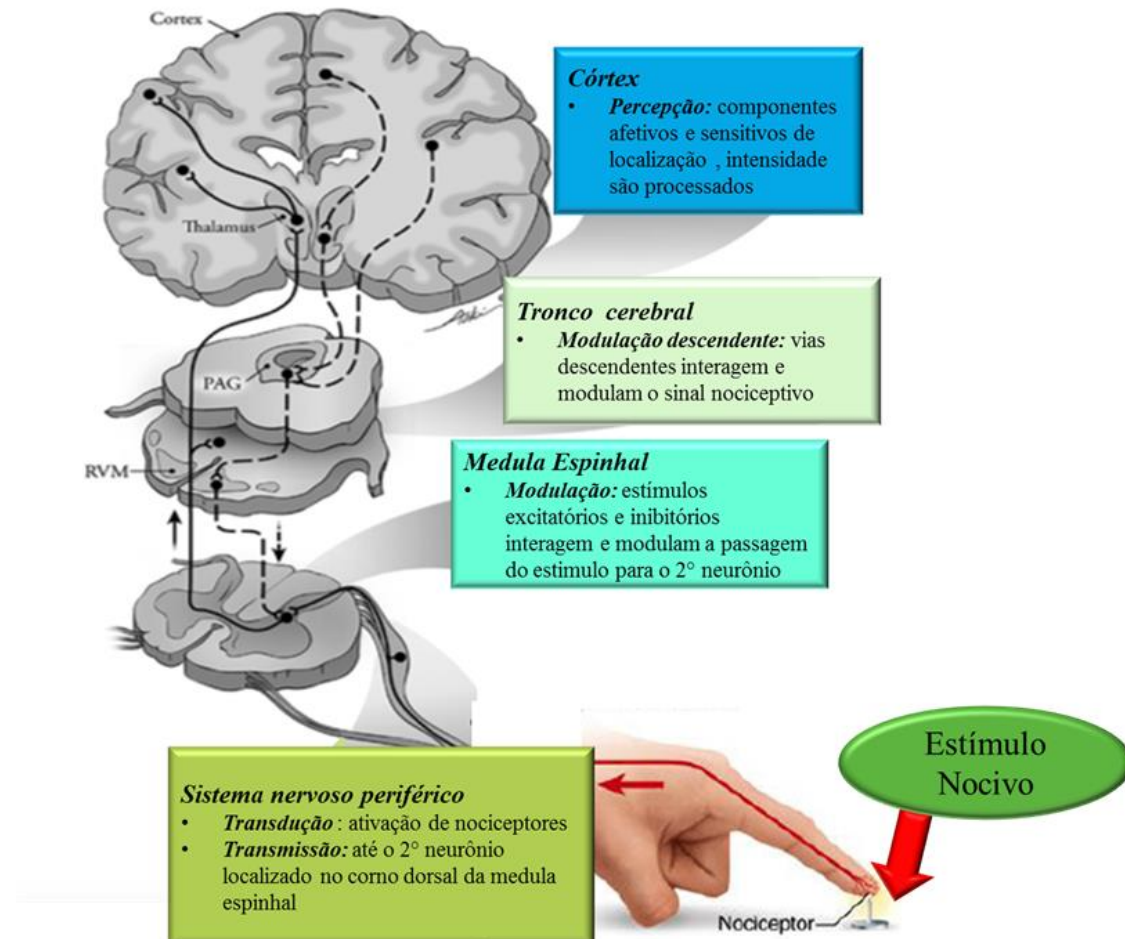


**Figura 5** Axônios aferentes primários do estímulo nociceptivo. Figura A) característica e velocidade de resposta. Figura B) sinapse com o segundo neurônio em lâminas específicas no corno dorsal da medula. **Fonte:** Adaptado de <https://thebrain.mcgill.ca>.

Quando o estímulo atinge o corno dorsal da medula sofre a ação de complexos elementos de *modulação*. Estes estímulos são de natureza excitatória e inibitória, concomitantes e concorrentes, os quais modulam então a passagem do estímulo nociceptivo do primeiro neurônio para o segundo neurônio. A modulação do estímulo ocorre pela via descendente da dor que envia sinais de facilitação e inibição do encéfalo para a medula espinal e na sequência, para a periferia, aumentando ou inibindo os sinais nociceptivos ascendentes (VANEGAS e SCHAIBLE, 2004). A substância cinzenta periaquedutal (PAG) recebe estímulos de centros cerebrais superiores: córtex pré-frontal, cíngulo anterior (ACC) e a amígdala (KOBAYASHI, 2012; MOBBS et al., 2009; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014), e associada aos núcleos magnos que pertencem à estrutura citoarquitetônica da rafe, localizados no tronco cerebral, assim como o núcleo rostral ventromedial da medula (RVM), que apresentam projeções para o corno dorsal da medula, compõem a via eferente modulatória da dor chamada da via espinobulboespinal (figura 6) (MILLAN, 2002). No núcleo rostral ventromedial da medula existem neurônios *off* ou *on*, que inibem ou facilitam, respectivamente, a transmissão dos estímulos nociceptivos (VANEGAS e SCHAIBLE, 2004).

Um dos principais sítios de modulação do sinal nociceptivo pelo sistema modulador, e que descende da dor, encontra-se na lâmina II de Rexed do corno dorsal da medula, denominada substância gelatinosa de Roland. É também neste nível que ocorre a primeira sinapse da via nociceptiva e onde acontece o cruzamento da via que forma o trato anterolateral do sistema ascendente, compreendendo os sistemas espinotalâmico, espinoreticular e espinomesencefálico (figura 6). As vias do sistema espinotalâmico conectam o segundo com o terceiro neurônio da via nociceptiva, que se localiza no tálamo. A via neoespinotalâmica é mais veloz e formada a partir de neurônios da lâmina I e II do corno dorsal da medula. Conduz estímulos nociceptivos aos núcleos talâmicos ventral posterior e lateral posterior. Finalmente o estímulo é transmitido ao quarto neurônio no córtex somatossensorial, onde ocorre o processamento das informações nociceptivas manifestas como dor, com definição da área da dor e da sua intensidade. A via paleoespinotalâmica, também conhecida como espinoreticular, é formada por neurônios da camada V e transmite a informação pelo núcleo reticular, hipotálamo e tálamo medial com projeções para córtex pré-frontal, cíngulo e insula. O processamento dentro deste sistema complexo define a *percepção* do estímulo, que recebe codificação emocional e cognitiva da sensação dolorosa (MEYR e STEINBERG, 2008). O envolvimento do tálamo lateral e do córtex somatossensorial compreende o

sistema de dor lateral, enquanto a via que compõe tálamo medial, sistema límbico e córtex pré-frontal é conhecido como sistema medial da dor (SCHNITZLER e PLONER, 2000).



**Figura 6** Mecanismos de sinalização da dor. Linha contínua representado via anterolateral do sistema ascendente: compreende os sistemas espinotalâmico, espinoreticular e espinomesencefálico. Linha tracejada representa via eferente modulatória da dor. Processos da via somatossensorial destacados no processamento do estímulo nociceptivo: *transdução*, *transmissão*, *modulação* e *percepção*. RVM: medula rostral ventromedial; PAG: substância cinzenta periaqueductal. **Fonte:** Adaptado de (RAJA, HOOT e DOUGHERTY, 2011a).

## 2.6. MODULAÇÃO DA DOR PELA ESTIMULAÇÃO CORTICAL

O manejo farmacológico de dor crônica apresenta frequentemente falha terapêutica (MOORE et al., 2013) assim como efeitos adversos importantes (HYLANDS-WHITE, DUARTE e RAPHAEL, 2017). Adiciona-se a este fato a escassez de novas moléculas e

o fenômeno da tolerância e dependência observadas com o uso contínuo de opióides (SHARMA et al., 2016). Estes fatos justificam o crescente interesse nas técnicas de neuromodulação para o tratamento da dor crônica.

O córtex motor primário tem sido relacionado à modulação do sistema somatossensorial, isso explica o porquê tem sido um dos alvos principais para aplicar corrente elétrica transcraniana no tratamento da dor. Evidências sugerem que a aplicação da ETCC no córtex motor primário M1 modula a dor por efeitos corticais nos núcleos talâmicos anterior e ventrolateral, tálamo medial, giro cingulado anterior e tronco cerebral (BOGGIO et al., 2008).

O córtex pré-frontal dorsolateral é uma das áreas relacionadas à dor mais comumente ativas durante os episódios algícos (APKARIAN et al., 2005) e tem função importante no processo de decisão frente à dor. O córtex pré frontal faz parte da rede de conexões do sistema modulatório descendente da dor e parece modular estruturas envolvidas na percepção emocional da dor incluindo: o córtex pré-frontal medial bilateral, córtex insular anterior, córtex cingulado anterior, amígdala bilateral, núcleo magno da rafe, substância cinzenta periaquedutal e o giro frontal médio. Este último, situado no córtex pré-frontal dorsolateral (MCMAHON et al., 2013; SCHWEINHARDT e BUSHNELL, 2010).

A estimulação do DLPFC pode também agir pela modulação de correlatos da dor como a ansiedade, depressão e a sensação desagradável ao estímulo doloroso (NITSCHKE et al., 2009a). A estimulação anódica sobre o DLPFC esquerdo pode reduziu a valência para imagens emocionais negativas (PENA-GOMEZ et al., 2011), como também melhorar a valência de expressões emocionais positivas (NITSCHKE et al., 2012). Estes resultados reforçam o pressuposto de que a estimulação do DLPFC possa influenciar aspectos emocionais e cognitivos da dor. Além disso, em estudo recente demonstramos que sessenta sessões de ETCC aplicadas sobre o DLPFC reduziu não apenas a percepção da dor, mas também os sintomas depressivos e melhorou a capacidade funcional de mulheres fibromiálgicas (BRIETZKE et al., 2019). Este conjunto de dados contribuem para a hipótese que a estimulação do DLPFC pode ser uma via usada na modulação da dor, especialmente importante para sintomas psico-afetivos.

A ETCC então, conforme o exposto, quando sobre o DLPFC parece modular redes neurais envolvidas na resposta emocional a dor, enquanto a estimulação de M1 modula os aspectos sensorio e discriminativos do estímulo nociceptivo (BOGGIO et al., 2008).

Os efeitos da ETCC sobre escores de dor em pacientes foi quantificado em duas meta-análises recentes que avaliaram os efeitos da ETCC anódica em M1 e DLPFC (VASEGHI, ZOGHI e JABERZADEH, 2014; ZORTEA et al., 2019). A meta-análise conduzida por Vaseghi et al., (2014) incluiu 13 estudos, totalizando 276 pacientes com dor crônica, como critério de inclusão avaliaram apenas estudos com ETCC sobre M1, DLPFC ou S1 que apresentassem como desfecho escore de dor em escala análogo visual ou limiar de dor. O estudo relatou que ETCC em M1 e DLPFC reduziu o escore médio de dor em 14,6% e 19,3% respectivamente quando comparado a pré intervenção. Em outra meta-análise conduzida pelo nosso grupo foram incluídos 23 estudos, o critério de inclusão foi o uso da ETCC anódica sobre M1 ou DLPFC durante pelo menos cinco dias no tratamento de dor crônica. A análise combinada dos estudos com estimulação ativa sobre M1 e DLPFC reduziu em 27,26% a dor relatada, comparando-a com a estimulação simulada. A análise isolada do efeito da aplicação sobre M1 e DLPFC mostrou que ambas reduziram os níveis de dor com uma magnitude de efeito moderada (ZORTEA et al., 2019). Quanto aos resultados das meta-análises, os mesmos devem ser interpretados com cuidado pela heterogeneidade entre os estudos quanto ao tempo de tratamento, área de estimulação e condições específicas das síndromes dolorosas que influenciam na resposta terapêutica.

A meta-análise realizada de Vaseghi et al 2014 também avaliou o efeito do ETCC anodal sobre M1 em limiar de dor para participantes saudáveis e demonstrou um aumento no limiar de dor (VASEGHI, ZOGHI e JABERZADEH, 2014). Outro estudo também demonstrou que a ETCC sobre DLPFC também pode elevar limiar de dor em adultos saudáveis (BOGGIO et al., 2008).

Entre os desfechos avaliados em estudos da dor com ETCC, o limiar de dor é uma medida psicofísica utilizada com frequência. A avaliação do limiar de dor dimensiona o processamento do estímulo e a percepção subjetiva desagradável a ele associado e fornece uma avaliação quantitativa. O limiar de dor é o resultado da ativação de receptores polimodais por estímulos nociceptivos que desencadeiam potenciais de ação conduzidos pelas fibras nociceptivas, trato espinotalâmico, tálamo e áreas corticais que o percebem (VERDUGO e OCHOA, 1992). A mensuração do limiar de dor pode ser realizada por diferentes métodos, experimentalmente um estímulo algogênico comumente usado, como teste provocativo, é teste de quantificação sensitiva (QST). O QST permite avaliar a percepção da dor, assim como o efeito de tratamentos farmacológicos e não

farmacológicos nesta percepção através de indução de estímulo térmico de frio ou calos (ARENDR-NIELSEN e YARNITSKY, 2009). Outras medidas de avaliação do limiar de dor empregadas com frequência na literatura compreendem os seguintes: Cold Pressor Task (CPT), um teste de “pressão ao frio” onde ocorre a imersão da mão do indivíduo em um recipiente contendo água fria, com temperatura constante e usualmente entre 0 e 2°C (VON BAYER et al. 2005) e então o limiar de dor é considerado o tempo até ser relatada a primeira dor; o uso do Algômetro de pressão avalia o limiar de dor a pressão, definido como o momento em que o estímulo de pressão é percebido como doloroso (CHESTERTON et al. 2007). Outros estudos utilizam filamentos de Von Frey para avaliar limiar de dor a pressão, que consiste em pequenos filamentos de nylon aplicados com a mesma força sobre a pele, a ordem de aplicação inicia pelo filamento de menor diâmetro (KOSTEK et al. 2016). Outra possibilidade é aferição do limiar de dor por estimulação elétrica periférica ocorre pela aplicação de eletrodo em extremidade e elevação da intensidade de corrente gradualmente em 0,1mA , e o limiar de dor é considerado a intensidade utilizada para o primeiro estímulo de dor (BOGGGIO et al. 2008).

A ETCC apresenta redução de níveis de dor, especialmente demonstrado em estudos com pacientes que utilizam tratamentos prolongados como demonstrado por (ZORTEA et al. 2019). No entanto diferença de efeito para M1 e DLPFC devem ser considerados , devido a impacto em vias distintas de processamento nociceptivo , e sobre desfechos de escore de dor ou limiar a dor (BOGGGIO, et al. 2008, KIM 2013). Por fim importante ressaltar o reduzido número de estudos que avaliam o efeito da ETCC para dor em crianças e adolescentes.

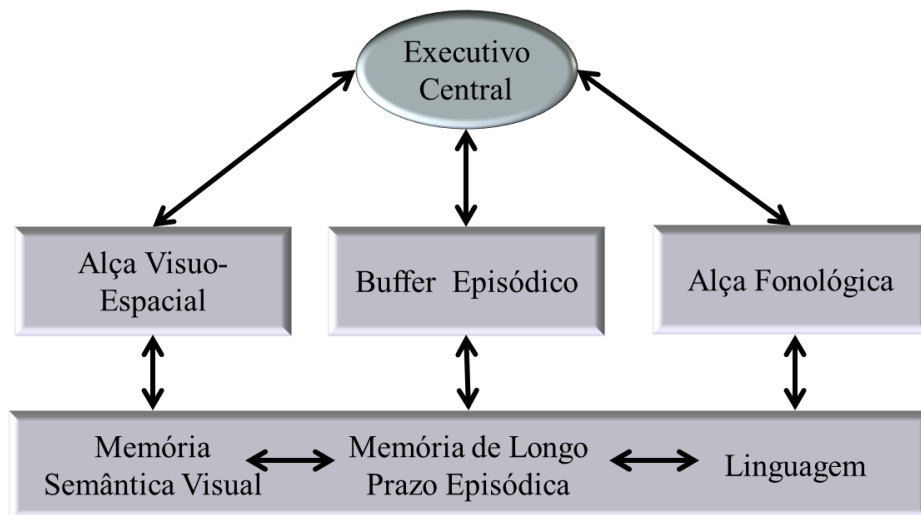
Estudos que avaliam o efeito da ETCC sobre nível de dor, no entanto são prevalentes em adultos ou adultos jovens . As meta-análises previamente apresentadas incluem estudos com média de idade que varia de 22 anos até 63 anos, com apenas 7% dos estudos com média de idade superior a 60 anos de idade. No entanto a prevalência de dor em idosos pode atingir 23% e até superior a 30% quando consideramos a idade acima de 85 anos(DAHLHAMER; LUCAS; ZELAYA, 2018). Todavia o efeito da ETCC para dor neste grupo etário é estudado com frequência menor que adultos mais jovens. Não obstante a dor crônica também atinge até 44% de prevalência entre adolescentes e causa grande impacto na qualidade de vida nesta faixa etária com prejuízos no âmbito social e de escolaridade (BONDESSON et al., 2020; GOBINA et al., 2019; GROENEWALD;

GILES; PALERMO, 2019) mas não encontramos estudo controlado que avaliasse a ETCC para limiar de dor nesta faixa etária.

## 2.7. MEMÓRIA DE TRABALHO

O termo memória de trabalho evoluiu do conceito anterior de memória de curto prazo. A memória de curto prazo refere-se ao armazenamento temporário de informações, enquanto a memória de trabalho implica a combinação entre armazenamento e manipulação de informações (BADDELEY, 2012a). O modelo de Baddeley propõe a memória de trabalho como um sistema de capacidade limitada que fornece armazenamento e manipulação temporários de informações necessárias para a realização de uma ampla gama de atividades cognitivas (MIYAKE; SHAH, 1999). O modelo inicialmente era composto de três componentes: um componente executivo e dois sistemas de armazenamento temporário, um fonológico e outro visuo-espacial.

No entanto, Baddeley (2000) adicionou um quarto componente no modelo: o *buffer* episódico um sistema de armazenamento temporário de informação que consegue relacionar diferentes tipos de informação de percepção: visual, espacial e sensorial em um código multidimensional e conectá-las aos componentes de memória de trabalho e também a memória de longo prazo, (Figura 7) (BADDELEY, 2000). A figura 7 apresenta o sistema para integração de informações da memória de trabalho proposto por Baddeley onde a alça visuo-espacial, alça fonológica e Buffer episódico se comunicam com componentes de memória de trabalho e memória de longo prazo.



**Figura 7** Sistema para integração de informações com os componentes tradicionais de memória de trabalho de Baddeley e a inclusão do componente *Buffer* Episódico. **Fonte:** Adaptado de BADDELEY, 2012.

O componente executivo coordena e manipula o processamento de informações (BADDELEY, 2012b). As funções executivas compreendem: atualização, mudança de foco atencional e inibição. Atualização, refere-se a processos de substituição de conteúdo da memória de trabalho (ECKER et al., 2010). Mudança do foco atencional refere-se ao processo de dirigir a atenção para novas informações relevantes (MONSELL, 2003). Inibição refere-se a processos de supressão de informações que não são (ou não são mais) relevantes para a etapa de processamento atual da memória de trabalho (DIAMOND, 2013).

O córtex pré-frontal é responsável pelas funções executivas (D'ESPOSITO, 2007) e modula através do componente de inibição a captação da informação que irá ser processada pela memória de trabalho, através da seleção de informações relevantes e supressão de informações irrelevantes, especialmente importante quando há grande quantidade de informação ou informações concorrentes (GAZZALEY, 2012). O funcionamento adequado do componente de inibição está relacionado com o desempenho da memória de trabalho, de modo que indivíduos com reduzida capacidade de inibir informações irrelevantes apresentam menor capacidade de memória de trabalho (VOGEL, MCCOLLOUGH e MACHIZAWA, 2005).

A memória de trabalho é frequentemente investigada em paradigmas de n-back, uma tarefa de avaliação de memória de trabalho que data de 1958 (KIRCHNER, 1958) que avalia componentes executivos como atualização e inibição (RAC-LUBASHEVSKY



e KESSLER, 2016). Para realizar a tarefa de n-back os sujeitos devem indicar se cada estímulo atual em uma sequência de estímulos é idêntico ao estímulo apresentado em um número específico de testes anteriormente. Este número define-se então como tarefa de 1-Back: um estímulo anterior, 2-back: dois estímulos anteriores, 3-back: três estímulos anteriores.

O desempenho da memória de trabalho apresenta grande variação em diferentes faixas etárias: aumenta gradualmente ao longo da infância e adolescência e atinge o potencial máximo na idade adulta. Maior incremento no desempenho da memória de trabalho ocorre dos 5 aos 19 anos, até o ponto máximo de desempenho por volta de 30 anos. A partir dos 50 anos até os 80 anos ocorre uma queda discreta do desempenho da memória de trabalho, principalmente do componente visuoespacial (ALLOWAY; ALLOWAY, 2013) e também para tarefas de maior carga de trabalho (CANSINO et al., 2013).

Em idosos a diminuição do desempenho da memória de trabalho parece estar associado à diminuição da inibição: 88% dos jovens são eficazes em inibir informações desnecessárias, mas apenas 44% dos idosos apresentou a mesma capacidade de inibição. A capacidade de inibição em idosos correlacionou-se com o desempenho em teste de memória de trabalho, de modo que idosos que apresentam componente executivo de inibição preservado tem melhor desempenho de memória de trabalho (GAZZALEY et al., 2005).

De acordo com a hipótese da compensação de Park e Reuter-Lorenz (2008), em idosos o ajuste da ativação cortical de acordo com a dificuldade da tarefa de memória de trabalho está comprometido. Segundo esta teoria, em tarefas com baixos níveis de dificuldade poderá ocorrer um ajustamento até a super-ativação cortical, quando seu desempenho começa cair para tarefas de maior carga de trabalho, pois não poderão aumentar a já presente super-ativação cortical (CAPPELL, GMEINDL e REUTER-LORENZ, 2010; REUTER-LORENZ e CAPPELL, 2008).

### **2.7.1. Memória de Trabalho e Estimulação Transcraniana**

Conforme apresentado ao longo do texto o córtex pré-frontal (CPF) está associado às funções executivas da memória de trabalho, as quais coordenam o processamento de informações em áreas associativas e de armazenamento (D'ESPOSITO, et al. 2000). Estudos de neuroimagem funcional reforçam a associação do DLPFC com a memória de trabalho ao demonstrar que o desempenho em tarefa de

memória de trabalho n-back está fortemente associado à ativação do córtex pré-frontal (OWEN et al., 2005). A ativação do DLPFC esquerdo se correlacionou positivamente com a acurácia nesta tarefa e negativamente com o tempo de resposta (ZHANG et al., 2013). Em sujeitos saudáveis a ativação do CPF ocorre em forma de "U invertido". Isso significa que tarefas de baixa dificuldade produzem reduzida ativação cortical, e a progressão da dificuldade da tarefa aumenta a ativação cortical até atingir a capacidade máxima da memória de trabalho. Quando esta é atingida, um segundo aumento na dificuldade da tarefa causa redução da ativação do CPF, gerando assim, uma resposta de curva em "U" invertido. Esta redução de ativação do CPF se correlaciona com uma diminuição na acurácia em testes de memória de trabalho (CALLICOTT et al., 1999).

Estudos que avaliaram a atividade cortical por eletroencefalograma usando a magnitude, topografia e latência dos potenciais relacionados a eventos (ERP), sinais frequentemente usados como métricas da função cognitiva dos processos de tomada de decisão demonstraram que a ETCC anódica sobre o DLPFC esquerdo melhorou o desempenho em memória de trabalho, e modulou a atividade elétrica do córtex pré-frontal e do córtex cingulado anterior. Foi observado a diminuição da atividade de ondas delta-theta e aumento da atividade de ondas beta (KEESER et al., 2011b). Estes achados foram associados a um estado de maior alerta (BARRY et al., 2009; KILNER et al., 2005) e com maior nível de conectividade funcional (HLINKA et al., 2010). Outro estudo que avaliou o ERP por EEG após estimulação anódica em DLPFC mostrou que houve aumento na amplitude do P3 em Fz (área do córtex pré-frontal central) (KEESER et al., 2011). A atividade elétrica nesta área mensura a função de redes neurais associadas à decisão, atenção e à memória. O componente P300 é observado em tarefas que exigem discriminação de estímulos ou a necessidade de aumentar a atenção focal na detecção de estímulos de conteúdo da memória de trabalho (POLICH, 2007).

A ETCC anódica em DLPFC esquerdo em sujeitos saudáveis melhorou o desempenho em tarefas de memória de trabalho (FREGNI et al., 2005). No entanto, recentes meta-análises que avaliaram o efeito da ETCC anódica na memória de trabalho de indivíduos saudáveis concluíram que o efeito da estimulação parece ser restrito ao tempo de reação para os acertos (BRUNONI e VANDERHASSELT, 2014; DEDONCKER et al., 2016; HILL, FITZGERALD e HOY, 2016). A metanálise de Mancuso et al. (2016) encontrou resultados em direção oposta, embora o efeito da estimulação anódica foi de pequena magnitude, uma análise de sensibilidade permitiu identificar que a estimulação ativa aumentou significativamente a acurácia das respostas

em estudos que combinavam treinamento de memória de trabalho durante a estimulação (MANCUSO et al., 2015). Andrews et al. (2011) comparou a modulação da memória de trabalho com ETCC entre protocolos que usaram a (1) estimulação como intervenção única, (2) estimulação combinada tarefa cognitiva concomitante, e (3) tarefa cognitiva isoladamente. Os sujeitos que receberam a combinação de técnicas tiveram melhor desempenho em tarefa de memória de trabalho distinta daquela que aplicada junto à estimulação (ANDREWS et al., 2011).

O resultado de estudos que avaliaram a realização de tarefa de desempenho cognitivo que envolve a memória de trabalho concomitante a estimulação também foi superior na aquisição de habilidade 24h após a estimulação, comparado a estudos em que a tarefa foi imediatamente anterior à estimulação (MARTIN et al., 2014). O efeito da ETCC na memória de trabalho também é dependente do tempo de estimulação e da intensidade da corrente, sendo que efeitos mais robustos na memória de trabalho foram observado com o uso de 2 mA, comparado a de 1 mA, (TEO et al., 2011). Com relação ao tempo de estimulação, melhores resultados foram observados com 20 e 30 minutos, comparado a estimulação por 10 minutos. Estes efeitos da estimulação em acurácia de tarefas de memória de trabalho foram demonstrado em adultos jovens com corrente de 2mA, por 20 ou 30 minutos, e combinado a tarefas de memória de trabalho.

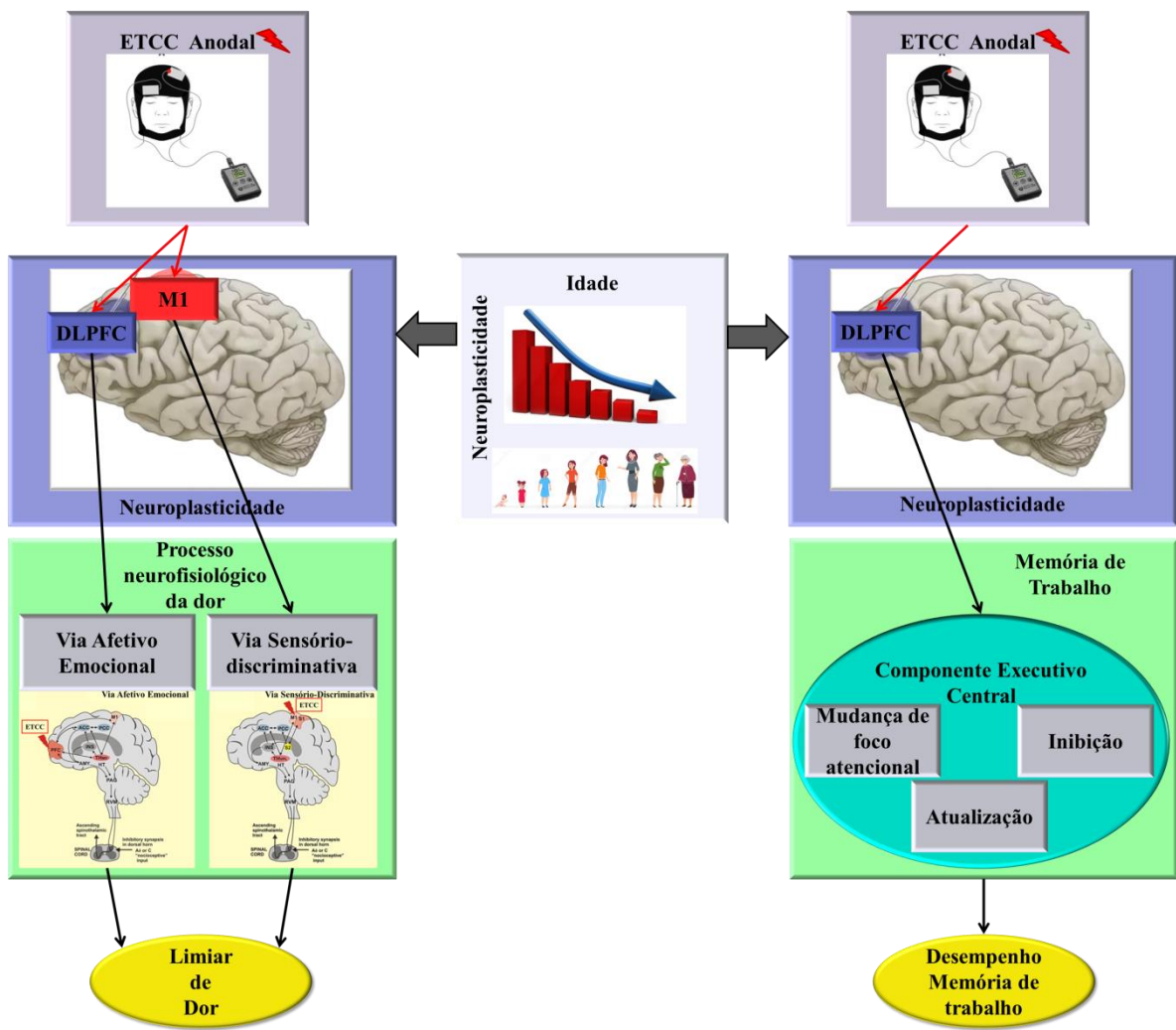
Idosos apresentam menor acurácia em tarefas de memória de trabalho comparado a adultos jovens (NAGEL et al., 2011). Apesar de diferenças no desempenho de memória de trabalho, não foram demonstrado diferença no efeito de ETCC anodal sobre DLPFC esquerdo para acurácia ou tempo de resposta entre adultos e idosos (CESPÓN et al., 2017; EMONSON et al., 2019a). A ETCC sobre DLPFC associado a treinamento durante a estimulação em um protocolo de 20 sessão também não apresentou alteração no desempenho da memória de trabalho comparado a estimulação simulada em idosos saudáveis (NILSSON et al., 2018). Berryhill e Jones (2012) mostraram que a estimulação anódica sobre o DLPFC associado a uma tarefa n-back aumentou significativamente a acurácia em idosos com alto nível de escolaridade (média de 16,9 anos de estudo). Este efeito não foi observado em idosos com baixa escolaridade (média de 13,5 anos de estudo) (BERRYHILL e JONES, 2012). Outro estudo conduzido por Park et al 2013 mostrou que em idosos a montagem anódica sobre o DLPFC bifrontal (direito e esquerdo), o catodo sobre o braço ipsilateral combinado com tarefa de treinamento cognitivo, num total de 10 sessões melhorou a acurácia e tempo de resposta em tarefas de memória de trabalho (PARK et al., 2013).

Estudos com crianças e adolescentes que avaliaram memória de trabalho foram realizados com participantes que apresentavam TDAH. A estimulação anódica de 1mA em adolescentes com idade entre 10 e 16 anos com diagnóstico de TDAH sobre CPF em posição F8 pelo sistema de EEG 10/20 que deveria corresponder ao giro frontal inferior direito, e cátodo posicionado sobre região supraorbital contralateral, não mostrou efeito no desempenho do teste de n-back (BREITLING et al., 2020).

Outro estudo com participantes com média de idade de 10 anos relatou aumento de acurácia e redução de tempo de reação com a estimulação anódica com 1mA sobre DLPFC esquerdo e cátodo posicionado sobre região supraorbital contralateral. O mesmo estudo avaliou a ETCC anódica sobre o DLPFC esquerdo e catodo sobre DLPFC direito. Com essa montagem foi encontrado efeito para redução do tempo de resposta, mas não sobre a acurácia (NEJATI et al., 2017). Os resultados dos estudos são mistos, e a variabilidade explica-se por diferenças na heterogeneidade das amostras, sujeitos saudáveis e com diagnóstico psiquiátrico, idade e diferenças entre os protocolos de estimulação. Esta variabilidade é multifatorial e a idade emerge como um fator de extrema importância para avançar com o uso desta técnica numa sólida fundamentação científica.

### 3. MAPA CONCEITUAL

A partir desta revisão, é possível depreender que, embora a ETCC se apresente como técnica promissora, existem lacunas importantes neste campo do conhecimento que precisam ser investigados. Isso inclui os fatores envolvidos nos processos neurobiológicos e que são determinantes dos processos de neuroplasticidade, como a idade. O sexo e outro fator importante no processamento das informações relacionadas ao afeto e ao processamento da dor. Razão que motiva este estudo conduzido com indivíduos do sexo feminino para investigar o efeito da ETCC de acordo com diferentes populações (adolescentes, adultos, jovens e idosos). . Outro fator de interesse é a resposta de acordo com a faixa etária e o sistema de montagem para a posição dos eletrodos. Em relação às estruturas neuroanatômicas alvo para a modulação *top-down*, o DLPFC e a área alvo para modular a cognição e afeto, e o M1 para modular as informações proprioceptivas. A integração dos aspectos técnicos da ETCC e os fatores biológicos implicados na resposta a ETCC estão apresentados na Figura 8.



**Figura 8** Mapa Conceitual

#### **4. JUSTIFICATIVA**

O uso de estimulação transcraniana tem por objetivo, através da modulação de excitabilidade cortical, gerar mudanças que possam contra regular processos disfuncionais. No entanto, de acordo com o descrito na revisão sistematizada da literatura, muitos fatores podem explicar a variabilidade de respostas entre os sujeitos e parecem fazê-lo ao influenciar a propensão à neuroplasticidade basal de cada indivíduo. A compreensão de possíveis fatores que podem modificar a resposta neurobiológica a ETCC pode ser de grande relevância clínica para o uso de uma técnica que tem mostrado efeitos promissores no tratamento da dor crônica, depressão e ansiedade entre outras doenças neuropsiquiátricas. A idade é um fator importante associado à neuroplasticidade e demanda melhor compreensão se o efeito da ETCC pode ser distinto de acordo com as faixas etárias (adolescentes, adultas jovens e idosas). A justificativa deste estudo, de acordo com o exposto, centra-se em dois fatores a idade e a montagem de colocação dos eletrodos de acordo com as duas áreas que vem sendo investigadas com sucesso na dor crônica : o M1 e o DLPFC. De modo que DLPFC também apresenta impacto sobre memória de trabalho. Os dados deste estudo, visavam elucidar a relação de distintos grupos etários com o efeito da ETCC almejando uma maior assertividade tanto em protocolos de pesquisa quanto em protocolos clínicos.

## **5. HIPÓTESE**

Devido à maior propensão à neuroplasticidade do córtex pré-frontal em adolescentes e à dependência de plasticidade dos efeitos da ETCC, nossa hipótese foi a de que os efeitos da ETCC anodal, aplicados no DLPFC e M1, produziram efeitos de maior magnitude em escores de dor, limiar da dor e memória de trabalho em adolescentes, quando comparados a adultos jovens e idosos. E, principalmente, que esta diferença seria de maior magnitude na estimulação anódica do DLPFC esquerdo.



## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. OBJETIVO GERAL**

A presente tese teve como finalidade investigar a idade como fator de modulação do efeito da ETCC e também o efeito da montagem tendo como alvos a estimulação do DLPFC esquerdo e o M1 esquerdo (hemisfério dominante), visando a compreensão desta interação na modulação da dor e memória de trabalho.

### **6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Para responder ao objetivo geral desta tese desenvolveram-se estudos, cujos objetivos são os que seguem:

#### **Estudo 1.**

Avaliar em uma revisão sistemática e meta-análise as evidências do efeito da ETCC na dor em crianças, adolescentes e idosos, individualizando os efeitos de acordo com as áreas alvo da estimulação (DLPFC e M1).

#### **Estudo 2.**

Comparar os efeitos da ETCC pela percentagem de variação do período pré ao pós-intervenção entre a ETCC ativa e simulada aplicada no DLPFC e M1 em adolescentes, adultos jovens e idosos nos seguintes desfechos:

- Limiar de dor por calor (HPT) ao Teste Quantitativo Somatossensorial (QST);
- Dor de moderada intensidade ao calor ao Teste Quantitativo Somatossensorial (QST);
- Limiar de sensível ao calor (STH) ao Teste Quantitativo Somatossensorial (QST);
- Tolerância Máxima à dor (HPTol) ao Teste Quantitativo Somatossensorial (QST);

Comparar os valores pós-intervenção entre a ETCC ativa e simulada aplicada no DLPFC e M1 em adolescentes, adultos jovens e idosos nos seguintes desfechos:

- Acurácia da memória de trabalho (WM) para teste de n-back;
- Tempo de resposta para os acertos (RTH) para teste de n-back.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENZATO, M. et al. Aging, sex and cognitive Theory of Mind: a transcranial direct current stimulation study. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–10, 2019.
- AKANEYA, Y. et al. Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 17, n. 17, p. 6707–6716, 1 set. 1997.
- ALLOWAY, T. P.; ALLOWAY, R. G. Working memory across the lifespan: A cross-sectional approach. **Journal of Cognitive Psychology**, v. 25, n. 1, p. 84–93, 1 fev. 2013.
- ANDREWS, S. C. et al. Improving working memory: The effect of combining cognitive activity and anodal transcranial direct current stimulation to the left dorsolateral prefrontal cortex. **Brain Stimulation**, v. 4, n. 2, p. 84–89, 2011.
- ANTAL, A. et al. Towards unravelling task-related modulations of neuroplastic changes induced in the human motor cortex. **European Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 9, p. 2687–2691, out. 2007.
- ANTAL, A. et al. Low intensity transcranial electric stimulation: Safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 128, n. 9, p. 1774–1809, set. 2017.
- APKARIAN, A. V. et al. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. **European Journal of Pain**, v. 9, n. 4, p. 463–463, ago. 2005b.
- ARAQUE, A.; CARMIGNOTO, G.; HAYDON, P. G. Dynamic signaling between astrocytes and neurons. **Annual review of physiology**, v. 63, p. 795–813, 2001.
- ARCOURT, A.; LECHNER, S. G. Peripheral and spinal circuits involved in mechanical allodynia. **Pain**, v. 156, n. 2, p. 220–1, 2015.
- ARENDDT-NIELSEN, L.; YARNITSKY, D. Experimental and clinical applications of quantitative sensory testing applied to skin, muscles and viscera. **The journal of pain : official journal of the American Pain Society**, v. 10, n. 6, p. 556–572, jun. 2009.
- BADDELEY. The episodic buffer: a new component of working memory? **Trends in cognitive sciences**, v. 4, n. 11, p. 417–423, nov. 2000.
- BADDELEY, A. D. Working Memory: Theories, models, and controversies. . **Annual Review of Psychology**, v. 63, n. 1, p. 1–29, 2012b.
- BALKOWIEC, A.; KATZ, D. M. Cellular mechanisms regulating activity-dependent release of native brain-derived neurotrophic factor from hippocampal neurons. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 22, n. 23, p. 10399–10407, dez. 2002.

- BARKLEY, R. A. Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. **Psychological bulletin**, v. 121, n. 1, p. 65–94, jan. 1997.
- BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 93, n. 1, p. 74–104, fev. 1979.
- BARNES, C. A.; MCNAUGHTON, B. L. Excitability changes in hippocampal granule cells of senescent rat. **Progress in Brain Research**, v. 58, p. 445–451, 1983.
- BARNES, C. A.; RAO, G.; HOUSTON, F. P. LTP induction threshold change in old rats at the perforant path--granule cell synapse. **Neurobiology of aging**, v. 21, n. 5, p. 613–620, 2000.
- BARRIA, A. et al. Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. **Science (New York, N.Y.)**, v. 276, n. 5321, p. 2042–2045, jun. 1997.
- BARRY, R. J. et al. EEG differences in children between eyes-closed and eyes-open resting conditions. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 120, n. 10, p. 1806–1811, out. 2009.
- BATSIKADZE, G. et al. Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. **Journal of Physiology**, v. 591, n. 7, p. 1987–2000, 2013.
- BAUDEWIG, J. et al. Regional modulation of BOLD MRI responses to human sensorimotor activation by transcranial direct current stimulation. **Magnetic resonance in medicine**, v. 45, n. 2, p. 196–201, fev. 2001.
- BEATTIE, E. C. et al. Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD. **Nature neuroscience**, v. 3, n. 12, p. 1291–1300, dez. 2000.
- BENES, F. M. et al. Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. **Archives of general psychiatry**, v. 51, n. 6, p. 477–484, jun. 1994.
- BERGLES, D. E.; DIAMOND, J. S.; JAHR, C. E. Clearance of glutamate inside the synapse and beyond. **Current opinion in neurobiology**, v. 9, n. 3, p. 293–298, jun. 1999.
- BERRYHILL, M. E.; JONES, K. T. Neuroscience Letters tDCS selectively improves working memory in older adults with more education. **Neuroscience Letters**, v. 521, n. 2, p. 148–151, 2012.
- BOGGIO, P. S. et al. Effects of transcranial direct current stimulation on working memory in patients with Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, 2006.
- BOGGIO, P. S. et al. Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers. **European Journal of Neurology**, v. 15, n. 10, p. 1124–1130, 2008.

- BONDESSON, E. et al. Consultation prevalence among children, adolescents and young adults with pain conditions: A description of age- and gender differences. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, v. 24, n. 3, p. 649–658, 2020.
- BRAMHAM, C. R. Local protein synthesis, actin dynamics, and LTP consolidation. **Current Opinion in Neurobiology**, 2008.
- BRÉBION, G. et al. Decreased processing speed might account for working memory span deficit in schizophrenia, and might mediate the associations between working memory span and clinical symptoms. **European Psychiatry**, v. 29, n. 8, p. 473–478, out. 2014.
- BREDT, D. S.; NICOLL, R. A. AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. **Neuron**, v. 40, n. 2, p. 361–379, out. 2003.
- BREITLING, C. et al. Comparison between conventional and HD-tDCS of the right inferior frontal gyrus in children and adolescents with ADHD. **Clinical Neurophysiology**, v. 131, n. 5, p. 1146–1154, 2020.
- BRIETZKE, A. P. et al. Neuroplastic Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Painful Symptoms Reduction in Chronic Hepatitis C: A Phase II Randomized, Double Blind, Sham Controlled Trial. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 498, 11 jan. 2016.
- BRIETZKE, A. P. et al. Large Treatment Effect With Extended Home-Based Transcranial Direct Current Stimulation Over Dorsolateral Prefrontal Cortex in Fibromyalgia: A Proof of Concept Sham-Randomized Clinical Study. **The journal of pain : official journal of the American Pain Society**, jul. 2019.
- BRUNONI, A. R. et al. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. **Int J Psychophysiol**, v. 14, n. 8, p. 1133–45, 2011.
- BRUNONI, A. R. et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): Challenges and future directions **Brain Stimulation**, 2012.
- BRUNONI, A. R. et al. Trial of Electrical Direct-Current Therapy versus Escitalopram for Depression. **The New England journal of medicine**, v. 376, n. 26, p. 2523–2533, jun. 2017.
- BRUNONI, A. R.; VANDERHASSELT, M.-A. Working memory improvement with non-invasive brain stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex: A systematic review and meta-analysis. **Brain and Cognition**, v. 86, p. 1–9, 2014.
- CALLICOTT, J. H. et al. Physiological Characteristics of Capacity Constraints in Working Memory as Revealed by Functional MRI. **Cerebral Cortex**, v. 9, n. 1, p. 20–26, 1 jan. 1999.
- CANSINO, S. et al. The decline of verbal and visuospatial working memory across the adult life span. **Age (Dordrecht, Netherlands)**, v. 35, n. 6, p. 2283–2302, dez. 2013.
- CAPPELL, K. A.; GMEINDL, L.; REUTER-LORENZ, P. A. Age differences in prefrontal recruitment during verbal working memory maintenance depend on memory load. **Cortex; a**

**journal devoted to the study of the nervous system and behavior**, v. 46, n. 4, p. 462–473, abr. 2010.

CARONI, P.; DONATO, F.; MULLER, D. Structural plasticity upon learning: regulation and functions. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 13, n. 7, p. 478–490, jun. 2012.

CARVALHO, F. et al. Home-Based Transcranial Direct Current Stimulation Device Development: An Updated Protocol Used at Home in Healthy Subjects and Fibromyalgia Patients. **Journal of visualized experiments : JoVE**, n. 137, p. 57614, 14 jul. 2018.

CESPÓN, J. et al. Anodal Transcranial Direct Current Stimulation Promotes Frontal Compensatory Mechanisms in Healthy Elderly Subjects. v. 9, n. December, p. 1–12, 2017.

CHAIIEB, L.; ANTAL, A.; PAULUS, W. Gender-specific modulation of short-term neuroplasticity in the visual cortex induced by transcranial direct current stimulation. **Visual neuroscience**, v. 25, n. 1, p. 77–81, 2008.

CHAUDHURY, D.; WANG, L. M.; COLWELL, C. S. Circadian regulation of hippocampal long-term potentiation. **Journal of biological rhythms**, v. 20, n. 3, p. 225–236, jun. 2005.

CHEERAN, B. et al. A common polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene ( BDNF ) modulates human cortical plasticity and the response to rTMS. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 23, p. 5717–5725, 1 dez. 2008.

CHRISTOPHER, G.; MACDONALD, J. The impact of clinical depression on working memory. **Cognitive Neuropsychiatry**, v. 10, n. 5, p. 379–399, nov. 2005.

CIRILLO, J. et al. Motor cortex plasticity induced by paired associative stimulation is enhanced in physically active individuals. **The Journal of physiology**, v. 587, n. Pt 24, p. 5831–5842, dez. 2009.

CITRI, A.; MALENKA, R. C. Synaptic plasticity: Multiple forms, functions, and mechanisms. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 1, p. 18–41, 2008.

CUMMINGS, J. A. et al. Ca<sup>2+</sup> signaling requirements for long-term depression in the hippocampus. **Neuron**, v. 16, n. 4, p. 825–833, abr. 1996.

D’ESPOSITO, M. From cognitive to neural models of working memory. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 362, n. March, p. 761–772, 2007.

D’ESPOSITO, M.; POSTLE, B. R.; RYPMA, B. Prefrontal cortical contributions to working memory: evidence from event-related fMRI studies. **Experimental brain research. Experimentelle Hirnforschung. Experimentation cerebrale**, v. 133, n. 1, p. 3–11, 2000.

DAHLHAMER, J.; LUCAS, J.; ZELAYA, C. Pain Awareness Month — September 2018 Prevalence of Chronic Pain and High-Impact Chronic Pain Among Adults — United States , 2016. v. 67, n. 36, 2018.

DALL’AGNOL, L. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the corticospinal inhibition and the brain-derived neurotrophic factor in chronic myofascial pain

- syndrome: an explanatory double-blinded, randomized, sham-controlled trial. **The journal of pain : official journal of the American Pain Society**, v. 15, n. 8, p. 845–55, ago. 2014.
- DEDONCKER, J. et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effects of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Over the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Healthy and Neuropsychiatric Samples: Influence of Stimulation Parameters. **Brain Stimulation**, 2016.
- DIAMOND, A. Executive Functions. **Annual review of clinical psychology****Psychol.**, v. 64, p. 135–168, 2013.
- DONOGHUE JP, HESS G, S. J. Substrates and mechanisms for learning in motor cortex. In: **Motor Behavior in Vertebrates**. Cambridge: MIT Press, 1996. p. 363–386.
- ECKER, U. K. H. et al. The components of working memory updating: An experimental decomposition and individual differences. **Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition**, v. 36, n. 1, p. 170–89, 2010.
- EMONSON, M. R. L. et al. Neurobiological effects of transcranial direct current stimulation in younger adults, older adults and mild cognitive impairment. **Neuropsychologia**, v. 125, p. 51–61, 2019a.
- FATHI, D. et al. Effects of aging on the human motor cortical plasticity studied by paired associative stimulation. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 121, n. 1, p. 90–93, jan. 2010.
- FOSTER, T. C.; NORRIS, C. M. Age-associated changes in Ca(2+)-dependent processes: relation to hippocampal synaptic plasticity. **Hippocampus**, v. 7, n. 6, p. 602–612, 1997.
- FRANCIS, J. T.; GLUCKMAN, B. J.; SCHIFF, S. J. Sensitivity of neurons to weak electric fields. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 19, p. 7255–7261, 13 ago. 2003.
- FREGNI, F. et al. Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory. **Experimental Brain Research**, v. 166, n. 1, p. 23–30, 2005.
- FRITSCH, B. et al. Direct current stimulation promotes BDNF-dependent synaptic plasticity: potential implications for motor learning. **Neuron**, v. 66, n. 2, p. 198–204, abr. 2010.
- GAZZALEY, A. et al. Top-down suppression deficit underlies working memory impairment in normal aging. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 10, p. 1298–1300, 2005.
- GAZZALEY, A. Influence of early attentional modulation on working memory. v. 49, n. 6, p. 1410–1424, 2012.
- GOBINA, I. et al. Prevalence of self-reported chronic pain among adolescents: Evidence from 42 countries and regions. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, v. 23, n. 2, p. 316–326, 2019.
- GOGTAY, N. et al. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United**

**States of America**, v. 101, n. 21, p. 8174 LP – 8179, 25 maio 2004.

GOH, J.; PARK, D. C. Neuroplasticity and cognitive aging. **Restor Neurol Neurosci**, v. 27, n. 5, p. 391–403, 2009.

GOOD, C. D. et al. A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. **NeuroImage**, v. 14, n. 1 Pt 1, p. 21–36, jul. 2001.

GROENEWALD, C. B.; GILES, M.; PALERMO, T. M. School Absence Associated with Childhood Pain in the United States. **Clinical Journal of Pain**, v. 35, n. 6, p. 525–531, 2019.

HILL, A. T.; FITZGERALD, P. B.; HOY, K. E. Effects of Anodal Transcranial Direct Current Stimulation on Working Memory: A Systematic Review and Meta-Analysis of Findings From Healthy and Neuropsychiatric Populations. **Brain stimulation**, v. 9, n. 2, p. 197–208, 2016.

HINES, J. H. et al. Neuronal activity biases axon selection for myelination in vivo. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. August 2014, p. 1–9, 2015.

HLINKA, J. et al. Slow EEG pattern predicts reduced intrinsic functional connectivity in the default mode network: an inter-subject analysis. **NeuroImage**, v. 53, n. 1, p. 239–246, out. 2010.

HUANG, Y.-Z. et al. The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 118, n. 5, p. 1028–1032, 2007.

HUTTENLOCHER, P. R. Synaptic density in human frontal cortex - Developmental changes and effects of aging. **Brain Research**, v. 163, n. 2, p. 195–205, 1979.

HYLANDS-WHITE, N.; DUARTE, R. V.; RAPHAEL, J. H. An overview of treatment approaches for chronic pain management. **Rheumatology International**, v. 37, n. 1, p. 29–42, 2017.

IYER, M. B. et al. Safety and cognitive effect of frontal DC brain polarization in healthy individuals. **Neurology**, v. 64, n. 5, p. 872–875, mar. 2005.

JAMIL, A. et al. Systematic evaluation of the impact of stimulation intensity on neuroplastic after-effects induced by transcranial direct current stimulation. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 4, p. 1273–1288, 15 fev. 2017.

JERNIGAN, T. L.; TALLAL, P. Late childhood changes in brain morphology observable with MRI. **Developmental medicine and child neurology**, v. 32, n. 5, p. 379–385, 1990.

JULIUS, D. Molecular mechanisms of nociception . **Nature**, v. 413, n. September, p. 203–210, 2001.

KAROUM, F.; CHRAPUSTA, S. J.; EGAN, M. F. 3-Methoxytyramine is the major metabolite of released dopamine in the rat frontal cortex: reassessment of the effects of antipsychotics on the dynamics of dopamine release and metabolism in the frontal cortex, nucleus accumbens, and striatum by a simple t. **Journal of neurochemistry**, v. 63, n. 3, p. 972–979, set. 1994.

KEESER, D. et al. Prefrontal Transcranial Direct Current Stimulation Changes Connectivity of Resting-State Networks during fMRI. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 43, p. 15284–15293, 2011a.

KEESER, D. et al. Prefrontal direct current stimulation modulates resting EEG and event-related potentials in healthy subjects: a standardized low resolution tomography (sLORETA) study. **NeuroImage**, v. 55, n. 2, p. 644–657, mar. 2011b.

KELLEYWAY, P. The part played by electric fish in the early history of bioelectricity and electrotherapy. **Bulletin of the history of medicine**, v. 20, n. 2, p. 112–137, jul. 1946.

KILNER, J. M. et al. Hemodynamic correlates of EEG: a heuristic. **NeuroImage**, v. 28, n. 1, p. 280–286, out. 2005.

KIM, J. Maintenance and manipulation of information in schizophrenia: further evidence for impairment in the central executive component of working memory. **Schizophrenia Research**, v. 68, n. 2–3, p. 173–187, 1 jun. 2004.

KIRCHNER, W. K. Age differences in short-term retention of rapidly changing information. **Journal of experimental psychology**, v. 55, n. 4, p. 352–358, abr. 1958.

KIRKWOOD, A.; BEAR, M. F. Homosynaptic long-term depression in the visual cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 14, n. 5 Pt 2, p. 3404–3412, maio 1994.

KIROVA, A.-M.; BAYS, R. B.; LAGALWAR, S. Working Memory and Executive Function Decline across Normal Aging, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer's Disease. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–9, 2015.

KLEIM, J. A. et al. BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex. **Nature neuroscience**, v. 9, n. 6, p. 735–737, 2006.

KOBAYASHI, S. Organization of neural systems for aversive information processing: Pain, error, and punishment. **Frontiers in Neuroscience**, 2012.

KOLB, B.; GIBB, R. Searching for the principles of brain plasticity and behavior. **Cortex**, 2014.

KONRAD, K.; FIRK, C.; J. UHLHAAS, P. Brain Development During Adolescence. **Deutsches arzteblatt International**, v. 110, p. 425–231, 2013.

KRAMER, A. F.; ERICKSON, K. I. Capitalizing on cortical plasticity: influence of physical activity on cognition and brain function. **Trends in cognitive sciences**, v. 11, n. 8, p. 342–348, ago. 2007.

KUO, M.-F. et al. Focusing effect of acetylcholine on neuroplasticity in the human motor cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 27, n. 52, p. 14442–14447, dez. 2007.

KUO, M.-F.; PAULUS, W.; NITSCHKE, M. A. Sex differences in cortical neuroplasticity in



humans. **Neuroreport**, v. 17, n. 16, p. 1703–1707, nov. 2006.

KUO, M.-F.; PAULUS, W.; NITSCHKE, M. A. Boosting focally-induced brain plasticity by dopamine. **Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)**, v. 18, n. 3, p. 648–651, mar. 2008.

LANG, N. et al. How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain? **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 2, p. 495–504, 21 jul. 2005.

LEACH, R. C. et al. Differential Age Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Associative Memory. **The journals of gerontology. Series B, Psychological sciences and social sciences**, v. 74, n. 7, p. 1163–1173, set. 2019.

LEE, S. et al. The influence of endogenous estrogen on transcranial direct current stimulation: A preliminary study. **European Journal of Neuroscience**, v. 48, n. 4, p. 2001–2012, 2018.

LEFAUCHEUR, J.-P. et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). **Clinical Neurophysiology**, v. 128, n. 1, p. 56–92, 2017.

LEWIS, S. J. G. et al. Cognitive impairments in early Parkinson's disease are accompanied by reductions in activity in frontostriatal neural circuitry. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 15, p. 6351–6356, 2003.

LIPPOLD, O. C.; REDFEARN, J. W. mental changes resulting from the passage of small direct currents through the human brain. **The British journal of psychiatry : the journal of mental science**, v. 110, p. 768–772, nov. 1964.

LISMAN, J. E. Three Ca<sup>2+</sup> levels affect plasticity differently: the LTP zone, the LTD zone and no man's land. **The Journal of physiology**, v. 532, n. Pt 2, p. 285, abr. 2001.

LORENZ, J.; MINOSHIMA, S.; CASEY, K. L. Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. **Brain : a journal of neurology**, v. 126, n. Pt 5, p. 1079–1091, maio 2003.

LOTTA, T. et al. Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase: a revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. **Biochemistry**, v. 34, n. 13, p. 4202–4210, abr. 1995.

LU, B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 10, n. 2, p. 86–98, 2003.

LUSCHER, C. et al. Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane. **Nature neuroscience**, v. 3, n. 6, p. 545–550, jun. 2000.

MALENKA, R. C.; NICOLL, R. A. NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms. **Trends in neurosciences**, v. 16, n. 12, p. 521–527, dez. 1993.

MANCUSO, L. E. et al. Does Transcranial Direct Current Stimulation Improve Healthy Working Memory?: A Meta-analytic Review. p. 1–27, 2015.

- MARNER, L. et al. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. **The Journal of comparative neurology**, v. 462, n. 2, p. 144–152, jul. 2003.
- MARTIN, D. M. et al. Use of transcranial direct current stimulation (tDCS) to enhance cognitive training: effect of timing of stimulation. **Experimental Brain Research**, v. 232, n. 10, p. 3345–3351, 2014.
- MASHAL, N.; METZUYANIM-GORELICK, S. New information on the effects of transcranial direct current stimulation on n-back task performance. **Experimental Brain Research**, v. 0, n. 0, p. 0, 2019.
- MATSUZAKI, M. et al. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. **Nature**, v. 429, n. 6993, p. 761–766, 17 jun. 2004.
- MCDONNELL, M. N.; OREKHOV, Y.; ZIEMANN, U. Suppression of LTP-like plasticity in human motor cortex by the GABAB receptor agonist baclofen. **Experimental brain research**, v. 180, n. 1, p. 181–186, jun. 2007.
- MCMAHON, S. et al. **Wall & Melzack's Textbook of Pain**. 6th Editio ed. [s.l.] Saunders, 2013.
- MERIGHI, A. et al. **BDNF as a pain modulator****Progress in Neurobiology**, 2008.
- MEYR, A. J.; STEINBERG, J. S. The Physiology of the Acute Pain Pathway. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 25, n. 3, p. 305–326, 2008.
- MILLAN, M. J. **Descending control of pain****Progress in Neurobiology**, 2002.
- MINHAS, P. et al. Transcranial Direct Current Stimulation in Pediatric Brain: A computational modeling study. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc**, 2013.
- MIYAKE, A.; SHAH, P. Mechanisms of Active Maintenance and Executive Control Edited by. **System**, v. 21, p. 1–27, 1999.
- MOBBS, D. et al. From Threat to Fear: The Neural Organization of Defensive Fear Systems in Humans. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 39, p. 12236–12243, 2009.
- MOLIADZE, V. et al. Stimulation intensities of transcranial direct current stimulation have to be adjusted in children and adolescents. **Clinical Neurophysiology**, v. 126, n. 7, p. 1392–1399, 2015.
- MONSELL, S. Task switching. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 7, n. 3, p. 134–140, 2003.
- MONTE-SILVA, K. et al. Induction of late LTP-like plasticity in the human motor cortex by repeated non-invasive brain stimulation. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 3, p. 424–432, 2013.
- MOORE, A. et al. Expect analgesic failure; pursue analgesic success. **BMJ (Online)**, v. 346, n. 7911, p. 7–9, 2013.
- MORISHITA, W. et al. Regulation of synaptic strength by protein phosphatase 1. **Neuron**, v.

32, n. 6, p. 1133–1148, dez. 2001.

MORTON, D. L.; SANDHU, J. S.; JONES, A. K. P. **Brain imaging of pain: State of the art***Journal of Pain Research*, 2016.

MULKEY, R. M. et al. Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. **Nature**, v. 369, n. 6480, p. 486–488, jun. 1994.

MULLER-DAHLHAUS, J. F. M. et al. Interindividual variability and age-dependency of motor cortical plasticity induced by paired associative stimulation. **Experimental brain research**, v. 187, n. 3, p. 467–475, maio 2008.

MYLIUS V, JUNG M, MENZLER K, HAAG A, KHADER PH, OERTEL WH, ROSENOW F, L. J. Effects of transcranial direct current stimulation on pain perception and working memory. **European Journal of Pain**, n. 16, p. 974–982, 2012.

NAGEL, I. E. et al. Load Modulation of BOLD Response and Connectivity Predicts Working Memory Performance in Younger and Older Adults. **Journal of Cognitive Neuroscience**, p. 2030–2045, 2011.

NEJATI, V. et al. Transcranial Direct Current Stimulation Improves Executive Dysfunctions in ADHD: Implications for Inhibitory Control, Interference Control, Working Memory, and Cognitive Flexibility. **J Atten Disord**, p. 1087054717730611–1087054717730611, 2017.

NILSSON, J. et al. Direct-current stimulation does little to improve the outcome of working-memory training in older adults. **Psychological science**, v. 28, n. 7, p. 907–920, 2018.

NITSCHKE, M. A. et al. Pharmacological Modulation of Cortical Excitability Shifts Induced by Transcranial Direct Current Stimulation in Humans. **Journal of Physiology**, v. 553, n. 1, p. 293–301, 2003.

NITSCHKE, M. A. et al. GABAergic modulation of DC stimulation-induced motor cortex excitability shifts in humans. **The European journal of neuroscience**, v. 19, n. 10, p. 2720–2726, maio 2004a.

NITSCHKE, M. A. et al. Catecholaminergic consolidation of motor cortical neuroplasticity in humans. **Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)**, v. 14, n. 11, p. 1240–1245, nov. 2004b.

NITSCHKE, M. A. et al. Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex. **The European journal of neuroscience**, v. 23, n. 6, p. 1651–1657, mar. 2006.

NITSCHKE, M. A. et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. **Brain Stimulation**, v. 1, n. 3, p. 206–223, 2008.

NITSCHKE, M. A. et al. Treatment of depression with transcranial direct current stimulation (tDCS): A Review. **Experimental Neurology**, v. 219, n. 1, p. 14–19, 2009a.

NITSCHKE, M. A. et al. Serotonin affects transcranial direct current-induced neuroplasticity in humans. **Biological psychiatry**, v. 66, n. 5, p. 503–508, set. 2009b.

- NITSCHKE, M. A. et al. Effects of frontal transcranial direct current stimulation on emotional state and processing in healthy humans. **Frontiers in psychiatry**, v. 3, p. 58, 2012.
- NITSCHKE, M. A.; PAULUS, W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. **The Journal of Physiology**, v. 527 Pt 3, p. 633–9, 2000.
- NORRIS, C. M.; KOROL, D. L.; FOSTER, T. C. Increased susceptibility to induction of long-term depression and long-term potentiation reversal during aging. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 16, n. 17, p. 5382–5392, set. 1996.
- OHN, S. H. et al. Time-dependent effect of transcranial direct current stimulation on the enhancement of working memory. **Cognitive neuroscience and neuropsychology**, v. 19, 2008.
- OPITZ, A. et al. Determinants of the electric field during transcranial direct current stimulation. **NeuroImage**, v. 109, p. 140–150, abr. 2015.
- OSSIPOV, M. H.; MORIMURA, K.; PORRECA, F. Descending pain modulation and chronification of pain. **Current opinion in supportive and palliative care**, v. 8, n. 2, p. 143–51, 2014.
- OWEN, A. M. et al. N-back working memory paradigm: a meta-analysis of normative functional neuroimaging studies. **Human brain mapping**, v. 25, n. 1, p. 46–59, maio 2005.
- PARK, S.-H. et al. Long-term effects of transcranial direct current stimulation combined with computer-assisted cognitive training in healthy older adults. **Neuroreport**, v. 25, p. 122–126, 2013.
- PASCUAL-LEONE, A. et al. Characterizing Brain Cortical Plasticity and Network Dynamics Across the Age-Span in Health and Disease with TMS-EEG and TMS-fMRI. **Brain Topogr**, v. 24, p. 3–4, 2011.
- PENA-GOMEZ, C. et al. Down-regulation of negative emotional processing by transcranial direct current stimulation: effects of personality characteristics. **PloS one**, v. 6, n. 7, p. e22812, 2011.
- PETER, J. et al. Reducing negative affect with anodal transcranial direct current stimulation increases memory performance in young-but not in elderly-individuals. **Brain structure & function**, v. 224, n. 8, p. 2973–2982, nov. 2019.
- PLEWNIA, C. et al. Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on executive functions: Influence of COMT Val/Met polymorphism. **Cortex**, v. 49, n. 7, p. 1801–1807, 2013.
- POLANIA, R. et al. Introducing graph theory to track for neuroplastic alterations in the resting human brain: a transcranial direct current stimulation study. **NeuroImage**, v. 54, n. 3, p. 2287–2296, fev. 2011.
- POLANÍA, R.; NITSCHKE, M. A.; PAULUS, W. Modulating functional connectivity patterns

and topological functional organization of the human brain with transcranial direct current stimulation. **Human Brain Mapping**, v. 32, n. 8, p. 1236–1249, 2011.

POLICH, J. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. **Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology**, v. 118, n. 10, p. 2128–2148, out. 2007.

PRIORI, A. et al. Polarization of the human motor cortex through the scalp. **Neuroreport**, v. 9, n. 10, p. 2257–2260, jul. 1998.

RAC-LUBASHEVSKY, R.; KESSLER, Y. Decomposing the n-back task: An individual differences study using the reference-back paradigm. **Neuropsychologia**, v. 90, p. 190–199, set. 2016.

RAJA, S. N.; HOOT, M. R.; DOUGHERTY, P. M. **Chapter 1 - Anatomy and physiology of somatosensory and pain processing**. Third Edit ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2011a.

REINHART, R. M. G. et al. Using transcranial direct-current stimulation ( tDCS ) to understand cognitive processing. **Attention, Perception, & Psychophysics**, p. 3–23, 2017.

RESNICK, S. M. et al. Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 3295–301, 2003.

REUTER-LORENZ, P. A. et al. Age differences in the frontal lateralization of verbal and spatial working memory revealed by PET. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 12, n. 1, p. 174–187, jan. 2000.

REUTER-LORENZ, P. A.; CAPPELL, K. A. Neurocognitive Aging and the Compensation Hypothesis. **Current Directions in Psychological Science**, v. 17, n. 3, p. 177–182, 2008.

REX, C. S. et al. Long-term potentiation is impaired in middle-aged rats: regional specificity and reversal by adenosine receptor antagonists. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 25, n. 25, p. 5956–5966, jun. 2005.

REYNOLDS, D. V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science** (New York, N.Y.), v. 164, n. 3878, p. 444–445, abr. 1969.

RIBEIRO, H. et al. Preoperative transcranial direct current stimulation: Exploration of a novel strategy to enhance neuroplasticity before surgery to control postoperative pain. A randomized sham-controlled study. **PloS one**, v. 12, n. 11, p. e0187013–e0187013, 30 nov. 2017.

RIDDING, M. C.; ZIEMANN, U. Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. **J Physiol**, v. 58813, p. 2291–2304, 2010.

SALE, M. V; RIDDING, M. C.; NORDSTROM, M. A. Cortisol inhibits neuroplasticity induction in human motor cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 33, p. 8285–8293, ago. 2008.

SARMIENTO, C. I.; SAN-JUAN, D.; PRASATH, V. B. S. Letter to the Editor: Brief history of

transcranial direct current stimulation (tDCS): From electric fishes to microcontrollers. **Psychological Medicine**, v. 46, n. 15, p. 3259–3261, 2016.

SCARABELLOT, V. L. et al. Transcranial direct-current stimulation reduces nociceptive behaviour in an orofacial pain model. **Journal of oral rehabilitation**, v. 46, n. 1, p. 40–50, jan. 2019.

SCHNITZLER, A.; PLONER, M. Neurophysiology and Functional Neuroanatomy of Pain Perception. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 17, n. 6, p. 592–603, 2000.

SCHWEINHARDT, P.; BUSHNELL, M. C. Pain imaging in health and disease--how far have we come? **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3788–3797, nov. 2010.

SELIG, D. K. et al. Independent mechanisms for long-term depression of AMPA and NMDA responses. **Neuron**, v. 15, n. 2, p. 417–426, ago. 1995.

SHARMA, B. et al. Opioid Use Disorders. **Child and adolescent psychiatric clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 473–487, jul. 2016.

SILVA, A. J. et al. Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. **Science (New York, N.Y.)**, v. 257, n. 5067, p. 206–211, jul. 1992.

SOUZA, V. et al. Cognitive effects of transcranial direct current stimulation combined with working memory training in fibromyalgia : a randomized clinical trial. **Scientific Reports**, v. 8:12477, n. July, p. 1–11, 2018.

SOWELL, E. R. et al. Localizing age-related changes in brain structure between childhood and adolescence using statistical parametric mapping. **NeuroImage**, v. 9, n. 6 Pt 1, p. 587–97, 1999.

SOWELL, E. R. et al. Improved memory functioning and frontal lobe maturation between childhood and adolescence: a structural MRI study. **Journal of the International Neuropsychological Society : JINS**, v. 7, n. 3, p. 312–22, 2001.

SOWELL, E. R. et al. Mapping cortical change across the human life span. **Nature neuroscience**, v. 6, n. 3, p. 309–15, 2003.

SOWELL, E. R.; THOMPSON, P. M.; TOGA, A. W. Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 10, n. 4, p. 372–392, 2004.

SPEZIA ADACHI, L. N. et al. Exogenously induced brain activation regulates neuronal activity by top-down modulation: conceptualized model for electrical brain stimulation. **Experimental Brain Research**, v. 233, n. 5, p. 1377–1389, 2015.

STAGG, C. J. et al. Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 29, n. 16, p. 5202–5206, abr. 2009.

STAGG, C. J.; NITSCHKE, M. A. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v.

17, n. 1, p. 37–53, fev. 2011.

STEFAN, K.; WYCISLO, M.; CLASSEN, J. Modulation of associative human motor cortical plasticity by attention. **Journal of neurophysiology**, v. 92, n. 1, p. 66–72, 2004.

STEIN, D. J. et al. Transcranial Direct Current Stimulation in Patients with Anxiety: Current Perspectives. **Neuropsychiatric disease and treatment**, v. 16, p. 161–169, 14 jan. 2020.

STEINBERG, F.; PIXA, N. H.; FREGNI, F. A Review of Acute Aerobic Exercise and Transcranial Direct Current Stimulation Effects on Cognitive Functions and Their Potential Synergies. **Frontiers in human neuroscience**, v. 12, p. 534, 11 jan. 2019.

TEO, F. et al. Investigating the role of current strength in tdcS modulation of working memory performance in healthy controls. **Frontiers in Psychiatry**, v. 2, n. JUL, p. 1–6, 2011.

TERRY, R. D.; DETERESA, R.; HANSEN, L. A. Neocortical cell counts in normal human adult aging. **Annals of neurology**, v. 21, n. 6, p. 530–539, jun. 1987.

THOMAS, C.; DATTA, A.; WOODS, A. Effect of Aging on Cortical Current Flow Due to Transcranial Direct Current Stimulation: Considerations for Safety. **Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS**, v. 2018- July, p. 3084–3087, 2018.

VAN PRAAG, H. Exercise and the brain: something to chew on. **Trends in neurosciences**, v. 32, n. 5, p. 283–290, maio 2009.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. G. Descending control of persistent pain: Inhibitory or facilitatory? **Brain Research Reviews**, 2004.

VASEGHI, B.; ZOGHI, M.; JABERZADEH, S. Does anodal transcranial direct current stimulation modulate sensory perception and pain? A meta-analysis study. **Clinical Neurophysiology**, v. 125, n. 9, p. 1847–1858, set. 2014.

VERDUGO, R.; OCHOA, J. L. Quantitative somatosensory thermotest. A key method for functional evaluation of small calibre afferent channels. **Brain : a journal of neurology**, v. 115 ( Pt 3, p. 893–913, jun. 1992.

VOGEL, E. K.; MCCOLLOUGH, A. W.; MACHIZAWA, M. G. Neural measures reveal individual differences in controlling access to working memory. **Nature**, v. 438, n. 7067, p. 500–503, 2005.

WOOLEY, C. S.; SCHWARTZKROIN, P. A. Hormonal Effects on the Brain. **Epilepsia**, v. 8, p. s2–s8, 1998.

YAM, M. F. et al. General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 8, p. 2164, 24 jul. 2018.

YUSTE, R.; BONHOEFFER, T. Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. **Annual review of neuroscience**, v. 24, p. 1071–1089, 2001.

ZAGO, S. et al. Bartholow, Sciamanna, Alberti: pioneers in the electrical stimulation of the exposed human cerebral cortex. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 14, n. 5, p. 521–528, out. 2008.

ZEWDIE, E. et al. Brain Stimulation Safety and tolerability of transcranial magnetic and direct current stimulation in children : Prospective single center evidence from 3 . 5 million stimulations. **Brain Stimulation**, v. 13, n. 3, p. 565–575, 2020.

ZHANG, G. et al. Improved Working Memory Performance through Self- Regulation of Dorsal Lateral Prefrontal Cortex Activation Using Real-Time fMRI. **PLoS ONE** v. 8, n. 8, p. 1–9, 2013.

ZORTEA, M. et al. Transcranial Direct Current Stimulation to Improve the Dysfunction of Descending Pain Modulatory System Related to Opioids in Chronic Non-cancer Pain: An Integrative Review of Neurobiology and Meta-Analysis. **Frontiers in neuroscience** Switzerland, 2019.

ZUCKER, R. S.; REGEHR, W. G. Short-term synaptic plasticity. **Annual review of physiology**, v. 64, p. 355–405, 2002.



**ARTIGO I**

**Age as a mediator of tDCS effects on pain: An Integrative systematic review and  
meta-analysis**

Submetido a *Frontiers in Human Neuroscience*  
Impact Factor 2.870

**REVIEW FORUM**

Submitting Author

[Need Help? Contact us](#)**1. Initial Validation**[2. Editorial Assignment](#) [3. Independent Review](#) [4. Interactive Review](#) [5. Review Finalized](#) [6. Final Validation](#) [7. Final Decision](#)**Age as a mediator of tDCS effects on pain: An Integrative systematic review and meta-analysis**Julia Schirmer Saldanha, Maxciel Zortea, Iraci Lucena da Silva Torres, Felipe Fregni and **WOLNEI CAUMO\***Systematic Review, *Front. Hum. Neurosci. - Brain Imaging and Stimulation*

Received on: 02 Jun 2020, Edited by: No Associate Editor assigned.

Manuscript ID: 568306

Keywords: Adolescent, Elderly, tDCS, Pain, Pain Threshold, DLPFC, M1, Meta-analysis

- Download latest manuscript
- Supplementary materials
- View submitted files history
- View invoice

**NO ACTION IS REQUIRED FROM YOU**

Your manuscript has been submitted successfully and is being verified by the editorial office as part of the initial manuscript validation.

# **Age as a mediator of tDCS effects on pain: An Integrative systematic review and meta-analysis**

## **AUTHORS:**

Júlia Schirmer Saldanha,<sup>1,2</sup> Maxciel Zortea,<sup>1,2</sup> Iraci Lucena da Silva Torres,<sup>4</sup> Felipe Fregni,<sup>5</sup>

Wolnei Caumo<sup>1,2,3 \*</sup>

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

*2. Laboratory of Pain & Neuromodulation, Clinical Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.*

*3. Pain and Palliative Care Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.*

*4. Pharmacology of Pain and Neuromodulation: Pre-clinical Investigations Research Group, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.*

*5. Laboratory of Neuromodulation and Center for Clinical Research Learning, Physics and Rehabilitation Department, Spaulding Rehabilitation Hospital, Boston, MA, USA.*

**\*Corresponding author:** Wolnei Caumo MD, PhD; Department: Laboratory of Pain and Neuromodulation; Institution: Hospital de Clínicas de Porto Alegre at UFRGS. Address: Ramiro Barcelos, 2350 - CEP 90035-003 Bairro Rio Branco - Porto Alegre – RS, Brazil. Phone: (55) 51- 3359.8083. Fax: (55) 51- 3359.8083. email: [wcaumo@hcpa.edu.br](mailto:wcaumo@hcpa.edu.br)

## **Abstract**

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a neuromodulatory technique with potential to decrease pain scores and to add in chronic pain treatment. Although age is an essential factor that might impact the tDCS effect, most studies are conducted in adults. Thus, persist a critical gap in this field, as shown by only a few studies that have included other age groups. To examine the evidence upon the tDCS effect on pain scores on children, adolescents, or elderly, and indirectly, to infer the age-dependent impact on tDCS effects, we conducted a systematic review and meta-analysis. Methods: We have conducted a systematic review searching the following databases: PubMed, EMBASE, and Science Direct using the following search terms adapted according to MeSh or Entree: [(“Adolescent” OR “Children” OR “Elderly”) AND (“tDCS”) AND (“Pain” OR “Pain threshold”) AND (“dorsolateral prefrontal cortex” OR “Motor cortex)] up to April 20th, 2020. We preselected 228 articles, 13 of which were included in the systematic review. Two meta-analyses included a total of five studies with elderly subjects that had outcomes assessed by pain score or pain threshold. Results: For the analysis of pain score, 96 individuals received active stimulation, and we found a favorable effect for active tDCS to reduce pain score compared to sham ( $P = 0.002$ ). The standardized mean difference was  $-0.76$  (CI 95% =  $-1.24$  to  $-0.28$ ). For pain threshold in elderly, analysis showed no significant difference between active and sham tDCS. We retrieved two studies with adolescents: one study using anodal tDCS over the prefrontal cortex reported a reduction in pain scores, contrarily the second study reported an increase in pain sensitivity for the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) stimulation. Conclusion: Our findings suggest tDCS may reduce pain levels in the elderly, although that depends on montage and pain assessment measures. In addition the review reduced number of studies and the large heterogeneity for clinical conditions and protocols of stimulation present limits the support of tDCS use for pain treatment in the elderly. Larger studies on the tDCS effect on pain with elderly and adolescents evaluating different montages and electrical current intensity are needed.

**Keywords: children, adolescent, elderly, tDCS, pain, DLPFC, M1, meta-analysis**

## 1 INTRODUCTION

More than 25 million American adults suffer chronic pain (Nahin, 2015). Chronic pain is conceptually a process of maladaptive neuroplasticity by an imbalance in the excitability and inhibition in the pain processing pathways, including the cortical anatomical changes and the dysfunction in the processing as assessed by functional connectivity (Peyron et al., 2018). In contrast, the main mechanism of acute pain is tissue injury. This is a critical point that should be considered as part of the diagnostic criteria besides continuous or recurrent pain for more than three months (Raja et al., 2020). According to a survey conducted in 2106, over 20% of American adults suffered from chronic pain, and 8% presented high-impact pain, which is classified when pain is associated with limiting life or work activities (Dahlhamer, Lucas, & Zelaya, 2018). In the elderly chronic pain is one of the major health issues. The prevalence of chronic pain among the American elderly, with ages of 65 and 85, is estimated at 27%, and over 85 years old, it reaches 33% (Dahlhamer et al., 2018). In the elderly, it is also the most common risk factor for disability (Covinsky, Lindquist, Dunlop, & Yelin, 2009; Melzer, Gardener, & Guralnik, 2005), which occurs due to compromised activities of daily living and psychosocial problems like fear of movement (Meier et al., 2016), depression (Casten, Parmelee, Kleban, Lawton, & Katz, 1995) and reduced quality of life (Hopman-Rock, Kraaimaat, & Bijlsma, 1997). Besides, chronic pain among children and adolescents is also a concern, considering it may reach 44% prevalence in some countries (Bondesson, Olofsson, Caverius, Schelin, & Jöud, 2020; Gobina et al., 2019). The presence of chronic pain in this age group has a negative impact on the quality of life, with damage in the social, recreational, and academic domains, being a major cause of absenteeism in children and adolescents. Chronic pain is associated with increased schooling absenteeism (Groenewald, Giles, & Palermo, 2019), and, as shown by prospective cohort studies, the chronic pain in adolescents had been associated with lower education levels in adulthood, worse career positioning, and other social impacts such as early parenthood and a worse quality in affective relationships (Murray, Groenewald, De, & Palermo, 2020).

On the treatment side, chronic pain is a challenging condition, with low levels of pharmacological therapeutic success (Moore, Derry, Eccleston, & Kalso, 2013) and risk of opioid dependence (Florence, Zhou, Luo, & Xu, 2016). More than 20% of children and adolescents with chronic pain receive a prescription to opioids, and 25% received an order of two to four classes of drugs for pharmacological treatments (Gmuca et al., 2019). In this

scenario, transcranial direct current stimulation (tDCS) gain importance and appears as a promising therapeutic alternative based on the results found in the treatment of chronic pain syndromes in adults (Zortea et al., 2019). However, the tDCS effect has considerable variability between subjects (Ridding & Ziemann, 2010). Accordingly, a previous study with a sample composed mainly of males that received tDCS on the primary motor cortex at 1mA for 13 minutes found that the interindividual variability accounts for over 50% of the motor evoked potential effect (López-Alonso et al., 2014). In the same way, the chronological age has been pointed out as a relevant factor for the inter-subject tDCS effect variability (Ridding & Ziemann, 2010), and data that supports the tDCS use on chronic pain syndromes were mostly reported in adults between 18 and 60 years old. Age variability aspect found support in the neurobiological mechanisms involved in the tDCS effect, which depends on the propensity for plasticity induction. This propensity tends to be more significant at a younger age, and it decreases across life with a lower tendency to occur in older age (Freitas et al., 2013; Ridding & Ziemann, 2010). And the reduced ability of neuromodulation techniques to induce plasticity with aging have already been shown (Fathi et al., 2010; Muller-Dahlhaus et al., 2008).

The tDCS modulates cortical excitability with the low-intensity continuous electric current applied via electrodes placed on the scalp (M. a Nitsche & Paulus, 2000; Michael A. Nitsche et al., 2008). Anodal(a)-tDCS induces neuronal membrane depolarization. It enhances cortical excitability, while the cathodal tDCS decreases the excitability of respective target areas. According to animal models, the changes in the cortical excitability by a direct current occur due to the modification of membrane potential of targeted neurons (Bindman, Lippold, & Redfearn, 1964; Purpura & McMurtry, 1965). Blockers of sodium channels (e.g., carbamazepine), and calcium channels (e.g., flunarizine) were used to assess the tDCS effect on the membrane potential. These drugs eliminate the standard increase in cortical excitability elicited by anodal stimulation (M.A. Nitsche et al., 2003). Presumably, because these drugs cause hyperpolarization of neurons as they inactivate sodium and calcium channels (Stagg & Nitsche, 2011). Collectively, these results indicate that the tDCS effects include the modulation of neuronal membrane potential. In terms of spatial effect, the tDCS induces changes around the region of the electrodes, but also tDCS can alter broad areas across the cortex, not only the target area (Turi, Paulus, & Antal, 2012). Such results were found in humans studies using models of the electric current flow and the function of nuclear magnetic resonance (fMRI) (Saiote, Turi, Paulus, & Antal, 2013).

Further evidence suggests the tDCS modulates synaptic activity by neurotransmitters. Human neuroimage studies using magnetic resonance spectroscopy (MRS) from researches targeting specific neurotransmitter receptors found that anodal stimulation inhibits the GABA-ergic system (Liebetanz, Nitsche, Tergau, & Paulus, 2002; Michael A Nitsche et al., 2004; Stagg et al., 2009; Stagg & Nitsche, 2011). While the use of Citalopram, a serotonin reuptake inhibitor, reversed the inhibitory effect from a cathodal stimulation, and it enhanced and prolonged the excitatory effect for a-tDCS (Liebetanz et al., 2002; Medeiros et al., 2012). Through promoting or inhibiting cortical excitability, tDCS also elicits effects on cortical excitability that persist after the stimulation period, which occurs through synaptic plasticity mechanisms, which resemble characteristics of long term potentiation (LTP) or long-term depression (LTD) of glutamatergic synapses (Nitsche et al., 2008). Blockers of glutamate receptors NMDA abolish both excitatory and inhibitory aftereffects of tDCS. Therefore, the decreased ability to generate LTP found in the elderly (Barnes, Rao, & Houston, 2000) can influence the effectiveness of this neuromodulatory technique. Moreover, the reduction in brain volume associated with senescence causes an increase in the distance between brain cortex, and the tDCS electrodes positioned over the scalp (Resnick, Pham, Kraut, Zonderman, & Davatzikos, 2003), which can have as a consequence a lower electric field peak under the tDCS electrode for elderly (Thomas, Datta, & Woods, 2018).

In contrast, studies have shown that children compared to adults with the same tDCS parameters have a peak electric field and current density at least 1.5 times greater than the one found in adults. This phenomenon is associated with a thinner skull bone and a higher volume of cerebrospinal fluid (Minhas, Bikson, Woods, Rosen, & Kessler, 2013). The impact of the skull thickness was demonstrated in the spatial dispersion model of the electric current. The electric field was more potent in regions with thinner bone. Besides, the use of the regression model demonstrated that the cerebrospinal fluid's thickness and the depth of the cortical gyres also influence the distribution of the electric field (Opitz, Paulus, Will, Antunes, & Thielscher, 2015). Moreover, children and adolescents undergo a maturational physiological process that comprises synaptic selection and myelination. This process is active until early adulthood and is associated with a higher plasticity basal status (Sowell, Thompson, & Toga, 2004). Finally, neurophysiological measures showed that intracortical inhibition increases with age (Croarkin et al., 2014), and children and adolescents have a lower level of intracortical inhibition (Mall et al., 2004), which could

turn them more susceptible to the tDCS effect.

Nevertheless, the maturation and senescence process, which occurs to children, adolescents, and the elderly, respectively, are nonlinear phenomena (Sowell et al., 2004). Maturation begins at the parietal cortex, more specifically at the primary somatosensory cortex and then progresses rostrally to the frontal and caudal cortex and laterally to the occipital, parietal and temporal cortex. The dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) is the last prefrontal area to undergo a maturation process, which occurs only in late adolescence (Gogtay et al., 2004). The senescence process occurs with a reduction in cortical volume due to a decrease in neuronal size and the consequent loss of the amount of gray matter, but also a loss of white matter volume is present (Good et al., 2001). In similarity with the maturation process, senescence is also nonlinear phenomena, and most considerable volume losses occur in frontoparietal lobes, while the occipital and temporal lobes showed smaller volume reductions (Resnick et al., 2003). Therefore, due to localized differences in a nonlinear process, the montage of tDCS and the electrical current intensity can elicit different effects for distinct cortical areas according to age across life. Thus, additional studies are needed to explore this issue in the field of pain, since the two primary areas for the transcranial neuromodulation, nominally M1 and DLPFC, are likely affected differently by this neuromodulatory technique across the life.

Presumably, based on plasticity induction, a-tDCS over the left DLPFC and M1 has been shown to decrease pain levels in chronic pain patients, and to increase pain threshold in healthy subjects (Zortea et al., 2019, Vaseghi et al., 2014). Anodic stimulation over M1 seems to modulate the pain threshold and pain level by inhibiting the activity of thalamic nuclei. The lateral thalamic nucleus is a target of spinal nociceptive afferent and input from lateral thalamic nuclei that is responsible for sensory-discriminative aspects of pain stimulus (García-Larrea et al., 1999). The DLPFC is one of the most common active areas during pain episodes (Apkarian, Bushnell, Treede, & Zubieta, 2005) and is essential in the decision process related to pain. The prefrontal cortex is part of the network of connections of the descending modulatory system of pain. It seems to modulate structures involved in the emotional perception of pain, including the medial prefrontal cortex, anterior insular cortex, anterior cingulate cortex, and bilateral amygdala. These areas are connected to structures as the raphe magnus nucleus, periaqueductal grey matter, and the middle frontal gyrus (McMahon, Koltzenburg, Tracey, & Turk, 2013; Schweinhardt & Bushnell, 2010). The prefrontal cortex stimulation can also act by modulating pain correlates such as



anxiety, depression, and unpleasant sensation to a painful stimulus (Michael A. Nitsche, Boggio, Fregni, & Pascual-Leone, 2009). Anodal stimulation over the left DLPFC can reduce the valence for negative emotional images (Pena-Gomez, Vidal-Pineiro, Clemente, Pascual-Leone, & Bartres-Faz, 2011), and also improves the valence of positive emotional facial expressions (M A Nitsche et al., 2012).

### **1.1. Transcranial Direct Current Stimulation: Technical Factors and neuroplasticity**

The tDCS effects are influenced by the area where the electrode is applied (e.g., M1, DLPFC), anatomic aspects, and factors related to being prone to neuroplasticity state-dependent (Ridding & Ziemann, 2010). Besides the discussed age impact on tDCS effect, several other factors can be involved in the nonlinear response to tDCS and the interindividual variability. Among them, there are factors related to neuroplasticity, such as genetics polymorphisms [e.g., brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met, and Catechol-O-Metil Transferase (COMT) Val158Met], time of day, psychotropic drugs, exercise, circadian typology, cognitive processes, and sex. Regarding sex, women appeared to be more responsive to tDCS. Possibly an impact depends on estrogen levels. Also, women showed a higher medial prefrontal activation under nociceptive stimuli (Gupta et al., 2017) and a higher inhibitory function of the descending pain modulating system compared to males (Gasparin et al., 2020). Additionally, there is vast literature related to sex differences in pain sensitivity (Bartley & Fillingim, 2013). Also, regarding tDCS effect, women was shown to develop a longer-lasting LTD effect than men (Kuo, Paulus, & Nitsche, 2006).

Also current intensity can be a moderator in relation to age, since tDCS effect is resultant of interaction of factors including the stimulus (intensity, area of stimulation, cathodic or anodic, etc.), and the neuroplasticity state. However, the previous literature related to the tDCS dose is mixed and suggest that it is not a linear response (Monte-Silva et al., 2013). It is plausible that at least part of this explanation is related to tDCS electrical current intensity. However, it is essential to consider that the tDCS stimulus might facilitate or inhibit synaptic transmission to increase or decrease the frequency of action potentials in endogenous neuronal firing since it does not generate action potentials per se. Based on this rationale, we can comprehend why the literature is controversial on this point. A previous meta-analysis found that the tDCS higher dose was associated with better outcomes in patients with acute major depressive episodes (Brunoni et al., 2016). In contrast to a sham-

controlled trial using a higher dose (2.5 mA) yielded non-significant findings (Loo et al., 2018). Other studies that applied tDCS over the motor cortex concluded that enhancement of tDCS dose did not necessarily increase the effects of stimulation, but might shift the direction of excitability alterations (Monte-Silva et al., 2013, Batzikadze et al., 2013). Overall, even though evidence at present is not conclusive, they indicate that the variation of electrical current intensity certainly should be addressed when aiming to understand the differences in the tDCS effect.

Although the tDCS has been gaining ground in the field of pain, and the evidence is growing in its favor, essential gaps remain regarding the understanding of mediating factors of neuroplasticity and how much they can modify the response ETCC, particularly in assembly and stimulation. The age has a central role among these sets of factors that can permeate interpersonal variability in the effects of tDCS. The relationship between these factors involved in the neuroplasticity and the technical aspects is shown in Figure 1.

-----Insert figure 1-----

Given the emerging importance of tDCS as a potential treatment for chronic pain conditions, we have reviewed the current knowledge of tDCS for pain in less studied age groups: children, adolescents, and the elderly. The target was to compile and find evidence to treat pain and to improve its correlated symptoms of the two most frequently montages of the tDCS, M1, and DLPFC. This review aimed to answer the following question: i) Does tDCS over M1 or DLPFC modulates pain level or pain threshold in children, adolescent or elderly differentially? ii) With this review, we compile data to generate evidence and discuss how age can impact these neuromodulatory techniques in a distinct age group in the research and clinical contexts.

## **2.METHODOLOGY OF THE LITERATURE REVIEW**

This systematic review follows the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) guideline. There was no pre-published protocol.

## **2.1. Search Strategy**

To find relevant studies, we conducted a literature search in the following databases: MEDLINE (from 1966), ScienceDirect (from 2006), EMBASE (from 1993). The resulting mesh terms according to MeSh or Entree were searched: [("Adolescent" OR "Children" OR "Elderly") AND ("tDCS") AND ("Pain" OR "Pain threshold") AND ("dorsolateral prefrontal cortex" OR "Motor cortex")] up to April 20th, 2020 (complete search strategy for one data base in supplementary material).

## **2.2. Study Selection: Inclusion and Exclusion Criteria**

Two authors reviewed and selected the included studies independently, if disagreements were present, decisions were discussed with a third reviewer. After retrieving the studies with the search strategy authors excluded duplicates, and studies were assessed for inclusion criteria. Full text was evaluated if study were potentially eligible and the following information was extracted: included sample sizes, mean age, tDCS intervention, area of stimulation, the electric current intensity, stimulation time, outcomes evaluated on the study, significant findings, and effect sizes.

The inclusion criteria were the following: the sample comprises children, adolescents, or elderly (60 years or older than) for the group of active tDCS, studies that used tDCS on the primary motor cortex (M1) or dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), either conventional tDCS, or high-definition (HD-tDCS). To be included in the meta-analysis, studies should have a low risk of bias and outcome reporting VAS or NRS pain scores or pain threshold. We excluded studies with a sample age range from 18-60. Other exclusion criteria were the following: other languages than English, Portuguese, or Spanish; do not report pain or pain threshold as an outcome; studies using different types of stimulation than direct current; reviews and case studies; conference abstracts; study protocols. The fixed or random effect was applied according to heterogeneity, and the meta-analysis was performed by a standardized mean difference. The systematized search is presented in Figure 2.

## **2.3. Risk of Bias Assessment**

Two authors independently assessed the risk of bias according to the criteria from Cochrane guidelines (Higgins et al., 2011). Disagreements between the authors were solved

by discussion, with the involvement of a third reviewer if necessary. Studies potential bias was classified as: low risk (green plus signs); high risk (red minus signs) and unclear (yellow question mark) (table 2). The studies' features evaluated for bias were: randomization (selection bias), allocation concealment (selection bias), blinding of participants and researchers (performance bias), incomplete outcome data (attrition bias), selective reporting (reporting bias); and other bias. We consider in other bias category counterbalanced order for the different stimulation sessions and sham-controlled protocol.

### 3.RESULTS

With the search strategy 228 articles were identified. After evaluating title and abstract for duplicates and exclusion and inclusion criteria, 101 articles were selected for full text evaluation , and 13 meet criteria to be included in this systematic review (Figure 2). The characteristics of the included studies are summarized in Table 1.

-----Insert figure 2-----

-----Insert table 1-----

-----Insert table 2-----

#### 3.1.Results: Qualitative Data

It was included 13 studies in this systematic review with data from 398 participants. Data about the montage, number of sessions, electric current intensity, and time of stimulation vary among studies. The total sample sizes of studies vary from 5 to 60 subjects, and they include several different chronic pain conditions, as well as post-surgical pain, and two studies evaluate the effect on pain threshold on healthy subjects. Seven studies applied a-tDCS on the Motor cortex, two studies used a prefrontal cortex stimulation, while three studies had an arm for a-tDCS over M1 and one over the DLPFC (figure 3). One study with adolescents applied the anodal tDCS over the frontal area or interhemispheric fissure. The number of tDCS sessions ranged from 2 to 20 stimulation sessions. In one study, the a-tDCS was combined with intramuscular electrical stimulation. Device current intensity was 2mA for the most part of trials with elderly participants; only

one study evaluated 1mA current. For the studies with adolescents subjects the applied current intensity ranged from 60  $\mu$ A to 2mA stimulation. The simulation time was set to 20 min in nine studies. Other studies used 22min, 30 min, or 45 min.

-----Insert figure 3-----

### **3.1.1. Studies with Elderly Population**

Seven sham-controlled studies applied a-tDCS over M1; and six evaluated pain scores using VAS or NPS. For the studies that assessed the outcome by pain score, four presented a significant improvement for a-tDCS compared to sham (figure 4A). The effect size varies from moderate to large (Ahn et al., 2017; da Graca-Tarrago et al., 2019; Kim et al., 2013). The study of Graça-Tarragó et al. 2019 was a factorial trial with groups that received the a-tDCS coupled with intramuscular electrical stimulation (EIMS). The combined therapy with a-tDCS and active EIMS was more effective on pain decrease compared to sham (Cohen's D = 1.15, a large effect size). The a-tDCS, coupled with sham EIMS, produced an effect statistically significant compared to sham, but the effect size was smaller (Cohen's D= 0.37). The other two studies that used the a-tDCS on the M1 in a sham-controlled design did not find a significant difference between a-tDCS and sham for pain scores (Borckardt et al. 2017, Borckardt et al. 2013). The study that evaluated pain threshold also did not find difference from sham (Saldanha et al., 2020).

Four studies reported a comparison between before and after treatment effects for a-tDCS on the M1 with a large effect size for a-tDCS (Ahn et al., 2019; Concerto et al., 2016; da Graca-Tarrago et al., 2019; Harvey et al., 2017)(figure 4C). Noteworthy among the studies that also had a sham group, Graça-Tarragó et al. 2019 reported a VAS reduction from baseline for active tDCS but also for sham. Also, for M1 montage three studies presented a follow-up effect with a significant difference between a-tDCS and sham for one week, three weeks and four weeks follow up with a large effect size of 1.79, 0.79 and 0.61 respectively(Harvey et al. 2017, Ahn et al. 2017, Kim et al. 2013).

Five studies applied a-tDCS over DLPFC, four were controlled with sham, and one study evaluated the tDCS effect on pain scores in single-arm design. None of these studies

reported a significant effect of the a-tDCS stimulation compared to sham on pain scores (figure 4B) or pain threshold. However, two studies reported a significant change in pain from baseline (figure 4D): Deldar et al. 2019 reported a within effect comparing before VAS to after a-tDCS when the pain was evaluated during a working memory task, this difference presented a moderate effect size (0.39) (Deldar et al. 2019). Lee et al. 2019 found a significant difference for VAS pain score after the a-tDCS over DLPFC compared to baseline with a large effect size. However, the study had no blinding or randomized order (Lee et al., 2019).

-----Insert figure 4-----

### **3.1.1.1.Evidence for Other Clinical Outcomes**

Regarding analgesic use, Borckardt et al. 2013 and 2017 primary outcome were to evaluate the hydromorphone post-operative use. Borckardt et al., 2013 reported a decrease in hydromorphone use for a-tDCS over M1 when compared to sham. In the first study, they found a decrease in hydromorphone use when the a-tDCS was over M1 compared to sham (Borckardt et al., 2013). In contrast, in the second study, the same group found that the a-tDCS over M1 for the same montage increased the hydromorphone use when compared to sham (Borckardt et al., 2017). The authors discuss their contradictory findings as a consequence of a lack of blinding from the evaluators on the first study ( Borckardt et al., 2013) and a more rigorous double-blind protocol for the second study (Borckardt et al., 2017). The other two studies in chronic pain reported a reduction in the analgesic use with a-tDCS (Concerto et al., 2016) or with the EIMS, independently of a-tDCS or sham tDCS (da Graça-Tarragó et al., 2019).

The three studies with osteoarthritis samples reported the effect on the WOMAC scale, which is a self-administered questionnaire consisting of three subscales related to pain, stiffness, and impairments of physical function. Higher scores indicate worse pain, stiffness, and impairments of physical function. Ahn et al. 2019 and da Graça-Tarragó et al. 2019 reported an improvement in functional capacity from baseline (Ahn et al.

2019) compared to sham (Graça-Tarragó et al. 2019). Ahn et al., 2017 did not find an a-tDCS effect on WOMAC. Three studies reported the effect on McGill Pain Questionnaire for comprehensive assessment and characterization of pain symptoms. It has been widely used to assess multiple aspects of pain, and the affective pain component. Two studies reported improve in affective description of pain from baseline for a-tDCS over M1 (Ahn et al., 2019, Harvey et al. 2017).

The three studies that applied a-tDCS over DLPFC also evaluated working memory performance. For Lee et al. 2019 and Saldanha et al. 2020, no effect was found, while for Deldar et al. 2019, a-tDCS reduced response time on n-back tasks when compared to baseline. Still, then it was no different from sham, and no effect was found in accuracy. Also, Lee et al. 2019 reported a reduced fear of pain and increased perceived self-efficacy, which translates as psychological confidence to perform specific activities. Both effects support the DLPFC connection to emotional, cognitive aspects of pain.

### **3.1.2. Studies with Adolescents**

We included two studies with adolescents—one retrospective study with 44 adolescents with chronic headaches related to a mild head injury treated with a-tDCS. The researchers have reported a decrease in the Numerical Pain Scale (NRS) score of a low 3.5 points. They also found that the tDCS reduced the number of days with a headache per month and the duration of the headache attacks. Moreover, 81% presented a complete improvement of headache episodes. Among them and 29% had a pain reduction of at least 50% during at least 4.5 months after the treatment end (Pinchuk et al., 2013). The second study, a sham-controlled cross-over trial compared the heat pain threshold variation from before to after intervention for a-tDCS on M1, DLPFC, and sham, and found an increase in pain perception (decreased pain threshold) for a-tDCS on the DLPFC compared to sham, with large effect size (Cohens'D 1.09) (Saldanha et al., 2020).

### **3.2. Results: Meta-Analysis and Risk of Bias Assessment**

We classified four studies with a high risk of bias due to the following reasons: open-label design, not randomized, no allocation concealment, or did not present the blinding method description. A retrospective study from Pinchuck et al. 2013 presented the highest risk for bias, followed by open-label studies from Ahn et al. 2019, Concerto et

al. 2016 and Hu et al. 2016 (Ahn et al., 2019; Concerto et al., 2016; Hu et al., 2016). These four studies present a high potential for selection bias and performance bias. Another bias was not being counterbalanced by the different number of stimulation sessions (Lee et al., 2019) or being sham-controlled (Ahn et al., 2019; Concerto et al., 2016; Hu et al., 2016; Pinchuk et al., 2013). Als, most studies did not clearly describe the methodology used to compute the sample size for the primary outcome, and five studies were pilot studies. Three studies did not report how they worked with the missing data from drop out participants.

We have selected five studies with elderly participants for two meta-analyses. In the first analysis, we have included studies that reported the outcome using pain scores. For the secondary analysis, we also included studies that assessed the outcome utilizing the pain threshold. According to Cochrane guidelines, the included studies had a low risk of bias. (Higgins et al., 2011), and used Review Manager 5 (RevMan 5.3).

The meta-analysis with pain scores (VAS ou NRS) outcome included six studies: four trials with stimulation over M1, and two over the DLPFC. Data had considerable heterogeneity ( $I^2 = 60\%$ ). Therefore a random-effects model was applied. A total of 96 patients received active stimulation, and most of the studies favor active tDCS compared to sham tDCS on the improvement of pain score. The standardized mean difference was  $-0.76$  ( $CI\ 95\% = -1.24$  to  $-0.28$ ). We further performed a sensitivity analysis without the study with active EIMS. The effect size was reduced, but the difference maintained the significant effect for a-tDCS compared to sham [ $-0.69$  ( $-1.26$  to  $-0.12$ )] (figure 5). We compared the pain score from before to after one session of tDCS and after five sessions. Pain score reduced from baseline for either after a single session tDCS [ $0.96$  ( $0.26$  to  $1.66$ )] and after five sessions [ $2.01$  ( $1.20$  to  $2.81$ )](figure 6).

-----Insert figure 5-----

-----Insert figure 6-----

For the second meta-analysis, with pain threshold outcome, three studies were included, and six trials when we considered for both sites of stimulation. Data did not show heterogeneity ( $I^2=0\%$ ); in this condition, we applied the fixed effects model. A total of 88



patients received active stimulation. The effect of a-tDCS was not different from sham for pain threshold (ES= 0.27, P=0.07, figure 7).

-----Insert figure 7-----

## **4. Discussion**

In our systematic review and meta-analysis, we compiled data regarding the tDCS effect either on pain level or pain threshold in the elderly. We also collect data from two studies with adolescents. Our data intend to present an overview of the tDCS effect on these age groups, which are less studied than adults. Our review on three relevant databases revealed that only few studies included these age groups. For this review, according to our evaluation, at least half of the studies reached good methodological quality, indicating that reported results for these studies are prone to a small bias effect.

### **4.1. Studies with Elderly Population**

For the included studies with the sham comparison group, a significant difference of a-tDCS compared to sham was reported in four out of eight studies. All the studies with a significant difference also presented a large effect size and included patients with knee osteoarthritis (da Graça-Tarragó et al., 2019, Ahn et al. 2017), diabetic polyneuropathy (Kim et al., 2013) and a combination of several clinical conditions were included in one study (Harvey et al., 2017). These chronic pain conditions included the following: osteoarthritis, sprained shoulder, chronic low back pain, cervical injury, shoulder tendinitis, polymyalgia rheumatic, sciatica, and unspecific leg pain (Harvey et al. 2017). This study with multiple chronic pain conditions did not find a significant difference in pain measures for the first evaluation after the treatment ended compared to sham. However, they found a difference in the pain measures between a-tDCS and sham groups in the seven days follow-up. The variability of clinical conditions and the smaller sample size may explain a possible type II error in the first assessment. An alternative explanation for the effect in the follow-up may be the neuroplasticity changes induced by the a-tDCS. Our meta-analysis included these four studies that were evaluated as having high methodological quality. Meta-analysis cumulative effect indicated a moderate effect size of 0.76. This effect was kept significant after the sensitivity analysis when we removed the study of those groups that had received

active peripheral stimulation from da Graça-Tarragó et al. 2019.

The meta-analysis for change of pain levels when compared to baseline presented a moderate effect size for both: one session of tDCS, and five sessions. However, this effect size seems to increase across the repetitive course with a tendency to be more significant after five sessions of a-tDCS. Moreover, tDCS effect on pain level might be sustained, since three studies reported a follow up the persistent, significant difference from a-tDCS and sham (Harvey et al. 2017, Ahn et al. 2017, Concerto et al. 2016). Further positive effects are outcomes that evaluate disability or affective pain components as well as decrease analgesic use.

The studies included in this review and meta-analysis suggest that a-tDCS for elderly subjects might be effective in decreasing pain levels. However, only tDCS stimulation over M1 had an effect different from sham. Two studies applied anodal tDCS over DLPFC and had a significant decrease in pain level from baseline, but no effect when compared to sham (Lee et al., 2019, Deldar et al. 2017). The results for elderly participants agree with previous studies with non-elderly adults for the tDCS effect over M1 for pain levels. Two previous meta-analyses evaluated anodal tDCS over M1 effect for pain threshold and pain level without setting age as an inclusion criteria (Vaseghi et al., 2014; Zortea et al., 2019). Combined studies included in both meta-analysis had a participants' mean age ranging from 22 to 63.5 years old, and only 7% of the studies had a mean age above 60. Both meta-analyses reported that a-tDCS was effective in reducing pain levels with a moderate effect size for chronic pain patients. Moreover, Vaseghi et al. 2014 also presented an increase in pain threshold in healthy subjects for a-tDCS over M1 with an effect size of 22.19% comparing to baseline and 12.57% compared to sham (Vaseghi et al. 2014).

Nevertheless, results with elderly subjects differ from younger adults since both previous meta-analyses reported a significant effect on reducing pain levels for a-tDCS over DLPFC compared to sham. The meta-analysis conducted by Vaseghi et al. 2014 found even a larger magnitude with a-tDCS over DLPFC compared to sham than over the M1, with a mean difference of 15.79 and 9.59, respectively. Zortea et al. 2019 also found a significant effect of DLPFC on pain levels (active compared to sham), although slightly smaller (Standard mean difference [SMD]= 0.54) when compared to M1 (SMD = 0.68).

Although age is a factor that impacts the tDCS effect, according to our meta-analysis, the impact of tDCS on the M1 compared to sham on pain levels in the elderly pointed out in the same direction to the effect found in younger adults. This argument is supported by neuroimaging studies, suggesting that anodal tDCS promotes plastic alteration in the cortical areas of elderly subjects. Data from MRI study of GABA levels showed that neuroplastic changes were present in the elderly brain after a single session of anodal tDCS over M1: the tDCS reduced GABA levels reflect plasticity effects in the brain chemistry (Resnick, Pham, Kraut, Zonderman, & Davatzikos, 2003). Moreover, one study reported the comparison of tDCS effect over M1 between young and older adults for motor evoked potential (MEP), as a measure of corticospinal excitability, and found no significant difference between the age groups (Fujiyama et al., 2014).

As discussed above, a-tDCS over DLPFC accounts for more marked differences between age groups. The difference between tDCS over DLPFC might be related to a reduced number of studies in the elderly. Allied to this perspective are the methodological differences in sample characteristics and the variety of aspects related to simulation. A second reason could be related to the senescence process, which can be more active in prefrontal areas than on the motor cortex (Resnick et al., 2003).

Noteworthy, chronic pain syndromes included in the aforementioned meta-analysis from Vaseghi et al. 2014 and Zortea et al. 2019 are heterogeneous as well as in the current review, which could impact on the a-tDCS effect. Chronic pain syndromes are associated to structural and functional brain alterations, which differ among conditions. In chronic musculoskeletal pain syndromes it was reported a decreased grey matter volume in cortical areas associated with pain processing. Among them, the anterior cingulate cortex, the motor cortex and pre frontal cortex. Also, functional connectivity involving prefrontal cortex structures is modified (Coppieters et al., 2016). While a study with patients presenting peripheral neuropathic pain associated with diabetes, showed a decreased functional thalamocortical connectivity (Cauda et al., 2009). Thus, heterogeneity between clinical conditions should be taken carefully into account. Regarding the a-tDCS effect on the different clinical syndromes, a study included in this review showed that the impact on pain level of a-tDCS was distinct for different subgroups of non-inflammatory musculoskeletal pain, including neck and upper extremity pain, low back pain and lower extremity pain. The a-tDCS was effective in improving the pain score only for the first two groups (Lee et al., 2019).

Finally the pain measures can also influence the interpretation of the results. The pain ranges can vary in intensity, quality, and duration, and according to the core diagnosis of disease, as well as physiopathology, and correlate symptoms due to pain. In this meta-analysis, most studies assessed pain using unidimensional pain measures (i.e., numerical pain scale or visual analog scale) or pain threshold a psychophysical pain measure. Additionally, there are distinct pain conditions, including acute pain in a controlled experimental setting (Saldanha et al., 2020), post-surgical pain (Borckardt et al., 2013, 2017), and other chronic pain conditions (Graça-Tarragó et al., 2019). For the pain assessment in an experimental acute pain model, when the target is pain intensity, these measures present satisfactory psychometric properties. As well for the use in trials context, psychophysical pain measures give us neuropsychological insights about the effect of pain processing, and they help to understand the effect of TDCS on the dysfunction of pain pathways, as for example in pain perception (i.e., pain threshold) and the function of descending pain modulatory system, as assessed by the conditioned pain modulation test (Flood et al., 2016, Reidler et al., 2012, Boggio et al., 2008). However, psychophysical measures are not practical for widespread use in the bedside clinical setting. In contrast, VAS and numerical pain scales are widely used in the clinical setting due to their feasibility, despite not being able to provide data related to the neurophysiological systems effect, neither on multidimensional aspects of pain. Thus, distinct pain measures used in the studies might be considered a limitation for the generalizability of these findings and to presume effect to pain in general. Further studies are needed to generate evidence of the tDCS effect on pain in larger studies. They should target integrative approaches to comprehend its impact on disability due to pain as an illness, and other parameters that compromise the quality of life in patients with chronic pain such as sleep quality, psychological symptoms, cognition, etc.

In this review we have chosen to use the term “pain” to permit a broad search strategy, since there is scarce literature with children, adolescents, and the elderly. We agree that the tDCS effect should be individualized according to pain conditions, particularly because chronic pain is conceptually a process of maladaptive neuroplasticity by an imbalance in the excitability and inhibition in the pain processing pathways, including the cortical anatomical changes and the dysfunction in the processing as assessed by functional connectivity. In contrast, the main mechanism of acute pain is tissue injury. This is a critical point in the interpretation of results to consider, that the experience of pain

cannot be reduced to activity in sensory pathways. For the tDCS applicability, either in the research and clinical setting, these aspects are relevant since the neuromodulatory response is likely neuroplasticity state-dependent, and this argument is also supported by the pain concept that defines it as a subjective experience that is influenced to varying degrees by biological, psychological, and social factors.

#### **4.2. Study with Adolescents**

For the adolescent's age group, one retrospective study included in the review found a positive effect of a-tDCS over the pre-frontal cortex for headache treatment in adolescents. The second study was crossover-controlled in a sample of healthy females. The study evaluated the heat pain threshold after a single session tDCS, and the main result revealed that a-tDCS over DLPFC increases pain sensitivity. There are significant differences in the tDCS protocols between the studies related to the duration of stimulation, the intensity of the electric current, the number of sessions, one study, including chronic pain patients, and the other evaluated healthy participants. Foremost conclusion about the tDCS effect in adolescents is the lack of studies evaluating its impact on children and adolescents for pain levels. Chronic pain is a growing concern in these ages group, and it is associated with social and emotional burdens that can even impact adult life. Therefore, exploring new therapeutic options is a reason to justify that this subject is further investigated in controlled studies.

#### **4.3. Safety**

The studies with the elderly included in this review have not reported significant adverse effects. All the reported adverse effects were classified as mild according to the recommendations in the ICH guidelines (Baber, 1994; Food and Drug Administration, 2011). A mild adverse effect is a symptom that requires no medical treatment. The most reported adverse effects were itching, tingling, stinging, pins and needles, burning sensation, all symptoms similar to tDCS previously reported most prevalent undesirable effects (Poreisz et al., 2007, Brunoni et al., 2011). In one of the studies included in this review, a participant dropped the study by dizziness and sleep disturbances. However, the subject reported these adverse effects during the sham phase (Lee et al. 2019), while in another study, a participant dropped out due to headache (Kim et al., 2013). The other studies included in the review reported that when adverse events were presented, they were

mild (Ahn et al. 2019, Borckardt et al., 2017, Saldanha et al., 2020, Graça-Tarrago et al., 2019, Ahn et al., 2017, Hu et al., 2016).

Studies with adolescents' participants also did not report major adverse effects. Saldanha et al., 2020 reported itching and sleepiness as the most prevalent undesirable effects. However, the active protocols applied over M1 and DLPFC were not different from sham in adverse effects incidence (Saldanha et al., 2020). These findings are supported by an extensive literature that the adverse effects most incidents in children and adolescents are frequently classified as mild, such as itching, tingling, and headache (Ciechanski & Kirton, 2017; Krishnan, Santos, Peterson, & Ehinger, 2015; Moliadze et al., 2015). Also, a recent study with more than 600 tDCS sessions on children and adolescents did not find severe adverse effects, being the tingling and itching were the most common adverse effects reported in 37% of tDCS sessions (Zewdie et al., 2020).

#### **4.4. Blinding**

Blinding of the subjects that receive the treatment and of the evaluators is a major concern of randomized controlled studies. Regarding the blinding of participants for tDCS use using sham protocol was shown to be effective for a single session. However, questions arise for blinding in higher current intensity and for multiple days' tDCS protocol. Moreover, binding of evaluators can be challenging due to scalp redness associated with active stimulation (Brunoni et al., 2012). Moreover it is discussed that the use of a sham tDCS treatment, applied at an intensity of 2 mA, is not effective as blinding technique (O'Connell et al., 2012).

On the studies included in this meta-analysis that evaluated blinding effectiveness for 2mA current intensity, they reported no difference in guessing between active and sham protocol from chance (Saldanha et al., 2020, Graça-Tarragó et al., 2019, Harvey et al., 2017). The study conducted by Borckardt et al., 2017 that was not included in the meta-analysis, also reported no difference in guessing from participants between active and sham for 2mA current intensity.

Therefore, for elderly 2mA intensity, blinding suggests being effective. Nevertheless, it is also noteworthy that blinding effectiveness was only properly assessed in a fraction of the studies included in this review.

#### **4.5. Limitations**

This review's primary limitation is the small number of articles and the critical heterogeneity among them. These limitations are precluding to drawing more firm conclusions regarding the impact of age as a mediator of the tDCS effect. However, this is a relevant and emerging research field that can significantly affect pain treatment, given the prevalence of chronic pain increase in the elderly population and the lack of alternatives to improve the dysfunctional neuroplasticity that generates and sustain chronic pain. Additional aspects that prevent definitive conclusions are the risk of bias analysis and studies with small samples. Another factor that restricts the strength of the recommendation grade is the lack of accurate blinding.

Furthermore there is limited data on the ability to maintain the therapeutic effects over time since related to long-lasting stimulation protocols and lack of data regarding the influence of age and time of day that the stimulation was applied. Moreover, we cannot explore tDCS dose effect appropriately, since we found only two studies with adolescents (one observational study that applied current intensity of 60  $\mu$ A and another study is a cross over the trial, which used a current intensity of 2mA). In the same way, we cannot explore appropriately if the intensity of the current can be a mediator of the tDCS effect according to age. Taking into account the limitations mentioned above, we have limited data to discuss the impact of the electrical current delivery on the tDCS effect on the outcomes. Thus, more studies are needed before allowing us to definitive conclusions about this topic.

#### **4.6. Future Perspectives**

The scientific community, either in research and clinical field, recognizes that we need to produce high-quality evidence of clinical efficacy about the neuromodulatory techniques, including the tDCS. Aligned to this perspective, a recent meta-analyses claims for tDCS benefits in many disorders, e.g., neuropathic pain, Parkinson's disease (motor), epilepsy, depression, schizophrenia, chronic and subacute stroke (motor without robotics), and post-stroke aphasia (Fregni et al., 2020). We can also include in this set of diseases, the primary chronic pain with a prototypical condition, the fibromyalgia, even though the evidence in favor of tDCS is growing, and its clinical use is widespread open-label, this technique is still not approved by the Food and Drug Administration (FDA). Despite this, scientific support affirms that the impact of tDCS depends upon an interaction of the

protocol with the neuroplasticity state (Rozisky et al., 2016). The tDCS effect is dependent on neuroplasticity state since its action mechanism occurs through altering neuronal resting membrane potentials without inducing action potentials. Therefore it can increase the likelihood of depolarization or hyperpolarization (Nitsche et al., 2000). Thus, if the goal is to facilitate the remapping or repair in the neuroplasticity for the brain, then we must employ an individualized protocol for each patient's best suit. In this perspective, the tDCS can remap the dysfunction in the neural networks.

In pain treatment there is growing evidence in favor of DCS. However, a critical point that needs to be comprehended is the variability of the response between subjects, even with the same syndrome diagnosis. In a critical analysis, several aspects need to be considered in further studies to generate consistent evidence. Thereby, it is possible to personalize the model for stimulating neuroplasticity, considering age as a mediator of the response. From this perspective, we suggest some main points: (i) Run trials with proper methodology and homogenous sample related to clinical diagnosis. (II) Investigate distinct types of stimulation associated with the area of the brain and with different intensity of electric current and distinct types of electrical current (i.e., continuous, random noise, or alternate). (iii) To assess the neuroplasticity state using neuromarkers, which are defined as traits or characteristics to personalize treatment planning. These potential neuromarkers include neuropsychological measures, serum markers (i.e., BDNF), genetic polymorphisms, etc. (v) To investigate the tDCS effects using integrative approaches, including the assessment of functional connectivity and the impact on clinical measures (i.e., disability, attention, anxiety, fear, and expectation, etc.). Additionally, it is essential to investigate the effect of combined interventions, such as online or offline, and if they produce additional benefits or overload the system and produce a reverse effect. Thus, in an integrative view, we can trend toward personalized medicine to prescribe the treatment. Particularly in the field of pain, even though the number of treatment targets has grown substantially, the clinical management is often unsatisfactory journey for patients and clinicians. In sum, the tDCS presents promising properties to improve the complex network of delicate interconnecting neurons and synapses conceptualized. This effect involves three basic components, structural, electromagnetic, and neurochemical, each of which overlaps and works in partnership associated with the reorganization of structure, function, or connectivity involved in the dysfunctional processes underpin to chronic pain and correlate symptoms.



## **5. Conclusion**

Our findings suggest a possible positive effect of a-tDCS to reduce pain in the elderly that received tDCS over M1. Regarding tDCS over the left DLPFC, a potential benefit on pain level was observed within the a-tDCS group. Also, the small number of studies and the heterogeneity among studies preclude to generate evidence from supporting the impact of age as a mediator of the tDCS effect on pain measures in a generalizable way. Thus, they do not permit drawing more firm conclusions regarding the tDCS use to treat chronic pain or modulate pain threshold in the elderly. Therefore, further studies should be conducted, including distinct age groups, to understand better the age impact on the a-tDCS effects on pain in different clinical settings.

## **6. Acknowledgments**

We thank the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Clinical Research Facility for their facility and personnel to support this study. We thank the following Brazilian agencies for the financial support: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES, National Council for Scientific and Technological Development – CNPq.

## **7. Author Contributions**

JS, MZ, IT, FF and WC conceived and designed the study. JS, MZ and WC participated in the data collection, performed the statistical analysis, and coordinated and drafted the manuscript.

## **8. Conflict of Interest Statement**

The authors affirm that they did not have support from any other organization for the submitted work.

## **9. Contribution to the Field Statement**

More than 25 million American adults suffer from chronic pain, and transcranial

direct current stimulation (tDCS) has shown beneficial to improve pain in several clinical conditions. Despite the positive impact of a-tDCS persists gaps related to the variability of effect among studies and age has emerged as one mediator this variability. However, most studies using tDCS for pain treatment were conducted with adults between 18 and 60 years old. Thus, the reduced evidence related to age in adolescents and the elderly motivated us to conduct this systematic review and meta-analysis to examine the tDCS effect on pain scores in children, adolescents, and the elderly. Our meta-analysis with elderly subjects showed a favorable impact on a-tDCS to reduce pain score compared to sham ( $P=0.002$ ). We retrieved only two studies for adolescents, which diverge in conclusion: one study using a-tDCS over the prefrontal cortex reported a reduction in pain scores, contrarily the second study reported an increase in pain sensitivity. Our study findings indicate a favorable effect of a-tDCS to reduce pain for the elderly, although the number of included studies was small, and heterogeneity was present.

## **10 Funding**

This research was supported by grants from the following Brazilian agencies: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES (JSS grant PBE-DPM II 62/2014 88887.144658/2017-00, PDSE 88881.189121/2018-01), National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (MZ grant number 1509885; WC grant number 301256/2013-6). Committee for the Development of Higher Education Personnel (CAPES – PROEX). Events and Research Incentive Funding (FIPE/HCPA) at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (project number 2017-0188); Hospital de Clínicas de Porto Alegre for material and infrastructure support.

## REFERENCES

- Ahn, H., Sorkpor, S., Miao, H., Zhong, C., Jorge, R., Park, L., ... Cho, R. Y. (2019). Home-based self-administered transcranial direct current stimulation in older adults with knee osteoarthritis pain: An open-label study. *Journal of Clinical Neuroscience*, 66, 61–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jocn.2019.05.023>
- Ahn, H., Woods, A. J., Kunik, M. E., Bhattacharjee, A., Chen, Z., Choi, E., & Fillingim, R. B. (2017). Efficacy of transcranial direct current stimulation over primary motor cortex (anode) and contralateral supraorbital area (cathode) on clinical pain severity and mobility performance in persons with knee osteoarthritis: An experimenter- and participant-bl. *Brain Stimulation*, 10(5), 902–909. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.05.007>
- Apkarian, A. V., Bushnell, M. C., Treede, R. D., & Zubieta, J. K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European Journal of Pain*. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.11.001>
- Baber N. (1994). International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH). *British journal of clinical pharmacology*, 37(5), 401–404. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1994.tb05705.x>
- Barnes, C. A., Rao, G., & Houston, F. P. (2000). LTP induction threshold change in old rats at the perforant path--granule cell synapse. *Neurobiology of Aging*, 21(5), 613–620. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(00\)00163-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(00)00163-9)
- Bartley, E. J., & Fillingim, R. B. (2013). Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), 52–58. <https://doi.org/10.1093/bja/aet127>
- Batsikadze, G., Moliadze, V., Paulus, W., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2013). Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans. *The Journal of physiology*, 591(7), 1987–2000. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.249730>
- Bindman, L. J., Lippold, O. C., & Redfearn, J. W. (1964). The action of brief polarizing currents on the cerebral cortex of the rat (1) during current flow and (2) in the production of long-lasting after-effects. *The Journal of Physiology*, 172(3), 369–382. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1964.sp007425>
- Bondesson, E., Olofsson, T., Caverius, U., Schelin, M. E. C., & Jöud, A. (2020). Consultation prevalence among children, adolescents and young adults with pain conditions: A description of age- and gender differences. *European Journal of Pain (United Kingdom)*, 24(3), 649–658. <https://doi.org/10.1002/ejp.1518>
- Borckardt, J. J., Reeves, S. T., Milliken, C., Carter, B., Epperson, T. I., Gunesman, R. J., ... George, M. S. (2017). Prefrontal versus motor cortex transcranial direct

current stimulation (tDCS) effects on post-surgical opioid use. *Brain Stimulation*, 10(6), 1096–1101. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.09.006>

- Borckardt, J. J., Reeves, S. T., Robinson, S. M., May, J. T., Epperson, T. I., Gunesman, R. J., ... George, M. S. (2013).** Transcranial direct current stimulation (tDCS) reduces postsurgical opioid consumption in total knee arthroplasty (TKA). *The Clinical Journal of Pain*, 29(11), 925–928. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e31827e32be>
- Brunoni, A. R., Amadera, J., Berbel, B., Volz, M. S., Rizzerio, B. G., & Fregni, F. (2011). A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. *The international journal of neuropsychopharmacology*, 14(8), 1133–1145. <https://doi.org/10.1017/S1461145710001690>
- Brunoni, A. R., Nitsche, M. A., Bolognini, N., Bikson, M., Wagner, T., Merabet, L., Edwards, D. J., Valero-Cabre, A., Rotenberg, A., Pascual-Leone, A., Ferrucci, R., Priori, A., Boggio, P. S., & Fregni, F. (2012). Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain stimulation*, 5(3), 175–195. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>
- Brunoni, A. R., Moffa, A. H., Fregni, F., Palm, U., Padberg, F., Blumberger, D. M., Daskalakis, Z. J., Bennabi, D., Haffen, E., Alonzo, A., & Loo, C. K. (2016). Transcranial direct current stimulation for acute major depressive episodes: meta-analysis of individual patient data. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 208(6), 522–531. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.115.164715>
- Casten, R. J., Parmelee, P. A., Kleban, M. H., Lawton, M. P., & Katz, I. R. (1995). The relationships among anxiety, depression, and pain in a geriatric institutionalized sample. *Pain*, 61(2), 271–276. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)00185-h](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)00185-h)
- Cauda, F., Sacco, K., D'Agata, F., Duca, S., Cocito, D., Geminiani, G., ... Isoardo, G. (2009). Low-frequency BOLD fluctuations demonstrate altered thalamocortical connectivity in diabetic neuropathic pain. *BMC Neuroscience*, 10(1), 138. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-138>
- Ciechanski, P., & Kirton, A. (2017). Transcranial Direct-Current Stimulation Can Enhance Motor Learning in Children. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 27(5), 2758–2767. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw114>
- Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. (1986). *Pain. Supplement*, 3, S1-226.
- Concerto, C., Al Sawah, M., Chusid, E., Trepal, M., Taylor, G., Aguglia, E., & Battaglia, F. (2016).** Anodal transcranial direct current stimulation for chronic pain in the elderly: a pilot study. *Aging Clinical and Experimental Research*, 28(2), 231–237. <https://doi.org/10.1007/s40520-015-0409-1>
- Coppieters, I., Meeus, M., Kregel, J., Caeyenberghs, K., Pauw, R. De, Goubert, D., & Cagnie, B. (2016). Relations between brain alterations and clinical pain measures in

- chronic musculoskeletal pain: A systematic review. *Journal of Pain*.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2016.04.005>
- Covinsky, K. E., Lindquist, K., Dunlop, D. D., & Yelin, E. (2009). Pain, functional limitations, and aging. *Journal of the American Geriatrics Society*, *57*(9), 1556–1561. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2009.02388.x>
- Croarkin, P. E., Nakonezny, P. A., Lewis, C. P., Zaccariello, M. J., Huxsahl, J. E., Husain, M. M., ... Daskalakis, Z. J. (2014). Developmental aspects of cortical excitability and inhibition in depressed and healthy youth: an exploratory study. *Frontiers in Human Neuroscience*, *8*, 669. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00669>
- da Graca-Tarrago, M., Lech, M., Angoleri, L. D. M., Santos, D. S., Deitos, A., Brietzke, A. P., ... Caumo, W. (2019). Intramuscular electrical stimulus potentiates motor cortex modulation effects on pain and descending inhibitory systems in knee osteoarthritis: a randomized, factorial, sham-controlled study. *Journal of Pain Research*, *12*, 209–221. <https://doi.org/10.2147/JPR.S181019>**
- Dahlhamer, J., Lucas, J., & Zelaya, C. (2018). Pain Awareness Month — September 2018 Prevalence of Chronic Pain and High-Impact Chronic Pain Among Adults — United States, 2016, *67*(36).
- Deldar, Z., Rustamov, N., Blanchette, I., & Piché, M. (2019). Improving working memory and pain inhibition in older persons using transcranial direct current stimulation. *Neuroscience Research*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.12.007>**
- Fathi, D., Ueki, Y., Mima, T., Koganemaru, S., Nagamine, T., Tawfik, A., & Fukuyama, H. (2010). Effects of aging on the human motor cortical plasticity studied by paired associative stimulation. *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *121*(1), 90–93. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.07.048>
- Florence, C. S., Zhou, C., Luo, F., & Xu, L. (2016). The Economic Burden of Prescription Opioid Overdose, Abuse, and Dependence in the United States, 2013. *Medical Care*, *54*(10), 901–906. <https://doi.org/10.1097/MLR.0000000000000625>
- Food and Drug Administration, HHS (2011). International Conference on Harmonisation; Guidance on E2F Development Safety Update Report; availability. Notice. *Federal register*, *76*(163), 52667–52668.
- Fregni, F., El-Hagrassy, M. M., Pacheco-Barrios, K., Carvalho, S., Leite, J., Simis, M., Brunelin, J., Nakamura-Palacios, E. M., Marangolo, P., Venkatasubramanian, G., San-Juan, D., Caumo, W., Bikson, M., Brunoni, A. R., & Neuromodulation Center Working Group (2020). Evidence-based guidelines and secondary meta-analysis for the use of transcranial direct current stimulation (tDCS) in neurological and psychiatric disorders. *The international journal of neuropsychopharmacology*, pyaa051. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa051>
- Freitas, C., Farzan, F., & Pascual-Leone, A. (2013). Assessing brain plasticity across the lifespan with transcranial magnetic stimulation: why, how, and what is the ultimate goal? *Frontiers in Neuroscience*, *7*, 42. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00042>

- Fujiyama, H., Hyde, J., Hinder, M. R., Kim, S. J., McCormack, G. H., Vickers, J. C., & Summers, J. J. (2014). Delayed plastic responses to anodal tDCS in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00115>
- García-Larrea, L., Peyron, R., Mertens, P., Gregoire, M. C., Lavenne, F., Le Bars, D., ... Laurent, B. (1999). Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain*, 83(2), 259–273. [https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(99\)00114-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(99)00114-1)
- Gasparin, A., Zortea, M., Dos Santos, V. S., Carvalho, F., Torres, I. L. S., de Souza, A., ... Caumo, W. (2020). Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates the Effect of Sex on the Descending Pain Modulatory System in Healthy Volunteers. *Pain Medicine (Malden, Mass.)*. <https://doi.org/10.1093/pm/pnaa027>
- Gmuca, S., Xiao, R., Weiss, P. F., Sherry, D. D., Knight, A. M., & Gerber, J. S. (2019). Opioid prescribing and polypharmacy in children with chronic musculoskeletal pain. *Pain Medicine (United States)*, 20(3), 495–503. <https://doi.org/10.1093/pm/pny116>
- Gobina, I., Villberg, J., Välimaa, R., Tynjälä, J., Whitehead, R., Cosma, A., ... Villerusa, A. (2019). Prevalence of self-reported chronic pain among adolescents: Evidence from 42 countries and regions. *European Journal of Pain (United Kingdom)*, 23(2), 316–326. <https://doi.org/10.1002/ejp.1306>
- Gogtay, N., Giedd, J. N., Lusk, L., Hayashi, K. M., Greenstein, D., Vaituzis, A. C., ... Thompson, P. M. (2004). Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), 8174 LP – 8179. <https://doi.org/10.1073/pnas.0402680101>
- Good, C. D., Johnsrude, I. S., Ashburner, J., Henson, R. N., Friston, K. J., & Frackowiak, R. S. (2001). A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *NeuroImage*, 14(1 Pt 1), 21–36. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0786>
- Groenewald, C. B., Giles, M., & Palermo, T. M. (2019). School Absence Associated with Childhood Pain in the United States. *Clinical Journal of Pain*, 35(6), 525–531. <https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000701>
- Gupta, A., Mayer, E. A., Fling, C., Labus, J. S., Naliboff, B. D., Hong, J.-Y., & Kilpatrick, L. A. (2017). Sex-based differences in brain alterations across chronic pain conditions. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1–2), 604–616. <https://doi.org/10.1002/jnr.23856>
- Harvey, M.-P., Lorrain, D., Martel, M., Bergeron-Vezina, K., Houde, F., Seguin, M., & Leonard, G. (2017). Can we improve pain and sleep in elderly individuals with transcranial direct current stimulation? - Results from a randomized controlled pilot study. *Clinical Interventions in Aging*, 12, 937–947. <https://doi.org/10.2147/CIA.S133423>**
- Hopman-Rock, M., Kraaimaat, F. W., & Bijlsma, J. W. (1997). Quality of life in elderly subjects with pain in the hip or knee. *Quality of Life Research : An International*

*Journal of Quality of Life Aspects of Treatment, Care and Rehabilitation*, 6(1), 67–76.  
<https://doi.org/10.1023/a:1026421629416>

- Hu, X.-S., Fisher, C. A., Munz, S. M., Toback, R. L., Nascimento, T. D., Bellile, E. L., ... DaSilva, A. F. (2016). Feasibility of non-invasive brain modulation for management of pain related to chemoradiotherapy in patients with advanced head and neck cancer. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10(SEP2016). <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00466>**
- Kim, Y. J., Ku, J., Kim, H. J., Im, D. J., Lee, H. S., Han, K. A., & Kang, Y. J. (2013). Randomized, sham controlled trial of transcranial direct current stimulation for painful diabetic polyneuropathy. *Annals of Rehabilitation Medicine*, 37(6), 766–776. <https://doi.org/10.5535/arm.2013.37.6.766>**
- Krishnan, C., Santos, L., Peterson, M. D., & Ehinger, M. (2015). Safety of noninvasive brain stimulation in children and adolescents. *Brain Stimulation*, 8(1), 76–87.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.10.012>
- Kuo, M.-F., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2006). Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *Neuroreport*, 17(16), 1703–1707.  
<https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000239955.68319.c2>
- Lee, J. H., Jin, Y., Oh, S. J., Lim, T. H., & Yoon, B. C. (2019). Noninvasive brain stimulation over dorsolateral prefrontal cortex for pain perception and executive function in aging. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 81, 252–257. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2018.10.002>**
- Liebetanz, D., Nitsche, M. A., Tergau, F., & Paulus, W. (2002). Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability. *Brain : A Journal of Neurology*, 125(Pt 10), 2238–2247.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awf238>
- Loo, C. K., Husain, M. M., McDonald, W. M., Aaronson, S., O'Reardon, J. P., Alonzo, A., Weickert, C. S., Martin, D. M., McClintock, S. M., Mohan, A., Lisanby, S. H., & International Consortium of Research in tDCS (ICRT) (2018). International randomized-controlled trial of transcranial Direct Current Stimulation in depression. *Brain stimulation*, 11(1), 125–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.10.011>
- López-Alonso, V., Cheeran, B., Río-Rodríguez, D., & Fernández-Del-Olmo, M. (2014). Inter-individual variability in response to non-invasive brain stimulation paradigms. *Brain stimulation*, 7(3), 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.02.004>
- Mall, V., Berweck, S., Fietzek, U., Glocker, F., Oberhuber, U., Walther, M., ... Heinen, F. (2004). Low Level of Intracortical Inhibition in Children Shown by Transcranial Magnetic Stimulation. *Neuropediatrics*, 35, 120–125. <https://doi.org/10.1055/s-2004-815834>
- McMahon, S., Koltzenburg, M., Tracey, I., & Turk, D. (2013). *Wall & Melzack's Textbook of Pain* (6th Editio). Saunders.

- Medeiros, L. F., de Souza, I. C. C., Vidor, L. P., de Souza, A., Deitos, A., Volz, M. S., ... Torres, I. L. S. (2012). Neurobiological effects of transcranial direct current stimulation: A review. *Frontiers in Psychiatry*.  
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00110>
- Meier, M. L., Stämpfli, P., Vrana, A., Humphreys, B. K., Seifritz, E., & Hotz-Boendermaker, S. (2016). Neural Correlates of Fear of Movement in Patients with Chronic Low Back Pain vs. Pain-Free Individuals. *Frontiers in Human Neuroscience*, *10*, 386. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00386>
- Melzer, D., Gardener, E., & Guralnik, J. M. (2005). Mobility disability in the middle-aged: cross-sectional associations in the English Longitudinal Study of Ageing. *Age and Ageing*, *34*(6), 594–602. <https://doi.org/10.1093/ageing/afi188>
- Minhas, P., Bikson, M., Woods, A., Rosen, A. R., & Kessler, S. (2013). Transcranial Direct Current Stimulation in Pediatric Brain: A computational modeling study. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2012.6346067>. Transcranial
- Moliadze, V., Andreas, S., Lyzhko, E., Schmanke, T., Gurashvili, T., Freitag, C. M., & Siniatchkin, M. (2015). Ten minutes of 1mA transcranial direct current stimulation was well tolerated by children and adolescents: Self-reports and resting state EEG analysis. *Brain Research Bulletin*, *119*(Pt A), 25–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.09.011>
- Monte-Silva, K., Kuo, M. F., Hessenthaler, S., Fresnoza, S., Liebetanz, D., Paulus, W., et al. (2013). Induction of late LTP-like plasticity in the human motor cortex by repeated non-invasive brain stimulation. *Brain Stimulation*, *6*(3), 424–432.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.04.011>
- Moore, A., Derry, S., Eccleston, C., & Kalso, E. (2013). Expect analgesic failure; pursue analgesic success. *BMJ (Online)*, *346*(7911), 7–9. <https://doi.org/10.1136/bmj.f2690>
- Muller-Dahlhaus, J. F. M., Orekhov, Y., Liu, Y., & Ziemann, U. (2008). Interindividual variability and age-dependency of motor cortical plasticity induced by paired associative stimulation. *Experimental Brain Research*, *187*(3), 467–475.  
<https://doi.org/10.1007/s00221-008-1319-7>
- Murray, C. B., Groenewald, C. B., De, R., & Palermo, T. M. (2020). Long-term impact of adolescent chronic pain on young adult educational, vocational, and social outcomes. *Pain*, *161*(2).
- Nahin, R. L. (2015). Estimates of pain prevalence and severity in adults: United States, 2012. *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society*, *16*(8), 769–780. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2015.05.002>
- Nitsche, M. a, & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, *527 Pt 3*, 633–639. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x>
- Nitsche, M.A., Fricke, K., Henschke, U., Schlitterlau, A., Liebetanz, D., Lang, N., ... Paulus, W. (2003). Pharmacological Modulation of Cortical Excitability Shifts



- Induced by Transcranial Direct Current Stimulation in Humans. *Journal of Physiology*, 553(1), 293–301. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>
- Nitsche, M A, Koschack, J., Pohlers, H., Hulleman, S., Paulus, W., & Happe, S. (2012). Effects of frontal transcranial direct current stimulation on emotional state and processing in healthy humans. *Frontiers in Psychiatry*, 3, 58. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00058>
- Nitsche, Michael A., Boggio, P. S., Fregni, F., & Pascual-Leone, A. (2009). Treatment of depression with transcranial direct current stimulation (tDCS): A Review. *Experimental Neurology*. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.03.038>
- Nitsche, Michael A., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., ... Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation*. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.06.004>
- Nitsche, Michael A, Liebetanz, D., Schlitterlau, A., Henschke, U., Fricke, K., Frommann, K., ... Tergau, F. (2004). GABAergic modulation of DC stimulation-induced motor cortex excitability shifts in humans. *The European Journal of Neuroscience*, 19(10), 2720–2726. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03398.x>
- O'Connell, N. E., Cossar, J., Marston, L., Wand, B. M., Bunce, D., Moseley, G. L., & De Souza, L. H. (2012). Rethinking clinical trials of transcranial direct current stimulation: participant and assessor blinding is inadequate at intensities of 2mA. *PloS one*, 7(10), e47514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047514>
- Opitz, A., Paulus, W., Will, S., Antunes, A., & Thielscher, A. (2015). Determinants of the electric field during transcranial direct current stimulation. *NeuroImage*, 109, 140–150. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.01.033>
- Pena-Gomez, C., Vidal-Pineiro, D., Clemente, I. C., Pascual-Leone, A., & Bartres-Faz, D. (2011). Down-regulation of negative emotional processing by transcranial direct current stimulation: effects of personality characteristics. *PloS One*, 6(7), e22812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022812>
- Peyron, R., & Fauchon, C. (2019). Functional imaging of pain. *Revue neurologique*, 175(1-2), 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.08.006>
- Pinchuk, D., Pinchuk, O., Sirbiladze, K., & Shugar, O. (2013). Clinical effectiveness of primary and secondary headache treatment by transcranial direct current stimulation. *Frontiers in Neurology*, 4, 25. <https://doi.org/10.3389/fneur.2013.00025>**
- Poreisz, C., Boros, K., Antal, A., & Paulus, W. (2007). Safety aspects of transcranial direct current stimulation concerning healthy subjects and patients. *Brain research bulletin*, 72(4-6), 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.01.004>
- Purpura, D. P., & McMurtry, J. G. (1965). Intracellular activities and evoked potential changes during polarization of motor cortex. *Journal of Neurophysiology*, 28, 166–185. <https://doi.org/10.1152/jn.1965.28.1.166>

- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X. J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 10.1097/j.pain.0000000000001939.
- Resnick, S. M., Pham, D. L., Kraut, M. A., Zonderman, A. B., & Davatzikos, C. (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(8), 3295–3301. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12716936>
- Ridding, M. C., & Ziemann, U. (2010). Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. *J Physiol*, 58813, 2291–2304. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.190314>
- Rozisky, J.P., Antunes, L.C., Brietzke, A.P., Sousa, A. C., Caumo, W. ( 2016). Transcranial direct current stimulation and neuroplasticity. In *Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): Emerging Uses, Safety And Neurobiological Effects*. Nova Science Publishers 2015 <https://www.researchgate.net/publication/320233137>
- Saiote, C., Turi, Z., Paulus, W., & Antal, A. (2013). Combining functional magnetic resonance imaging with transcranial electrical stimulation. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, 435. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00435>
- Saldanha, J. S., Zortea, M., Deliberali, C. B., Nitsche, M. A., Kuo, M.-F., Torres, I. L. da S., ... Caumo, W. (2020). Impact of Age on tDCS Effects on Pain Threshold and Working Memory: Results of a Proof of Concept Cross-Over Randomized Controlled Study . *Frontiers in Aging Neuroscience* . Retrieved from <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2020.00189>**
- Schweinhardt, P., & Bushnell, M. C. (2010). Pain imaging in health and disease--how far have we come? *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3788–3797. <https://doi.org/10.1172/JCI43498>
- Sowell, E. R., Thompson, P. M., & Toga, A. W. (2004). Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 10(4), 372–392. <https://doi.org/10.1177/1073858404263960>
- Stagg, C. J., Best, J. G., Stephenson, M. C., O’Shea, J., Wylezinska, M., Kincses, Z. T., ... Johansen-Berg, H. (2009). Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(16), 5202–5206. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4432-08.2009>
- Stagg, C. J., & Nitsche, M. A. (2011). Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 17(1), 37–53. <https://doi.org/10.1177/1073858410386614>
- Thomas, C., Datta, A., & Woods, A. (2018). Effect of Aging on Cortical Current Flow Due to Transcranial Direct Current Stimulation: Considerations for Safety. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and*

*Biology Society, EMBS, 2018-July, 3084–3087.*  
<https://doi.org/10.1109/EMBC.2018.8513014>

Turi, Z., Paulus, W., & Antal, A. (2012). Functional neuroimaging and transcranial electrical stimulation. *Clinical EEG and Neuroscience, 43*(3), 200–208.  
<https://doi.org/10.1177/1550059412444978>

Vaseghi, B., Zoghi, M., & Jaberzadeh, S. (2014). Does anodal transcranial direct current stimulation modulate sensory perception and pain? A meta-analysis study. *Clinical Neurophysiology, 125*(9), 1847–1858. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.01.020>

Zewdie, E., Ciechanski, P., Kuo, H. C., Giuffre, A., Kahl, C., King, R., ... Kirton, A. (2020). Safety and tolerability of transcranial magnetic and direct current stimulation in children: Prospective single center evidence from 3.5 million stimulations. *Brain Stimulation, 13*(3), 565–575. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.12.025>

Zorteza, M., Ramalho, L., Alves, R. L., Alves, C. F. da S., Braulio, G., Torres, I. L. da S., ... Caumo, W. (2019). Transcranial Direct Current Stimulation to Improve the Dysfunction of Descending Pain Modulatory System Related to Opioids in Chronic Non-cancer Pain: An Integrative Review of Neurobiology and Meta-Analysis. *Frontiers in Neuroscience*. Switzerland. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01218>

Table 1. Details of the studies included in the current systematic review ( $n = 13$ ).

Study	Design	Sample	Age	N	Intervention	Stimulation electrode	Reference electrode	Current intensity	Time (min)	N° of sessions	Significant result	Cohen's D within	Cohen's D between
Saldanha et al. 2020													
	Cross-over	Healthy	63.8 (2.6)	9	a-tDCS	F3	FP2	2 mA	30	1	No significant effects of a-TDCS over M1 or DLPFC on heat pain threshold variation (delta) compared to sham	0.34	0.27
				9	a-tDCS	C3	FP2	2 mA	30	1		0.24	0.12
				10	s-tDCS	F3	FP2	sham	30	1			
Lee et al. 2019													
	Single arm	Neck and upper extremity non-inflammatory musculoskeletal pain	71.25 (4.54) ¥	9	a-tDCS	F3	FP2	1, 2 mA	20	5 (sham) 5 (1mA) 5 (2mA)	↓ VAS pain score with 2mA compared to baseline (within).	1mA= 0.77 *2mA= 1.35	1mA= 0.60 2mA= 1.18
		Low back non-inflammatory musculoskeletal pain		22	a-tDCS	F3	FP2	1, 2 mA	20	5 (sham) 5 (1mA) 5 (2mA)	↓ VAS pain score with 1 mA and 2mA compared to baseline (within)	*1mA= 1.90 *2mA= 1.34	1mA= 1.15 2mA= 0.72
		Lower extremity non-inflammatory musculoskeletal pain		16	a-tDCS	F3	FP2	1, 2 mA	20	5 (sham) 5 (1mA) 5 (2mA)	No significant effects on VAS score from baseline	1mA= 1.12 2mA=1.63	1mA= 0.70 2mA=1.29
Ahn et al. 2019													
	Single arm	Osteoarthritis	61.20(7.23)	21	a-tDCS	M1 (side not specified)	SO	2 mA	20	10	↓ VAS pain score compared to baseline (within).	*Rosenthal's R = 0.62	NA
da Graça-Tarragó et al. 2019													
	Parallel	Knee Osteoarthritis	66.0 (9.08)	15	a-tDCS + active EIMS	C3 or C4	SO	2 mA	30	5	↓ VAS pain score after treatment compared to s-tDCS + s-EIMS (between) and compared to baseline (within)	*1.86	*1.08
				15	a-tDCS + s-EIMS	C3 or C4	SO	2 mA	30	5	↓ VAS pain score compared to s-tDCS + s-EIMS (between) and compared to baseline (within)	*0.86	*0.36
				15	s-tDCS + active EIMS	C3 or C4	SO	sham	30	5	↓ VAS pain score compared to s-tDCS +	*1.22	*0.76

			63.87 (7.07)	15	s-tDCS + s-EIMS	C3 or C4	SO	sham	30	5	s-EIMS (between) and compared to baseline (within) ↓ VAS pain score compared to baseline	<b>*0.61</b>	NA
Deldar et al. 2019	Cross-over	Healthy	64.4 (4.4)	15	a-tDCS	F3	right de ltoid muscle	2 mA	22	2	a-tDCS significantly improved pain rating in NRS when associated to 2-back task condition compared to baseline	<b>*0.39</b>	0.48
				15	s-tDCS	F3	right de ltoid muscle	sham	22	2	No difference in pain for a-tDCS when compared to sham		
Borckardt et al. 2017	Parallel	post-operative pain.	57.7 (11)	14	a-tDCS	C1 or C2	F4	2 mA	20	4	↑ hydromorphone use with a-tDCS over C1 or C2 compared to sham. No difference in post- operatory pain VAS between all groups.	A	a
			60.1 (6.7)	16	a-tDCS	F3	FPz	2 mA	20	4	↓ hydromorphone use with a-tDCS over F3 group compared to sham.	A	a
			62.5 (5.2)	15	a-tDCS	P3	FCz	2 mA	20	4	For a-tDCS over P3 there was no difference in hydromorphone use when compared to sham	a	a
			64.5 (8.8)	13	s-tDCS	C1,C2 or F3	F4 or FPZ	sham	20	4		a	a
Harvey et al. 2017	Parallel	Chronic pain	72 (6)	6	a-tDCS	C3 or C4	SO	2 mA	20	5	↓ VAS pain score (delta) from baseline to follow up assessment (7 days after the end of treatment) compared to sham (between)	<b>*0.63</b>	After treatment= 0.23 (lower score for sham)
			71 (8)	8	s-tDCS	C3 or C4	SO	sham	20	5	↓ VAS pain score for the a-tDCS between baseline gathered VAS (7 days) and treatment gathered VAS (5 days) (within).		Follow up (delta) = <b>*1.76</b>

											No difference between active and sham on VAS for the last day of treatment.		
Ahn et al. 2017	Parallel	Knee Osteoarthritis	60.6 (9.8)	20	a-tDCS	C3 or C4	SO	2 mA	20	5	↓ in NRS pain score (delta) for a-tDCS is significant different than sham for after the last session of tDCS treatment and for 3 week follow up. NRS baseline level statically significant different between groups ( a-tDCS higher baseline NRS)	a	After treatment= * <b>0.88</b> (delta) 3 week follow up= * <b>0.79</b> (delta)
			59.3 (8.6)	20	s-tDCS	C3 or C4	SO	sham	20	5			
Concerto et al. 2016	Single arm	Chronic plantar fasciitis	68.8(3 .3)	10	a-tDCS	C1 or C2	SO	2 mA	20	5	↓ VAS pain score compared to baseline to after the treatment and to 4 weeks follow-up	After treatment = * <b>2.46</b> 4 week follow up= * <b>1.15</b>	NA
Hu et al. 2016	Single arm	head and neck cancer	62.6 (5.0)	5	a-tDCS	C5	F4	2 mA	20	20	VAS of 2.94 and 1.59 were reported, respectively at baseline and at 1 week follow up No inferential statistics were presented.	0.02	NA
Borckardt et al. 2013	Parallel	Postoperative pain	67 (9.1)	20	a-tDCS	C1 or C2	F4	2mA	20	4	↓ hydromorphone use for a-tDCS compared to sham. No difference in VAS between groups	a	a
				20	s-tDCS	C1 or C2	F4	sham	20	4			
Kim et al. 2013	Parallel	Diabetic Polineuropathy	59.6 (13)	20	a-tDCS	C3	SO	2mA	20	5	↓ VAS pain score for a-tDCS over M1 compared to a-tDCS over DLPFC and sham after treatment. And for	A	After treatment= * <b>1.72</b> 4 week follow






















			63.5 (8.7)	20	a-tDCS	F3	SO	2mA	20	5	4 week follow up EAV was lower than sham. Pain pressure threshold variation from baseline to after treatment was higher for a-tDCS over M1 compared to sham and DLPFC. VAS score after treatment or for 4 week follow up for a-tDCS over DLPFC was not different than sham.	A	up= <b>*0.61</b>
			61.6 (10)	20	s-tDCS	C3	SO	sham	20	5			After treatment= 0.50 4 week follow up= 0.27
<b>Adolescent</b>													
Saldanha et al. 2020													
	Cross-over	Healthy	15.6 (0.5)	9	a-tDCS	F3	FP2	2mA	30	1	↓ heat pain threshold (increase sensibility for pain ) for the a-TDCS over DLPFC from baseline to after treatment (delta), significant different form a-tDCS over M1 and sham .	0.47	<b>*1.09</b> (delta)
				9	a-tDCS	C3	FP2	2mA	30	1		0.38	0.29 (delta)
				10	s-tDCS	F3	FP2	sham	30	1			
Pinchuk et al. 2013													
	Retrospective	Secondary to mild head injury chronic headache	13.6 (2.5)	38	a-tDCS	Frontal pole (interhemispheric fissure)	ipsilateral mastoid process	60 to 90 μA	30–45	5 - 9	↓ NRS score from baseline to after treatment considering both montages	<b>*1.91</b>	NA
				6	a-tDCS	center of the forehead	2 cm higher than mastoid process	60 to 90 μA	30–45				

EIMS, intramuscular electrical stimulation; SO, Contralateral supraorbital area, NA, not applicable; a, no data available to calculate Cohen's D; \*effect size of statistically significant results reported by the studies; ¥ age presented as a mean for all groups. Cohen's D between active and sham was evaluated for the first score after the last tDCS session.

Table 2. Assessment of risk of bias from the reviewed studies ( $n = 13$ )

Study	Random Sequence generation	Allocation concealment	Blinding of subjects	Blinding of assessors	Incomplete outcome data	Selective report	Other bias
Saldanha et al. 2020							
Lee et al. 2019							
Ahn et al. 2019							
Da Graça-Tarragó et al. 2019							
Deldar et al. 2019							
Borckardt et al. 2017							
Harvey et al. 2017							
Ahn et al. 2017							
Concerto et al. 2016							
Hu et al. 2016							



Borckardt et al. 2013							
Kim et al. 2013							
Pinchuk et al. 2013							

**Figure 1.** Schematic diagram demonstrating the integration of determinants induction by NIBS. The effects of tDCS on the M1 and the DLPFC are nonlinear from maturation to senescence. Age as a determinant of non-invasive brain stimulation (NBS) induced plasticity. Core factors of proneness to LTP and LTD [e.g., sex, maturation of system; genetics]; time of day; attention; pharmacology; etc. The technical feature of the tDCS: Area of stimulation (M1 and DLPFC); duration of stimulation, the intensity of the electric current. The correlation of factors that influences the effect of tDCS for pain. IC= Insular Cortex; ACC = anterior cingulate cortex; AMY= amygdala, Th= thalamus

**Figure 2.** PRISMA flow for systematic review and meta-analysis.

**Figure 3.** Brief schematic overview showing (A) Position of electrodes on the scalp; (B) Number of a-tDCS sessions in the protocols of the studies included in the systematic review.

**Figure 4** Brief schematic overview showing (A) Effects of a-tDCS on the M1 compared to sham-group on pain scores; (B) Effects of a-tDCS on the DLPFC compared to sham-group on the pain scores; (C) Effects of- tDCS on the M1 on pain scores, within the group, from baseline to treatment end; (D) Effects of a-tDCS on the DLPFC on pain scores, within the group, from baseline to treatment end.

**Figure 5.** (A) Forest Plot on the effect of a-tDCS compared to sham for pain level (n=4). B) Sensitivity analysis for the pain level without the groups of trials combining active EIMS intervention (da Graça-Tarragó et al. 2019).

**Figure 6.** Forest Plot on the effects of a-tDCS compared to baseline. (A) baseline compared t after 1st session of tDCS.( B) Baseline compared to after 5 sessions tDCS treatment (n=3).

**Figure 7.** Forest Plot on the effects of a-tDCS compared to sham on pain threshold

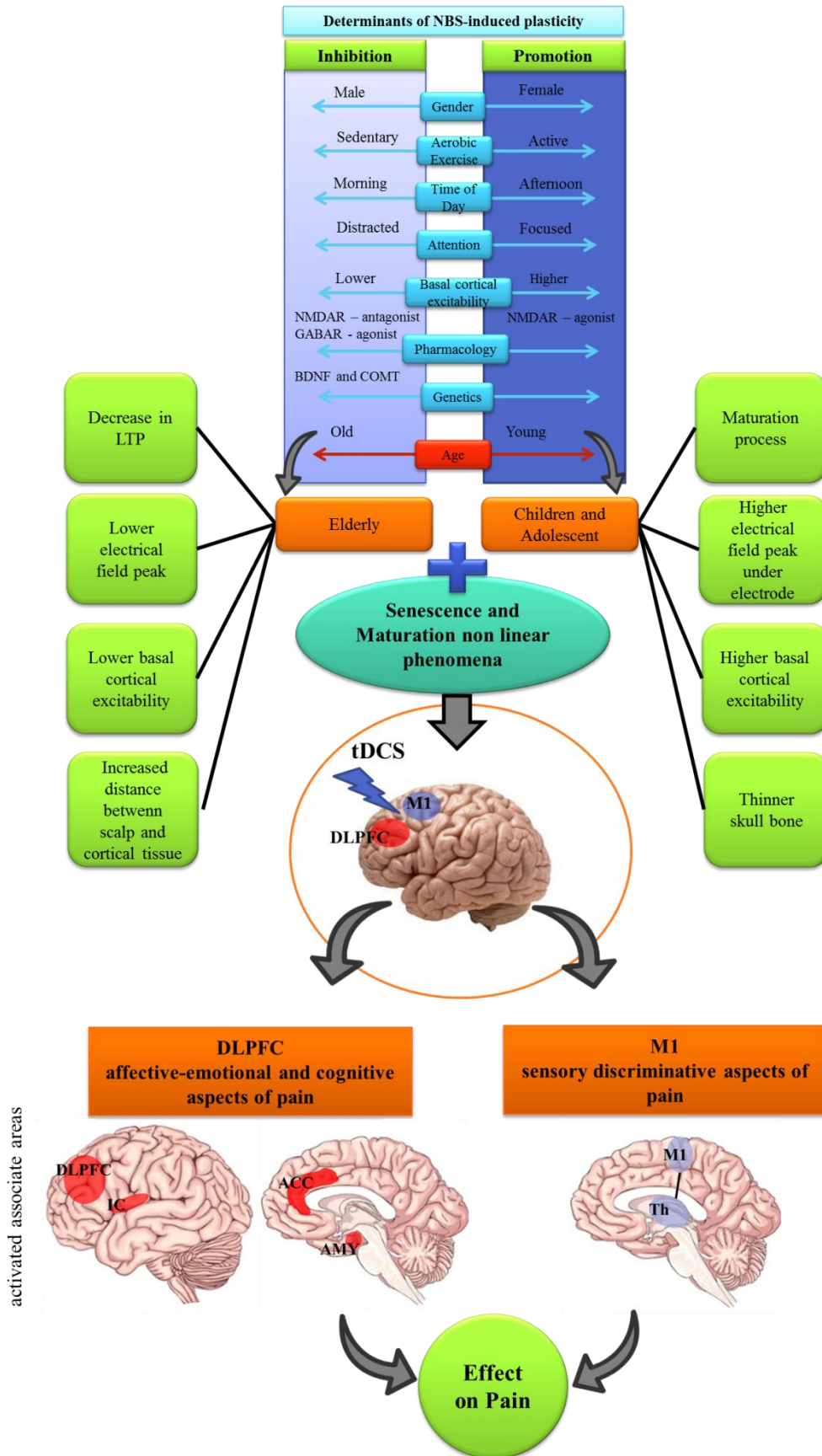


Figure 1.

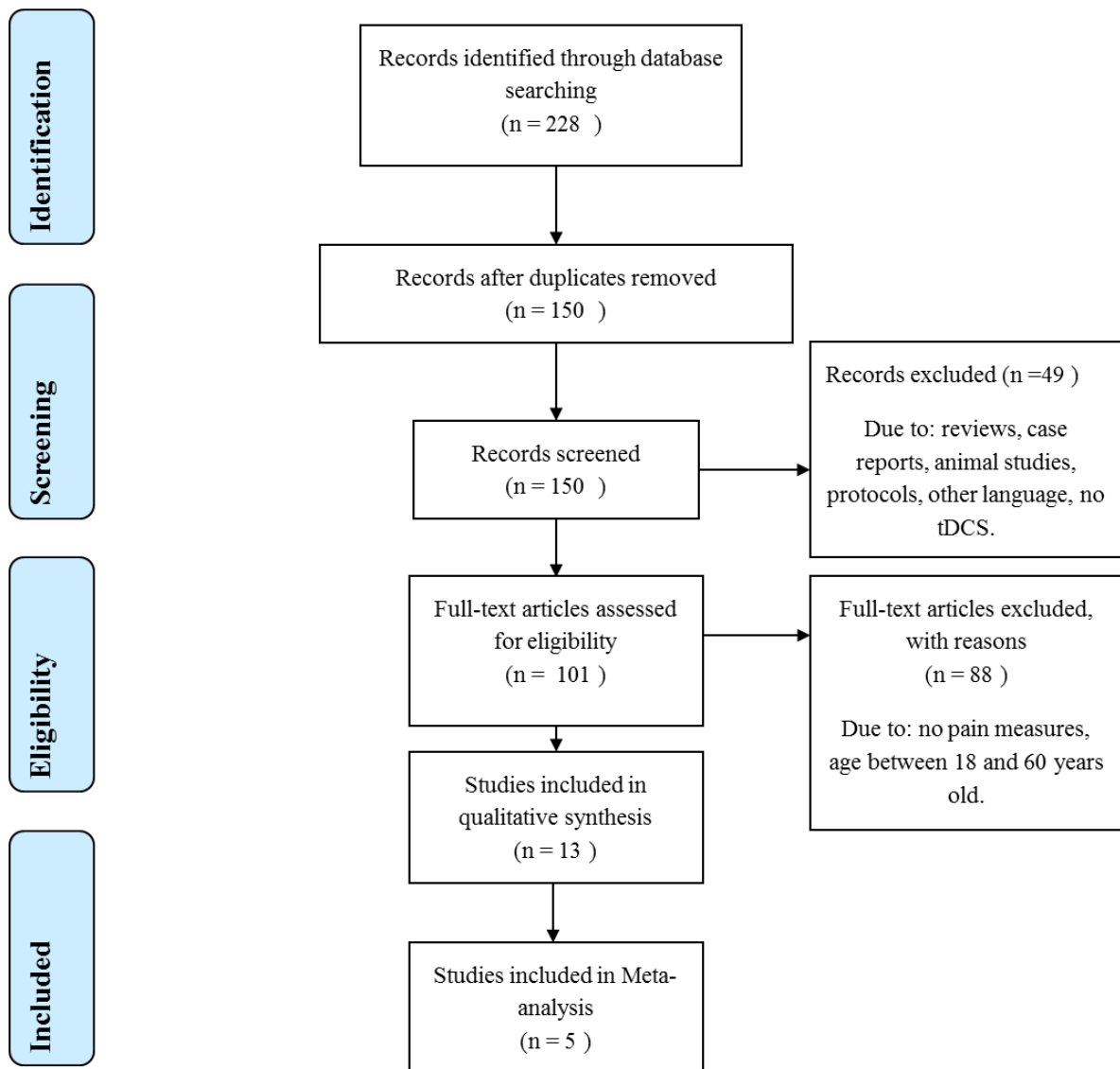


Figure 2.

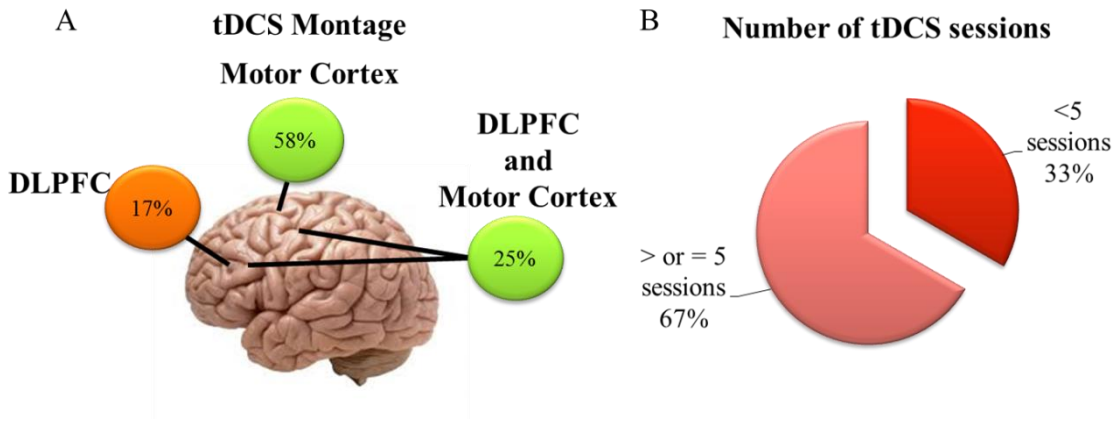


Figure 3.

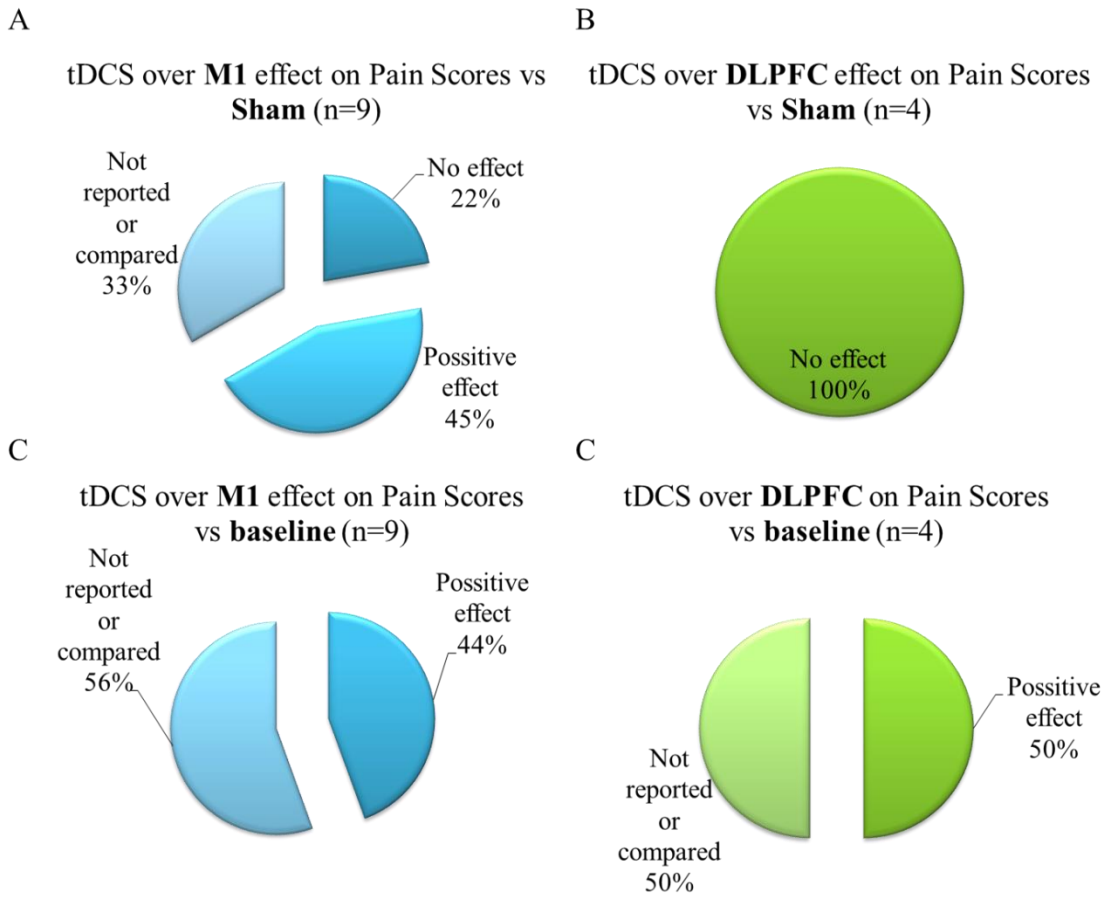


Figure 4.

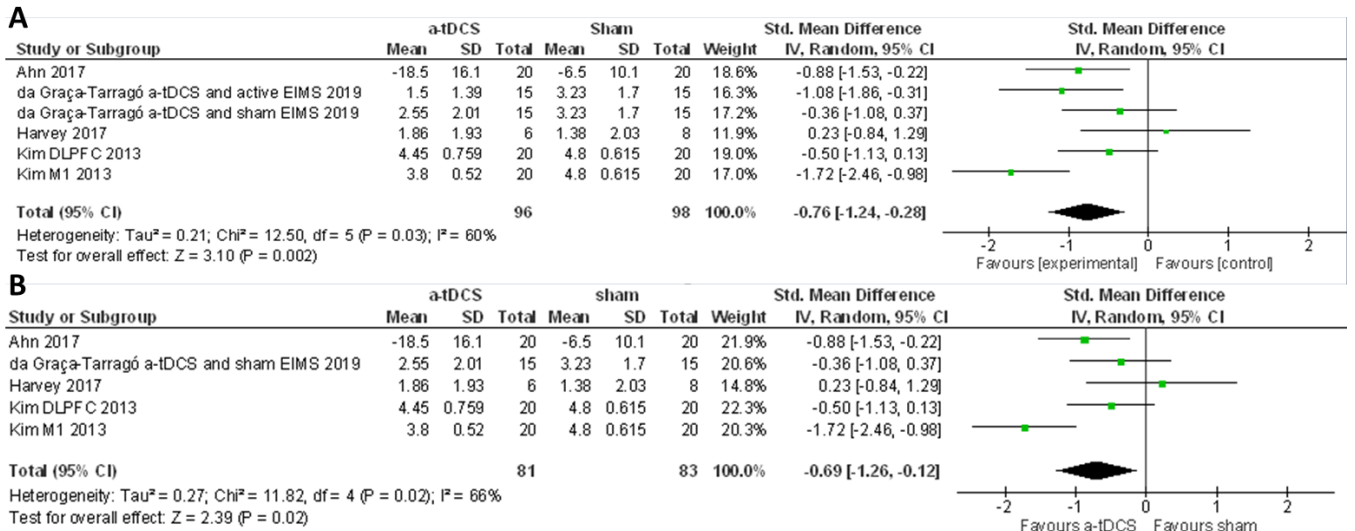


Figure 5.

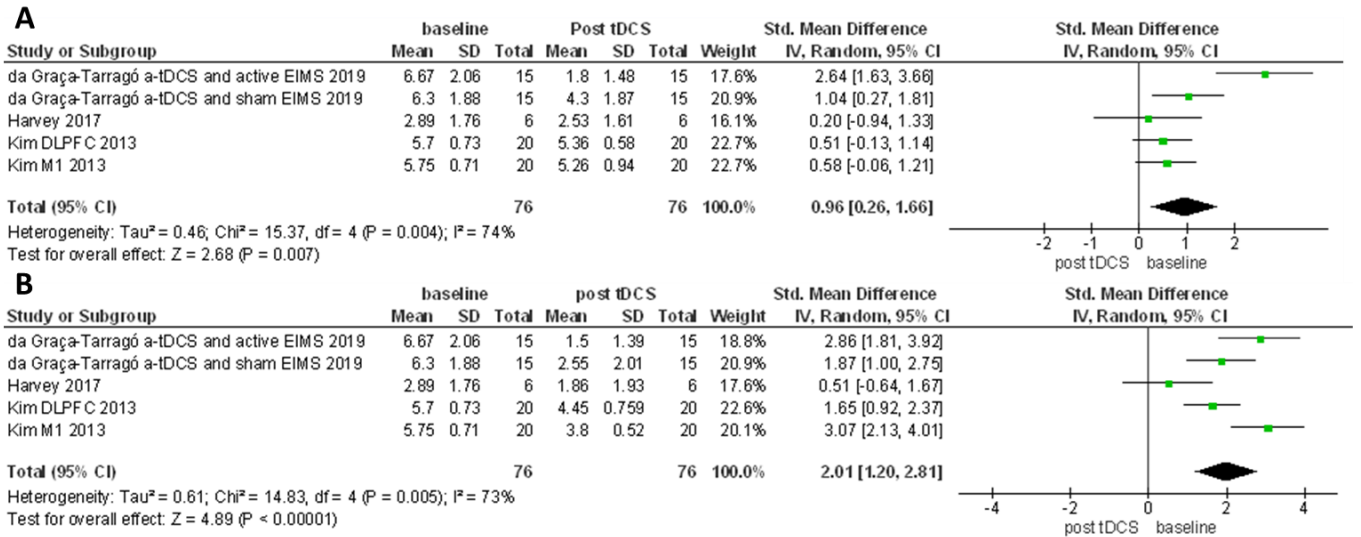


Figure 6.

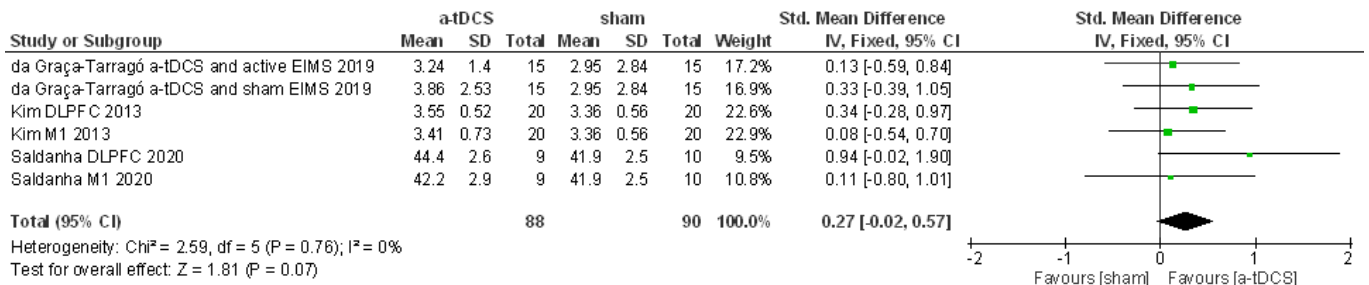


Figure 7.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

### Search strategy for EMBASE

[('aged'/exp OR 'aged' OR 'aged patient' OR 'aged people' OR 'aged person' OR 'aged subject' OR 'elderly' OR 'elderly patient' OR 'elderly people' OR 'elderly person' OR 'elderly subject' OR 'senior citizen' OR 'senium' OR 'adolescent'/exp OR 'adolescent' OR 'teenager' OR 'child'/exp OR 'child' OR 'children') AND ('transcranial direct current stimulation'/exp OR 'tcds (transcranial direct current stimulation)' OR 'transcranial direct current stimulation') AND ('dorsolateral prefrontal cortex'/exp OR 'dorsolateral prefrontal cortex' OR 'motor cortex'/exp OR 'brain cortex, motor' OR 'brain motor cortex' OR 'cerebral cortex, motor' OR 'cortex, motor' OR 'motor brain cortex' OR 'motor cerebral cortex' OR 'motor cortex') AND ('pain'/exp OR 'acute pain' OR 'deep pain' OR 'lightning pain' OR 'nocturnal pain' OR 'pain' OR 'pain response' OR 'pain syndrome' OR 'treatment related pain' OR 'pain threshold'/exp OR 'nociception threshold' OR 'nociceptive threshold' OR 'pain threshold' OR 'threshold, pain')]

Table 1. Electronic search strategy for EMBASE .

## ARTIGO II

### **Impact of age on tDCS effects on pain threshold and working memory: results of a proof of concept cross-over randomized controlled study**

Aceito na *Frontiers in Aging Neuroscience*  
Impact Factor 4.362





# Impact of Age on tDCS Effects on Pain Threshold and Working Memory: Results of a Proof of Concept Cross-Over Randomized Controlled Study

Júlia Schirmer Saldanha<sup>1,2</sup>, Marcelo Zortea<sup>1,2</sup>, Cibely Bavaresco Dalbérni<sup>3</sup>, Michael A. Nitsche<sup>3,4</sup>, Min-Fang Kuo<sup>5</sup>, Iraci Lucena da Silva Torres<sup>5,6</sup>, Felipe Fregni<sup>7</sup> and Wolnei Caumo<sup>1,2,8\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil, <sup>2</sup>Laboratory of Pain & Neuromodulation, Clinical Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil, <sup>3</sup>Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors, Dortmund, Germany, <sup>4</sup>Department of Neurology, University Medical Hospital Bergmannsheil, Bochum, Germany, <sup>5</sup>Department of Pharmacology, Instituto de Ciências Básicas de Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil, <sup>6</sup>Pharmacology of Pain and Neuromodulation: Pre-clinical Investigations Research Group, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil, <sup>7</sup>Laboratory of Neuromodulation and Center for Clinical Research Learning, Physics and Rehabilitation Department, Spaulding Rehabilitation Hospital, Boston, MA, United States, <sup>8</sup>Pain and Palliative Care Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil, <sup>9</sup>Department of Surgery, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Oliver C. Clark,  
Ohio University, United States

### Reviewed by:

Julie Suhr,  
Ohio University, United States  
Laura Morillo-Melero,  
National Paralympic Hospital, Spain

### \*Correspondence:

Wolnei Caumo  
wcaumo@hcpa.edu.br

Received: 03 April 2020

Accepted: 02 June 2020

Published: 30 June 2020

### Citation:

Saldanha JS, Zortea M, Dalbérni CB, Nitsche MA, Kuo M-F, Torres IS, Fregni F and Caumo W (2020) Impact of Age on tDCS Effects on Pain Threshold and Working Memory: Results of a Proof of Concept Cross-Over Randomized Controlled Study. *Front. Aging Neurosci.* 12:189. doi: 10.3389/fnagi.2020.00189

**Background:** Age is an important factor that impacts the variability of tDCS effects.

**Objective/Hypothesis:** To compare effects of anodal (a)-tDCS over the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), and primary motor cortex (M1) in adolescents, adults, and elderly on heat pain threshold (HPT; primary outcome) and the working memory (WM; secondary outcome). We hypothesized that the effect of tDCS on HPT and WM performance would be the largest in adolescents because their pre-frontal cortex is more prone to neuroplasticity.

**Methods:** We included 30 healthy women within the age ranges of 15–16 (adolescents,  $n = 10$ ), 30–40 (adults,  $n = 10$ ), and 60–70 (elderly,  $n = 10$ ) years. In this crossover single-blinded study, participants received three interventions applied over the DLPFC and M1. The active stimulation intensity was two mA for 30 min. From 20 min of stimulation onset, the tDCS session was coupled with an online n-back task. The a-tDCS and sham were applied in a random sequence, with a washout time of a minimum 7 days between each trial. HPT was evaluated before and after stimulation. The WM performance with an n-back task was assessed after the tDCS session.

**Results:** A Generalized Estimating Equation (GEE) model revealed a significant effect of the a-tDCS over the left DLPFC to reduce the HPT in adolescents compared with sham. It increased the pain perception significantly [a large effect size (ES) of 1.09]. In the adults, a-tDCS over M1 enhanced the HPT significantly (a large ES of 1.25) compared to

## **Impact of age on tDCS effects on pain threshold and working memory: results of a proof of concept cross-over randomized controlled study**

### **AUTHORS:**

Júlia Schirmer Saldanha <sup>1,2</sup>, Maxciel Zortea <sup>1,2</sup>, Cibely Bavaresco Deliberali <sup>2</sup>, Michael A. Nitsche <sup>3,4</sup>, Min-Fang Kuo <sup>3</sup>, Iraci Lucena da Silva Torres<sup>5,6</sup>, Felipe Fregni <sup>7</sup>, Wolnei Caumo<sup>1,2,8,9\*</sup>

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

*2. Laboratory of Pain & Neuromodulation, Clinical Research Center, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.*

*3. Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors, Dortmund, Germany.*

*4. Dept. Neurology, University Medical Hospital Bergmannsheil, Bochum, Germany.*

*5. Pharmacology Department, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.*

*6. Pharmacology of Pain and Neuromodulation: Pre-clinical Investigations Research Group, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.*

*7. Laboratory of Neuromodulation and Center for Clinical Research Learning, Physics and Rehabilitation Department, Spaulding Rehabilitation Hospital, Boston, MA, USA.*

*8. Pain and Palliative Care Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.*

*9. Department of Surgery, School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.*

**\*Corresponding author:** Wolnei Caumo MD, PhD; Department: Laboratory of Pain and Neuromodulation; Institution: Hospital de Clínicas de Porto Alegre at UFRGS. Address: Ramiro Barcelos, 2350 - CEP 90035-003 Bairro Rio Branco - Porto Alegre – RS, Brazil. Phone: (55) 51- 3359.8083. Email: wcaumo@hcpa.edu.br

**Keywords:** Transcranial direct current stimulation (tDCS), heat pain threshold, working memory, age, adolescents, elderly, quantitative sensory testing.

## ABSTRACT

**Background:** Age is an important factor that impacts the variability of tDCS effects. **Objective/Hypothesis:** To compare effects of anodal (a)-tDCS over the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), and primary motor cortex (M1) in adolescents, adults, and elderly on heat pain threshold (HPT) (primary outcome) and the working memory (WM) (secondary outcome). We hypothesized that the effect of tDCS on HPT and WM performance would be the largest in adolescents because their pre-frontal cortex is more prone to neuroplasticity. **Methods:** We included 30 healthy women within the age ranges of 15 to 16 (adolescents, n= 10), 30 to 40 (adults, n=10), and 60 to 70 (elderly, n=10) years. In this crossover single-blinded study, participants received three interventions applied over the DLPF and M1. The active stimulation intensity was two mA for 30 min. From 20 minutes of stimulation onset, the tDCS session was coupled with online n-back task. The a-tDCS and sham were applied in a random sequence, with a washout time of a minimum seven days between each trial. HPT was evaluated before and after stimulation. The WM performance with an n-back task was assessed after the tDCS session. **Results:** A Generalized Estimating Equation (GEE) model revealed a significant effect of the a-tDCS over the left DLPFC to reduce the HPT in adolescents compared with sham. It increased the pain perception significantly [a large effect size (ES) of 1.09]. In the adults, a-tDCS over M1 enhanced the HPT significantly (a large ES of 1.25) compared to sham. No significant effect for HPT was found in the elderly. Response time for hits was reduced for a-tDCS over the DLPFC in adolescents, as compared to the other two age groups. **Conclusions:** These findings suggest that a-tDCS modulates pain perception and WM differentially according to age and target area of stimulation. In adolescents, anodal stimulation over the DLPFC increased the pain perception, while in adults, the stimulation over the M1 increased the pain threshold. Thus, they elucidate the impact of tDCS for different age groups and can help to define what is the appropriate intervention according to age in further clinical trials.

**ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04328545**

## 1. INTRODUCTION

Transcranial direct current stimulation (tDCS) modulates cortical excitability with a low-intensity continuous electric current applied via two or more electrodes placed on the scalp (Nitsche et al., 2008; Nitsche & Paulus, 2000). Anodal (a)-tDCS induces neuronal membrane depolarization at critical neural compartments and enhances cortical excitability while cathodal tDCS decreases the excitability of respective target areas. The tDCS effects involve synaptic plasticity mechanisms of glutamatergic synapses that resemble the long-term potentiating (LTP) or the long-term depression (LTD) (Nitsche et al., 2008). Anodal tDCS over the left DLPFC and M1 has been shown to decrease pain levels in chronic pain patients and increase the pain threshold in adults' healthy subjects (Zortea et al., 2019, Vaseghi et al., 2014). The a-tDCS effect over M1 is attributed to modulating the sensory discrimination of pain, such as threshold, quality, location, and intensity (Boggio et al., 2008; Lorenz et al., 2003). Prefrontal stimulation is believed to modulate affective-emotional and cognitive aspects of pain (Boggio et al. 2018). This effect's biological plausibility is supported by prefrontal connections to the anterior cingulate cortex, insula, and amygdala. Besides, the a-tDCS over the DLPFC can improve several cognitive domains such as perception, attention, working memory, learning, and decision-making (Teixeira-Santos et al., 2015). This area's stimulation modulates a core circuit of working memory on the frontoparietal cortical regions (Fregni et al., 2005). However, these general effects of the tDCS efficacy are not entirely homogeneous (Fertonani & Miniussi, 2017; Mahdavi & Towhidkhah, 2018). They depend on anatomical factors (e.g., gray matter density, cytoarchitecture, baseline activity/excitability state), and, neuroplasticity intrinsic factors, such as genetics, sex, time of day, cognitive involvement, and age (Ridding & Ziemann et al., 2010). The chronological age has been suggested as a main factor for the inter-individual variability of neuromodulatory effects (Freitas et al., 2013; Ridding & Ziemann, 2010).

Even though the tDCS evidence in the therapeutic field is growing, as well as age is known as a determinant of neuroplasticity, the majority of mechanistic tDCS studies have been conducted in young adults. Thus, a gap in the literature remains related to age as a mediator of the tDCS effect. Notably, there is a scarcity of studies systematically designed to evaluate the tDCS effect according to the stimulation area for different age groups (e.g., adolescents, adults, or elderly). This rationale is supported in the acknowledgment that during adolescence, the prefrontal cortex is undergoing a maturation process which

comprises synaptic pruning and myelination (Sowell et al. 2004). In contrast, in the elderly, the senescence processes include a reduction of neuronal size and decrease of gray matter (Resnick et al. 2003). Hence, we need to better comprehend age as a factor that could mediate the tDCS effects according to the stimulation area.

Thus to elucidate the impact of age as a mediator on the tDCS effects, we conducted this randomized explanatory, sham-controlled, single-blind crossover study to test our hypothesis under an experimental paradigm where we control the etiological components of pain (e.g., nature, localization, intensity, frequency, and duration of the trigger necessary to evoke pain). We aimed to compare the effects of anodal tDCS applied over the left DLPFC and M1 in different age groups (adolescents, adults, and elderly) on the heat pain threshold (HPT) (primary outcome). Also, we evaluated their effects on the heat threshold, heat pain tolerance, and moderate heat pain and working memory (WM) as secondary outcomes. Due to the higher propensity for neuroplasticity of the prefrontal cortex in adolescents, and the plasticity-dependency of tDCS effects, we hypothesized that a-tDCS in adolescents would elicit the largest variation when compared to adults and elderly and that the differences of tDCS effects would be more prominent for DLPFC stimulation.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

### **2.1. Study Design**

A randomized, single-blinded, and sham-controlled cross-over study was conducted. The Institutional Review Board approved the study of the Hospital de Clínicas of Porto Alegre, Brazil (IRB HCPA/Approval number: 170188). De-identified data with respect to intervention and outcomes will be made available upon reasonable request to Caumo W. (wcaumo@hcpa.edu.br). All participants provided written informed consent following the Declaration of Helsinki. For the participants under the legal age, the written consent was signed by parents or legal guardian and by the participants themselves. The recruitment period was from September 2017 to December 2019.

Study volunteers were recruited from the community and enrolled after inclusion and exclusion criteria screening. After the enrollment, participants filled a standardized assessment to assess sociodemographic characteristics, anxiety, sleep quality, and depressive symptoms. Participants were randomized for a cross-over order of intervention for three sessions: a-tDCS over DLPFC, a-tDCS over M1, and sham. The baseline n-back

performance was assessed in the first session. For each cross-over trial, participants followed the study protocol depicted in figure 1: QST test was performed at first, followed by 30 min active tDCS or sham coupled with the n-back task for the last 10 min. The n-back task was assessed after the stimulation QST and followed by blinding and adverse effects questionnaires. The timeline of the study is presented in Figure 1.

## **2.2.Participants and Sample Size**

The subjects were recruited from the general population by advertisement postings in public places in Porto Alegre, Brazil. We recruited 30 voluntary female participants of three age groups: adolescents between 15 and 16 years old, adults between 30 and 40 years old, and elderly between 60 and 70 years old. Inclusion criteria: right-handedness, education level that ranged from incomplete middle school to incomplete undergraduate course (5 to 13 years of study), normal or corrected-to-normal visual acuity, post menarche for the adolescent and adult participants, and post-menopause (more than 12 months of amenorrhea according to ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) for elderly participants. Exclusion criteria: use of neuropsychiatric medications; clinically significant or unstable medical, neuropsychiatric, or chronic pain condition; the history of substance abuse, smoking, stroke, epilepsy, brain surgery, implants or brain tumor, pregnancy. We included only female participants since sex influences pain sensitivity (Bartley & Fillingim, 2013) and also modulated the tDCS effect on cortical excitability for cathodal, and anodal stimulation in both stimulation areas, M1 and DLPFC (Lee et al., 2018, Kuo, Paulus, & Nitsche, 2006).

The estimated prior sample size for the HPT was based on previous studies ( Fregni et al., 2005; Graff-Guerrero et al., 2005; Mylius et al., 2012). This initial sample size was estimated by a difference of 4.5% between intervention groups applied over either stimulation sites, DLPFC, and M1. For this initial estimation, we used the PASS 2020 software (<https://www.ncss.com>). Based on a generalized estimating equations (GEE) model in a repeated measures design, by a power of 80% and critical alpha set at 0.05, we required eight subjects per group. However, we planned interim analysis after enrollment of the first ten subjects in each group. In accordance to the O'Brien and Fleming criteria (O'Brien & Fleming, 1979) we pre-specified that the trial would be stopped if there was a significant difference in the primary outcome (HPT) between intervention groups according to age categories, irrespective of stimulation site ( $P < .05$ ). Considering that the sample size

calculation was just an estimation, the calculation of power for this study by two independent researchers had been planned as part of the study design after enrollment of the first 30 subjects because this would indicate the effectiveness of the intervention. Based on the GEE model, the power of analysis to detect a difference in the HPT with a large effect size (Cramer's  $V$  equal to 0.52 ), considering the interaction age group X stimulation condition, was 83% for a critical alpha of 0.05 (G\*Power 3.0.10, Franz Faul, Universität Kiel, Germany).

-----Insert figure 1 -----

### **2.3.Intervention**

Participants underwent two a-tDCS sessions over the respective areas of interest defined according to the EEG 10-20 system (Figure 1), and sham stimulation. For anodal DLPFC stimulation and sham, the electrode was placed over the left DLPFC (F3) and the cathode over the contralateral supraorbital area (FP2). For M1 stimulation, the anode was placed over the left M1 (C3), and the cathode over the contralateral supraorbital area. Stimulation was applied by the StarStim device (Neuroelectronics Barcelona SL, Spain) with 25cm<sup>2</sup> round sponges soaked with 0.9% saline solution. In the active conditions, a current of 2mA was applied for 30 min with a ramp up and down of 30 seconds. For the sham protocol, no current was applied except for the 30 seconds ramp up and down.

### **2.4.Randomization**

The randomization order was generated using *randomization.com* (<http://www.randomization.com>). Ratio allocation was 1.1.1 for each tDCS montage and sham. Opaque envelopes containing session allocation were sealed and numbered sequentially. The envelopes were opened after gaining subjects' informed and signed consent. All subjects were allocated to receive three sessions of tDCS (DLPFC a-tDCS, M1 a-tDCS, and sham). The minimum washout period was seven days.

### **2.5. Blinding**

The device was programmed to deliver real (active) or sham stimulation prior to each application according to the participant's code. Therefore, participants were blinded to the allocated interventions and were informed of the order of type of application was random. Researchers responsible for administering the intervention or conducting outcome

assessments were not systematically blinded to the intervention. To assess if the blinding had been effective, we asked all participants to guess whether they had received a-tDCS or sham at the end of each one of the crossover trials.

## **2.6. Instruments and assessments**

The participants completed the following questionnaires at baseline: Beck Depression Inventory II (Gomes-Oliveira et al., 2012), Pittsburgh Sleep Quality Index (Bertolazi et al., 2011) and State-Trait Anxiety Inventory (Kaipper et al., 2010). All these tests are validated for the Brazilian population. Demographic data were assessed using a standardized questionnaire.

## **2.7. Outcomes**

The primary outcome parameters were HPT. Secondary outcomes were the heat sensitivity threshold (HST), heat pain tolerance (HPTol), and moderate heat pain (HMP) and WM evaluated by D-prime.

### **2.7.1. Quantitative Sensory Testing**

The QST uses a Peltier thermode (30 × 30 mm) to assess HPT according to the method of limits (Schestatsky et al., 2011). For the assessment of HTP, the thermode was placed on the ventral right forearm. The baseline temperature was 30°C. It was increased at 1°C/s intervals up to a maximum of 52°C. HPT is the temperature at which volunteers first indicate pain. HST is the temperature at which the volunteers first report a heat sensation. The HPTol is the temperature that induces the maximum tolerated pain. The HMP is the temperature equivalent to the value six on a Visual Analogue Pain Scale (scores reaching from 0 to 10). A computerized Brazilian version of the QST test was used (Heat Pain Stimulator 1.1.10, Brazil developed by the Pain & Neuromodulation Laboratory). The quantitative Sensory Test (QST) was evaluated before and after of the tDCS or sham interventions for each one crossover trial.

### **2.7.2. Working Memory**

We used an n-back task coupled with flankers to assess working memory performance (adapted from Scharinger et al., 2015). It was evaluated by D-prime, which is a sensitivity parameter for accuracy. The participants performed a computerized n-back task composed of 3 blocks of different task workloads: zero-back, one-back, and two-back.



The n-back test consists of a series of letters presented consecutively, and the participants should respond if the present letter is equal to the letter presented "n" letters previously (Figure 1 B). The "n" represents the number indicating how many previous trials the participant should remember the presented letters: one-back corresponds to recall of the letter presented one trial before, two-back to the letter presented two trials before. If the stimulus is identical to "n" previous trials, the participant must indicate this by pressing the mouse button as fast as possible. For the zero-back, a letter is presented at the beginning of the task, and the participants should indicate when the letter of a specific trial is equal to that letter. We applied the task with flankers. Here the cue letter is displayed in the center, combined with three other letters on each side. The side letters had two conditions: congruent and incongruent. The congruent condition occurs when the same letter appears on the right and left sides of the target letter, for example, CCC C CCC. In the incongruent condition, the letters are different, for example, SSSH SSS. Participants were instructed to focus only on the letter presented centrally (that is, ignore the flanker). The test sequences within the blocks were pseudorandomized. The task was created using E-Prime software version 2.0 SP1 (Psychology Software Tools, Sharpsburg PA, US). The baseline n-back task was assessed on the first crossover session. Participants performed an n-back task during stimulation for the last 10 minutes and were evaluated for WM performance with an n-back task after tDCS.

## **2.8. Assessment of Blinding and Adverse Effects**

A structured questionnaire was used to assess the most frequent adverse effects after each one crossover trial, as well as classify their severity as mild, moderate, or severe (supplementary material). Also, there was an open question to describe any adverse effects, not presented in the list.

The subjects' blinding to intervention (a-tDCS or sham) was evaluated by a questionnaire where participants should indicate if a sham or active stimulation was performed. Participants answered this standardized questionnaire to evaluate their blinding after each one intervention session for all the three crossover trials.

## **2.9. Statistical Analysis**

We conducted descriptive analyses with mean and standard deviation (SD) for continuous variables. To compare baseline characteristics between groups, we applied one-

way ANOVA. The incidence and severity of adverse effects as well as blinding to intervention (a-tDCS and sham condition) were compared by Fisher's exact test. To assess the changes on the HPT from before intervention (T0) to after (T1) tDCS the percentage of variation  $(T1 - T0/T0)*100$  was used. A generalized estimating equations (GEE) model was used to compare the effect of interventions considering four factors: [group (adolescents, adults, elderly), stimulation condition (a- TDCS over DLPFC, a-tDCS over M1, or sham), the interaction group\*stimulation condition and order of intervention]. A GEE model was used to evaluate the effect of the intervention on working memory performance assessed by D-prime (D prime = hit rate minus false alarm rate) and RTH. The model considered four factors: (age group, stimulation condition, interaction group\*stimulation condition and order of intervention). The GEE models for the D-prime and RTH were adjusted by the n-back task at baseline performance and years of study. All analyses were adjusted for multiple comparisons by post hoc Bonferroni test and Dunn's method for Kruskal-Wallis tests when appropriate. The critical p-value was set to 5% for all statistical tests. The data were analyzed using SSPS version 22.0 (SPSS, Chicago, IL).

### **3. RESULTS**

#### **3.1. Sample characteristics**

A total of 217 women were assessed for eligibility, 122 did not meet the inclusion criteria (history of chronic pain, or university degree), and 65 declined to participate. These data are presented in the participants' flow (Figure 2). Thirty female participants were enrolled, 10 for each age group (adolescents, adults, and elderly). The blinding of the participants related to the intervention was successful, and there was no significant difference in the guessing for active stimulation or sham (for details refer to supplementary material). We did not find statistically significant differences in the incidence or intensity of adverse effects between stimulation protocols within age groups (for details refer to supplementary material). Between age groups, the sleepiness for a-tDCS over the DLPFC and sham-tDCS showed that the elderly presented a higher incidence. In the sham condition, sleepiness was reported by the elderly (50%) by adults (10%), but not by adolescents ( $P=0.026$ ). For a-tDCS on the DLPFC, the sleepiness was reported to either elderly (55%), and adults (10%) but not in adolescents ( $P=0.014$ ). There was no difference in the sleepiness among groups for the tDCS applied to the M1. Regarding the severity of adverse effects, for LDPFC, there was a significant difference between age groups in the

itching severity ( $P=0.01$ ). Itching was reported by adolescents (80%), who in totality classified it as moderate. Adults also reported itching (87.5%), and 62.5% of them classified it as moderate to severe. In the elderly, 44% reported itching, and all of them classified it as mild. In our study, 45% of all participants, including adolescents and adults, were using some form of hormonal contraceptive.

-----Insert figure 2 -----

The demographic and psychological data of the three age groups are presented in Table 1. Differences between groups were only found for years of study ( $P=0.001$ ).

-----Insert table 1-----

### **3.2. Effect of tDCS applied over M1 and DLPFC on primary outcome**

A GEE model showed no order effect across the study for the HPT ( $P=0.35$ ). The GEE model revealed a statistically significant effect for age group \*stimulation condition interaction (Wald  $\chi^2 = 16.613$ ;  $df=4$ ;  $P<0.01$ ). In adolescents, the a-tDCS over the DLPFC compared to sham increased the pain perception. This finding indicates on the HPT was in the opposite direction than the effect in adults and elderly with a-tDCS applied over the same stimulation site. The between-age group test, according to the stimulation condition revealed that the a-tDCS applied over the DLPFC in the HPT variation in adolescents was significantly higher than the elderly. The effect size (ES) within adolescents' group of the a-tDCS over DLPFC compared to sham was 1.09 as assessed by Cohen's D. The ES between adolescents compared to adults and the elderly with a-tDCS on the DLPFC was 0.97 and 1.64 respectively.

In adults, the a-tDCS over M1 compared to sham increased the HTP with ES equal to 1.25. The active stimulation on M1 in adults increased the pain threshold of 48.86% compared to the DLPFC. However, this difference was not statistically significant (**Table 2**). Regarding the tDCS effect on HPT with stimulation on the M1 did not differ statistically between age groups.

-----Insert table 2-----

Figure 3 presents the percentage of variation in the HPT according to the age group and interventions group with the comparisons within and between by a GEE model.

-----Insert figure 3-----

### **3.3. Effect of tDCS applied over M1 and DLPFC on secondary outcomes**

#### **3.3.1. Effects on pain measures**

The results of the GEE model showed no effect of stimulation in any of the age groups for these pain measures: heat threshold, heat pain tolerance, and moderate heat pain (**Table 3**). The a-tDCS over the left DLPFC increased the pain perception measured by the heat moderate pain and HPTol. From the baseline, the temperature in Celsius Degrees to produce moderate heat pain and the HPTol reduced by -1.44%, and by -2.15%, respectively. Whereas in the other groups, the a-tDCS decreased the pain perception, that is, it needed higher temperatures to produce the same pain perception. In adults, to produce moderate heat pain and the HPTol, the temperature increased by 0.44%, and by 1.41%, respectively. In the elderly, the temperature to produce moderate heat pain and the HPTol increased by 2.87% and by 0.38%, respectively.

-----Insert table 3-----

#### **3.3.2. Effects on working memory**

##### **D prime - Univariate analysis**

The Kruskal-Wallis test was used to compare D prime for baseline n-back task performance evaluated at cross-over day 1. A significant difference between age groups was found in the two-back task with congruent flankers ( $P=0.005$ ), Dunn post hoc test showed that D-prime was larger for adults [mean (SD); 1.67 (0.61)] than for elderly [0.97 (0.47);  $P=0.004$ ].

##### **D prime - Multivariate analyses**

The GEE model between stimulation condition and age groups showed no stimulation effect on the D-prime measure, within or between age groups. Baseline D-prime was included as covariate on GEE models. There was a significant group main effect for D-prime at the two-back task with incongruent flankers (Wald  $\chi^2= 12.572$ ;  $df=2$ ;  $P<0.01$ ). Adolescents showed a higher D-prime in this condition than elderly ( $P<0.01$ ) (figure 4). However, the interaction of group and stimulation was not significant. An order

effect was not observed for one-back with congruent flankers (Wald  $\chi^2= 5.041$ ;  $df=2$ ;  $P=0.08$ ), neither for one-back with incongruent flankers (Wald(2)=5653,  $P= 0.05$ ) and nor for two-back with incongruent flankers (Wald  $\chi^2=3.039$ ,  $df=2$ ;  $P= 0.21$ ). For two-back with congruent flankers, there was a significant order effect (Wald  $\chi^2=9.786$ ,  $df=2$ ;  $P< 0.01$ ), post hoc test showed that the first cross-over session had a lower D-prime than the third session ( $P<0.01$ ).

### **RTH - Univariate analyses**

Mean baseline RTH was compared by the Kruskal-Wallis test. It revealed a significant difference for one-back with congruent flankers ( $P=0.02$ ). Dunn post-hoc test showed that adolescents [mean (SD), 391ms (50)] performed faster than elderly [488ms (87),  $P=0.02$ ].

### **RTH - Multivariate analyses**

A GEE model showed a significant interaction of age group and stimulation condition for the two-back task with congruent flankers (Wald  $\chi^2=16.068$ ,  $df=4$ ;  $P<0.01$ ). Post-hoc test showed that for the sham tDCS, adolescents and adults had a shorter RTH than elderly ( $P<0.01$  for both). While for a-tDCS over DLPFC, adolescents had a faster RTH compared to either adults or elderly ( $P<0.01$  for both), whereas stimulation over M1 produced a faster RTH for adolescents when compared to elderly ( $P=0.03$ ). Within the adults' group, sham condition had a faster RTH compared to a-tDCS, either on the DLPFC or M1 ( $P<0.01$  for both) (figure 4). For the one-back task with incongruent flankers a main effect of group was significant (Wald  $\chi^2=9.147$ ,  $df=2$ ;  $P=0.01$ ). Adults and adolescents showed a faster RTH than elderly ( $P=<0.01$  and  $P=0.03$ , respectively). The RTH for the two-back task with incongruent flankers also showed a main effect of group (Wald  $\chi^2=11.822$ ,  $df=2$ ;  $P<0.01$ ). Adolescents had shorter RTH than the elderly ( $P<0.01$ ) (figure 4). Order effect was not observed for RTH for one-back with congruent flankers (Wald  $\chi^2=1.34$ ;  $df=2$ ;  $P=0.51$ ), neither for two-back with incongruent flankers (Wald  $\chi^2=4.89$ ;  $df=2$ ;  $P=0.08$ ), but significant for two-back with congruent flankers (Wald  $\chi^2= 12.371$ ;  $df=2$ ;  $P<0.01$ ) with a faster RTH for the third session compared to the first ( $P<0.01$ ), and for one-back with incongruent flankers (Wald  $\chi^2=6.29$ ;  $df=2$ ;  $P= 0.04$ ) post hoc not significant.

-----Insert figure 4-----

#### 4. DISCUSSION

These findings revealed that the tDCS effect on pain perception and working memory depends on the stimulation site and that such effect is mediated by age. The a-tDCS over the DLPFC reduced the HPT in adolescents, in contrast, no significant difference was found for HPT in adults and elderly for DLPFC tDCS. Likewise, for adults, a-tDCS over M1 increased HPT. However, in the elderly, we did not find a significant difference in the HPT despite the stimulation site. Concerning RTH on n-back task, analysis within-group in adults showed an increased reaction time for the two-back task with congruent flankers in the a-tDCS compared to sham in both stimulation sites (DLPFC and M1). In summary, these results strengthen the importance of considering age as a mediator that can change the tDCS effect according to the stimulation area and it likely is involved in the inter-subject response variability. Their importance is to lay the initial steps to investigate and to consider age as an appropriate stimulation parameter to use the tDCS.

A-tDCS on the DLPFC in adolescents displayed an increase in pain perception. Although there is not a clear explanation for this increase, it suggests that age has an influence on the inter-group variability of the tDCS response. From a physiological point of view, this convergent effect of tDCS on pain measures (e.g., HPT, HPTol, HMP) supports the hypothesis that there is a distinct impact of the a-tDCS on the DLPFC in adolescents compared to two other age groups. It is plausible that the system can have suffered an overload of excitatory stimulus when combined with the a-tDCS effect across 20 min with an online WM task at last 10 min of tDCS session, and thus, it drove to a protective inhibitory response. This is plausible since the sham effect in the same group did not provide such a response. These findings support the hypothesis that this distinct effect related to the DLPFC can be linked to an increase in either the excitability or the state-dependent neuroplasticity. This hypothesis can find some support from the results observed in the two other age groups, which showed the a-tDCS effect tends to decrease pain perception on the DLPFC. This tendency in the direction to improve pain perception is also in agreement with a result found in adult women with fibromyalgia with an extended home-based a-tDCS use, which demonstrated an improvement in the pain and the disability due to pain (Brietzke, 2019). Thus, the main result of this research extends literature that age is a mediator of the neuroplasticity state involved in the a-tDCS on the DLPFC in adolescents. It is important to realize that these results contrast with our initial hypothesis that the top down modulation with a-tDCS could improve the pain perception. Our assumption is that

this reverse effect could be a protective physiological response. Aligned with this perspective are trends found on the a-tDCS effect on the M1 on pain measures in adolescents. It trends to reduce the pain perception and indicates an effect likewise that was found in adults. In summary, these results permit us understanding the role of age as mediators of tDCS. However, they do not support therapeutic decision-making in clinical settings.

These results could be a proof of concept that age is a central mediator of the tDCS response, particularly for DLPFC, and that age can be a determinant of non-linear state-dependence response and explains at least part of individual differences of the tDCS effect, despite identical stimulation parameters (Hsu, Juan, & Tseng, 2016). This hypothesis finds support in neurophysiological measures that showed that intracortical inhibition increases with age (Croarkin et al., 2014). This way, it is possible to hypothesize that the hyper neuronal plasticity in the circuitries at baseline did not support the additional load of the a-tDCS excitatory stimulus applied over the DLPFC. This way, the decrease in the pain threshold could be interpreted as a physiological contra-regulatory response to protect the system of dysfunctions by excessive excitability and it can be a physiological protective reaction in front of a demand that crosses the limit to effort at an adaptation of this neuronal circuitries. This assumption is substantiated by the previous study using cathodal tDCS protocol, which enhanced cortical excitability in adolescents (Moliadze et al., 2015). Additional factors involved in this response are a larger electrical field for children and adolescents due to parameters like smaller skull thickness and increased cerebrospinal fluid volume when compared to adults (Minhas et al., 2013). According to an earlier study, intensified a-tDCS protocols can shift directionally of effects (Monte-Silva et al., 2013). This way, the increase in the pain sensitivity indexed by the HPT in adolescents when the stimulation was over the left DLPFC might have caused by an inhibitory tDCS effect. Another possible explanation for this result could be related to the left DLPFC stimulation that enhanced attention to the painful stimulus resulting in higher pain perception. This hypothesis finds some support in a previous study in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder, where an improvement in the attention with a-tDCS over the left DLPFC was observed (Soff et al., 2017).

The increase in the pain threshold in adults with tDCS applied over M1 is supported by studies using similar protocols (Boggio et al., 2008; Reidler et al., 2012; Zandieh et al.,

2013). However, our findings related to the HPT in adults with the stimulation over the left DLPFC diverge from a previous study, which found a significant increase in HPT after DLPFC stimulation (Boggio et al., 2008). Possible explanations for these conflicting results are sample characteristics and methodological aspects: in the mentioned study, the adults' group is younger than the group of the same category in the current study. There are additional differences related to protocol, such as the time of stimulation, which they applied for 5 min as well as the pain threshold evaluation performed online after 3 min of stimulation. Another study found that in healthy subjects, the a-tDCS over DLPFC increased tolerance to heat pain, but not the pain threshold (Mylius et al., 2012). Likewise, our results in adults with stimulation over M1 are aligned with a meta-analysis on healthy subjects which found increased pain thresholds (Vaseghi et al., 2014). Moreover a recent meta-analysis evaluated the impact of a-tDCS on diverse chronic pain conditions, and found more consistent evidence when the stimulation was applied over M1, even though it suggests that it can be effective for pain treatment when applied over DLPFC (Zortea et al., 2019).

Thus, the biological plausibility to support our result might be related to different connections of M1 and DLPFC within areas of pain processing. The M1 is associated with lateral thalamic nuclei that are involved in the sensory discrimination aspects of pain, whereas the DLPFC is associated with medial thalamic nuclei and the limbic system, which are associated with emotional and cognitive aspects of pain (Boggio et al., 2008). Thereby, it is possible that it improved the function in neural networks responsible for the cognitive and emotional components of pain. These distinct effects observed, according to the area of stimulation, are supported by neuroimage studies (Morton, Sandhu, & Jones, 2016). Such studies showed the tDCS effect could modify cortical and subcortical networks activated by pain. Among them are the primary somatosensory cortex (S1), and the secondary somatosensory cortex (S2). These areas encode sensory features of pain, such as the location and duration of pain (Apkarian et al., 2005). Alternatively, however, it also involves the anterior cingulate cortex (ACC) and insula, which are associated with emotional aspects of pain (Apkarian et al., 2005; Dum, Levinthal, & Strick, 2009). Also, the plausibility of the effect observed in DLPFC stimulation is supported by anatomical and neurophysiological features, since the prefrontal cortex is a critical structure for attention and executive functions (Fuster, 2008). The prefrontal cortex also modulates the inhibition of neuronal coupling along the ascending midbrain-thalamic-cingulate pathway (Lorenz,



Minoshima, & Casey, 2003).

Additionally, we did not find a significant effect of any a-tDCS protocol on HPT within the elderly group. The difference in HPT between the elderly and adults can be related to age-dependent neuroplasticity decline in brain areas associated with pain processing. Given in the elderly compared to young adults display significantly lower gray matter perfusion, a lower gray matter density as well as lower brain metabolism as measured by oxygen consumption (Sowell et al., 2004). Animal studies at the cellular level showed that the synaptic plasticity is impaired with the senescence, especially concerning the decline of LTP (Barnes, 1979; Rex et al., 2005). Furthermore, there is the age-dependent cerebral brain atrophy, which increases scalp-to-brain distance (Resnick et al., 2003), which might also reduce the tDCS effect. Moreover we cannot rule out, at least partially, that the result in the elderly could be mitigated by the assessment of HPT immediately after the stimulation end. This assumption finds some support in the literature because the tDCS effect in the elderly can be delayed for up to 30 min to induce the neuroplasticity process (Fujiyama et al., 2014). We can state that these findings help to comprehend the physiological process, and they should not be generalized to clinical protocols with multiple sessions. This argument is supported by earlier studies in the elderly with chronic pain when identical stimulation parameters on the M1 during 5 or 10 sessions were effective to improve pain scores (da Graca-Tarrago et al., 2019; Harvey et al., 2017).

Our results concerning the tDCS effect on WM accuracy agree with those of previous studies. Recent meta-analyses discuss that the impact of a-tDCS over the DLPFC in healthy adults appears to be restricted to reaction time (Brunoni & Vanderhasselt, 2014; Dedoncker et al., 2016; Hill et al., 2016). In contrast, another meta-analysis found a small, but significant effect, of anodal tDCS over the left DLPFC on performance accuracy when tDCS was combined with online WM training (Mancuso et al., 2015), or when it was applied in multiple stimulation sessions (Mashal & Metzuyanin-Gorelick, 2019). Moreover, earlier studies observed the effect of tDCS only when the task included a three-back (Fregni et al., 2005; Gill et al., 2015; Ohn et al., 2008), a more difficult task compared to the two-back conducted in the present study. Therefore, a potential explanation for the lack of stimulation effect in the WM performance was a ceiling effect.

The most common adverse effects reported were itching and sleepiness with a

similar incidence in active and sham stimulation conditions. However, for the DLPFC protocol, we did find a significant difference in the intensity of itching: adolescents reported moderate intensity, while adults and elderly majorly reported mild effects. Serious adverse effects were not reported. The adverse effects observed in our study, like those that have been published, when present, were transient and most classified as mild.

#### **4.1. Study Limitations**

Some limitations related to the study design need to be considered. First, although we need parsimony in regards to the generalizability since it is an explanatory proof-of-concept trial and that the impact of the intervention was evaluated in healthy women using tightly controlled methods where there is an attempt to maximize the internal validity and assay sensitivity (i.e., effect detection ability). Differences between sex on pain processing revealed that women, compared to men, showed a higher medial prefrontal activation under nociceptive stimuli (Gupta et al., 2017). Also, in women, we found a higher inhibitory function of the descending pain modulating system compared to males (Gasparin et al., 2020). Additionally, there is vast literature related to sex differences in pain sensitivity (Bartley & Fillingim, 2013). Also, studies have indicated that there is an influence of sex on the tDCS effect (Kuo, Paulus, & Nitsche, 2006; Ohn et al., 2008). Second, the phase of the menstrual cycle could influence pain processing and cortical excitability, however, the use of hormonal contraceptive methods can suppress hormonal cycle fluctuation. Third, elderly subjects were not screened for mild cognitive impairment. Approximately 4.5% of the elderly have mild cognitive impairment (Sachdev et al. 2015), that is associated with deficits in WM performance compared to age-matched controls (Kirova et al., 2015). Nevertheless, we did not observe differences in the tDCS on WM using a similar protocol in all three age groups. This result is aligned with a study showing that n-back accuracy did not elicit a result with a significant difference between healthy controls and the elderly with minor cognitive impairment (Emonson, Fitzgerald, Rogasch, & Hoy, 2019; Kochan et al., 2010). Fourth, we found a difference between age groups in the educational level. Thereby, all analyses of the tDCS effect on the working memory were adjusted by the educational level. Thus, it is improbable that this difference changes the directions of our conclusions. Fifth, the order of sessions was significant for a few WM outcomes. A seven day wash-out is adequate to prevent carry-over effect (Nitsche et al. 2008). The difference in the order can be related to the learning effect. However, the order of the sessions was added as a covariate for the GEE model to consider possible order effects. Additionally, crossover

design can help avoid the overestimation of the benefits of the intervention being tested (Mills et al., 2009). Sixth, evaluators were not blinded; although lack of blinding is associated with performance bias, the outcomes of QST and n-back by the test characteristics are less prone susceptible for evaluators' influence than self-report measures (Higgins et al., 2011). Finally, this is an exploratory study with a small sample size, thus there is an increased chance for type I and type II errors, and thus the results require replication with larger sample sizes to be able to make more firm conclusions. Although this study has such limitations, from a clinical standpoint, these results give additional data to plan further studies to obtain evidence about the impact of age as a mediator factor on the tDCS effects according to the electrode positions in confirmatory trials in clinical conditions (i.e., pain, cognitive rehabilitation, etc.).

## **5. Conclusion**

In conclusion, these findings suggest that a-tDCS modulates pain perception and WM differentially according to age and target area of stimulation. In adolescents, anodal stimulation on the DLPFC increased the pain perception, while in adults, the stimulation on the M1 increased the pain threshold. Thus, they elucidate the impact of tDCS for different age groups and can help to define according to age what is the appropriate intervention in further clinical trials.

## **6. Acknowledgments**

We thank the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Clinical Research Facility for their facility and personnel to support this study. We thank the following Brazilian agencies for the financial support: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES, National Council for Scientific and Technological Development – CNPq, and the Events and Research Incentive Funding (FIPE/HCPA) from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

## **7. Author Contributions**

JS, MZ, and WC conceived and designed the study, participated in the data collection, performed the statistical analysis, and coordinated and drafted the manuscript; CD participated in the data collection and registering, FF helped conceive and design the study ; IT, MK and MN reviewed the manuscript.

## **8. Conflict of Interest Statement**

MAN is in the scientific advisory boards of Neuroelectrics, and NeuroDevice. The remaining authors affirm that they did not have support from any other organization for the submitted work.

## **10. Funding**

This research was supported by grants and material support from the following Brazilian agencies: Committee for the Development of Higher Education Personnel – CAPES (JSS grant PBE-DPM II 62/2014 88887.144658/2017-00, PDSE 88881.189121/2018-01), National Council for Scientific and Technological Development - CNPq (MZ grant number 1509885; WC grant number 301256/2013-6). Committee for the Development of Higher Education Personnel (CAPES – PROEX) for material support; Events and Research Incentive Funding (FIPE/HCPA) at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (project number 2017-0188); Hospital de Clínicas de Porto Alegre for material and infrastructure support.

## REFERENCES

- Apkarian, A. V., Bushnell, M. C., Treede, R. D., & Zubieta, J. K. (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European Journal of Pain*, 9(4), 463–484. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.11.001>
- Barnes, C. A. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93(1), 74–104. <https://doi.org/10.1037/h0077579>
- Bartley, E. J., & Fillingim, R. B. (2013). Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), 52–58. <https://doi.org/10.1093/bja/aet127>
- Bertolazi, A. N., Fagondes, S. C., Hoff, L. S., Dartora, E. G., da Silva Miozzo, I. C., de Barba, M. E. F., et al. (2011). Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Medicine*, 12(1), 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2010.04.020>
- Boggio, P. S., Zaghi, S., Lopes, M., & Fregni, F. (2008). Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers. *European Journal of Neurology*, 15(10), 1124–1130. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02270.x>
- Brietzke, A. P., Zortea, M., Carvalho, F., Sanches, P. R. S., Silva, D. P. J., Torres, I. L. da S., ... Caumo, W. (2019). Large Treatment Effect With Extended Home-Based Transcranial Direct Current Stimulation Over Dorsolateral Prefrontal Cortex in Fibromyalgia: A Proof of Concept Sham-Randomized Clinical Study. *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society*. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2019.06.013>
- Brunoni, A. R., & Vanderhasselt, M. (2014). Working memory improvement with non-invasive brain stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex: a systematic review and meta-analysis. *Brain and Cognition*, 86, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2014.01.008>
- Croarkin, P. E., Nakonezny, P. A., Lewis, C. P., Zaccariello, M. J., Huxsahl, J. E., Husain, M. M., ... Daskalakis, Z. J. (2014). Developmental aspects of cortical excitability and inhibition in depressed and healthy youth: an exploratory study. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8, 669. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00669>
- da Graca-Tarrago, M., Lech, M., Angoleri, L. D. M., Santos, D. S., Deitos, A., Brietzke, A. P., ... Caumo, W. (2019). Intramuscular electrical stimulus potentiates motor cortex modulation effects on pain and descending inhibitory systems in knee osteoarthritis: a randomized, factorial, sham-controlled study. *Journal of Pain Research*, 12, 209–221. <https://doi.org/10.2147/JPR.S181019>
- Dedoncker, J., Brunoni, A. R., Baeken, C., & Vanderhasselt, M. (2016). A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effects of Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Over the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Healthy and Neuropsychiatric Samples: Influence of Stimulation Parameters. *Brain Stimulation*. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.04.006>

- Dum, R. P., Levinthal, D. J., & Strick, P. L. (2009). The spinothalamic system targets motor and sensory areas in the cerebral cortex of monkeys. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(45), 14223–14235. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3398-09.2009>
- Emonson, M. R. L., Fitzgerald, P. B., Rogasch, N. C., & Hoy, K. E. (2019). neurobiological effects of transcranial direct current stimulation in younger adults, older adults and mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2019.01.003>
- Fertonani, A., & Miniussi, C. (2017). Transcranial Electrical Stimulation: What We Know and Do Not Know About Mechanisms. *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 23(2), 109–123. <https://doi.org/10.1177/1073858416631966>
- Fregni, F., Boggio, P. S., Nitsche, M., Berman, F., Antal, A., Feredoes, E., et al. (2005). Anodal transcranial direct current stimulation of prefrontal cortex enhances working memory. *Experimental Brain Research*, 166(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s00221-005-2334-6>
- Freitas, C., Farzan, F., & Pascual-Leone, A. (2013). Assessing brain plasticity across the lifespan with transcranial magnetic stimulation: why, how, and what is the ultimate goal? *Frontiers in Neuroscience*, 7, 42. <https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00042>
- Fujiyama, H., Hyde, J., Hinder, M. R., Kim, S. J., McCormack, G. H., Vickers, J. C., & Summers, J. J. (2014). Delayed plastic responses to anodal tDCS in older adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 6(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00115>
- Fuster, J. M. (2008). *The Prefrontal Cortex* (4th ed.). San Diego, CA. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373644-4.X0001-1>
- Gasparin, A., Zortea, M., Dos Santos, V. S., Carvalho, F., Torres, I. L. S., de Souza, A., ... Caumo, W. (2020). Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates the Effect of Sex on the Descending Pain Modulatory System in Healthy Volunteers. *Pain Medicine (Malden, Mass.)*. <https://doi.org/10.1093/pm/pnaa027>
- Gewandter, J. S., Dworkin, R. H., Turk, D. C., McDermott, M. P., Baron, R., Gastonguay, M. R., ... White, R. E. (2014). Research designs for proof-of-concept chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations. *Pain*, 155(9), 1683–1695. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.05.025>
- Gill, J., Shah-basak, P. P., & Hamilton, R. (2015). It ' s the Thought That Counts : Examining the Task-dependent Effects of Transcranial Direct Current Stimulation on Executive Function. *Brain Stimulation*, 8(2), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.10.018>
- Gomes-Oliveira, M. H., Gorenstein, C., Neto, F. L., Andrade, L. H., & Wang, Y. P. (2012). Validation of the Brazilian Portuguese Version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 34(4), 389–394. <https://doi.org/10.1016/j.rbp.2012.03.005>

- Graff-Guerrero, A., Gonzalez-Olvera, J., Fresan, A., Gomez-Martin, D., Mendez-Nunez, J. C., & Pellicer, F. (2005). Repetitive transcranial magnetic stimulation of dorsolateral prefrontal cortex increases tolerance to human experimental pain. *Brain Research. Cognitive Brain Research*, *25*(1), 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2005.05.002>
- Gupta, A., Mayer, E. A., Fling, C., Labus, J. S., Naliboff, B. D., Hong, J.-Y., & Kilpatrick, L. A. (2017). Sex-based differences in brain alterations across chronic pain conditions. *Journal of Neuroscience Research*, *95*(1–2), 604–616. <https://doi.org/10.1002/jnr.23856>
- Harvey, M.-P., Lorrain, D., Martel, M., Bergeron-Vezina, K., Houde, F., Séguin, M., et al. (2017). Can we improve pain and sleep in elderly individuals with transcranial direct current stimulation? – Results from a randomized controlled pilot study. *Clinical Interventions in Aging*, *12*, 937–947. <https://doi.org/10.2147/CIA.S133423>
- Higgins, J. P. T., Altman, D. G., Gøtzsche, P. C., Jüni, P., Moher, D., Oxman, A. D., ... Sterne, J. A. C. (2011). The Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*, *343*, d5928. <https://doi.org/10.1136/bmj.d5928>
- Hill, A. T., Fitzgerald, P. B., & Hoy, K. E. (2016). Effects of Anodal Transcranial Direct Current Stimulation on Working Memory: A Systematic Review and Meta-Analysis of Findings from Healthy and Neuropsychiatric Populations. *Brain Stimulation*, *9*(2), 197–208. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.10.006>
- Kaipper, M. B., Chachamovich, E., Hidalgo, M. P. L., da Silva Torres, I. L., & Caumo, W. (2010). Evaluation of the structure of Brazilian State-Trait Anxiety Inventory using a Rasch psychometric approach. *Journal of Psychosomatic Research*, *68*(3), 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2009.09.013>
- Kochan, N., Kochan, N. A., Breakspear, M., Slavin, M. J., Valenzuela, M., McCraw, S., ... Sachdev, P. S. (2010). Functional Alterations in Brain Activation and Deactivation in Mild Cognitive Impairment in Response to a Graded Working Memory Challenge. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, *30*(6), 553–568. <https://doi.org/10.1159/000322112>
- Kuo, M.-F., Paulus, W., & Nitsche, M. A. (2006). Sex differences in cortical neuroplasticity in humans. *Neuroreport*, *17*(16), 1703–1707. <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000239955.68319.c2>
- Hsu, T.-Y., Juan, C.-H., & Tseng, P. (2016). Individual Differences and State-Dependent Responses in Transcranial Direct Current Stimulation. *Frontiers in Human Neuroscience*, *10*, 643. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00643>
- Lee, S., Chung, S. W., Rogasch, N. C., Thomson, C. J., Worsley, R. N., Kulkarni, J., et al. (2018). The influence of endogenous estrogen on transcranial direct current stimulation: A preliminary study. *European Journal of Neuroscience*, *48*(4), 2001–2012. <https://doi.org/10.1111/ejn.14085>
- Lorenz, J., Minoshima, S., & Casey, K. L. (2003). Keeping pain out of mind: the role of the dorsolateral prefrontal cortex in pain modulation. *Brain: A Journal of Neurology*, *126*(Pt 5), 1079–1091. <https://doi.org/10.1093/brain/awg102>

- Mahdavi, S., & Towhidkhah, F. (2018). Computational human head models of tDCS: Influence of brain atrophy on current density distribution. *Brain Stimulation, 11*(1), 104–107. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.09.013>
- Mancuso, L. E., Ilieva, I. P., Hamilton, R. H., & Farah, M. J. (2015). Does Transcranial Direct Current Stimulation Improve Healthy Working Memory?: A Meta-analytic Review, 1–27. <https://doi.org/10.1162/jocn>
- Mashal, N., & Metzuyan-Gorelick, S. (2019). New information on the effects of transcranial direct current stimulation on n-back task performance. *Experimental Brain Research, 0*(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s00221-019-05500-7>
- Mills, E. J., Chan, A.-W., Wu, P., Vail, A., Guyatt, G. H., & Altman, D. G. (2009). Design, analysis, and presentation of crossover trials. *Trials, 10*, 27. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-10-27>
- Minhas, P., Bikson, M., Woods, A., Rosen, A. R., & Kessler, S. (2013). Transcranial Direct Current Stimulation in Pediatric Brain: A computational modeling study. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* <https://doi.org/10.1109/EMBC.2012.6346067>. Transcranial
- Moliadze, V., Schmanke, T., Andreas, S., Lyzhko, E., Freitag, C. M., & Siniatchkin, M. (2015). Stimulation intensities of transcranial direct current stimulation have to be adjusted in children and adolescents. *Clinical Neurophysiology, 126*(7), 1392–1399. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.10.142>
- Monte-Silva, K., Kuo, M. F., Hessenthaler, S., Fresnoza, S., Liebetanz, D., Paulus, W., et al. (2013). Induction of late LTP-like plasticity in the human motor cortex by repeated non-invasive brain stimulation. *Brain Stimulation, 6*(3), 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.04.011>
- Morton, D. L., Sandhu, J. S., & Jones, A. K. P. (2016). Brain imaging of pain: State of the art. *Journal of Pain Research.* <https://doi.org/10.2147/JPR.S60433>
- Mylius V., Jung M., Menzler K., Haag A., Khader P.H., Oertel W.H., et al. (2012). Effects of transcranial direct current stimulation on pain perception and working memory. *European Journal of Pain, (16)*, 974–982.
- Nitsche, M. A., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., et al. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation.* <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.06.004>
- Nitsche, M. a, & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology, 527* Pt 3, 633–639. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x>
- O'Brien, P. C., & Fleming, T. R. (1979). A Multiple Testing Procedure for Clinical Trials. *Biometrics, 35*(3), 549–556. <https://doi.org/10.2307/2530245>
- Ohn, S. H., Park, C.-I., Yoo, W.-K., Ko, M.-H., Choi, K. P., Kim, G.-M., et al. (2008). Time-dependent effect of transcranial direct current stimulation on the enhancement of working memory. *Cognitive Neuroscience and Neuropsychology, 19.* <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e3282f2adfd>.



- Reidler, J. S., Mendonca, M. E., Santana, M. B., Wang, X., Lenkinski, R., Motta, A. F., et al. (2012). Effects of Motor Cortex Modulation and Descending Inhibitory Systems on Pain Thresholds in Healthy Subjects. *The Journal of Pain*, *13*(5), 450–458. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.01.005>
- Resnick, S. M., Pham, D. L., Kraut, M. A., Zonderman, A. B., & Davatzikos, C. (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *23*(8), 3295–3301.
- Rex, C. S., Kramar, E. A., Colgin, L. L., Lin, B., Gall, C. M., & Lynch, G. (2005). Long-term potentiation is impaired in middle-aged rats: regional specificity and reversal by adenosine receptor antagonists. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *25*(25), 5956–5966. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0880-05.2005>
- Ridding, M. C., & Ziemann, U. (2010). Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. *J Physiol*, *588*(13), 2291–2304. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.190314>
- Scharinger, C., Soutschek, A., Schubert, T., & Gerjets, P. (2015). When flanker meets the n-back: What EEG and pupil dilation data reveal about the interplay between the two central-executive working memory functions inhibition and updating. *Psychophysiology*, *52*(10), 1293–1304. <https://doi.org/10.1111/psyp.12500>
- Schestatsky, P., Stefani, L. C., Sanches, P. R., Silva Júnior, D. P. da, Torres, I. L. S., Dall-Agnol, L., et al. (2011). Validation of a Brazilian quantitative sensory testing (QST) device for the diagnosis of small fiber neuropathies. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *69*(6), 943–948. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2011000700019>
- Soff, C., Sotnikova, A., Christiansen, H., Becker, K., & Siniatchkin, M. (2017). Transcranial direct current stimulation improves clinical symptoms in adolescents with attention deficit hyperactivity disorder. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, *124*(1), 133–144. <https://doi.org/10.1007/s00702-016-1646-y>
- Sowell, E. R., Peterson, B. S., Thompson, P. M., Welcome, S. E., Henkenius, A. L., & Toga, A. W. (2003). Mapping cortical change across the human life span. *Nature Neuroscience*, *6*(3), 309–315. <https://doi.org/10.1038/nn1008>
- Sowell, E. R., Thompson, P. M., & Toga, A. W. (2004). Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *10*(4), 372–392. <https://doi.org/10.1177/1073858404263960>
- Teixeira-Santos, A. C., Nafee, T., Sampaio, A., Leite, J., & Carvalho, S. (2015). Effects of transcranial direct current stimulation on working memory in healthy older adults: a systematic review. *Principles and Practice of Clinical Research Journal*, *1*. <https://doi.org/10.21801/ppcrj.2015.13.5>
- Vaseghi, B., Zoghi, M., & Jaberzadeh, S. (2014). Does anodal transcranial direct current stimulation modulate sensory perception and pain? A meta-analysis study. *Clinical Neurophysiology*, *125*(9), 1847–1858. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.01.020>

Zandieh, A., Parhizgar, S. E., Fakhri, M., Taghvaei, M., Miri, S., Shahbabaie, A., et al. (2013). Modulation of cold pain perception by transcranial direct current stimulation in healthy individuals. *Neuromodulation : Journal of the International Neuromodulation Society*, 16(4), 345–348; discussion 348. <https://doi.org/10.1111/ner.12009>

Zortea, M., Ramalho, L., Alves, R. L., Alves, C. F. da S., Braulio, G., Torres, I. L. da S., et al. (2019). Transcranial Direct Current Stimulation to Improve the Dysfunction of Descending Pain Modulatory System Related to Opioids in Chronic Non-cancer Pain: An Integrative Review of Neurobiology and Meta-Analysis. *Frontiers in Neuroscience*. Switzerland. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01218>

**Table 1.** Demographic and psychological characteristics of the age groups. The data is presented as mean and standard deviation (SD) (n=30).

	Adolescents (n=10)	Young Adults (n=10)	Elderly (n=10)	<i>P-value</i>
Age (years)	15.6 (0.5)	33.9 (3.3)	63.8 (2.6)	-
Years of study	9.2 (1.1)	12.9 (1.7)	10.2 (2.6)	0.001
Beck Depression Inventory II	13.6 (12.1)	10.1 (9.4)	10.8 (6.7)	0.697
State-Trait Anxiety Inventory State	23.6 (4.5)	22.5 (3.4)	20.5 (4.7)	0.091
State-Trait Anxiety Inventory Trait	21.7 (4.7)	19.4 (4.3)	19.2 (4.2)	0.345
Pittsburgh Sleep Quality Index	5.7 (2.6)	5.4 (3.0)	5.5 (3.2)	0.974

*Mean differences between groups were analyzed by one ANOVA.*

**Table 2.** Heat pain thresholds by QST, and percentage of change from before (B) to after (A), according to age groups and stimulation site. Data are presented as mean and standard deviation (SD) (n=30).

Primary outcome												
Adolescents (1)				Adults (2)				Elderly (3)				
Mean (SD)				Mean (SD)				Mean (SD)				
Before (B)	After (A)	Mean change (B to A) (%) §		Before (B)	After (A)	Mean change (B to A) (%) §		Before (B)	After (A)	Mean change (B to A) (%) §		
Heat Pain Threshold (HPT) †				ES				ES				ES
Sham	40.9(3.1)	41.5(3.7)	1.51% (5.0)	---	42.8(2.4)	41.5(2.4)	-2.68% (5.4)	--	41.7(3.1)	41.9(2.5)	0.70% (7.3)	---
DLPFC <sup>2,3</sup>	42.3(3.1)	40.8(3.2)	-3.38% (3.8)	1.09	41.6(1.5)	42.2(1.4)	1.62% (6.1)	0.74	43.5(2.6)	44.4(2.6)	2.24% (3.0)	0.27
M1 <sup>2</sup>	40.3(3.0)	41.5(3.2)	3.09% (5.8)	0.29	42.2(2.0)	43.8(2.4)	3.91% (5.1)	1.25	41.4(3.5)	42.2(2.9)	1.66% (7.1)	0.12

Stimulation condition\* age group: Wald  $\chi^2 = 16.613$ ;  $df=4$ ;  $P=0.002$

Order of stimulation: Wald  $\chi = 2.10$ ;  $df=2$ ;  $P=0.350$ .

Stimulation condition: Wald  $\chi = 5.25$ ;  $df=2$ ;  $P=0.073$

Age group: Wald  $\chi = 0.87$ ;  $df=2$ ;  $P=0.648$

§ Mean difference in the on mean change before (B) to after (A) presented as mean change (%) according to age group (adolescents, adult elderly) and interventions groups (tDCS vs. sham).

†GEE model; Celsius (°C).

Notes: Post hoc differences between groups are indicated via superscript numbers, which correspond to the respective groups which are labeled as 1 to 3.

Mean difference groups. Effect size (ES) (Percentage of mean change on sham group minus percentage of mean on a-tDCS over DLPFC or M1)/Standard deviation on sham]. The effect size was defined as small if lower than 0.20; moderate if between 0.50–0.60; and large if larger than 0.80.

**Table 3.** QST-derived pain measures and percentage of change from before (B) to after (A), according to age groups and stimulation site. Data are presented as mean and standard deviation (SD) (n=30)

<i>Secondary outcomes</i>									
	Adolescents			Adults			Elderly		
	Mean (SD)			Mean (SD)			Mean (SD)		
	Before	After	Mean change	Before	After	Mean change	Before	After	Mean change
	(B)	(A)	(B to A)	(B)	(A)	(B to A)	(B)	(A)	(B to A)
	treatment	treatment	(%) \$	treatment	treatment	(%) \$	treatment	treatment	(%) \$
<b>Heat Threshold †</b>									
Sham	35.7(2.5)	37.9(2.5)	6.59% (7.2)	36.3(3.3)	37.7(2.0)	4.13% (4.4)	38.8(3.9)	39.0(2.8)	1.04% (6.9)
DLPFC	37.3(3.8)	38.2(4.2)	2.54% (6.8)	36.4(2.5)	37.6(1.7)	3.41% (5.0)	38.9(3.5)	39.8(2.6)	2.59% (3.5)
M1	36.5(2.5)	38.0(2.9)	4.34% (6.1)	36.5(2.6)	39.0(2.5)	7.18% (4.9)	38.0(3.1)	39.0(3.1)	2.81% (7.9)
<i>Stimulation condition* age group: Wald <math>\chi^2 = 3.304</math>; <math>df=4</math>; <math>P=0.508</math></i>									
<i>Order of stimulation: Wald <math>\chi^2 = 5.800</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.055</math>.</i>									
<i>Stimulation condition: Wald <math>\chi^2 = 3.038</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.219</math>.</i>									
<i>Age group: Wald <math>\chi^2 = 4.741</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.093</math>.</i>									
<b>Heat Pain Tolerance †</b>									
Sham	44.3(3.8)	43.9(4.8)	-0.78% (7.8)	45.5(1.7)	45.9(2.5)	1.00% (4.5)	44.8(2.6)	44.3(2.5)	-0.80% (8.1)
DLPFC	45.6(3.2)	44.6(2.8)	-2.15% (2.7)	45.9(0.8)	46.1(1.4)	0.44% (3.4)	47.0(1.9)	47.1(2.8)	0.38% (3.9)
M1	44.8(2.8)	45.9(3.0)	2.40% (5.7)	46.8(2.4)	47.5(1.8)	1.70% (5.7)	43.9(3.6)	44.5(2.3)	1.77% (6.6)
<i>Stimulation condition* age group: Wald <math>\chi^2 = 2.203</math>; <math>df=4</math>; <math>P=0.698</math></i>									
<i>Order of stimulation: Wald <math>\chi^2 = 1.756</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.416</math>.</i>									
<i>Stimulation condition: Wald <math>\chi^2 = 3.881</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.144</math>.</i>									
<i>Age group: Wald <math>\chi^2 = 0.957</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.620</math>.</i>									
<b>Moderate Heat Pain †</b>									
Sham	40.9(2.8)	41.2(4.0)	0.53% (4.8)	42.2(2.8)	42.7(1.7)	1.32% (4.3)	41.7(3.4)	41.6(1.8)	0.17% (6.5)
DLPFC	42.0(3.9)	41.3(2.9)	-1.44% (4.9)	41.8(1.6)	42.4(2.2)	1.41% (6.4)	43.4(2.5)	44.7(2.4)	2.87% (2.9)
M1	41.4(2.9)	41.5(3.8)	0.15% (6.7)	43.1(2.9)	43.8(2.6)	1.85% (6.0)	42.0(2.6)	42.7(2.2)	1.90% (5.9)
<i>Stimulation condition* age group: Wald <math>\chi^2 = 1.891</math>; <math>df=4</math>; <math>P=0.756</math></i>									
<i>Order of stimulation: Wald <math>\chi^2 = 9.991</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.007</math>.</i>									
<i>Stimulation condition: Wald <math>\chi^2 = 0.054</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.973</math>.</i>									
<i>Age group: Wald <math>\chi^2 = 2.867</math>; <math>df=2</math>; <math>P=0.238</math>.</i>									

\$ Mean difference in the on mean change before (B) to after (A) Percentage of change (%) according to age group (adolescents, adult elderly) and interventions groups (tDCS vs. sham).

†GEE model; Celsius (°C).

## Legends

**Figure 1.** A) Experimental protocol timeline. Baseline questionnaires included the Beck Depression Inventory II (BDI-II), Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI), State-Trait Anxiety Inventory (STAI), and a standardized demographic questionnaire. B) Scheme depicting a 2-back task stimuli sequence with congruent and incongruent flankers. C) tDCS montage for DLPFC, Sham and M1, the red dot represents the anode electrode, and the black dot the cathode electrode. QST = Quantitative Sensory Test

**Figure 2.** CONSORT participants flow.

**Figure 3.** tDCS-driven HPT alterations in the different age groups. Asterisks indicate statistical significance ( $P < 0.05$ ). Error bars represent standard error of means (SEM).

**Figure 4.** D prime and RTH at the n-back task conducted after the stimulation. Asterisks indicate statistical significance ( $P < 0.05$ ). Error bars represent SEM. Brackets represent the main effect of age group differences.

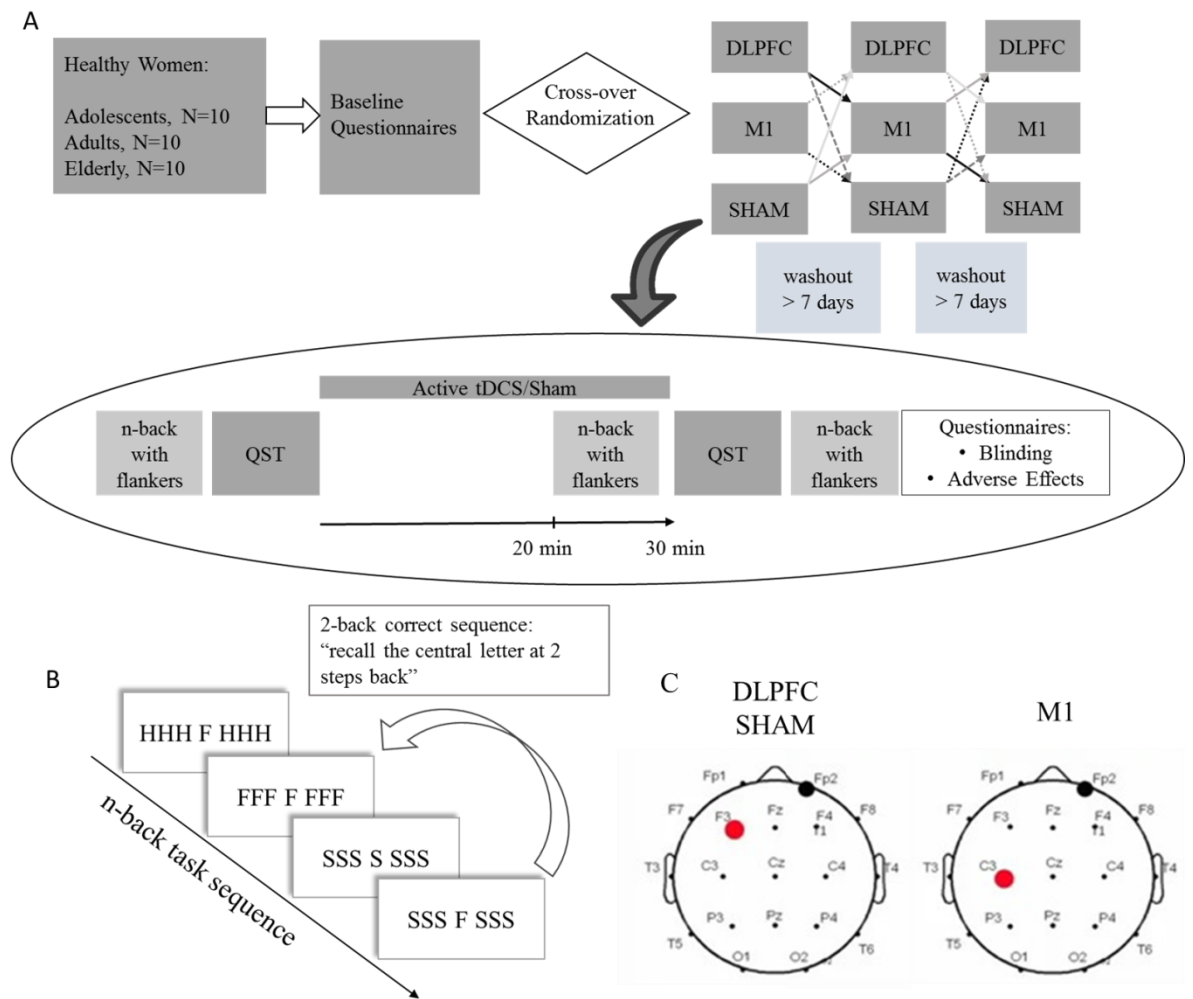
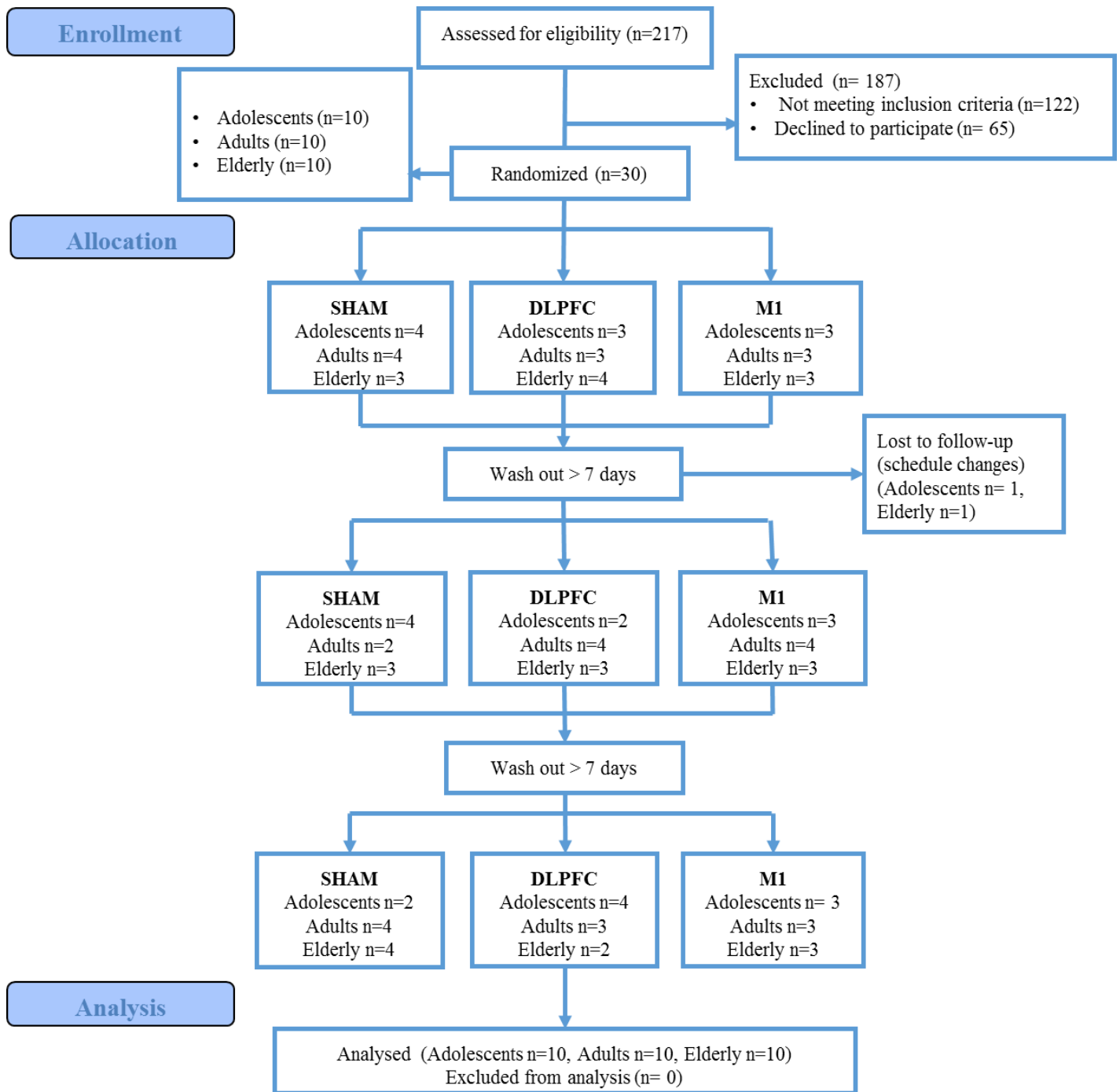


Figure 1.



**Figure 2.**



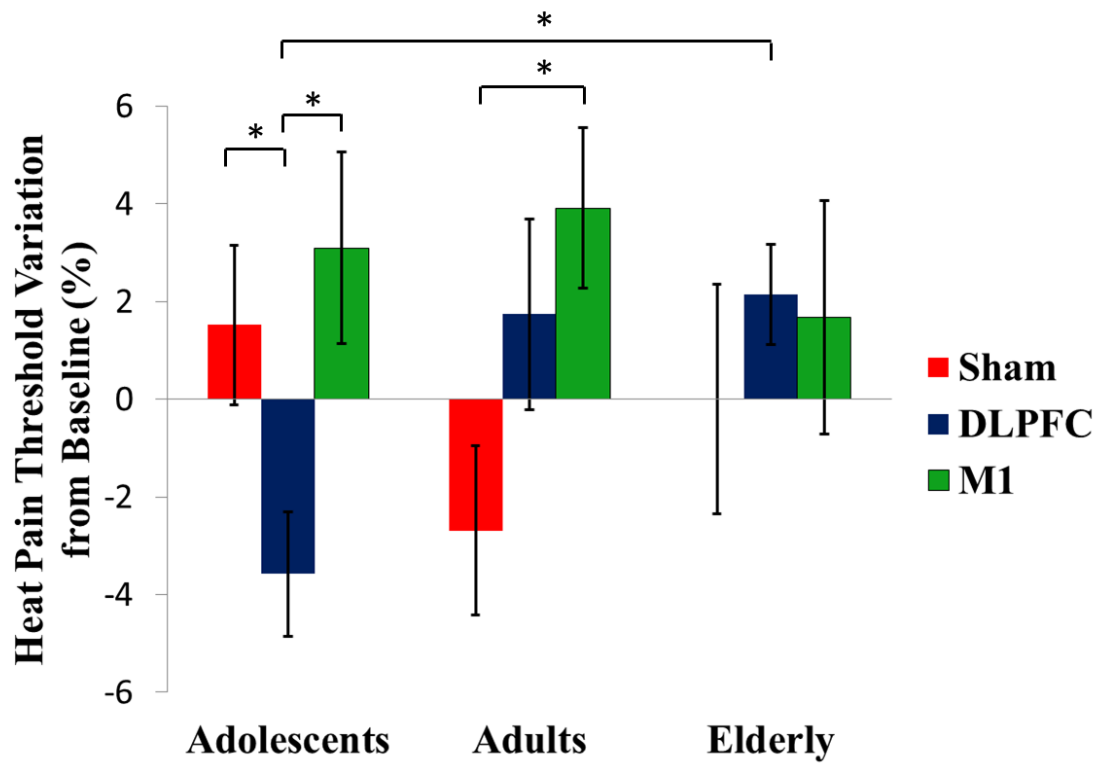


Figure 3.

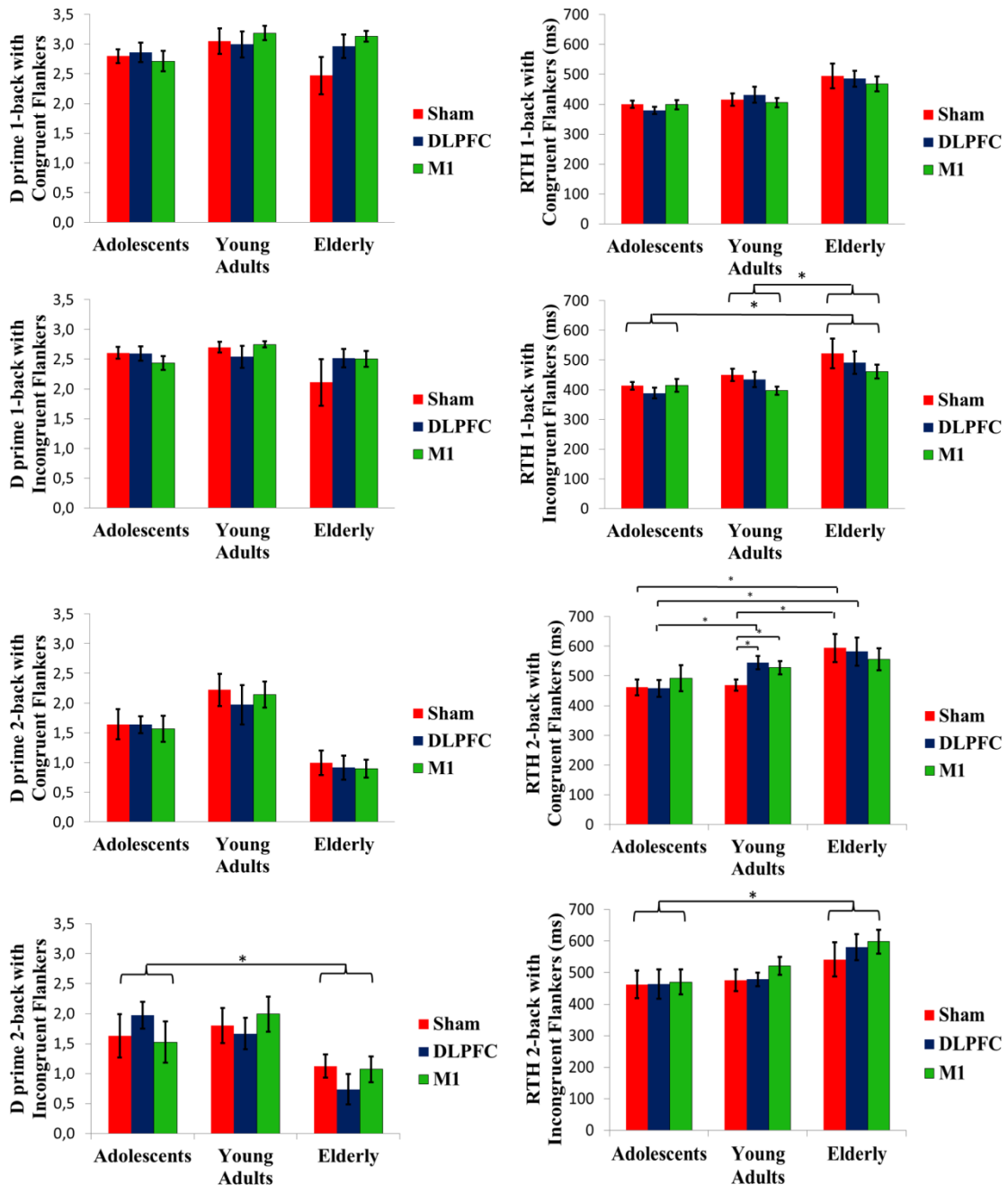


Figure 4.

# Supplementary Material

## SUPPLEMENTARY TABLES AND FIGURES

Guessing	Adolescents		Adults		Elderly		<i>P-value</i>
	Sham	Active-tDCS	Sham	Active-tDCS	Sham	Active-tDCS	
Intervention							
Sham	2	7	1	9	3	6	
DLPFC	2	7	1	9	1	8	0.52
M1	5	4	0	10	2	7	0.35

Data were analyzed with Fisher's exact test comparing sham and each active stimulation not individualizing for age group

**Table 1.** Blinding data shown by guesses of participants if they received sham or active stimulation for all stimulation conditions. There was no statistically significant difference between sham or active conditions for each protocol applied in the study.

Adverse effects (number of episodes)	Adolescents				Adults				Elderly			
	Sham n=10	DLPFC n=9	M1 n=9	<i>P-value</i>	Sham n=10	DLPFC n=10	M1 n=10	<i>P-value</i>	Sham n=10	DLPFC n=9	M1 n=9	<i>P-value</i>
Headache	3	0	1	0.673	0	2	1	0.66	1	1	1	1
Neck pain	2	0	1	1	2	4	4	0.39	0	1	1	1
Scalp pain	2	3	1	0.44	2	2	2	1	1	1	2	0.66
Tingling	6	7	6	0.55	5	3	3	0.57	4	2	6	0.12
Itching	8	8	7	0.52	8	8	8	0.23	4	4	3	0.85
Burning	4	5	5	0.50	4	3	4	0.89	2	2	1	1
Skin redness	2	2	2	1	5	6	6	0.39	1	4	4	0.21
Sleppness	7	4	7	1	9	9	6	0.67	5	4	7	0.66
Trouble concentrating	5	4	5	1	9	6	9	0.53	4	7	5	0.45
Mood acute change	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1

*P-value of Fisher's exact test conducted within age groups for differences of frequencies of adverse effects between tDCS protocols, except headache, which was analyzed via chi square tests.*

**Table 2.** Adverse effects. Data show the number of participants in each age group that reported respective adverse effects. There was no significant difference of the incidence of side effects between active and sham tDCS protocols for all age groups.

<b>Primary outcomes</b>							
	<b>Adolescents</b>	<b>Adults</b>	<b>Elderly</b>	<i>Age group</i>	<i>Order of stimulation</i>	<i>Stimulation condition</i>	<i>Stimulation area * age group:</i>
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)				
<b>D-prime one-back with congruent flankers †</b>							
Sham	2.80(0.3)	3.05(0.6)	2.47(0.9)	<i>Wald <math>\chi^2=2.642</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 5.041</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2 =2.819</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=7.984</math></i>
DLPFC	2.85(0.4)	2.99(0.6)	2.96(0.5)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	2.71(0.4)	3.18(0.3)	3.13(0.2)	<i>P=0.260</i>	<i>P=0.08</i>	<i>P=0.240</i>	<i>P=0.095</i>
<i>Baseline one-back with congruent flankers D-prime : Wald <math>\chi^2=7.264</math>; df=1;P=0.007.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=0.103</math>; df=1;P=0.74</i>							
<b>D-prime one-back with incongruent flankers</b>							
Sham	2.60(0.3)	2.70(0.2)	2.11(1.2)	<i>Wald <math>\chi^2=0.439</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 5.653</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2 =0.246</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=5.200</math></i>
DLPFC	2.59(0.3)	2.54(0.5)	2.51(0.4)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	2.43(0.3)	2.74(0.1)	2.50(0.4)	<i>P=0.803</i>	<i>P=0.056</i>	<i>P=0.887</i>	<i>P=0.263</i>
<i>Baseline one-back with incongruent flankers D-prime : Wald <math>\chi^2=17.126</math>; df=1;P&lt;0.01.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=1.019</math>; df=1;P=0.312</i>							
<b>D-prime two-back with congruent flankers</b>							
Sham	1.64(0.8)	2.22(0.8)	0.99(0.6)	<i>Wald <math>\chi^2 =8.342</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 9.786</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=1.31 4</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=1.162</math></i>
DLPFC	1.63(0.4)	1.97(1.0)	0.91(0.6)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	1.56(0.6)	2.14(0.6)	0.89(0.4)	<i>P=0.012</i>	<i>P=0.000</i>	<i>P=0.514</i>	<i>P=0.887</i>
<i>Baseline two-back with congruent flankers D-prime : Wald <math>\chi^2=12.365</math>; df=1;P=0.000.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=1.312</math>; df=1;P=0.255</i>							
<b>D-prime two-back with incongruent flankers</b>							
Sham	1.62(1.1)	1.80(0.9)	1.12(0.6)	<i>Wald <math>\chi^2 =12.576</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 3.039</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=0.11 6</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=3.585</math></i>
DLPFC	1.97(0.6)	1.66(0.8)	0.73(0.7)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2.</i>	<i>df=4</i>
M1	1.52(0.9)	1.99(0.8)	1.07(0.6)	<i>P=0.000</i>	<i>P=0.211</i>	<i>P=0.942</i>	<i>P=0.469</i>
<i>Baseline two-back with incongruent flankers D-prime : Wald <math>\chi^2=18.105</math>; df=1;P=0.001.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=0.071</math>; df=1;P=0.795</i>							

†GEE model; D Prime (D prime = hit rate minus false alarm rate).

**Table 3.** N-back derived D-prime according to age groups and stimulation condition. Data are presented as mean and standard deviation (SD) (n=30).

<b>Secondary outcomes</b>							
	<b>Adolescents</b>	<b>Adults</b>	<b>Elderly</b>	<i>Age group</i>	<i>Order of stimulation</i>	<i>Stimulation condition</i>	<i>Stimulation area * age group:</i>
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)				
<b>RTH one-back with congruent flankers †</b>							
Sham	399(036)	415(067)	494(129)	<i>Wald <math>\chi^2=5.710</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 1.342</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2 =1.231</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=7.203</math></i>
DLPFC	379(036)	431(083)	485(080)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	398(045)	405(047)	468(077)	<i>P=0.058</i>	<i>P=0.511</i>	<i>P=0.540</i>	<i>P=0.126</i>
<i>Baseline one-back with congruent flankers RTH : Wald <math>\chi^2=1.658</math>; df=1;P=0.198.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=4.339</math>; df=1;P=0.370</i>							
<b>RTH one-back with incongruent flankers</b>							
Sham	413(040)	449(067)	522(156)	<i>Wald <math>\chi^2=9.147</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 6.295</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2 =5.496</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=8.035</math></i>
DLPFC	388(054)	434(081)	491(114)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	415(060)	397(041)	460(069)	<i>P=0.010</i>	<i>P=0.043</i>	<i>P=0.064</i>	<i>P=0.090</i>
<i>Baseline one-back with incongruent flankers RTH : Wald <math>\chi^2=0.077</math>; df=1;P=0.782.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=8.580</math>; df=1;P=0.003</i>							
<b>RTH two-back with congruent flankers</b>							
Sham	461(083)	469(058)	594(150)	<i>Wald <math>\chi^2 =44.366</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 12.371</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=1.047</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=16.068</math></i>
DLPFC	458(085)	544(069)	581(140)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	492(123)	528(066)	555(110)	<i>P=0.000</i>	<i>P=0.002</i>	<i>P=0.592</i>	<i>P=0.003</i>
<i>Baseline two-back with congruent flankers RTH : Wald <math>\chi^2=141.345</math>; df=1;P=0.000.</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=0.603</math>; df=1;P=0.438</i>							
<b>RTH two-back with incongruent flankers</b>							
Sham	462(138)	475(108)	541(171)	<i>Wald <math>\chi^2 =11.822</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2= 4.895</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=4.770</math></i>	<i>Wald <math>\chi^2=4.023</math></i>
DLPFC	463(140)	479(067)	581(124)	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=2</i>	<i>df=4</i>
M1	470(112)	522(084)	598(112)	<i>P=0.003</i>	<i>P=0.087</i>	<i>P=0.092</i>	<i>P=0.403</i>
<i>Baseline two-back with incongruent flankers RTH : Wald <math>\chi^2=13.552</math>; df=1;P=0.000</i>							
<i>Years of study: Wald <math>\chi^2=3.535</math>; df=1;P=0.060</i>							

†GEE model; RTH - Response time for hits is presented in milliseconds.

**Table 4.** N-back derived RTH according to age groups and stimulation condition. Data are presented as mean and standard deviation (SD) (n=30)

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos com esta tese de doutorado confirmam as hipóteses iniciais de que (1) a interação da idade com a montagem de ETCC modifica os resultados da técnica para o limiar de dor e também memória de trabalho, (2) entre os grupos etários adolescentes estariam sujeitos a maior variação dos desfechos para estimulação sobre córtex pré-frontal e (3) estudos com e idosos na literatura demonstram efeito positivo sobre a dor, apesar das alterações em neuroplasticidade do fator idade.

Em adolescentes, a maior variação em limiar de dor para estimulação sobre DLPFC confirma a hipótese inicial do estudo. Apresentamos, nesta Tese, dados sobre processos de maturação cerebral que configuram maior propensão à plasticidade em córtex pré-frontal em adolescentes, quando comparado aos outros grupos etários. O achado de diminuição do limiar de dor, para estimulação de córtex pré-frontal, pode ser hipotetizado e estar associado com a maior suscetibilidade de adolescentes à ETCC. Para a memória de trabalho - diferença significativa no tempo de resposta em tarefa de n-back entre adolescentes e os outros grupos etários- ocorreu apenas para estimulação em córtex pré-frontal, fortalecendo o impacto das diferenças corticais em modular efeitos da ETCC para esta faixa etária.

O efeito da estimulação, em adultos jovens, corroborou o que foi encontrado na literatura, com aumento do limiar de dor para estimulação excitatória em córtex motor, enquanto a ausência de efeito para idosos também vai ao encontro ao fato que alterações associadas à senescência cerebral podem reduzir a plasticidade sináptica e indução de LTP, de tal sorte que este grupo etário apresentaria menor propensão à modulação de funções corticais pela ETCC, no entanto nossa revisão sistemática demonstrou que para um grupo de pacientes idosos apresentando dor crônica há um efeito positivo da ETCC em reduzir escores de dor, com literatura mais consistente para estimulação em M1 e de múltiplos dias de estimulação, contrastando com o nosso estudo que avaliou limiar de dor após única sessão de ETCC.

Os achados de nosso estudo estão alinhados com relatos anteriores descritos na literatura e também sustentados pela plausibilidade biológica de alterações cerebrais morfofisiológicas inerentes a diferentes grupo etários que modulam a neuroplasticidade intrínseca para cada indivíduo.

Consideramos igualmente de grande relevância o relato da diminuição de limiar de dor para adolescentes para um protocolo de ETCC, que em adultos jovens fora

demonstrado, na literatura, elevar o limiar. Este dado reforça a importância de que protocolos utilizados em adultos não devem ser transpostos para outras faixas etárias, pois há o risco de não apresentarem o efeito desejado ou, ainda, e conforme exposto nesse trabalho, apresentar efeito inverso ao esperado. Isto, em populações clínicas onde o uso de ETCC é realizado em numerosas sessões, buscando-se o efeito sustentado pela técnica, pode vir a causar efeitos catastróficos. Desse modo, defendemos e apresentamos que a idade deve ser individualizada para protocolos de ETCC, e também para cada área que se deseja estimular, pois mesmo intragrupos, a estimulação em áreas corticais distintas modula o resultado encontrado.

Concluindo, esta tese expandiu os dados da literatura científica, demonstrando a diferença do efeito da ETCC em comparação direta de três grupos etários para o mesmo protocolo de estimulação. E reforça a importância da idade e montagem nos resultados encontrados com a técnica.

## **PERSPECTIVAS FUTURAS**

Apesar dos grandes avanços nas últimas décadas, em relação ao conhecimento dos mecanismos subjacentes ao efeito da ETCC, a variabilidade de resultados entre sujeitos ainda apresenta grande impacto sobre a eficácia do método. Frente ao uso crescente de técnicas neuromodulatórias em protocolos de pesquisa ou em cenários clínicos, justifica-se o estudo de fatores associados a esta variabilidade, visando a uma maior assertividade e eficácia na aplicação da ETCC.

Em uma revisão sistematizada apresentamos um conjunto de fatores que modificam o efeito da ETCC e relatamos o fator modulatório da idade em processos de neuroplasticidade e, por conseguinte, influenciam o efeito da neuromodulação. Através de uma revisão sistemática com meta-análise também identificamos resultados que favorecem o efeito positivo da ETCC sobre a dor em idosos, mas ressaltamos o restrito número de estudos que incluem grupos etários diferentes de adultos ou adultos jovens. Finalmente realizamos um ensaio clínico cruzado e randomizado, onde comparamos o efeito de protocolo de ETCC para adolescentes, adultas e idosas - para ETCC em M1 e DLPFC -, duas montagens amplamente utilizadas não só para o estudo da dor, mas também de funções executivas e excitabilidade cortical. Nosso estudo demonstrou que a idade, mas também a montagem dos eletrodos modula o efeito da ETCC para limiar de dor. A maior variação na percepção de dor para ETCC sobre DLPFC em adolescentes reforça a hipótese de maior susceptibilidade deste grupo etário a estimulação em uma região cortical que apresenta processo de maturação diferenciado quando comparado a córtex motor.

Em conjunto estes resultados indicam que não só a idade deve ser considerada como fator de variabilidade interpessoal, mas também a interação com a área cortical estimulada e sistemas associados. pois para o estudo da dor áreas corticais de M1 e DLPFC têm relação distinta de conexões corticais e modulação da dor. Deste modo entendemos que próximos estudos devem abordar a variabilidade interpessoal para fatores de interação da idade com áreas corticais estimuladas. Este conhecimento permite que evolua-se na direção de maior assertividade de protocolos de estimulação aplicados tanto em ambiente de pesquisa quanto para o uso clínico.

Esta tese, esta inserida em uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Laboratório de Dor&Neuromodulação do HCPA – UFRGS, voltada ao estudo de mecanismos de neuroplasticidade, com ênfase no estudo da dor, que conta com a



participação de dois centros mundiais de excelência no estudo da neuromodulação, a citar: *Spaulding Neuromodulation Center da Harvard Medical School e o laboratório IfADo – Leibniz Research Center for Working Environment and Human Factors, Dortmund, Alemanha*. De fato, o presente estudo foi desenvolvido em colaboração direta com o laboratório IFADO durante período de doutorado sanduíche, contribuindo não só para a produção acadêmica, mas também para a internacionalização do Laboratório de Dor & Neuromodulação e de todas as instituições que com este estão envolvidas.

Esta tese, portanto, insere-se no projeto temático do Laboratório de Dor & Neuromodulação que visa a compreender a integração dos diversos mecanismos neurobiológicos, diagnósticos e terapêuticos, usando técnicas de neuromodulação, com a finalidade de gerar conhecimento para embasar protocolos de assistência e pesquisa.

Desta forma, o progresso no conhecimento do impacto da idade sobre o efeito da ETCC, possibilita um refinamento dos protocolos desenvolvidos pelo grupo de Dor & Neuromodulação, colaborando tanto qualitativa quanto quantitativamente com o desempenho científico e tecnológico do grupo. A contribuição para a linha de pesquisa do grupo de Dor & Neuromodulação, assim como a internacionalização e colaboração durante este projeto com centros internacionais de excelência em neuromodulação, busca auxiliar o fortalecimento da pesquisa brasileira no cenário nacional e internacional.

**ANEXO 1 PRISMA— checklist of information to include when reporting systematic review or meta-analysis**

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
<b>TITLE</b>			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	75
<b>ABSTRACT</b>			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	76
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	77-82
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	82
<b>METHODS</b>			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	82
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	83
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	83
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	119
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	83
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	83
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	83
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	83

Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	83
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., $I^2$ ) for each meta-analysis.	83

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	83
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	-
<b>RESULTS</b>			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	84, Figure 2
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	Table 1
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	Table 2
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	Figure 5-7
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	Figure 5-7
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	-
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	-
<b>DISCUSSION</b>			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	88-96
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	94
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	96
<b>FUNDING</b>			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	97

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit: [www.prisma-statement.org](http://www.prisma-statement.org).

**ANEXO 2 CONSORT—2010 checklist of information to include when reporting a  
randomized trial**

<b>Section/Topic</b>	<b>Item No</b>	<b>Checklist item</b>	<b>Reported on page No</b>
<b>Title and abstract</b>			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	122
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	123
<b>Introduction</b>			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	124, 125
	2b	Specific objectives or hypotheses	125
<b>Methods</b>			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	125
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	NA
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	126
	4b	Settings and locations where the data were collected	126
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	127
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	128
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	NA
Sample size	7a	How sample size was determined	127
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	126
Randomization: Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	127
	8b	Type of randomization; details of any restriction (such as blocking and block size)	127
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	1127
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	127

Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those assessing outcomes) and how	127
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	127
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	129
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	NA
<b>Results</b>			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	Figure 2
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	Figure 2
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	125
	14b	Why the trial ended or was stopped	NA
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	Table 1
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	Figure 2
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	131-133
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	NA
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	NA
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	131
<b>Discussion</b>			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	138
Generalizability	21	Generalizability (external validity, applicability) of the trial findings	138
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	134-138
<b>Other information</b>			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	123
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	123
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	140

NA : não se aplica

**ANEXO 3. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO -  
responsáveis**

**Nº do projeto GPPG ou CAAE 69621317.6.0000.5327**

**Título do Projeto: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA EM LIMIAR DE DOR E MEMÓRIA DE TRABALHO EM ADOLESCENTES, ADULTOS E IDOSOS**

A adolescente pela qual você é responsável está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é analisar o possível efeito de uma sessão de estimulação cerebral de corrente contínua de baixa intensidade sobre a cabeça (ETCC) sobre o limiar de dor térmico (temperatura em que primeiro se relata dor quando estímulo de calor) associada a avaliação cognitiva da memória de trabalho. O estudo visa comparar o efeito da ETCC entre diferentes faixas etárias: adolescentes, adultos e idosos.

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

Se você concordar com a participação da adolescente na pesquisa, os procedimentos envolvidos na participação são os seguintes: a adolescente virá ao ambulatório três vezes, com intervalo de cinco a sete dias entre as visitas. Na primeira visita será coletado uma amostra de sangue de 10 ml para avaliar a dosagem de hormônios associados com a questão de estudo, como estradiol e BDNF( uma substância associada à capacidade do cérebro em adaptar-se a mudanças). Após coleta de sangue a adolescente responderá a questionários relacionados a questões sócio demográficas, qualidade do sono, sintomas de depressão. Na primeira visita, após coleta de amostra de sangue e realização de questionários, será realizada a primeira sessão de ETCC com duração de 20 minutos. Antes do início da estimulação com ETCC, após 10 minutos do início da sessão e após o término da sessão será realizado teste para limiar de dor térmica. O teste será realizado com aparelho que aplica calor sobre área determinada do antebraço. A adolescente também realizará testes cognitivos de memória de trabalho. A participante retornará para mais duas visitas para realizar as mesmas atividades que fez na primeira sessão, excetuando a coleta de sangue e a realização dos questionários. Os testes de limiar de dor e memória de trabalho serão explicados nos dias de visita pelo pesquisador responsável.

A participante será sorteada para realizar três visitas com estimulação em ordem

aleatória, duas sessões são de estimulação ativa e uma sessão ocorrerá o posicionamento dos eletrodos na cabeça, no entanto não ocorrerá estimulação. Para manter a acurácia da pesquisa a participante não saberá qual intervenção será realizada em cada dia de participação. A sessão de ETCC será realizada com o uso de eletrodos de borracha, que ficam dentro de esponjas que são umedecidas com soro fisiológico, estes serão colocados na cabeça. Através dos eletrodos passará uma corrente elétrica fraca que pode no máximo causar uma leve coceira. Neste procedimento a adolescente não sofrerá choques, cortes ou cirurgias. A corrente aplicada será de baixa intensidade, o aparelho usa apenas uma bateria comum pequena, a mesma bateria usada em rádios, brinquedos eletrônicos, lanternas. Não será necessário ter maiores cuidados com o cabelo para a realização da intervenção, somente não usar gel ou cremes para cabelos nos dias das sessões. Cada encontro terá duração de 2 hora, exceto a avaliação inicial que terá duração de 3 horas.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: desconforto durante a aplicação do ETCC, vermelhidão, sensação de coceira, leve formigamento no local onde serão colocados os eletrodos. A participante também poderá sentir sonolência. Para o teste de limiar de dor associado ao calor, a participante pode apresentar sensibilização da área da pele na qual o aparelho de geração de calor permanece em contato no antebraço, no entanto não há risco de queimaduras ou lesões permanentes. Além disso, a participante deverá se deslocar ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre para realizar os procedimentos. Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da participação na pesquisa, a participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Este estudo não trará benefícios diretos aos participantes. No entanto, com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes sobre o quanto este procedimento é eficaz para manipulação da dor e memória de trabalho em diferentes idades. Este estudo nos permite avançar no conhecimento sobre o mecanismo e tratamento de quadros de dor crônica, bem como o estudo da memória de trabalho em idosos, os quais apresentam com maior frequência dificuldade de memória, entre os grupos etários do estudo.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e você

não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da participação na pesquisa, a participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

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

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Júlia Saldanha pelo telefone 51 999798880 ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

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

\_\_\_\_\_  
Nome do participante da pesquisa ( Adolescente)

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do Responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador que aplicou o Termo

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Local e Data: \_\_\_\_\_



## ANEXO 4 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nº do projeto CAAE 69621317.6.0000.5327

Título do Projeto: EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA EM LIMIAR DE DOR E MEMÓRIA DE TRABALHO EM ADOLESCENTES, ADULTOS E IDOSOS

Você está sendo convidada a participar de uma pesquisa cujo objetivo é analisar o possível efeito de uma sessão de estimulação cerebral de corrente contínua de baixa intensidade (ETCC) sobre a cabeça no limiar de dor térmico (temperatura em que primeiro se relata dor quando estímulo de calor) associada a avaliação cognitiva da memória de trabalho (memória de curto prazo responsável pelo armazenamento temporário e pela manipulação das informações necessárias para realização de tarefas complexas, tais como compreensão da linguagem, aprendizagem e raciocínio) e avaliação de ondas elétricas cerebrais (indicam certas características cerebrais como excitabilidade dos neurônios) . O estudo visa comparar o efeito da ETCC entre diferentes faixas etárias: adolescentes, adultos e idosos.

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

Se você concordar com a sua participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos na participação são os seguintes:

Você virá ao ambulatório três vezes, com intervalo de cinco a sete dias entre as visitas. Ou seja, serão realizadas 3 visitas para este estudo. Na primeira visita será coletada uma amostra de sangue de 10 ml (cerca de duas colheres de chá) para avaliar a dosagem de hormônios associados com a questão de estudo, como estradiol e BDNF (uma substância associada à capacidade do cérebro em adaptar-se a mudanças). O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. Após a realização das análises previstas neste projeto, as amostras serão armazenadas. Este material, além de ser utilizado neste estudo, poderá ser utilizado em outros estudos futuros do nosso grupo. Neste caso, um novo projeto de pesquisa será submetido para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa e você será chamado para reconsentir com o uso do material.

Aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

Não aceito que minhas amostras sejam armazenadas para pesquisas futuras.

Após coleta de sangue você responderá a questionários relacionados a questões sócio demográficas, qualidade do sono, sintomas de depressão. Na primeira visita, após coleta de amostra de sangue e realização de questionários, será realizada a primeira sessão de ETCC com duração de 30 minutos. Antes do início da estimulação com ETCC, após 10 minutos do início da sessão e após o término da sessão será realizado teste para limiar de dor térmica. O teste será realizado com aparelho que aplica calor sobre área determinada do antebraço com duração de 5 minutos por avaliação. Você também realizará testes cognitivos de memória de trabalho para os quais você ficará sentada em uma cadeira confortável na frente de uma tela de computador e terá que apertar determinada tecla do teclado conforme as orientações que serão fornecidas no dia. Também será realizada medida de ondas elétricas cerebrais pelo aparelho de eletroencefalograma (EEG), amplamente conhecido como recurso diagnóstico da epilepsia, a medida terá duração de 10 minutos e será realizada antes e após o período de estimulação enquanto você permanece sentada em repouso com olhos fechados.

Você deve retornar para mais duas visitas para realizar as mesmas atividades da primeira sessão, excetuando a coleta de sangue e o preenchimento dos questionários. Os testes de limiar de dor e memória de trabalho serão explicados nos dias de visita por um dos pesquisadores da equipe.

Duas sessões de ETCC serão de estimulação ativa e uma sessão ocorrerá apenas o posicionamento dos eletrodos na sua cabeça, no entanto não ocorrerá estimulação. A ordem das sessões será definida por sorteio. Você não saberá qual intervenção será realizada em cada dia de participação. A sessão de ETCC será realizada com o uso de eletrodos de borracha, que ficam dentro de esponjas que são umedecidas com soro fisiológico, estes serão colocados na sua cabeça. Através dos eletrodos passará uma corrente elétrica fraca que pode no máximo causar uma leve coceira. Neste procedimento, você não sofrerá choques, cortes ou cirurgias. A corrente aplicada será de baixa intensidade, o aparelho usa apenas uma bateria comum pequena, a mesma bateria usada em rádios, brinquedos eletrônicos, lanternas. Não será necessário ter maiores cuidados com o cabelo para a realização da intervenção, somente não usar gel ou cremes para cabelo nos dias das sessões. A medida de ondas elétricas cerebrais pelo EEG será realizada pelo posicionamento de 20 eletrodos na cabeça com uma toca de neoprene, você não sentirá nenhum desconforto durante a medida. O uso destes eletrodos necessita de aplicação de gel próprio para o EEG na cabeça, entre a pele e o eletrodo. Este gel não é removido completamente após o experimento e você poderá ficar com alguma quantidade deste produto no cabelo. Este gel

é facilmente removível com água. Cada encontro terá duração de 2 horas, exceto a avaliação inicial que terá duração de 3 horas.

Os possíveis riscos ou desconfortos decorrentes da participação na pesquisa são: desconforto durante a aplicação do ETCC, vermelhidão, sensação de coceira, leve formigamento no local onde serão colocados os eletrodos. Você também poderá sentir sonolência. Para o teste de limiar de dor associado ao calor, pode ocorrer sensibilização da área da pele na qual o aparelho de geração de calor permanece em contato no antebraço, no entanto não são esperadas queimaduras ou lesões permanentes com o uso adequado do aparelho. Além disso, você deverá se deslocar ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre para realizar os procedimentos. Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da participação na pesquisa, você receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Este estudo não trará benefícios diretos aos participantes. No entanto, com os resultados deste estudo poderemos obter informações importantes sobre o quanto este procedimento é eficaz para manipulação da dor e memória de trabalho em diferentes idades. Este estudo nos permite avançar no conhecimento sobre o mecanismo e tratamento de quadros de dor crônica, bem como o estudo da memória de trabalho em idosos, os quais apresentam com maior frequência dificuldade de memória, entre os grupos etários do estudo.

A sua participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida sobre a não participação, ou ainda, desistência da participação e retirada de seu consentimento, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que recebe ou possa vir a receber na instituição.

O investigador responsável poderá excluir a participante do estudo, sem o seu consentimento, quando julgar necessário, especialmente caso não se cumpra o programa estabelecido.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação na pesquisa e você não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

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

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

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável

Wolnei Calmo pelo telefone (33596377), com a pesquisadora Júlia Saldanha pelo telefone (33596377), ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou no 2º andar do HCPA, sala 2227, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

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

\_\_\_\_\_  
Nome do participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador que aplicou o Termo

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Local e Data: \_\_\_\_\_

**ANEXO 5**  
**PRODUÇÃO DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO**

# SCIENTIFIC REPORTS

**OPEN** **Cognitive effects of transcranial direct current stimulation combined with working memory training in fibromyalgia: a randomized clinical trial**

Received: 31 January 2018  
Accepted: 17 July 2018  
Published online: 20 August 2018

Vinicius Souza dos Santos<sup>1,2</sup>, Maxciel Zortea<sup>1,2</sup>, Rael Lopes Alves<sup>2,3</sup>, Cátia Cilene dos Santos Naziazeno<sup>2</sup>, Júlia Schirmer Saldanha<sup>1,2</sup>, Sandra da Conceição Ribeiro de Carvalho<sup>4,5</sup>, António Jorge da Costa Leite<sup>4,5</sup>, Iraci Lucena da Silva Torres<sup>6,7</sup>, Andressa de Souza<sup>2,8</sup>, Prisca Ücker Calvetti<sup>2</sup>, Felipe Fregni<sup>5</sup> & Wolnei Caumo<sup>1,2,9</sup>

Study Design

Vol. 5, No. 2 / Jul-Dec 2019 / p. 58-66/ PPCR Journal

**Principles and Practice  
of Clinical Research**

A Global Journal in Clinical Research



**PPCR**

ISSN: 2378-1890

## **Effect of Anodal Transcranial Direct Current Stimulation Combined with Exercise in Adults with Chronic Non-specific Low Back Pain: Protocol for a Randomized Controlled Trial**

VICENTE HENNEMANN\*<sup>1</sup>, FLAVIA BARRETO GARCEZ\*<sup>2</sup>, GABRIELA SANTOS REVILLA\*<sup>3</sup>, ENRICO FRITSCHÉ\*<sup>4</sup>, XIMENA STECHER\*<sup>5</sup>, MARIA RÖNNEFARTH\*<sup>6</sup>, JÚLIA SCHIRMER SALDANHA\*<sup>7</sup>, THENRAL SOCRATES<sup>8</sup>, GIANCARLO FATOBENE<sup>9</sup>, DALIYA ABUBAKAR<sup>10</sup>, NATALIA ANGELUZZI CUNHA<sup>11</sup>, ABDULJABBAR ALHAMMOUD<sup>12</sup>, FLAVIA ROCHA CASTILLO<sup>13</sup>, MARCO CASTILLO AYARZA<sup>14</sup>, SALVADOR PASTOR-IDOATE<sup>15</sup>, MOHAMMED SOHA<sup>16</sup>, JOSE C. VALLE<sup>17</sup>, LUCAS CAMARGO<sup>18</sup>, SHAZA EL SONOSI<sup>19</sup>, ANDREA GOMEZ<sup>20</sup>, ANELISA COUTINHO<sup>21</sup>, DANTE DUARTE<sup>8</sup>.

\*These authors have contributed equally to this work.

<sup>8</sup>Corresponding author: Dante Duarte, Spaulding Neuromodulation Center, Spaulding Rehabilitation Hospital, Harvard Medical School, 79 13th St, Charlestown, MA 02129, Boston, United States. Tel: 1-617-952-6161 Boston, MA, USA. E-mail: dduarte@neuromodulationlab.org  
Rest of author's affiliation at the end of the manuscript.

Received April 7, 2019; accepted August 26, 2019; published December 10, 2019.



**XI SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO**  
**11-13 DE NOVEMBRO DE 2019**  
Certificado de Apresentação de Trabalho Científico



Certificamos que o trabalho científico intitulado

**"The role of chronological age on working memory performance after anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) in healthy participants"**

Dos autores: Paul Serrano Vicuña, Maxciel Zorteza, Júlia Schirmer Saldanha, Wolnei Caumo  
Foi apresentado na sessão científica de apresentação de pôster do XI Simpósio Internacional em Neuromodulação no período de 11 a 13 de Novembro de 2019.  
O trabalho foi avaliado pela comissão científica internacional do evento que recomendou e aprovou a apresentação oficial nesse evento internacional.

Diretor do Curso:  
**Felipe Fregni, MD, PhD, MPH**  
São Paulo Excellence Chair (SPEC) – USP/FAPESP  
Diretor do Spaulding Neuromodulation Center,  
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston  
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

**39<sup>a</sup>**



**Semana Científica do HCPA**

**Gestão da pesquisa aplicada à saúde**

De 30 de setembro a 4 de outubro de 2019

Certificamos que o trabalho **IMPACTO DA IDADE NO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE CONTÍNUA EM LIMAR DE DOR E MEMÓRIA DE TRABALHO** de autoria de **CIBELY BAVARESCO DELIBERALI; JÚLIA SCHIRMER SALDANHA; MAITÉ COSTA FERREIRA; MAXCIEL ZORTEZA; LETÍCIA RAMALHO; WOLNEI CAUMO;** , foi apresentado na modalidade E-POSTER na 39ª Semana Científica do HCPA, realizada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de 30 de setembro a 4 de outubro de 2019.



Prof. Nadine Oliveira Clausell  
Diretora-Presidente do Hospital de Clínicas

Prof. Patricia Ashton-Prolla  
Coordenadora do GPG

a autenticidade deste documento pode ser verificada através da URL:  
<https://sgce.hcpa.edu.br/sgce/validar/8B01D4CA>



Promoção

GPPG  
Grupo de Pesquisa e Prática em

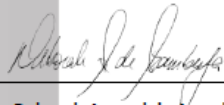


## **CERTIFICADO**

A Sociedade Brasileira de Neuropsicologia e a International Neuropsychological Society certificam que

o trabalho intitulado *“Age and type of montage are associated with different effects of transcranial direct current stimulation on pain and working memory: insights from a pilot study”* do(s) autor(es) **Maxciel Zortea, Júlia Schirmer Saldanha, Wolnei Caumo** foi apresentado na categoria de pôster no 89th INS Meeting and 18º Congresso da SBNp nos dias 10, 11 e 12 de Julho de 2019 no Centro de Convenções SulAmérica na cidade do Rio de Janeiro.

Rio de Janeiro, 12 de Julho de 2019.



\_\_\_\_\_  
**Dra. Deborah Amaral de Azambuja**  
Presidente da Sociedade Brasileira de Neuropsicologia (SBNp)



\_\_\_\_\_  
**Dra. Vicki Anderson**  
Presidente da International Neuropsychological Society (INS)



\_\_\_\_\_  
**Dra. Rochele Paz Fonseca**  
Vice-presidente da Sociedade Brasileira de Neuropsicologia  
Program Chair do 89th INS Meeting and 18º Congresso da SBNp





## CERTIFICATE OF PRESENTATION

The following poster was submitted and presented at the 17<sup>th</sup> World Congress on Pain, held at the Boston Convention and Exhibition Center in Boston, USA, September 12-16, 2018.

**PSN491**

**Anodal Transcranial Direct Current Stimulation and Pain Perception: Preliminary Results for the Impact of Age and Protocol Type**

**J. Schirmer Saldanha<sup>1</sup>, M. Zortea<sup>1</sup>, A. de Souza Rodrigues<sup>1</sup>, C. Bavaresco<sup>1</sup>, W. Caumo<sup>2,3</sup>**Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil, <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil

Presented: Sunday, September 16, 2018

*The 17<sup>th</sup> World Congress on Pain is organized by the International Association for the Study of Pain.*

Michael S. Gold, PhD  
Chair, Scientific Program Committee



International Association for the Study of Pain

**IASP**  
Working together for pain relief

IASP SIG on  
Pain in Older Persons  
**Outstanding Poster Award 2018**

for outstanding **experimental research on pain in older persons** presented at the  
17th World Congress on Pain  
(September 12-16, 2018; Boston, USA)

Poster: "Anodal Transcranial Direct Current Stimulation and Pain Perception: Preliminary Results for the Impact of Age and Protocol Type"

Júlia Schirmer Saldanha, Maxciel Zortea, Aline de Souza Rodrigues, Cibely Bavaresco, Wolnei Caumo

handed to  
**Júlia Schirmer Saldanha**

on September 14<sup>th</sup> 2018  
at the Pain in Older Persons SIG Business Meeting  
Boston, USA



**X SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO  
24-26 DE NOVEMBRO DE 2018**

**Certificado de Apresentação de Trabalho Científico**



Certificamos que o trabalho científico intitulado "Estimulação Transcraniana de Corrente Contínua e Percepção de Dor: Resultados Preliminares para o Impacto da Idade e Tipo de Protocolo"

Dos autores "Maitê Costa Ferreira, Júlia Schirmer Saldanha, Maxciel Zortea, Cibely Bavaresco, Leticia Ramalho, Wolnei Caumo"

Foi apresentado na sessão científica de apresentação de pôster do X Simpósio Internacional em Neuromodulação no período de 24 a 26 de Novembro de 2018. O trabalho foi avaliado pela comissão científica internacional do evento que recomendou e aprovou a apresentação oficial nesse evento internacional.

Diretor do Curso:  
**Felipe Fregni, MD, PhD, MPH**  
São Paulo Excellence Chair (SPEC) - USP/FAPESP  
Diretor do Spaulding Neuromodulation Center,  
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston  
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

38<sup>a</sup>



# Semana Científica do HCPA

Tecnologias disruptivas em saúde

22 a 26 de outubro de 2018

Certificamos que o trabalho ESTUDO DO LIMIAR DE DOR COM ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA APLICADA EM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS de autoria de DANIELLA ENDRES MOYSES; MAXCIEL ZORTEA; JÚLIA SCHIRMER SALDANHA; WOLNEI CAUMO, foi apresentado na modalidade E-POSTER na 38ª Semana Científica do HCPA, realizada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no período de 22 a 26 de outubro de 2018.



Prof. Nadine Oliveira Clausell  
Diretora Presidente do Hospital de Clínicas

Prof. Patricia Ashton-Prolla  
Coordenadora da GPPG

a autenticidade deste documento pode ser verificada através da URL:  
<https://sgce.hcpa.edu.br/sgce/validar/F4AA40A9>



Promoção



São Paulo, 25 de setembro de 2017

## IX Simpósio Internacional em Neuromodulação

### CERTIFICADO

Certifico que o resumo intitulado:

*“Estimulação transcraniana por corrente contínua anodal em córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo  
modifica sintomas depressivos em fibromialgia”*

foi aceito e apresentado sob a forma de **PÔSTER** durante o *IX Simpósio Internacional em Neuromodulação*,  
ocorrido nos dias 18 a 20 de Setembro de 2017 em São Paulo/SP, tendo como autores:

**Júlia Schirmer Saldanha**

**Maxciel Zortea**

**Vinicius Santos**

**Prisla Ücker Calvetti**

**Wolnei Caumo**

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

**Instituto SCALA**

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

**ANEXO 6**  
**ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**



**HARVARD  
T.H. CHAN**  
SCHOOL OF PUBLIC HEALTH

*This is to certify that*

**Júlia Saldanha**


*has successfully completed*

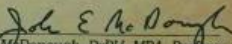
**Principles and Practice of Clinical Research Program**

March 29–November 1, 2018

*conducted by*

Center for Executive and Continuing Professional Education

  
Felipe Fregni, MD, PhD, MMSc, MPH, MEd  
Program Director  
Harvard T.H. Chan School of Public Health

  
John E. McDonough, DrPH, MPA, Professor  
Director, Executive and Continuing Professional Education  
Harvard T.H. Chan School of Public Health



**HARVARD  
T.H. CHAN**  
SCHOOL OF PUBLIC HEALTH

*This is to certify that*

**Júlia Schirmer Saldanha**

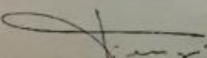
*has successfully completed*

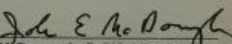
**Principles and Practice of Clinical Research  
5-Day Immersion Course**

November 6–10, 2018

*conducted by*

Center for Executive and Continuing Professional Education

  
Felipe Fregni, MD, PhD, MMSc, MPH, MEd  
Program Director  
Harvard T.H. Chan School of Public Health

  
John E. McDonough, DrPH, MPA, Professor  
Director, Executive and Continuing Professional Education  
Harvard T.H. Chan School of Public Health





SCHOOL OF PUBLIC HEALTH  
Executive and Continuing  
Professional Education



*Principles and Practice of Clinical Research  
Harvard T.H. Chan School of Public Health  
Center for Executive and Continuing Professional Education*

*Awards*

***Júlia Schirmer Saldanha MD***

***as a 2019***

***Outstanding Teaching Assistant I***

*For being a top performer Teaching Assistant in 2019 PPCR program.*

*Felipe Fregni, MD, PhD, MPH, MEd  
Associate Professor, Harvard Medical School  
PPCR Course Director*



SCHOOL OF PUBLIC HEALTH  
Executive and Continuing  
Professional Education



*Principles and Practice of Clinical Research  
Harvard T.H. Chan School of Public Health  
Center for Executive and Continuing Professional Education*

***Teaching Assistant I***

*This recognition is awarded to*

***Júlia Schirmer Saldanha, MD***

*for your outstanding performance and exceptional commitment to teamwork. As part of the teaching staff of Principles and Practice of Clinical Research and Harvard T.H. Chan School of Public Health, Center for Executive and Continuing Professional Education, you greatly contributed to the success of the 2019 annual program.*

*Felipe Fregni, MD, PhD, MPH, MEd  
Associate Professor, Harvard Medical School  
PPCR Course Director*

Dear Colleagues,

We had the pleasure to host the PhD student Julia Schirmer Saldanha at the Department of Psychology and Neurosciences of the Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors between 01/10/2018 and 01/03/2019. During her stay, she attended the department as visiting student, and was involved in numerous activities. In detail, she

- Observed data collection of ongoing research performed in the laboratory, including electroencephalographic, and non-invasive brain stimulation studies.
- Participated in an electroencephalographic data analysis workshop associated with transcranial magnetic stimulation (TMS-EEG).
- Participated in a 24-hour scientific presentation workshop ("Getting your presentation right: perform with confidence").
- Participated in seminars held by the International Graduate School of Neuroscience of the Ruhr University of Bochum (RUB).
- Analyzed electroencephalographic data collected in Brazil assisted by researchers of IfADo.
- Was introduced in MATLAB and Fieldtrip (programming package used for the analysis of electroencephalographic data).
- Presented her research project at the general meeting of the laboratory.

**Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors**

Scientific Directors: Prof. Dr. Jan G. Hengstler, Prof. Dr. Michael Nitsche, Prof. Dr. Edmund Wascher, Prof. Dr. Carsten Watzl  
Administrative Director: Brigitta Thiel | Legal Entity: Forschungsgesellschaft für Arbeitsphysiologie und Arbeitsschutz e.V.  
Bank: Helaba | Iban: DE92 3005 0000 0001 1164 41 | BIC: WELADED3333  
VAT: 314 5702 0136 DE 124651626 | VR 2255 Register of Associations Dortmund





She was a very motivated, and enthusiastic student, and enhanced her skills relevantly during her hospitation. She learned new scientific tools quickly and successfully. In my view, she is a very promising young researcher.

Furthermore, her research stay contributes largely to build and extend collaborative activities with Prof. Wolnei Caumo's laboratory, where she conducts her PhD. It was a pleasure to host her, and I am convinced that she will have an excellent career in science.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Nitsche', written in a cursive style.

Prof. Dr. med. M. Nitsche

Dortmund, 20.05.2019



### CIP - Catalogação na Publicação

Saldanha, Julia Schirmer  
EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA DE CORRENTE  
CONTÍNUA NO PROCESSAMENTO SENSORIAL E NA MEMÓRIA DE  
TRABALHO EM DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS. / Julia  
Schirmer Saldanha. -- 2020.  
98 f.  
Orientador: Wolnei Caumo.

Coorientador: Maxciel Zortea.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2020.

1. Estimulação transcraniana de corrente contínua  
(ETCC). 2. Limiar de Dor. 3. Memória de Trabalho. 4.  
Idade. 5. Neuroplasticidade. I. Caumo, Wolnei, orient.  
II. Zortea, Maxciel, coorient. III. Título.