



**Faculdade de Educação Física - UnB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

INAÊ RODRIGUES DAMACENO SILVA

**OS EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR
CORRENTE CONTÍNUA SOBRE O COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
DAS RESPOSTAS REFLEXAS DOS MEMBROS INFERIORES**

Brasília

2021



Faculdade de Educação Física - UnB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Inaê Rodrigues Damaceno Silva

OS EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA SOBRE O COEFICIENTE DE VARIÇÃO DAS RESPOSTAS REFLEXAS DOS MEMBROS INFERIORES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Brasília (UnB), como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Educação Física. Documento no formato de artigo com os moldes da Revista PlosOne.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo André Mezzarane

Brasília/DF

2021



Os efeitos da Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua sobre o coeficiente de variação das respostas reflexas dos membros inferiores

Inaê Rodrigues Damaceno Silva^{1*} Rinaldo André Mezzarane^{1**}

¹ Laboratório de Processamento de Sinais Biológicos e Controle Motor - Faculdade de Educação Física – Universidade de Brasília – Campi Darcy Ribeiro

*damaceno.ir@gmail.com

**rimezza@gmail.com

1

2 **Resumo**

3 Investigações acerca dos efeitos da estimulação transcraniana por corrente
4 contínua (ETCC) sobre a variabilidade na excitabilidade de vias neuronais da
5 medula espinhal, podem fornecer elementos para refinar o conhecimento dos
6 mecanismos medulares envolvidos na melhora do desempenho motor. O objetivo
7 do presente estudo é comparar a variabilidade do reflexo H antes (PRE), durante
8 (DUR) e após (POS) a ETCC por meio dos coeficientes de variação (CV) da
9 seqüência de reflexos obtidos bilateralmente. A amostra foi composta por 11
10 voluntários jovens, de ambos os sexos, ativos e saudáveis. Foram aplicados
11 estímulos para determinar a amplitude da resposta motora máxima (Mmax), para
12 normalizar o reflexo H. Após a determinação da corrente elétrica para evocar
13 reflexos com amplitude de 20-30% Mmax, foram aplicados 500 estímulos em
14 ambas as pernas simultaneamente, com frequência de 1Hz nas condições PRE,
15 DUR e POS. Todos os procedimentos foram repetidos em uma segunda visita do
16 mesmo sujeito, porém, com um procedimento *sham*, que consiste em liberar a
17 ETCC como um placebo (com corrente igual a zero). Houve diferenças



18 significativas ($p < 0,05$) para a perna esquerda, nas comparações entre o PRE e o
19 DUR e entre o PRE e o POS. Essas alterações ipsolaterais podem ser atribuídas
20 aos efeitos sobre as fibras descendentes do trato corticoespinhal ventral e/ou
21 projeções interhemisféricas no córtex motor.

22 Palavras chave: Reflexo H; Estimulação Transcraniana por Corrente
23 Continua, variabilidade, excitabilidade reflexa.

24

25 **Abstract**

26 Investigation about the effects of transcranial direct current stimulation (TDCs)
27 on the excitability of neuronal pathways in the spinal cord may provide elements to
28 refine the knowledge of the spinal mechanisms involved in improving motor
29 performance. The objective of the present study is to compare the H-reflex variability
30 before (PRE), during (DUR) and after (POS) TDCs by means of the coefficient of
31 variation (CV) calculated from the bilateral reflex sequences. The sample consisted of
32 11 young volunteers, of both sexes, who were active and healthy. Stimuli were applied
33 to determine the amplitude of the maximum motor response (M_{max}). After determining
34 the electric current for evoking a reflex with amplitude of 20-30% M_{max} , a sequence of
35 500 stimuli were applied to posterior tibial nerve from both legs at 1Hz in PRE, DUR
36 and POS conditions. All procedures have been repeated on a second visit, however,
37 with a *sham* procedure, consisting of delivering a placebo TDCs with zero current.
38 There were significant differences ($p < 0.05$) for the left leg, in the comparisons between
39 PRE and DUR, as well as between PRE and POS conditions. The ipsilateral changes
40 may have occurred due to the influence of TDCs on either the descending fibers of the
41 ventral corticospinal tract or on the interhemispheric projections from the motor cortex.

42



43 Introdução

44 Estudos para uma melhor compreensão da neurofisiologia da medula
45 espinhal humana utilizam a análise da atividade elétrica do músculo, pela técnica
46 da eletromiografia (EMG). Uma das técnicas comumente empregadas nesses
47 estudos é a que se baseia na obtenção do reflexo H (um homólogo elétrico do
48 reflexo de estiramento muscular). Esta resposta reflexa foi observada pela
49 primeira vez por Paul Hoffmann e tem se mostrado especialmente interessante
50 por ser uma técnica não invasiva e capaz de evocar o reflexo em uma grande
51 variedade de músculos envolvendo nervos espinhais e cranianos [1].

52 A técnica do reflexo H se baseia na estimulação elétrica das fibras no nervo
53 periférico (que partem dos fusos neuromusculares) e obtenção de um potencial
54 de ação composto no músculo homônimo (resposta reflexa). Esta resposta,
55 captada por meio de eletrodos de EMG de superfície, é chamada de reflexo H
56 [2]. Com o aumento da intensidade do estímulo, os potenciais de ação gerados
57 nos axônios eferentes diretamente pelo estímulo elétrico também se propagam
58 para o músculo e geram uma resposta de latência menor (onda M) [3]. Quando
59 a onda M atinge seu máximo (Mmax) significa que a ativação máxima muscular
60 foi alcançada (100% dos axônios motores foram recrutados), e esta resposta
61 direta é utilizada para normalizar o reflexo H.

62 A técnica para evocar o reflexo H no músculo sóleo é a mais comumente
63 utilizada, devido à fácil acessibilidade do nervo tibial e à seletividade de
64 estimulação [4]. A amplitude das ondas varia com as mudanças posturais, ou
65 seja, o reflexo H do músculo sóleo é reduzido durante a postura ereta em
66 comparação com outras condições posturais, como deitado [5] e sentado [6].



67 Outros fatores podem interferir na modulação do reflexo H, como alterações na
68 posição da cabeça, estado mental, ação do sistema vestibular e procedimentos
69 de estimulação [7].

70 Melhoras no desempenho podem ser induzidas por meio de intervenções,
71 como treinamento físico e condicionamentos diversos. Como exemplos de
72 condicionamentos, podemos citar a imagética motora (processo neurocognitivo
73 em que o participante simula uma tarefa motora, mas não realiza nenhum
74 movimento associado a esta tarefa) e a estimulação transcraniana por corrente
75 contínua (ETCC) [8,9,10]. A ETCC tem sido frequentemente utilizada na última
76 década como adjunto em processos reabilitativos, bem como nos estudos de
77 neurofisiologia que envolvem alteração da atividade cerebral, de forma a gerar
78 melhoras nas funções motoras em humanos [9]. Esta técnica consiste na
79 estimulação do córtex motor por meio de dois eletrodos (ânodo e cátodo) fixados
80 sobre o couro cabeludo, que geram corrente de baixa intensidade pelo período
81 de 20 minutos. Recentemente, foi verificada influência significava da ETCC sobre
82 circuitos medulares [11].

83 A ETCC é uma técnica amplamente usada, que pode ser aplicada com total
84 segurança em seres humanos [9]. As alterações provocadas por essa técnica
85 dependem da polarização da membrana do neurônio [12]. Por meio dos dois
86 eletrodos, um fluxo elétrico gera despolarização ou hiperpolarização na região
87 do córtex motor, onde o eletrodo ativo é fixado. A direção do fluxo de corrente é
88 o que diferencia essas duas estimulações, podendo aumentar ou diminuir a
89 excitabilidade da área cortical localizada sob o eletrodo ativo. Sendo assim, a
90 escolha feita em relação a polaridade dos eletrodos pode facilitar ou inibir o
91 potencial de repouso da membrana dos neurônios. O ânodo favorece a



92 despolarização da membrana e conseqüentemente diminui o limiar de potencial
93 de repouso; ao passo que o cátodo favorece a hiperpolarização da membrana,
94 de modo a diminuir a probabilidade de despolarização, causando assim uma
95 inibição da resposta reflexa [13].

96 Segundo Roche et al. (2011), alterações na excitabilidade do córtex,
97 resultantes da ETCC, promovem modulação na excitabilidade da medula
98 espinhal, sugerindo uma ação de vias corticoespinhais [11]. Para mobilizar o
99 córtex motor primário não é necessária intensidade de corrente muito alta. Essa
100 região é diferenciada das outras áreas pré-motoras devido ao fato de ser ativada
101 com baixa intensidade de corrente. Este fato indica uma via relativamente ampla
102 e direta que vai da área primaria até os neurônios motores inferiores do tronco
103 encefálico e da medula espinhal [14]. Por meio de uma pesquisa feita com ratos,
104 Bindman et al. (1964) forneceram evidências de que breves períodos de
105 polarização podem oferecer mudanças prolongadas no nível de atividade cortical
106 [15]. A ETCC tem sido largamente utilizada devido ao seu baixo custo, facilidade
107 de uso e efeitos significativos sobre a plasticidade neural humana [16].

108 A literatura apresenta estudos que utilizam a ETCC em paralelo à técnica do
109 reflexo H nos músculos do punho a fim de investigar o comportamento da
110 inibição recíproca, mostrando que a ETCC anódica contralateral induz efeitos
111 opostos na inibição recíproca: ela diminui a inibição recíproca dirigida de flexores
112 para extensores, mas aumenta a inibição recíproca direcionada de extensores
113 para flexores [8]. Ao examinar o reflexo H condicionado por ETCC, Lamy et al.
114 (2012) concluíram que o estudo exploratório fornece mais evidências para o uso
115 de ETCC como uma ferramenta conveniente e não invasiva para induzir
116 mudanças plásticas duradouras em circuitos espinhais [17]. Contudo, os efeitos



117 da ETCC sobre a variabilidade na excitabilidade de vias neuronais da medula
118 espinhal ainda não foram explorados. Uma investigação neste sentido poderá
119 fornecer elementos para refinar o conhecimento dos mecanismos medulares
120 envolvidos na melhora do desempenho motor.

121 Experimentos em animais e em seres humanos sugerem que mecanismos
122 pré-sinápticos estão envolvidos nas flutuações da excitabilidade reflexa [18, 19]
123 [20]. Roche et al. (2011) reportaram ausência de efeitos da ETCC sobre a
124 inibição pré-sináptica (IPS) induzida com intervalo entre estímulos condicionante
125 e teste (ICT) de 20 ms [11]. Contudo, os autores não investigaram outros
126 intervalos relevantes que podem ser atribuídos à IPS, como o ICT de 100 ms
127 [21]. Desta forma, existe ainda a possibilidade da ETCC alterar os mecanismos
128 de IPS que, por sua vez, podem afetar a variabilidade do reflexo H [19]. Por
129 exemplo, no estudo de Yamaguchi et al. (2016), a estimulação anódica com a
130 ETCC em pacientes com lesão medular e em pacientes saudáveis aumentou
131 significativamente a inibição recíproca e a IPS de longa latência nos dois grupos,
132 por pelo menos 20 minutos após a aplicação [22].

133 Flutuações na excitabilidade da via reflexa ocorrem devido a ação de
134 mecanismos pré e pós-sinápticos. O estudo da variabilidade reflexa permite
135 melhorar o entendimento da neurofisiologia da medula espinhal em seres
136 humanos [18], além de ajudar a explicar a eficiência na execução de tarefas
137 motoras e flutuações na força [23]. Mesmo mantendo a estimulação constante,
138 observa-se flutuações na amplitude do reflexo H. Trens de 500 pulsos aplicados
139 simultaneamente nas duas pernas com frequência de 1Hz (para evocar 500
140 reflexos H em ambos músculos sóleos), permitiram estudar as flutuações
141 simultâneas nas repostas reflexas em diferentes condições [18, 24]. No entanto,



142 existe ainda várias lacunas no entendimento dessas flutuações em resposta às
143 alterações na excitabilidade cortical, que podem ser induzidas por meio da
144 ETCC.

145 No presente trabalho, pretende-se estimar a variabilidade reflexa, por
146 meio do coeficiente de variação (CV) ao longo de uma sequência de 500 reflexos
147 H obtidos com intervalo de 1 segundo em ambas as pernas. Sendo assim, o
148 objetivo deste trabalho é analisar e comparar as flutuações no CV das
149 sequências de estímulos nos músculos sóleos direito e esquerdo de indivíduos
150 jovens saudáveis antes (PRE), durante (DUR) e após (POS) a aplicação da
151 ETCC. Este paradigma experimental permitirá avaliar a duração de um suposto
152 efeito agudo da ETCC sobre a variabilidade reflexa por meio da alteração do CV
153 de cada situação.

154 Alterações na excitabilidade cortical por meio da ETCC podem influenciar
155 diferentes elementos medulares por meio de tratos descendentes como, por
156 exemplo, interneurônios inibitórios [11]. Dessa forma, espera-se que a ETCC
157 diminua o CV do reflexo H por meio de mecanismos pré-sinápticos.

158

159 **Justificativa**

160 Os reflexos desempenham um papel funcional fundamental no controle
161 motor, pois estão envolvidos na coordenação de movimentos voluntários e na
162 manutenção da estabilidade postural [23]. O reflexo H tem sido amplamente
163 utilizado para melhor compreensão dos fatores que envolvem a organização
164 neuronal da medula espinhal. Essa técnica tem sido associada à ETCC para
165 análise das alterações induzidas na excitabilidade cortical, contudo, os estudos



166 ainda são escassos e muitas variáveis ainda precisam ser consideradas, como
167 o CV, que permite investigar a variação da resposta reflexa em uma sequência
168 de estímulos. As variações aleatórias nas amplitudes do reflexo H em humanos
169 podem fornecer informações sobre dinâmicas na transmissão sináptica em
170 diferentes vias neuronais na medula, que afetam direta ou indiretamente os
171 motoneurônios [24].

172 Os mecanismos envolvidos nos efeitos da ETCC sobre o controle motor
173 ainda não estão totalmente elucidados. Existem também dúvidas acerca da
174 retenção dos efeitos agudos sobre mecanismos neurofisiológicos medulares.
175 Desta forma, o presente paradigma experimental irá permitir avaliar alterações
176 na variabilidade reflexa PRE, DUR e POS a aplicação da ETCC.

177

178 **Materiais e métodos**

179 O estudo é experimental, descritivo, transversal e descreve de maneira
180 quantitativa os efeitos da utilização da ETCC por meio do coeficiente de variação
181 das sequências do reflexo H. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em
182 pesquisas com seres humanos da Faculdade de Ciências da Saúde da
183 Universidade de Brasília (UnB) (nº 83339318.2.0000.0030).

184

185 **Amostra**

186 A amostra foi composta por 11 voluntários jovens (média de idade $24,25 \pm$
187 $2,71$), de ambos os sexos (7 homens e 3 mulheres) ativos e saudáveis,
188 selecionados por conveniência. Todos assinaram um termo de consentimento livre
189 e esclarecido após receber as instruções necessárias sobre os procedimentos



190 envolvidos no estudo.

191 Foram critérios de inclusão: idade entre 18 e 30 anos e se auto declarar
192 “ativo” quanto ao nível de atividade física. Foram excluídos da amostra voluntários
193 que apresentaram quaisquer tipos de lesão ou doença crônica degenerativa.

194

195 **Instrumentos de coleta de dados**

196 A técnica de estimulação elétrica foi utilizada para evocar o reflexo H,
197 utilizando o sistema MEB 2300 (Nihon-Kohden, Japão), que também captou os
198 sinais eletromiográficos da resposta (ou seja, o reflexo H). A ETCC foi aplicada com
199 o aparelho modelo 1300A *Low-Intensity Stimulator* (Sorterix Medical, EUA).

200

201 **Procedimentos**

202 O reflexo H foi evocado por meio da estimulação elétrica percutânea do nervo
203 tibial de ambas as pernas, localizado na fossa poplíteia, utilizando-se eletrodos de
204 superfície bipolares. O indivíduo ficou sentado, em repouso, com quadril fletido a
205 aproximadamente 105 graus (no menor ângulo entre os segmentos tronco e coxa),
206 joelho fletido a aproximadamente 110 graus (no menor ângulo entre os segmentos
207 coxa e perna), e tornozelo fletido a aproximadamente 115 graus (no menor ângulo
208 entre os segmentos perna e pé); com o pé apoiado sobre um anteparo de madeira
209 inclinado. Os participantes foram instruídos a evitar movimentos não solicitados
210 durante o experimento.

211 A captação dos sinais de EMG foi feita por meio de eletrodos de superfície no
212 músculo sóleo de ambas as pernas, de 1 cm de diâmetro, posicionados 2 cm abaixo
213 da junção das cabeças do músculo gastrocnêmio e com 2 cm de distância entre eles
214 (Figura 1). A taxa de amostragem foi de 2kHz e o filtro com banda de 20Hz à 1kHz foi



215 utilizado.



216
217
218
219
220

Figura 1: Foto dos eletrodos de estimulação e captação devidamente posicionados. Fonte: imagem do autor

221

222

223

224

225

226

Foram aplicados estímulos para determinar a amplitude da resposta motora máxima (Mmax), para normalizar o reflexo H. É altamente recomendado que a amplitude do reflexo H esteja dentro da faixa de 20-30% da Mmax [25]. Após a determinação da corrente elétrica para gerar um reflexo com a amplitude desejada, foram aplicados 500 estímulos com frequência de 1 Hz simultaneamente nas duas pernas.

227

228

229

230

231

232

233

234

Terminada a primeira sequência de estímulos, foi aplicada a ETCC na região do córtex motor esquerdo. Com o participante ainda sentado e em repouso, foi aplicada uma corrente elétrica constante de 0.5 mA até 2 mA durante 20 minutos (procedimento real), por meio do eletrodo ativo localizado nos pontos determinados pelo sistema internacional 10-20 que representam o córtex motor no couro cabeludo - C3 ou C4 [26]. Durante os 9 minutos finais da ETCC (que dura 20 minutos ao todo) uma nova sequência de 500 estímulos foi aplicada, bem como uma outra sequência de 500 pulsos logo após o término da ETCC.

235

Todos os procedimentos descritos foram repetidos em uma segunda visita



236 (uma semana após a primeira) ao laboratório do mesmo participante, porém, com
237 aplicação de corrente iniciando-se em 0,3 mA e progressivamente aumentando
238 para 2 mA (rampa de 20 s) e, imediatamente após alcançar este pico de corrente,
239 retornou para zero em 20 s (estimulação *sham*). Este procedimento (*sham*) induz o
240 efeito placebo e deve ser adotado para verificar se as possíveis alterações nas
241 variáveis a serem estudadas foram obtidas devido a aplicação da ETCC e não
242 influenciadas por efeitos psicológicos [11].

243 Os sinais de EMG foram convertidos para ASCII para serem analisados em
244 ambiente Matlab (MathWorks) e os CVs de cada sequência de estímulo foram
245 calculados.

246

247 **Análise estatística**

248 Os CVs de cada sequência (PRE, DUR e POS) e para cada perna
249 individualmente foram comparadas por meio de uma ANOVA de medidas repetidas
250 de uma via. Todos os testes foram realizados para os dados obtidos com ETCC e
251 para aqueles obtidos nos procedimentos para induzir o efeito placebo (*sham*). O
252 nível de significância foi de $p < 0,05$. Foi utilizado o software SPSS para a análise
253 estatística.

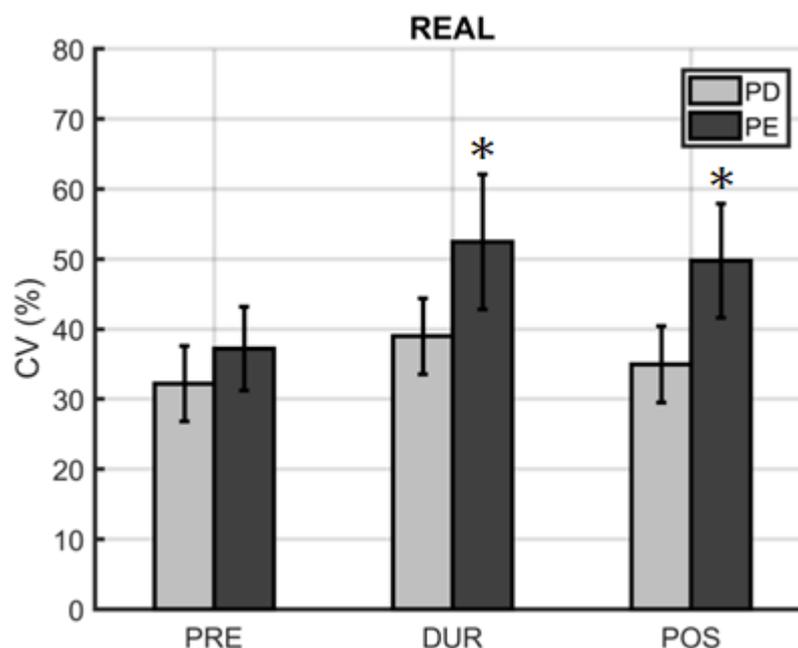
254

255 **Resultados**

256 Como demonstrado na Figura 2, para a perna esquerda, na situação real,
257 houve aumento significativo nos valores de CV ($F_{20, 2} = 6,673$; $p = 0,006$; $\eta^2_p = 0,4$).
258 As diferenças foram significativas nas comparações entre o PRE e o DUR ($p =$
259 $0,015$) e entre o PRE e o POS ($p = 0,003$); entre o DUR e o POS não houve
260 diferenças significativas ($p = 0,578$). Não houve diferenças significativas para a



261 perna direita ($F_{20,2} = 1,449$; $p = 0,258$; $\eta^2_p = 0,127$).



262

263 **Figura 2:** Coeficientes de variação médios de ambas as pernas na situação Real. As barras
264 representam as médias dos coeficientes de variação nas condições PRE, DUR e POS para as
265 pernas direita (PD) e esquerda (PE). * = $p < 0,05$.
266

267

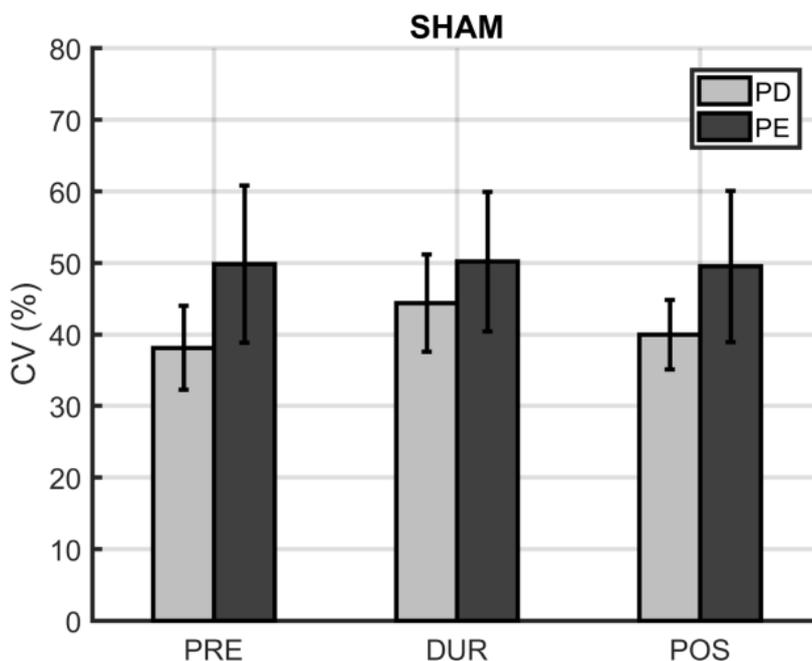
268

269

270

271

Na situação *sham*, não houve diferenças significativas para nenhuma das pernas, em nenhum dos momentos (PRE, DUR e POS). Este dado, demonstrado na Figura 3, anula a presença de efeitos psicológicos nas respostas dos testes, uma vez que houve diferenças significativas na condição real (com a aplicação de ETCC).



272
273
274
275
276

Figura 3: Coeficientes de variação médios de ambas as pernas na situação Sham. As barras representam as médias dos coeficientes de variação nas condições PRE, DUR e POS para as pernas direita (PD) e esquerda (PE).

277 **Discussão**

278 Estudos apontam que os efeitos da ETCC vão para além das fibras corticais,
279 podendo causar alterações na plasticidade das fibras corticoespinhais [12] [11]. De
280 fato, a ETCC no córtex motor dos participantes do presente estudo levou a um
281 aumento significativo do coeficiente de variação das respostas reflexas do sóleo
282 esquerdo durante e após a sua aplicação. Essa alteração reafirma a influência da
283 ETCC na plasticidade de circuitos neuronais que não se limitam ao córtex. O fato
284 da ETCC ter produzido efeito nos reflexos indica que esse tipo de estimulação
285 (neste caso, anodal) não tem impacto apenas nos circuitos cerebrais, mas chegam
286 a modificar a excitabilidade dos circuitos da medula espinhal.

287 A escolha feita em relação a polaridade dos eletrodos pode causar diferentes
288 respostas, como facilitar (ânodo) ou inibir (cátodo) o potencial de repouso da
289 membrana dos neurônios. Em um estudo para avaliar as alterações intracelulares



290 durante a polarização do córtex motor, Purpura & Mcmurtry (1964) afirmaram que
291 a polarização anódica inicializa alterações no potencial de membrana durante a
292 despolarização sustentada do soma (corpo do neurônio) [27]. Essas oscilações
293 podem ter sido responsáveis pelo aumento da variabilidade das respostas reflexas
294 durante e após a ETCC.

295 Não obstante, os axônios dos neurônios motores superiores seguem pelos
296 tratos corticobulbar (axônios que terminam no tronco encefálico) e corticoespinal
297 (axônios que terminam na medula espinhal). Na parte caudal do bulbo ocorre um
298 cruzamento dos axônios dos neurônios motores, denominado decussação das
299 pirâmides. Sendo assim, cerca de 90% dos axônios do trato piramidal entram na
300 coluna lateral do lado oposto na medula espinhal. Os 10% restantes entram na
301 medula espinhal sem realizar a decussação. Desta maneira, este contingente de
302 10% de axônios entram no lado ipsolateral na medula espinhal [14]. A vista disso,
303 ao receber a estimulação do lado esquerdo, as fibras do trato corticoespinal
304 ventral (axônios que não realizam a decussação) podem ter intermediado os efeitos
305 da ETCC no sóleo esquerdo.

306 Alguns estudos que utilizam ETCC sugerem a existência de projeções inter-
307 hemisféricas e corticoespinhais descendentes [11, 28]. Dessa forma, uma
308 estimulação feita em determinado hemisfério poderia “alcançar” indiretamente o
309 outro hemisfério por meio dessas projeções, o que levaria uma estimulação no
310 córtex a fazer diferenças nos membros ipsolaterais à estimulação. No trabalho de
311 Vines et al. (2006), estudou-se o desempenho do movimento dos dedos ipsolaterais
312 e contralaterais em resposta à ETCC anódica e catódica no córtex motor esquerdo.
313 Na estimulação anódica não houve resultados significativos, enquanto que na
314 catódica observou-se um aprimoramento nos movimentos sequenciais dos dedos



315 da mão ipsolateral. Os autores acreditam que a ETCC catódica levou a uma
316 diminuição da excitabilidade cortical motora esquerda, diminuindo a influência
317 inibidora da área motora esquerda na área motora homóloga direita e que essa
318 desinibição do córtex motor direito levou ao aprimoramento nos movimentos
319 sequenciais do dedo esquerdo. Sendo assim, esses efeitos indiretos que
320 ocasionaram o aumento do desempenho da mão ipsolateral poderiam fornecer
321 evidências de que a ETCC modula projeções inter-hemisféricas inibitórias [28]. De
322 acordo com Purves et al (2018), nas regiões corticais motoras, sensoriais primárias
323 e secundárias e/ou associativas, originam-se conexões cortico-corticais
324 ipsolaterais. Essas conexões também podem ter se originado no hemisfério
325 contralateral e se projetado contralateralmente por meio de conexões inter-
326 hemisféricas, pelo corpo caloso, ou pela comissura anterior. Ainda assim, além de
327 comissuras na região cerebral, existem interneurônios que suprem os neurônios
328 motores inferiores com axônios que se projetam para vários segmentos medulares.
329 Alguns desses axônios são comissurais a fim de inervar neurônios motores
330 inferiores na hemicorda contralateral [14].

331 Além disso, ainda que estímulos de corrente anódica possam excitar
332 seletivamente os neurônios do trato piramidal [27, 29], a ETCC não atua
333 simplesmente na área “alvo”, mas também, em uma rede de regiões corticais que
334 estão ligadas funcionalmente ao local em que o eletrodo está posicionado [30].
335 Apesar de usarmos critérios e parâmetros para a localização dos eletrodos, é de
336 grande importância atentar-se ao fato de que as regiões vizinhas podem receber
337 estímulos em potencial [31]. Alguns estudos sugerem que os efeitos da estimulação
338 anódica tem um efeito difuso no córtex motor [11] e que a ETCC também pode
339 induzir alterações em áreas mais profundas, além das superficiais; de modo que,



340 as superficiais recebem um estímulo mais forte. Todavia, não se sabe ainda até
341 que ponto mais profundo a corrente pode alcançar [30]. Ou seja, além da
342 estimulação poder ter atingido regiões vizinhas à aplicação, pode também ter
343 causado alterações em áreas mais profundas do cérebro. Roche et al. (2011),
344 argumentaram a favor da ideia de que a estimulação anódica não é totalmente
345 focal, pois ao estimularem a região do córtex motor ligada aos membros superiores
346 também observaram diferenças nos músculos tibial anterior e sóleo [11]. De acordo
347 com Púrpura & Mcurtry (1964), a polarização anódica despolariza as células nas
348 profundezas corticais e hiperpolariza outras estruturas nas regiões superficiais do
349 córtex [27].

350

351 **Limitações do estudo**

352 A principal limitação do presente trabalho está relacionada com a
353 metodologia que consiste na obtenção de respostas reflexas durante o repouso.
354 Portanto, as interpretações realizadas a partir dos resultados obtidos não poderão
355 ser facilmente extrapoladas para situações nas quais os participantes realizem
356 ações motoras. Estudos adicionais para avaliar possíveis interações entre a ETCC
357 e mecanismos neurofisiológicos durante a execução de tarefas, em diferentes
358 contextos motores (por exemplo, durante a marcha), necessitam ser realizados
359 para entender melhor os aspectos funcionais decorrentes das possíveis
360 adaptações neurofisiológicas induzidas pela ETCC.

361

362 **Conclusão**

363 As alterações obtidas no reflexo H demonstram que uma estimulação no
364 córtex motor pode causar alterações na excitabilidade neuronal nos circuitos



365 espinhais; sugerindo que vias corticoespinhais intermedeiam os efeitos da ETCC
366 sobre as respostas reflexas dos membros inferiores. Dessa forma, a variabilidade
367 das respostas reflexas não é causada apenas por alterações posturais, mas efeitos
368 descendentes também podem influenciá-la. A estimulação anódica no córtex motor
369 gerou uma alteração na plasticidade de circuitos medulares, aumentando
370 significativamente os CVs da perna ipsolateral à estimulação (esquerda). Não
371 houve alterações significativas nos reflexos do sóleo da perna direita. As alterações
372 no membro ipsolateral podem ter sido intermediadas por fibras descendentes do
373 trato corticoespinal ventral e/ou projeções interhemisféricas no córtex motor.
374 Alternativamente, o estímulo pode ter sido transmitido para o membro ipsolateral
375 por meio de interneurônios comissurais presentes na medula espinhal. Sugere-se
376 novos estudos com a ETCC e a variabilidade na excitabilidade das fibras neuronais
377 espinhais, assim como, pesquisas focadas no estudo da anatomia e das
378 propriedades das vias corticoespinhais e cortico-corticais para os membros
379 contralaterais e ipsolaterais, de modo a fomentar a discussão e elaborar teorias
380 sobre alterações na plasticidade neuronal de circuitos medulares. Ademais, seria
381 interessante a realização de estudos que possam avaliar essas alterações a longo
382 prazo, a fim de descobrirmos se essa plasticidade também atua de forma crônica.
383 Sendo assim, essas pesquisas trariam evidências de modo a fomentar novos
384 protocolos experimentais e o uso clínico da ETCC, por exemplo, na reabilitação de
385 pacientes com acidente vascular encefálico (AVE).

386

387 **Agradecimentos**

388 Primeiramente a Deus; o principal motivo de eu estar aqui. O agradeço por
389 ter me guiado e me fortalecido desde antes do início desse sonho; e não me deixou



Faculdade de Educação Física - UnB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

390 sozinha nem por ao menos 1 minuto de toda a minha vida. Agradeço aos meus
391 pais, Lindomar e Zelma, que com muito amor, sempre me apoiaram e estiveram ao
392 meu lado. Vocês me impulsionaram para que a cada dia eu pudesse dar o melhor
393 de mim e não pensar em desistir. Não existem palavras capazes de descrever o
394 carinho e a gratidão que tenho por vocês. Agradeço ao meu pequeno irmão, Kenai.
395 Você sempre acreditou de que eu fosse capaz de fazer qualquer coisa; e não
396 imagina o quanto isso foi importante para mim. Você é, com certeza, um dos
397 melhores presentes que Deus me deu. Não poderia deixar de agradecer a minha
398 Psicóloga, Lucinéia de Brito. Sem o seu excelente trabalho, este meu processo
399 seria muito mais lento e ainda mais difícil. Você, mais do que todos, viu minhas
400 lágrimas e meus sorrisos mais sinceros; e sempre soube como recebê-los e me
401 ajudar a lidar com tantas emoções.

402 Agradeço ao Professor Rinaldo André Mezzarane, que me acolheu com
403 tanto carinho no Laboratório de Processamento de Sinais Biológicos e Controle
404 Motor. Obrigada por ter confiado em mim e me convidado a fazer parte deste grupo
405 de pessoas tão maravilhosas, que mais do que colegas, se tornaram amigos. A
406 Iniciação Científica foi de grande importância para a minha formação pessoal e
407 profissional e, com toda certeza, um dos maiores marcos durante a minha
408 graduação.

409 Agradeço a todos os amigos e parentes que estiveram comigo durante esses
410 4 anos de faculdade. Vocês me ajudaram a ser quem sou hoje. Trago no meu
411 coração, um sentimento de gratidão pela vida e a amizade de cada um. Finalmente,
412 sou grata pelo dom da vida e por cada amanhecer, que além de novo é e sempre
413 será único!

414



415 **Financiamento**

416 . O presente trabalho está vinculado ao projeto “Estudo de adaptações
417 neurofisiológicas e biomecânicas em idosos após treinamento de marcha
418 associado à estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC)” aprovado
419 pela FAPDF (projeto n. 0193.001655/2017) (edital de demanda espontânea
420 n.04/2017).

421

422 **Referências bibliográficas**

- 423 1. Misiaszek, J. E. The H-reflex as a tool in neurophysiology: Its limitations and
424 uses in understanding nervous system function. **Muscle and Nerve**, v. 28, n. 2,
425 p. 144–160, 2003.
- 426 2. Kandel, E. R.; James, H. S.; Thomas, M. J.; Steven, A. S.; Hudspeth, A. J..
427 **Principles of Neural Science**. ed. The McGraw-Hill Companies. 5º edição.
428 2013 [s.l: s.n.].
- 429 3. Mezzarane, R. A.; Carmo, J. C. ; Magalhaes, F. H. ; Elias, L. A. . Relationship
430 between force variability and mean force of an upper limb muscle in different
431 motor tasks.. In: 42nd Annual Meeting of the Society for Neuroscienc, 2013,
432 San Diego. Society for Neuroscience Final Program (Wednesday), 2013.
- 433 4. Schieppati, M. The Hoffmann reflex: A means of assessing spinal reflex
434 excitability and its descending control in man. **Progress in Neurobiology**, v.
435 28, n. 4, p. 345–376, 1987.
- 436 5. Abbruzzese, M; Rubino, V; Schieppati, M. Task-dependent effects evoked by
437 foot muscle afferents on leg muscle activity in humans.
438 **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology -**
439 **Electromyography and Motor Control**, 1996.



- 440 6. Hayashi, R; Taki, K; Tokuda, T; Yanagisawa, N. Comparison of amplitude of
441 human soleus H-reflex during sitting and standing. **Neuroscience Research**,
442 1992.
- 443 7. Hoffman M.; Harter R. A.; Hayes B. T., Wojtys E. M.; Murtaugh P. The
444 interrelationships among sex hormone concentrations, motoneuron excitability,
445 and anterior tibial displacement in women and men. **Journal of Athletic**
446 **Training**, v. 43, n. 4, p. 364–372, 2008.
- 447 8. Lackmy-Vallee, A.; Klomjai, W.; Bussel, B.; Katz, R.; Roche, N.. Anodal
448 transcranial direct current stimulation of the motor cortex induces opposite
449 modulation of reciprocal inhibition in wrist extensor and flexor. **Journal of**
450 **neurophysiology**, v. 112, n. 6, p. 1505–1515, set. 2014.
- 451 9. Madhavan, S.; Shah, B. Enhancing Motor Skill Learning with Transcranial Direct
452 Current Stimulation – A Concise Review with Applications to Stroke. **Frontiers**
453 **in Psychiatry**, 2012.
- 454 10. Stecklow, M. V.; Infantosi, A. F. C.; Cagy, M.. Alterações na banda alfa do
455 eletroencefalograma durante imaginética motora visual e cinestésica. **Arq**
456 **Neuropsiquiatr**; 65(4-A):1084-1088, 2007.
- 457 11. Roche, N.; Lackmy, A.; Achache, V.; Bussel, B.; Katz, R. Effects of anodal
458 transcranial direct current stimulation over the leg motor area on lumbar spinal
459 network excitability in healthy subjects. **Journal of Physiology**, 2011.
- 460 12. Nitshe, M. A.; Fricke, K; Henschke, U; Schlitterlau, A; Liebetanz, D; Lang N et
461 al. Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by
462 transcranial direct current stimulation in humans. **Journal of Physiology**,
463 533.1, pp. 293–301, 2003.
- 464 13. Duarte, N.; Ferreira, C.; Souza, N.; Cruz, P.; Neto, H.; Oliveira, C. . O uso da



- 465 ETCC associado ao treino motor de membros inferiores na neurologia: revisão
466 sistemática da literatura. **ConScientiae Saúde**, 2017
- 467 14. Purves, D.; Augustine, G.; Fitzpatrick, D.; Hall, W.; Lamantia, A.; Mooney, R..
468 et al.. Neurociências. 6^oed. Controle do Neurônio Motor Superior do Tronco
469 Encefálico e da Medula Espinhal. Artmed.p.432-434, 2018
- 470 15. Bindman, L. J.; Lippold, O. C. J.; Redfearn, J. W. D.; The action of brief
471 polarizing currents on the cerebral cortex of the rat (1) during current flow and
472 (2) in the production of long-lasting after effects. **Journal of Physiology**, 172,
473 pp. 369-382, 1964.
- 474 16. Pai, M. Y. B; Terranova, T.; Simis, M.; Fregni, F.; Battistella L.. The Combined
475 Use of Transcranial Direct Current Stimulation and Robotic Therapy for the
476 Upper Limb. **Journal of visualized experiments : JoVE**, n. 139, set. 2018.
- 477 17. Lamy, J. C.; Ho C.; Badel, A.; Arrigo, R.; Boakye, M.. Modulation of soleus H
478 reflex by spinal DC stimulation in humans. **Journal of neurophysiology**, v.
479 108, n. 3, p. 906–914, ago. 2012.
- 480 18. Mezzarane, R. A.; Nakajima, T. I. ; Zehr, E. P. I . Bilateral Reflex Fluctuations
481 during Rhythmic Movement of Remote Limb Pairs. **Frontiers in Human
482 Neuroscience** 11:355. doi: 10.3389/fnhum.2017.00355, 2017
- 483 19. Rudomin, P.; Dutton, H. (1967). Efeitos da inibição pré-sináptica e pós-sináptica
484 na variabilidade do reflexo monossináptico. **Nature** 216, 292-293. doi: 10.1038
485 / 216292a0
- 486 20. Mezzarane, R. A.; KOHN, A. F. . H-reflex variability under presynaptic inhibition.
487 In: XVIIth Congress of the International Society of Electrophysiology and
488 Kinesiology, 2008, Niagara Falls. **Proceedings of the XVIIth Congress of the
489 International Society of Electrophysiology and Kinesiology**, 2008.



- 490 21. Mezzarane, R. A.; Magalhães, F. H.; Chaud, V. M.; Elias, L. A.; Kohn, A. F..
491 Enhanced D1 and D2 Inhibitions Induced by Low-Frequency Trains of
492 Conditioning Stimuli: Differential Effects on H- and T-Reflexes and Possible
493 Mechanisms. **Plos One**, v. 10, p. e0121496, 2015.
- 494 22. Yamaguchi, T.; Fujiwara, T.; Tsai, Y. et al. The effects of anodal transcranial
495 direct current stimulation and patterned electrical stimulation on spinal inhibitory
496 interneurons and motor function in patients with spinal cord injury.
497 **Experimental Brain Research**, **234**, 1469–1478 (2016).
498 <https://doi.org/10.1007/s00221-016-4561-4>.
- 499 23. Mezzarane, R. A.; Magalhães, F. H.; Chaud, V. M.; Kohn, A. F.. Experimental and
500 simulated EMG responses in the study of the human spinal cord.
501 **Electrodiagnosis in new frontiers of clinical research**, p. 57–87, 2013.
- 502 24. Mezzarane, R. A.; Kohn, A. F. Bilateral soleus H-reflexes in humans elicited by
503 simultaneous trains of stimuli: symmetry, variability, and covariance. **Journal of**
504 **Neurophysiology**, v. 87, p. 2074–2083, 2002.
- 505 25. Crone, C.; Hultborn, H.; Mazières, L.; Morin, C.; Nielsen, J.; Pierrot-Deseilligny,
506 E.. Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a
507 function of the test reflex size: a study in man and the cat. **Experimental brain**
508 **research**, v. 81, n. 1, p. 35–45, 1990.
- 509 26. Sánchez-Kuhn, A.; Pérez-Fernandes, C.; Canóvas, R.; Flores, P.. Transcranial
510 direct current stimulation as a motor neurorehabilitation tool: An empirical
511 review. **BioMedical Engineering Online**, 2017.
- 512 27. Purpura, D. P.; Mcmurtry, J. G.. Intracellular activities and evoked potential
513 changes during polarization of motor cortex. **Journal of Neurophysiology**,
514 1964.



- 515 28. Vines, B. W.; Dinesh, G.; Gottfried, S. Contralateral and ipsilateral effects after
516 transcranial direct **current stimulation**. **NeuroReport**, 2006.
- 517 29. Hern, J. E. C.; Landgren, S.; Phillips, C.G.; Porter, R.. Selective excitation of
518 corticofugal neurones by surface-anodal stimulation of the baboon's motor
519 cortex. **Jornal of Physiology**, 161, pp.73-9, 1962.
- 520 30. Andrade, S.; Oliveira, E.. Estimulação transcraniana por corrente contínua no
521 tratamento do acidente vascular cerebral: revisão de literatura. **Revista**
522 **Neurociências** 2015.
- 523 31. Thair, H.; Holloway, A.; Newport, R.; Smith, A. R.. Transcranial direct current
524 stimulation (TDCS): a beginner's guide for desing and implementation.
525 **Frontiers in Neurosciense**, 2017.
- 526
- 527
- 528
- 529
- 530
- 531
- 532
- 533
- 534
- 535
- 536
- 537
- 538
- 539



540 **Anexo I – Diretrizes para autores da revista Plos One**

541

542 **Formato de arquivo**

543 • Os arquivos manuscritos podem estar nos seguintes formatos: DOC, DOCX ou
544 RTF. Os documentos do Microsoft Word não devem ser bloqueados ou
545 protegidos.

546 • Manuscritos LaTeX devem ser submetidos como PDFs. Leia as diretrizes do
547 LaTeX.

548 •

549 **Comprimento**

550 • Os manuscritos podem ter qualquer comprimento. Não há restrições quanto à
551 contagem de palavras, número de algarismos ou quantidade de informações
552 de apoio.

553 • Nós o encorajamos a apresentar e discutir suas descobertas de forma concisa.

554

555 **Fonte**

556 • Use um tamanho de fonte padrão e qualquer fonte padrão, exceto a fonte
557 chamada “Símbolo”. Para adicionar símbolos ao manuscrito, use a função
558 Inserir → Símbolo em seu processador de texto ou cole o caractere Unicode
559 apropriado.

560

561 **Títulos**

562 • Limite as seções e subseções do manuscrito a 3 níveis de título. Certifique-se
563 de que os níveis dos cabeçalhos estejam claramente indicados no texto do
564 manuscrito.



565

566 **Layout e espaçamento**

- 567 • O texto do manuscrito deve estar em espaço duplo.
- 568 • Não formate o texto em várias colunas.
- 569 • Inclua os números das páginas e das linhas no arquivo do manuscrito. Use
- 570 números de linha contínua (não reinicie a numeração em cada página).

571

572 **Notas de rodapé**

- 573 • Notas de rodapé não são permitidas. Se o seu manuscrito contém notas de
- 574 rodapé, mova as informações para o texto principal ou a lista de referências,
- 575 dependendo do conteúdo.

576

577 **Abreviações**

- 578 • Defina as abreviações na primeira aparição no texto.
- 579 • Não use abreviações fora do padrão, a menos que apareçam pelo menos três
- 580 vezes no texto.
- 581 • Mantenha o mínimo de abreviações.

582

583 **Estilo de referência**

- 584 • O PLOS usa o estilo “Vancouver”, conforme descrito nas referências de
- 585 exemplo do ICMJE.

586

587 **Organização do Manuscrito**

- 588 Os manuscritos devem ser organizados da seguinte forma. As instruções para
- 589 cada elemento aparecem abaixo da lista.



590

591 **Seção inicial**

592 Os seguintes elementos são obrigatórios, em ordem:

593 • Página de título: liste o título, os autores e as afiliações na primeira página do
594 manuscrito

595 • Resumo

596 • Introdução

597

598 **Seção intermediária**

599 Os seguintes elementos podem ser renomeados conforme necessário e apresentados
600 em qualquer ordem:

601 • Materiais e métodos

602 • Resultados

603 • Discussão

604 • Conclusões (opcional)

605

606 **Seção final**

607 Os seguintes elementos são obrigatórios, em ordem:

608 • Agradecimentos

609 • Referências

610 • Legendas de informações de apoio (se aplicável)

611 • Outros elementos

612

613 **Folha de rosto**

614 O título, autores e afiliações devem ser incluídos em uma página de título como



615 a primeira página do arquivo do manuscrito.

616

617 **Resumo**

618 O Resumo vem após a página de título no arquivo do manuscrito. O resumo deve:

- 619 • Descrever o (s) objetivo (s) principal (is) do estudo
- 620 • Explicar como o estudo foi feito, incluindo, sem detalhes metodológicos
- 621 • Resuma os resultados mais importantes e seu significado
- 622 • Não deve exceder 300 palavras

623 O resumo não deve incluir:

- 624 • Citações
- 625 • Abreviações, se possível

626

627 **Introdução**

628 A introdução deve:

- 629 • Fornecer uma base que coloca o manuscrito em contexto e permite que os
630 leitores fora do campo compreendam o propósito e a importância do estudo
- 631 • Definir o problema abordado e por que ele é importante
- 632 • Incluir uma breve revisão da literatura-chave
- 633 • Observe quaisquer controvérsias ou desacordos relevantes no campo
- 634 • Conclua com uma breve declaração do objetivo geral do trabalho e um
635 comentário sobre se esse objetivo foi alcançado

636

637 **Materiais e métodos**

638 A seção Materiais e Métodos deve:

- 639 • Fornecer detalhes suficientes para permitir que pesquisadores devidamente



640 qualificados reproduzam totalmente o seu estudo.

641 • Informações e / ou protocolos específicos para novos métodos devem ser
642 incluídos em detalhes.

643 • Se os materiais, métodos e protocolos estiverem bem estabelecidos, os autores
644 podem citar artigos onde esses protocolos são descritos em detalhes, mas a
645 submissão deve incluir informações suficientes para serem compreendidos
646 independentemente dessas referências.

647

648 **Resultados, discussão, conclusões**

649 Essas seções podem ser separadas ou podem ser combinadas para criar uma
650 seção mista de Resultados / Discussão (comumente denominada “Resultados e
651 Discussão”) ou uma seção mista de Discussão / Conclusões (comumente denominada
652 “Discussão”). Essas seções podem ser divididas em subseções, cada uma com um
653 subtítulo conciso, conforme apropriado. Essas seções não têm limite de palavras, mas
654 a linguagem deve ser clara e concisa.

655 Juntas, essas seções devem descrever os resultados dos experimentos, a
656 interpretação desses resultados e as conclusões que podem ser tiradas.

657 Os autores devem explicar como os resultados se relacionam com a hipótese
658 apresentada como a base do estudo e fornecer uma explicação sucinta das
659 implicações dos resultados, particularmente em relação a estudos anteriores
660 relacionados e possíveis direções futuras de pesquisa.

661 As decisões editoriais da PLOS ONE não dependem da significância ou
662 impacto percebidos, então os autores devem evitar exagerar em suas conclusões.

663 Consulte os critérios PLOS ONE para publicação para obter mais informações.

664



665 **Agradecimentos**

666 Aqueles que contribuíram para o trabalho, mas não atendem aos nossos
667 critérios de autoria, devem ser listados nos Agradecimentos com uma descrição da
668 contribuição. Os autores são responsáveis por garantir que qualquer pessoa nomeada
669 nos Agradecimentos concorde em ser nomeada.

670

671 **Referências**

672 Todos e quaisquer trabalhos disponíveis podem ser citados na lista de
673 referências. As fontes aceitáveis incluem:

- 674 • Manuscritos publicados ou aceitos
675 • Manuscritos em servidores de pré-impressão, desde que o manuscrito tenha
676 um DOI citável ou URL arXiv.

677 Não cite as seguintes fontes na lista de referência:

- 678 • Trabalho indisponível e não publicado, incluindo manuscritos que foram
679 submetidos, mas ainda não aceitos (por exemplo, "trabalho não publicado",
680 "dados não mostrados"). Em vez disso, inclua esses dados como material
681 complementar ou deposite os dados em um banco de dados disponível
682 publicamente.
- 683 • Comunicações pessoais (devem ser apoiadas por uma carta dos autores
684 relevantes, mas não incluídas na lista de referências)
- 685 • A pesquisa enviada não deve se basear em pesquisas retratadas. Você deve
686 evitar citar artigos retratados, a menos que precise discutir um trabalho
687 retratado para fornecer um contexto histórico para a pesquisa enviada. Se for
688 necessário discutir o trabalho retratado, declare o status do artigo retratado no
689 texto e na lista de referências de seu artigo.



690 Certifique-se de que sua lista de referência inclui detalhes completos e atuais
691 da bibliografia para cada trabalho citado no momento da submissão do seu artigo (e
692 publicação, se aceito). Se o trabalho citado for corrigido, retratado ou marcado com
693 uma expressão de preocupação antes de seu artigo ser publicado, e se você sentir
694 que é apropriado citar o trabalho mesmo à luz do aviso de pós-publicação, inclua em
695 seu manuscrito as citações e referências completas para o artigo afetado e o aviso de
696 pós-publicação. Envie um e-mail para o escritório do jornal se tiver dúvidas.

697 As referências são listadas no final do manuscrito e numeradas na ordem em
698 que aparecem no texto. No texto, cite o número de referência entre colchetes (por
699 exemplo, "Usamos as técnicas desenvolvidas por nossos colegas [19] para analisar
700 os dados"). PLOS usa o método de citação numerada (sequência de citação) e os
701 primeiros seis autores, et al.

702 Não inclua citações em resumos.

703 Certifique-se de que as partes do manuscrito estão na ordem correta antes de
704 ordenar as citações.

705

706 **Figuras**

707 Cite as figuras em ordem numérica crescente na primeira aparição no arquivo
708 do manuscrito. As legendas das figuras devem ser inseridas no texto do manuscrito,
709 imediatamente após o parágrafo em que a figura é citada pela primeira vez (ordem de
710 leitura). Não inclua legendas como parte dos arquivos da figura nem as envie em um
711 documento separado.

712 No mínimo, inclua o seguinte nas legendas das figuras:

713 Um rótulo de figura com algarismos arábicos e "Figura" abreviada para "Fig"
714 (por exemplo, Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, etc.). Combine o rótulo da sua figura com o nome



715 do arquivo carregado no envio (por exemplo, uma citação de figura da “Fig 1” deve se
716 referir a um arquivo de figura denominado “Fig1.tif”).

717 Um título conciso e descritivo

718 A legenda também pode incluir uma legenda, conforme necessário.

719

720 **Declaração de divulgação financeira**

721 Essas informações devem descrever as fontes de financiamento que apoiaram
722 o trabalho. É importante reunir esses detalhes antes do envio, porque sua declaração
723 de divulgação financeira não pode ser alterada após o envio inicial sem a aprovação
724 do jornal. Se o seu manuscrito for publicado, sua declaração aparecerá na seção
725 Financiamento do artigo.

726

727 As diretrizes completas se encontram no link:
728 <https://journals.plos.org/plosone/s/submission-guidelines>