

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

LUIZ HENRIQUE SOARES SANTOS STEFANO

Efeitos da estimulação elétrica transcraniana de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral em humanos saudáveis: ensaio clínico randomizado e controlado

TESE DE DOUTORADO

Ribeirão Preto

2023

LUIZ HENRIQUE SOARES SANTOS STEFANO

Efeitos da estimulação elétrica transcraniana de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral em humanos saudáveis: ensaio clínico randomizado e controlado

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Neurologia

Área de Concentração: Neurologia

Orientador: Profa. Dra. Taiza Elaine Grespan Santos Edwards

Coorientador: Prof. Dr. Octavio Marques Pontes Neto

Ribeirão Preto

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Soares Santos Stefano, Luiz Henrique

Efeitos da estimulação elétrica transcraniana de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral em humanos saudáveis: ensaio clínico randomizado e controlado

Ribeirão Preto, 2023. p 61 : il; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.
Área de concentração: Neurologia

Orientadora: Grespan Santos Edwards, Taiza Elaine

1. Estimulação transcraniana não invasiva 2. Hemodinâmica cerebral 3. Doppler transcraniano

Folha de Aprovação

Luiz Henrique Soares Santos Stefano

Efeitos da estimulação elétrica transcraniana de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral em humanos saudáveis: ensaio clínico randomizado e controlado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção de título de Doutor.

Área de concentração: Neurologia

Aprovado em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ - Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ - Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ - Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ - Instituição:

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a minha orientadora, Dra Taiza, pelo aprendizado, por toda paciência neste processo e por confiar a mim a realização desta pesquisa científica.

Obrigado aos meus pais por sempre me incentivarem com os estudos e estarem presentes nos momentos mais difíceis.

Agradeço a ajuda dos amigos e colaboradores do laboratório, especialmente Diandra e Luan, que contribuíram de forma inestimável para a realização deste trabalho.

Obrigado aos professores do departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento por todo aprendizado durante estes anos.

Agradeço ao Dr. Octavio, pelas oportunidades e aprendizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES).

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

“O sucesso deve ser medido não pela posição que uma pessoa alcançou na vida, mas sim pelos obstáculos que ela superou.”

(Booker T. Washington)

RESUMO

SOARES SANTOS STEFANO, LH. **Efeitos da estimulação elétrica transcraniana de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral em humanos saudáveis: ensaio clínico randomizado e controlado.** Ribeirão Preto. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Universidade de São Paulo, 2023. Tese de doutorado em Neurologia.

Os métodos de estimulação transcraniana não invasiva possibilitam a modulação da atividade cerebral, sendo amplamente estudados nos últimos 25 anos a fim de auxiliar a compreensão de aspectos neurofisiológicos e a reabilitação em pacientes após acidente vascular cerebral (AVC). Dentre essas técnicas destaca-se a estimulação elétrica por corrente contínua de alta definição, a qual permite melhor controle dos parâmetros de estimulação, menor custo em relação a outros métodos, além de fácil integração com equipamentos de monitorização. Os efeitos e possibilidades terapêuticas da estimulação transcraniana não invasiva são bem conhecidos, porém poucos são os estudos sobre a repercussão dessas técnicas na hemodinâmica cerebral. Assim, o objetivo geral desta pesquisa foi avaliar a repercussão da estimulação cerebral não invasiva sobre a hemodinâmica cerebral utilizando monitorização da artéria cerebral média bilateralmente com ultrassom doppler transcraniano, a qual foi realizada antes, durante e após a estimulação elétrica por corrente contínua de alta definição. O objetivo primário deste estudo foi avaliar a segurança da estimulação transcraniana não invasiva de alta definição em indivíduos saudáveis. Os objetivos secundários foram avaliar se há algum efeito colateral da estimulação e investigar se ocorre alteração significativa nas velocidades de fluxo da artéria cerebral média em ambos os hemisférios cerebrais. Foram recrutados 11 indivíduos saudáveis foram incluídos randomicamente no estudo e foram estimulados com um protocolo que consistiu em 3 blocos de 2 minutos para cada intensidade de estimulação (1, 2 e 3mA), com um intervalo de 5 minutos entre cada bloco. Os participantes receberam 3 condições de estimulação (ânodo central, cátodo central e placebo) em 3 dias diferentes. Não houve qualquer efeito colateral ou desconforto significativo durante ou após a estimulação. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as velocidades médias de fluxo da artéria cerebral média durante ou após a estimulação. Desta forma, concluímos que não há alteração significativa do fluxo sanguíneo cerebral local e remotamente durante e após a estimulação, em todas as condições realizadas, tal como não houve efeitos colaterais significativos da estimulação, o que remete à segurança da estimulação elétrica por corrente contínua de alta definição. Ensaio clínico futuros são necessários para confirmar se resultados semelhantes podem ser encontrados em pacientes após AVC.

Palavras-chave: Estimulação elétrica transcraniana de alta definição, segurança, hemodinâmica cerebral, ultrassom doppler transcraniano.

ABSTRACT

SOARES SANTOS STEFANO, LH. **Effects of high definition transcranial electric stimulation on cerebral hemodynamics in healthy humans: A randomized controlled clinical trial.** Medical School of Ribeirão Preto; University of São Paulo, 2023. P. Doctoral thesis in Neurology.

The non-invasive transcranial stimulation methods induce brain activity modulation and have been widely studied over the last 25 years. These promising techniques can aid in stroke rehabilitation, which is the leading cause of permanent disability worldwide. Among these techniques, high-definition direct current stimulation stands out, allowing better control of stimulation parameters, lower cost, and easy integration with monitoring equipment. The effects and therapeutic possibilities of non-invasive transcranial stimulation are well known, but few studies have evaluated the impact of these techniques on cerebral hemodynamics. The general objective of this research was to evaluate the impact of non-invasive brain stimulation on cerebral hemodynamics, using transcranial Doppler ultrasound to assess the middle cerebral artery velocities in both brain hemispheres, which was performed before, during, and after high-definition direct current stimulation. The primary goal of this study was to evaluate the safety of non-invasive high-definition transcranial stimulation in healthy subjects, setting the path for future studies in stroke patients. The secondary goals were to assess possible side effects of the stimulation and evaluate if there was a significant change in the middle cerebral arteries flow velocities in both hemispheres. Eleven healthy subjects were randomly included and were stimulated with a protocol that consisted of 3 blocks of 2 minutes of stimulation intensity (1, 2, and 3 mA), with a 5-minute interval between each block. Participants received 3 stimulation conditions (central anode, central cathode, and sham) on 3 different days. There were no significant side effects or discomfort during and after stimulation, and there was no statistically significant difference between the mean flow velocities of the middle cerebral artery during or after stimulation. We concluded that there is no significant change in cerebral blood flow, either locally or remotely, during and after stimulation, in all conditions performed, and there were no significant side effects of stimulation, which reinforces the safety of high-definition direct current stimulation. New randomized clinical trials are needed to confirm if same results can be found in post-stroke patients.

Key words: High definition direct current stimulation, safety, cerebral hemodynamics, transcranial doppler ultrasound

LISTA DE ABREVIATURAS

TDCS convencional	Estimulação transcraniana por corrente continua
HD-tDCS	Estimulação elétrica transcraniana de alta definição
TMS	Estimulação magnética transcraniana
AVC	Acidente vascular cerebral
fNIRS	Espectroscopia funcional por infravermelho
ATP	Adenosina trifosfato
PSV	Velocidade de pico sistólico
EDV	Velocidade diastólica final
AC	Ânodo central
CC:	Cátodo central
SH	Sham
SD	Desvio padrão
IQ	Intervalo interquartil
MCA-BFv direita	Varição da velocidade média da artéria cerebral média
CO ₂	Gás carbônico

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1. Detalhes da técnica de Giovani Aldini, utilizando um estimulador de corrente elétrica contínua a partir de um gerador galvânico.</u>	15
<u>Figura 2. Mudanças na excitabilidade cortical durante o tempo aferidas por 5 minutos após a estimulação de 1 mA. As amplitudes dos potenciais evocados retornam a linha de base após 5 minutos. (P < 0,05).</u>	16
<u>Figura 3. Modelo computacional ilustrando a montagem dos eletrodos (TES 4X1) do HD-tDCS. Observa-se o potencial evocado motor quando o estímulo é aplicado sobre o córtex motor (C3).</u>	17
<u>Figura 4. Exemplo de aparelho de estimulação elétrica por corrente contínua de alta definição, o qual foi utilizado nesta pesquisa.</u>	19
<u>Figura 5. Exemplo de aparelho de ultrassom doppler transcraniano, o qual foi utilizado nesta pesquisa.</u>	24
<u>Figura 6. Montagem dos eletrodos do HD-tDCS sobre a junção têmporo-parietal direita (TES 4X1).</u>	29
<u>Figura 7. Protocolo de estimulação. Contém a data da avaliação, a montagem do eletrodo (cátodo, ânodo ou sham) e o grau de desconforto ao iniciar e depois da estimulação. Na parte inferior são descritas a intensidade da estimulação em cada bloco e as velocidades médias da artéria cerebral média de ambos os hemisférios cerebrais avaliada pelo ultrassom doppler transcraniano em cada momento (início da estimulação, 1 minuto de estimulação, 2 minutos ao finalizar a estimulação, além do início do repouso e final do repouso, que compreende o quinto minuto após o fim da estimulação).</u>	31
<u>Figura 8. Escala visual analógica de desconforto.</u>	32
<u>Figura 9. Monitorização com doppler transcraniano e montagem completa do HD-tDCS sobre a junção têmporo-parietal direita. Observa-se a onda espectral da artéria cerebral média bilateralmente no display do aparelho.</u>	33
<u>Figura 10. O protocolo de HD-tDCS não induziu resposta vascular significativa. a) Modelo computadorizado usando a montagem de eletrodo 3 × 1 HD-tDCS sobre a junção temporo-parietal direita previu o campo elétrico induzido no cérebro publicado anteriormente por Santos et al. (2018) (45). b) Em outro estudo, foi avaliado a diferença entre a percepção visual vertical no início e 2 minutos após o término da HD-tDCS com intensidades de corrente de 1, 2 e 3 mA. Houve efeitos específicos de intensidade e polaridade somente após a condição de estimulação cátodo. A inserção representa a linha dentro do balde usada para avaliar a percepção visual vertical da perspectiva do participante. As setas ilustram o lado de rotação do balde; publicado anteriormente por Santos et al. (2018) (45). c) Montagem completa do presente estudo, demonstrando a monitorização por ultrassom doppler transcraniano e a estimulação por HD-tDCS. d) Diferença entre a velocidade do fluxo sanguíneo da artéria cerebral média (expressa em porcentagem) avaliada no início e 2 minutos após o término da estimulação por HD-tDCS com intensidades de corrente de 1, 2 e 3 mA, sem alteração significativa. A inserção representa uma amostra de dados do doppler transcraniano (imagem do monitor) durante o HD-tDCS a 3 mA. (a-b) Imagens de acesso aberto. O consentimento informado por escrito foi obtido dos participantes para a publicação da imagem c.</u>	37

<u>Figura 11 a) Variação da velocidade média (MCA-BFv) da artéria cerebral média direita (grafico superior) e b) Variação da Velocidade média da artéria cerebral média esquerda (gráfico inferior). Em ambos os hemisférios cerebrais e condições de estimulação não houve alteração significativa.</u>	<u>38</u>
<u>Figura 12. <i>Graphical abstract</i> do artigo publicado.</u>	<u>39</u>

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1.</u> Randomização do HD-tDCs para as condições de estimulação e intensidade.....	30
<u>Tabela 2.</u> Descrição da média e desvio padrão da pontuação na escala visual analógica de desconforto para cada intensidade e modo de estimulação.	35
<u>Tabela 3.</u> Descrição da média e mediana das velocidades da artéria cerebral média direita e esquerda antes da estimulação, em cada intensidade e em cada condição de estimulação.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 HISTÓRICO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA NÃO INVASIVA	14
1.2 MÉTODOS DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA NÃO INVASIVA	18
1.2.1 Estimulação elétrica por corrente contínua	18
1.2.2 Estimulação magnética transcraniana	19
1.3 UTILIDADE DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA NÃO INVASIVA NA REABILITAÇÃO DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL	20
1.4 HEMODINÂMICA CEREBRAL	21
1.5 ULTRASSOM DOPPLER TRANSCRANIANO	22
1.6 FRONTEIRA CIENTÍFICA E CONTEXTUALIZAÇÃO DO ESTUDO	24
2. OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	27
3.2 DESENHO DO ESTUDO	27
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	27
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	27
3.5 PROTOCOLO DE ESTIMULAÇÃO	28
3.6 PROTOCOLO DE MONITORIZAÇÃO COM ULTRASSOM DOPPLER TRANSCRANIANO	32
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
4. RESULTADOS	35
4.1 RESULTADOS DA PESQUISA	35
4.1 PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS	38
5. CONCLUSÃO E DISCUSSÃO	40
5.1 CONCLUSÃO A PARTIR DOS RESULTADOS E DO OBJETIVO PRIMÁRIO	40
5.2 DISCUSSÃO E COMPARAÇÃO COM OUTROS ESTUDOS	40
5.3 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	42
5.4 UTILIDADE PRÁTICA DESTA PESQUISA E PRÓXIMOS PASSOS	43
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
6. ANEXOS	50

1. INTRODUÇÃO

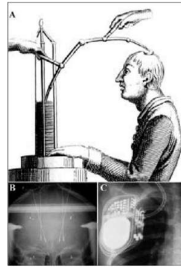
1.1 Histórico da estimulação transcraniana não invasiva

A estimulação transcraniana não invasiva consiste em técnicas que possibilitam inibir, excitar ou modular a atividade neuronal de forma não invasiva visando efeitos terapêuticos, os quais vem sendo amplamente estudados, com aplicações em diversas áreas da prática clínica.

O interesse científico destas técnicas se intensificou nos últimos 25 anos, período no qual foram realizados diversos estudos visando avaliar a eficácia, perfil de efeitos colaterais, segurança e aplicabilidade em diferentes contextos clínicos. No final do século vinte, os estudos de Priori e colaboradores (PRIORI, 2003) e Nietsche e Paulus (NITSCHKE; PAULUS, 2000) demonstraram que a excitabilidade do córtex motor primário poderia ser modulada de forma satisfatória em indivíduos saudáveis utilizando uma corrente elétrica de baixa intensidade, através de eletrodos posicionados no escalpo. O resultado destes estudos intensificou o interesse pela estimulação transcraniana não invasiva, levando a diversas publicações e aprimoramento das técnicas (MOSILHY et al., 2022)

Apesar do grande interesse científico e clínico atual, o uso da estimulação transcraniana não invasiva remonta a Roma antiga, onde foi descrito pelo médico romano Scribonius Largus o uso de descargas elétricas geradas pelo peixe torpedo para tratamento de cefaléia (UTZ et al., 2010). Ainda no século XVIII, após a invenção da bateria galvânica por Luigi Galvani, a qual gerava uma corrente elétrica contínua, Giovanni Aldini foi o primeiro a utilizá-la para fins terapêuticos em um paciente de 27 anos que sofria de depressão maior, internado no Hospital Santo Orsola na Itália em maio de 1801. Foi descrito uma melhora progressiva do humor com algumas semanas aplicando o tratamento com corrente elétrica contínua (PARENT, 2004).

Figura 1. Detalhes da técnica de Giovanni Aldini, utilizando um estimulador de corrente elétrica contínua a partir de um gerador galvânico.



Fonte: A. Giovanni. Essai Theorique Et Experimental Sur Le Galvanisme. De l'Imprimerie de Fournier Fils, 1804.

A partir do trabalho de Aldini, o qual foi um marco para o uso e aprimoramento da estimulação elétrica por corrente contínua nas ciências médicas, pesquisadores pioneiros na Alemanha em 1880 começaram a desenvolver protocolos para tratamento de distúrbios psiquiátricos utilizando corrente elétrica contínua, constituindo as bases da eletroconvulsoterapia, que se desenvolveu em paralelo a outras técnicas de estimulação elétrica contínua como estimulação galvânica vestibular, micropolarização transcraniana, corrente polarizante, dentre outros (STEINBERG, 2013).

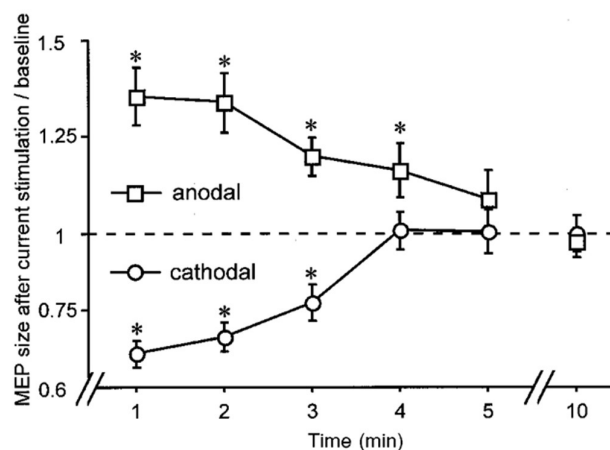
Muitos pesquisadores utilizaram a estimulação elétrica por corrente contínua para tratamento de distúrbios psiquiátricos durante o século XIX e início do século XX, porém a variação de procedimentos sem uma formalização e definição protocolar das técnicas levou a resultados inconclusivos, sendo abandonado o uso da estimulação elétrica por corrente contínua na década de 1930 (STEINBERG, 2013).

Na década de 1960 renova-se o interesse pela estimulação elétrica, motivado por estudos experimentais em animais demonstrando que a estimulação elétrica por corrente contínua produzia efeitos na excitabilidade do córtex cerebral: a estimulação com a polaridade positiva (ânodo) determinava aumento na atividade motora, estado de alerta e humor, enquanto imulação com polaridade negativa (cátodo) induzia a apatia e menor atividade motora(GULEYUPOGLU et al., 2013).

Foi apenas a partir de 1998 que as bases modernas da neuromodulação se desenvolveram a partir dos estudos de Priori e colaboradores (PRIORI, 2003), e Nietsche e Paulus (NITSCHKE; PAULUS, 2000), demonstrando efeitos prolongados na excitabilidade cortical utilizando estimulação por corrente contínua de curta duração e baixa intensidade (TDCS) em humanos. Nestes estudos a excitabilidade cortical foi reduzida com a estimulação por cátodo levando a hiperpolarização neuronal, enquanto a estimulação por ânodo determinou aumento da excitabilidade cortical com despolarização neuronal demonstrada por descargas espontâneas e aumento de amplitude dos potenciais evocados motores dos neurônios.

Para realizar o experimento com TDCS, Nietsche e Paulus utilizaram 2 eletrodos colocados no escalpo (1 eletrodo sobre a topografia do córtex motor e outro contralateral) utilizando uma esponja embebida em solução salina como condutor, ligado a um estimulador de 1 mA. A corrente era ligada por 1-5 minutos e os potenciais evocados motores eram aferidos antes da estimulação logo em seguida por 5 minutos após (NITSCHKE; PAULUS, 2000).

Figura 2. Mudanças na excitabilidade cortical durante o tempo aferidas por 5 minutos após a estimulação de 1 mA. As amplitudes dos potenciais evocados retornam a linha de base após 5 minutos. ($P < 0,05$).

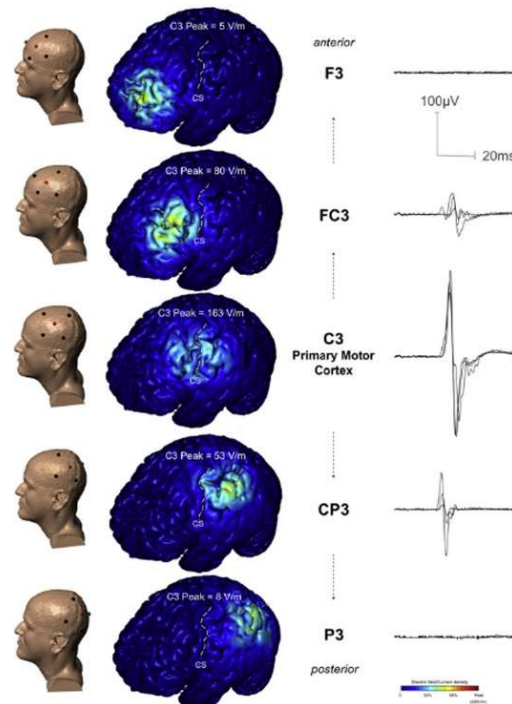


Fonte: Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, 527(3), 633–639.

Deste modo, o TDCS mostrou-se uma técnica de estimulação não-invasiva eficaz, muito bem tolerada e com grande potencial clínico e científico, impulsionando a partir daí um enorme número de publicações e o aprimoramento desta técnica.

O progresso com a tecnologia de microncontroladores permitiu o desenvolvimento de equipamentos de estimulação elétrica transcraniana de alta definição (HD-tDCS) – inclusive o desenvolvimento de modelos computacionais estimando o campo elétrico cortical - muito precisos e que permitem melhor controle dos parâmetros de estimulação, além de fácil integração com equipamentos de monitorização (EDWARDS et al., 2013).

Figura 3. Modelo computacional ilustrando a montagem dos eletrodos (TES 4X1) do HD-tDCS. Observa-se o potencial evocado motor quando o estímulo é aplicado sobre o córtex motor (C3).



Fonte: Edwards, D., Cortes, M., Datta, A., Minhas, P., Wassermann, E. M., & Bikson, M. (2013). Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: A basis for high-definition tDCS. *NeuroImage*, 74, 266–275.

1.2 Métodos de estimulação transcraniana não invasiva

1.2.1 Estimulação elétrica por corrente contínua

Esta técnica envolve a aplicação de corrente elétrica contínua de baixa amplitude (1-2 mA) através de 2 eletrodos superficiais no couro cabeludo sobre a área cortical a ser estimulada, utilizando um aparelho de estimulação de baixa voltagem. Os eletrodos são divergentes em polaridade, onde o eletrodo positivo é denominado ânodo e o negativo, cátodo. A corrente é aplicada de forma contínua, por um período de 5 a 15 minutos (NITSCHKE; PAULUS, 2000).

Estudos demonstraram um aumento da excitabilidade cortical sobre o ânodo e uma redução sobre o cátodo (NITSCHKE; PAULUS, 2000; UTZ et al., 2010). A exposição dos neurônios à corrente elétrica contínua de baixa amplitude também influencia na função neuronal a nível regional, podendo ter efeitos duradouros, não apenas modificando padrões de ativação dos neurônios e excitabilidade cortical, mas também alterações sinápticas que são responsáveis pelos efeitos prolongados da estimulação (BIKSON; REATO; RAHMAN, 2012).

Os mecanismos de ação determinando os efeitos da estimulação elétrica transcraniana descritos consistem em:

- a) Alteração do potencial de repouso da membrana pós-sináptica e transcrição gênica: A Corrente elétrica positiva (ânodo) altera a permeabilidade da membrana a nível da bomba de sódio do neurônio, determinando o influxo de íons sódio e facilitando a despolarização. No caso do estímulo negativo (cátodo), ocorre aumento da permeabilidade dos íons potássio, facilitando a hiperpolarização dos neurônios. Soma-se a este mecanismo, no caso do ânodo, o estímulo à transcrição gênica das proteínas CAMK2 as quais aumentam a permeabilidade dos canais de sódio (LIEBETANZ et al., [s.d.]).
- b) Ativação dendrítica: Kromberg e colaboradores (14) demonstraram que a estimulação com ânodo despolarizou os dendritos basais e hiperpolarizou dendritos apicais, com efeito oposto na estimulação com cátodo, auxiliando modulação da neuroplasticidade. Este mecanismo ainda carece de maior investigação.

- c) Tempo de estimulação: Realizar estimulação com ânodo por um período maior que 30 minutos resultou em efeito inibitório ao invés de excitatório, sem alterações quando realizada a estimulação com cátodo. Isso deve ocorrer pela exaustão de neurotransmissores num meio de hiperestimulação associado a uma menor recaptação dos íons cálcio pelo neurônio pré-sináptico (MONTE-SILVA et al., 2013).
- d) Mecanismo vascular: Mais detalhado a frente no tópico “hemodinâmica cerebral”, estudos avaliando os efeitos do TDCS sobre o fluxo sanguíneo cerebral de forma indireta, utilizando ressonância magnética funcional, observaram um aumento do fluxo sanguíneo local que é sustentado após o fim da estimulação (ZHENG; ALSOP; SCHLAUG, 2011). Mais detalhes serão abordados no tópico “hemodinâmica cerebral”.

A habilidade de alterar a excitabilidade cortical e atividade sináptica regional levou a um grande interesse deste método tanto a nível terapêutico como ferramenta de pesquisa em neurociências. Dessa forma houve uma evolução para o HD-tDCS, o qual foi desenvolvido como método mais eficaz, capaz de direcionar a corrente de forma mais precisa para a região a ser estimulada, atingir melhor penetração cortical e maior duração de seus efeitos (KUO et al., 2013)

Figura 4. Exemplo de aparelho de estimulação elétrica por corrente contínua de alta definição, o qual foi utilizado nesta pesquisa.



Fonte: arquivo pessoal. 2020.

1.2.2 Estimulação magnética transcraniana

O primeiro aparelho de estimulação magnética transcraniana (TMS) foi desenvolvido por Barker e colaboradores em 1985 e rapidamente surgiram estudos clínicos, principalmente para aplicação na área da neuropsiquiatria

(BARKER; JALINOUS; FREESTON, 1985). Este método consiste em utilizar um campo magnético para estimular o tecido cerebral, o qual induz uma corrente elétrica que despolariza os neurônios. Este campo magnético é gerado através de uma bobina condutora a qual recebe energia elétrica de um capacitor. É o método de estimulação transcraniana não invasiva mais estudado, além da estimulação elétrica por corrente contínua (LEWIS et al., 2016).

Os efeitos da estimulação magnética transcraniana dependem da frequência dos pulsos de estimulação, determinando mudanças na eficiência sináptica de forma que baixas frequências (<1 Hertz), a TMS é inibitória, enquanto nas frequências acima de 5 Hertz o efeito do estímulo é excitatório (CHEN et al., 2015). Outros mecanismos propostos para os efeitos da estimulação consistem em mudança nos fatores neurotróficos e alteração da conectividade funcional entre os circuitos cerebrais (KLOMJA; KATZ; LACKMY-VALLÉE, 2015).

1.3 Utilidade da estimulação transcraniana não invasiva na reabilitação do acidente vascular cerebral

O acidente vascular cerebral (AVC) é a principal causa de incapacidade no mundo; a cada ano em torno de 12 milhões de pessoas sofrem um AVC e 5 milhões permanecem incapacitadas (ZHANG et al., 2021). Dificuldade de marcha e equilíbrio afetam 2/3 dos indivíduos com AVC determinando alta limitação e piora da qualidade de vida. Portanto o desenvolvimento e aplicação de métodos que favoreçam a recuperação destes déficits é prioridade na reabilitação do AVC (POLLOCK et al., 2012).

As técnicas de neuromodulação não invasiva são uma ferramenta eficaz no auxílio à recuperação do déficit neurológico, possibilitando a modulação prolongada da rede neural, incluindo a plasticidade neural mal adaptativa onde ocorre inibição cortical pelo hemisfério saudável. Outro mecanismo importante seria a estimulação dos neurônios viáveis na região da lesão isquêmica (ELSNER et al., 2013; ROCHE; GEIGER; BUSSEL, 2015).

1.4 Hemodinâmica Cerebral

Muitos estudos investigaram a fisiologia e as aplicações clínicas da estimulação transcraniana não-invasiva, porém seus efeitos hemodinâmicos foram pouco explorados. Alguns trabalhos utilizando ressonância magnética funcional, espectroscopia funcional por infravermelho (fNIRS) e tomografia por emissão de pósitrons junto ao TDCS observaram alterações no fluxo sanguíneo cerebral e da oxigenação cerebral aferidos por estes métodos (LANG et al., 2005; MERZAGORA et al., 2010; ZHENG; ALSOP; SCHLAUG, 2011). Estes efeitos provavelmente decorrem do estímulo direto aos vasos sanguíneos cerebrais, assim como uma maior demanda metabólica pela ativação das vias neurais e modulação da atividade glutamatérgica a qual leva a uma potenciação de longa duração (ROCHE; GEIGER; BUSSEL, 2015).

Para melhor compreensão deste processo de interação entre a estimulação transcraniana não invasiva e a circulação cerebral, é importante a compreensão do conceito de unidade neurovascular. Esta consiste em um conjunto de neurônios, astrócitos e pericitos próximos ao endotélio dos capilares, ocorrendo uma interligação entre esses elementos celulares. Esta estrutura por eles formada possui a mais próxima relação espacial e temporal entre o fluxo sanguíneo cerebral e a atividade neural (GIROUARD; IADECOLA, 2006).

Os neurônios da unidade neurovascular detectam variações do suprimento de oxigênio e nutrientes, enviando sinais elétricos e químicos (alteração nos níveis de glutamato e ácido gama-aminobutírico) aos interneurônios e astrócitos adjacentes para a ativação dos mecanismos de ajuste do fluxo sanguíneo necessários (FIGLEY; STROMAN, 2011).

Os astrócitos da unidade neurovascular comunicam-se com os neurônios e células endoteliais estabelecendo conexões importantes para a manutenção do tônus vascular. De acordo com a atividade neuronal e consequente sinalização dos neurônios sobre as variações de oxigênio e nutrientes disponíveis, os astrócitos liberam prostaglandinas, adenosina-trifostato (ATP) e óxido nítrico, agindo sobre as células musculares lisas das arteríolas e sobre os pericitos, indiretamente causando vasodilatação ou vasoconstrição (HAYDON; CARMIGNOTO, 2006). As primeiras descrições dos astrócitos atribuía um papel

secundário e passivo destas células no funcionamento nesta estrutura (CORNELL-BELL et al., 1990), porém Cornell-Bell e colaboradores demonstraram que estas células têm capacidade de formar extensas redes de comunicação e promover os efeitos supracitados sobre as arteríolas e capilares cerebrais (CORNELL-BELL et al., 1990; HARDER; ZHANG; GEBREMEDHIN, 2002).

Por sua vez, os pericitos - células em contato direto com as células endoteliais, possuem o suporte estrutural para estas células e podem contrair-se em resposta a elevação dos níveis de adenosina-trifosfato, controlando o diâmetro dos capilares e dessa forma auxiliando a modular o fluxo sanguíneo em resposta a atividade neuronal (PEPPIATT et al., 2006).

A unidade neurovascular portanto é a estrutura fundamental do controle homeostático cerebral, através de complexas interações celulares que respondem ao metabolismo cerebral (MUOIO; PERSSON; SENDESKI, 2014). Em decorrência, o detalhamento dos efeitos da estimulação transcraniana não invasiva, em especial do HD-tDCS, sobre a hemodinâmica cerebral são fundamentais para segurança e aplicação prática deste método.

1.5 Ultrassom doppler transcraniano

Para avaliar os efeitos da estimulação transcraniana não invasiva sobre a hemodinâmica cerebral, é necessário um método que monitore e mensure as alterações circulatórias produzidas pela estimulação. Neste contexto, o ultrassom doppler transcraniano pode ser utilizado, tratando-se de uma técnica não invasiva e de baixo custo que consegue acessar com alta acurácia as velocidades médias das principais artérias da circulação cerebral com ótima resolução temporal, sem artefatos de movimento como ocorre em outras técnicas, além da possibilidade de poder ser transportado à beira leito e realizar monitorização por longo período (MAGEE, 2020).

Alguns estudos já utilizaram o ultrassom doppler transcraniano para avaliar alterações na circulação cerebral durante experimentos na área motora e cognitiva, aferindo de forma acurada alterações de velocidades de fluxo das

artérias insonadas durante tarefas motoras, verbais e cognitivas (BAKKER et al., 2014; LI et al., 2014; PANERAI, 2009).

O ultrassom doppler transcraniano utiliza os princípios do efeito doppler para aferir a velocidade das hemácias circulando nas grandes artérias cerebrais; Utiliza um probe com cristal pizoelétrico o qual transforma a eletricidade em uma onda de ultrassom que atinge a hemácia em movimento e é refletida de volta ao transdutor- este sinal é interpretado pelo software do equipamento e está variação de frequência de retorno ("*frequency shift*"), proporcional à velocidade da hemácia, é convertida em velocidade de fluxo demonstrada em centímetros por segundo (PANERAI, 2009). Este cálculo pode ser resumido pela fórmula $(f_R - f_T) = 2vf_T \cos\theta/c$, onde f_R é a frequência recebida, f_T a frequência transmitida, v é a velocidade e $\cos\theta/c$ refere-se ao cosseno do ângulo de insonação (que deve ser o mais próximo de zero possível), dividido pela velocidade de propagação da onda de ultrassom no tecido (MAGEE, 2020).

São várias as aplicações clínicas para o ultrassom doppler transcraniano, sendo as principais: avaliação de estenose arterial intracraniana e controle de recanalização no tratamento de fase aguda de AVC (MOLINA; ALEXANDROV, 2007), avaliação do fluxo sanguíneo colateral cerebral e vasorreatividade (RINGELSTEIN et al., 1990), detecção e monitorização do vasoespasma cerebral na hemorragia subaracnóide (KINCAID, 2008) e monitorização perioperatória de cirurgia cardíaca e carotídea (MARTIN et al., 2009).

Figura 5. Exemplo de aparelho de ultrassom doppler transcraniano, o qual foi utilizado nesta pesquisa.



Fonte: arquivo pessoal. 2020.

A única limitação do ultrassom doppler transcraniano, além de ser um método examinador-dependente - exigindo alto grau de treinamento e conhecimento para sua execução, é a ocorrência de dificuldade de insonação em situações onde a janela acústica temporal (local onde é posicionado o probe do aparelho e as ondas de ultrassom conseguem penetrar a barreira óssea) não é favorável; Em termos clínicos denominada “janela acústica ruim”. Esta situação pode ocorrer em torno de 20% dos indivíduos, como por exemplo em pessoas idosas e/ou com osteoporose, sendo mais comum em asiáticos (BRISSEON et al., 2021).

1.6 Fronteira científica e contextualização do estudo

Conforme mencionado, os métodos de estimulação transcraniana não invasiva são amplamente utilizados em estudos e tratamentos de diversas condições neurológicas, incluindo o acidente vascular cerebral. Frente a uma patologia inerente da circulação cerebral, que pode ser agravada em caso de alteração do fluxo sanguíneo, é necessário certificar a segurança das técnicas de estimulação não-invasivas utilizadas nos pacientes com AVC. Até o momento não havia estudos avaliando os efeitos do HD-tDCS sobre a hemodinâmica cerebral com

uma monitorização direta de fluxo sanguíneo, sendo providencial portanto a realização deste estudo.

Foi realizado um levantamento bibliográfico através da plataforma PubMed, onde não encontramos estudos avaliando a circulação cerebral por doppler transcraniano durante a a estimulação com HD-tDCS.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da estimulação transcraniana não invasiva de alta definição sobre a hemodinâmica cerebral utilizando avaliação direta da circulação cerebral por ultrassom doppler transcraniano.

2.2 Objetivos específicos

O objetivo primário deste estudo foi avaliar a segurança da estimulação transcraniana não invasiva de alta definição em indivíduos saudáveis.

Os objetivos secundários foram:

- A. Avaliar se há alguma alteração significativa na velocidade média do fluxo sanguíneo da artéria cerebral média em ambos os hemisférios cerebrais antes, durante e após a estimulação transcraniana não invasiva.
- B. Avaliar se há algum efeito colateral durante e após a estimulação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações éticas

Este estudo seguiu os princípios da declaração de Helsinky. O projeto de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa institucional (número do protocolo 9,485,212.7.0000.5440). Todos os voluntários leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de serem incluídos no estudo.

Os voluntários foram submetidos a uma técnica experimental de estimulação cerebral não invasiva, porém segura em indivíduos saudáveis, evidência a qual já é conhecida (BIKSON et al., 2016). Nenhum deles apresentou qualquer efeito adverso significativo durante ou após as sessões de estimulação.

3.2 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo randomizado controlado duplo-cego em uma única instituição, com 11 participantes saudáveis (6 mulheres e 5 homens, média de idade 31 ± 5.6 anos), sem evidência de patologias cerebrais ou cardiológicas.

3.3 Critérios de inclusão

- a. Idade entre 18 e 65 anos
- b. Não utilização de qualquer medicação de uso contínuo

3.4 Critérios de exclusão

- a. Tabagismo
- b. Cefaléia ou qualquer outra doença clínica ou psiquiátrica
- c. Janela acústica transtemporal ruim

- d. História de neurocirurgia ou traumatismo cranioencefálico
- e. Lesão local da pele, que pode comprometer o posicionamento do equipamento de estimulação e/ou do ultrassom

3.5 Protocolo de estimulação

O aparelho de HD-tDCS (Soterix Medical, New York, USA), foi operado por um investigador independente, especializado em neuromodulação não invasiva, o qual executou a montagem dos eletrodos e a estimulação.

Os eletrodos foram posicionados sobre a junção têmporo-parietal direita junto a uma touca para estimulação, num total de 4 eletrodos circulares de prata (1cm de raio, $5.99e7$ S/m), acoplados com fixadores de plástico e preenchidos por gel condutor (4mm de espessura, 1.4 cm/S).

A posição dos eletrodos foi selecionada a partir de modelos computadorizados de HD-tDCS com projeção sobre a junção temporo-parietal, que projeta a indução da corrente elétrica sobre o córtex cerebral, conforme figura 3 (SANTOS et al., 2018). O mesmo protocolo já foi utilizado para investigação dos efeitos sobre percepção de verticalidade, balanço postural e eletroencefalograma (FAVORETTO et al., 2022; SANTOS et al., 2018).

Figura 6. Montagem dos eletrodos do HD-tDCS sobre a junção têmporo-parietal direita (TES 4X1).



Fonte: arquivo pessoal. 2020.

A estimulação foi administrada em 3 blocos de 2 minutos, para cada intensidade de corrente (1, 2 e 3mA) e um intervalo de 5 minutos entre cada bloco. Os participantes receberam três condições de estimulação em dias diferentes, com intervalo mínimo de 24h:

- a. Ânodo central (com efeito de despolarização neuronal)
- b. Catodo central (com efeito “negativo”, de hiperpolarização neuronal)
- c. Sham (sem efeito de estimulação cortical)

Para garantir segredo em relação a estimulação, o aparelho de HD-tDCS foi posicionado fora do campo visual do participante e do operador do ultrassom doppler transcraniano. As condições de estimulação e intensidade da estimulação foram randomizadas em bloco (tabela 1).

Tabela 1. Randomização do HD-tDCs para as condições de estimulação e intensidade

Randomização	Sessão 1	Sessão 2	Sessão 3
A HD-tDCS polaridade	AC	CC	SH
Intensidade da corrente (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
B HD-tDCS condition	AC	CC	SH
Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
C HD-tDCS condition	AC	CC	SH
Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1
D HD-tDCS condition	CC	SH	AC
Current intensity sequence (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
E HD-tDCS condition	CC	SH	AC
Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
F HD-tDCS condition	CC	SH	AC
Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1
G HD-tDCS condition	SH	AC	CC
Current intensity sequence (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
H HD-tDCS condition	SH	AC	CC
Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
I HD-tDCS condition	SH	AC	CC
Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1

AC: anodo central; CC: catodo central; SH: placebo (*sham*).

Figura 7. Protocolo de estimulação. Contém a data da avaliação, a montagem do eletrodo (cátodo, ânodo ou sham) e o grau de desconforto ao iniciar e depois da estimulação. Na parte inferior são descritas a intensidade da estimulação em cada bloco e as velocidades médias da artéria cerebral média de ambos os hemisférios cerebrais avaliada pelo ultrassom doppler transcraniano em cada momento (início da estimulação, 1 minuto de estimulação, 2 minutos ao finalizar a estimulação, além do início do repouso e final do repouso, que compreende o quinto minuto após o fim da estimulação).

Data da avaliação: ____/____/____

Montagem HD-tDCS eletrodo central: _____

Baseline Doppler	
E	D

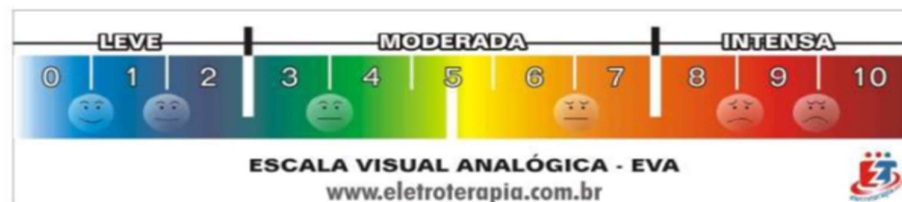
Grau desconforto ao ligar: _____ Observação: _____

Acomodação - Grau de desconforto: _____

Início Repouso		Final Repouso	
E	D	E	D

Intensidade	Início Estimulação		1 minuto Estimulação		Final Estimulação		Início Repouso		Final Repouso		Grau de Desconforto	
	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D		
Lado início DOPPLER												
1° ____mA												
2° ____mA												
3° ____mA												
4° ____mA												
5° ____mA												
6° ____mA												
7° ____mA												
8° ____mA												
9° ____mA												

No início da estimulação e após, foi questionado ao participante sobre desconforto ou alguma reação adversa, sendo aplicada a escala visual analógica de desconforto (figura 8).

Figura 8. Escala visual analógica de desconforto**ESCALA VISUAL ANALÓGICA**▪ Intensidade dos sintomas

(Adaptado de O'Sullivan SB. *Fisioterapia Avaliação e Tratamento* 2004 Ed. Manole Cap.25: 821-839)

3.6 Protocolo de monitorização com ultrassom doppler transcraniano

A monitorização com ultrassom doppler transcraniano foi realizada em uma sala silenciosa, confortável e com pouca luz, dedicada à realização de eletroencefalograma. Durante todo procedimento os participantes permaneceram imóveis em decúbito dorsal, em uma posição confortável e foram orientados a não ingerir cafeína ou álcool pelo menos 24h antes de cada sessão.

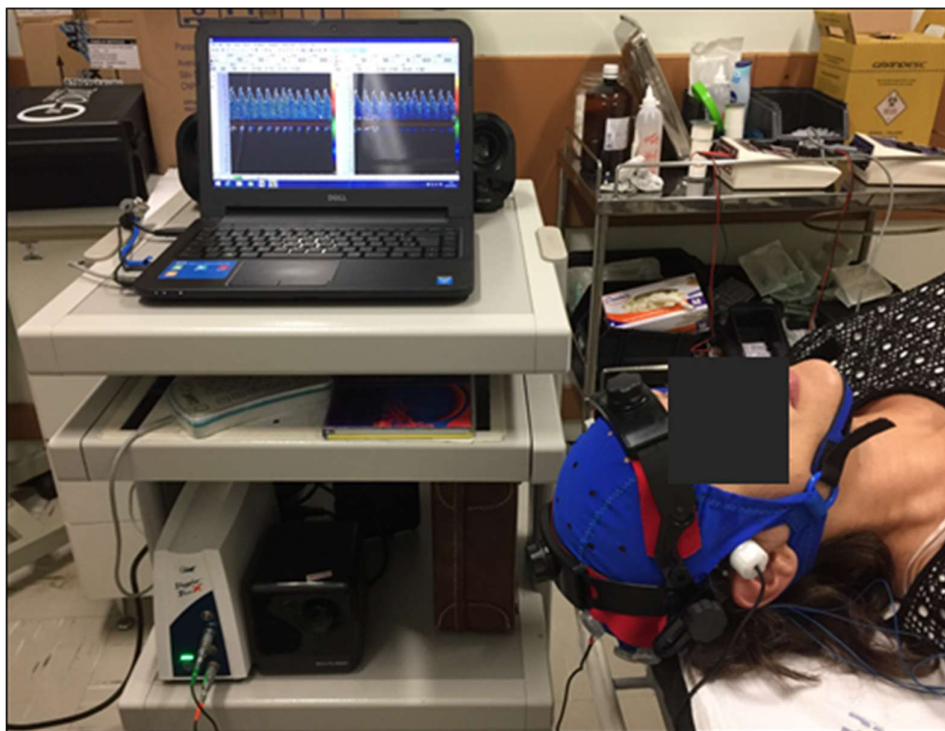
A insonação com o ultrassom foi possível utilizando dois probes de 2mHz, um sobre a região temporal direita e outro à esquerda (janela acústica), acoplados em um fixador (Multidop®X; Compumedics, Germany). A montagem do ultrassom ocorre em paralelo à montagem da estimulação por HD-tDCS (figura 9). Essa insonação e a monitorização do sinal da artéria cerebral média foi realizada por um neurologista vascular com treinamento em doppler transcraniano, cego para a randomização da estimulação.

O aparelho de ultrassom doppler transcraniano produz uma imagem espectral da velocidade de pico sistólico (PSV) e da velocidade diastólica final (EDV). A velocidade média consiste no resultado de $[PSV + (EDV * 2) / 3]$ e foi escolhida como medida do resultado primário, pois é um parâmetro central do ultrassom doppler transcraniano, com boa reprodutibilidade e baixa variação interindividual comparada à EDV e PSV (HENNERICI et al., 1987; NAQVI et al., 2013; SORTEBERG et al., 1990).

A velocidade média da artéria cerebral média foi acessada a uma profundidade de 55mm (± 3 mm) com melhor sinal possível (HENNERICI et al., 1987) e seus valores foram demonstrados no display do ultrassom e gravados em vídeo externo (tempo real).

Os pontos de coleta das velocidades médias da artéria cerebral média foram: antes da estimulação (*baseline*), início da estimulação, 1 minuto de estimulação, final da estimulação (2 minutos), imediatamente após terminar a estimulação (início do repouso) e em 5 minutos após o fim da estimulação (final do repouso) - conforme figura 7.

Figura 9. Monitorização com doppler transcraniano e montagem completa do HD-tDCS sobre a junção têmporo-parietal direita. Observa-se a onda espectral da artéria cerebral média bilateralmente no display do aparelho.



Fonte: arquivo pessoal. 2020.

3.7 Análise estatística

As análises foram conduzidas de acordo com diretrizes estatísticas para análise de estudos *crossover*, ou seja, considerando sua estrutura longitudinal/temporal

(BYRON JONES AND MICHAEL G. KENWARD, 2014). Usamos o teste de Kruskal-Wallis para avaliar o efeito da intensidade de corrente para cada condição de HD-tDCS (centro ânodo, cátodo ou sham) e o efeito da condição do HD-tDCS para cada intensidade de corrente (1, 2 ou 3mA).

Como as hipóteses foram definidas a priori e utilizamos um teste global entre tratamentos de comparação, não foram realizados ajustes para comparações múltiplas (SCHULZ; GRIMES, 2005).

Em as teses foi utilizado nível de significância de 5% (bilateral). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa R Project for Statistical Computing.

A diferença de 20% de alteração da velocidade média do fluxo da artéria cerebral média em relação ao repouso (*baseline*) é considerada significativa. A escolha do que é considerado normal em relação a variação de velocidade da artéria cerebral média (20%) - figura 10d, foi baseada no estudo de Soterberg e colaboradores (SORTEBERG et al., 1990), que avaliou 35 pacientes saudáveis e realizou monitorização prolongada com ultrassom doppler transcraniano, observando variações nas velocidades médias, assim como no índice de pulsatilidade e resistência da artéria cerebral média bilateralmente, encontrando uma variação significativa de velocidade ($p < 0,05$) em oscilações acima de 20%. Estes achados são semelhantes às variações de velocidade da artéria cerebral média encontradas por Aaslid e colaboradores (AASLID; MARKWALDER; NORNES, 1982).

4. RESULTADOS

4.1 Resultados da pesquisa

A estimulação foi bem tolerada pelos participantes, não ocorrendo efeitos adversos significativos durante ou após a estimulação (tabela 2).

Não houve alteração estatisticamente significativa das velocidades médias de fluxo da artéria cerebral média, tanto no hemisfério cerebral estimulado quanto no hemisfério contralateral, em todas as condições avaliadas, cuja variação permaneceu abaixo de 20% em relação ao repouso (*baseline*).

Tabela 2. Descrição da média e desvio padrão da pontuação na escala visual analógica de desconforto para cada intensidade e modo de estimulação.

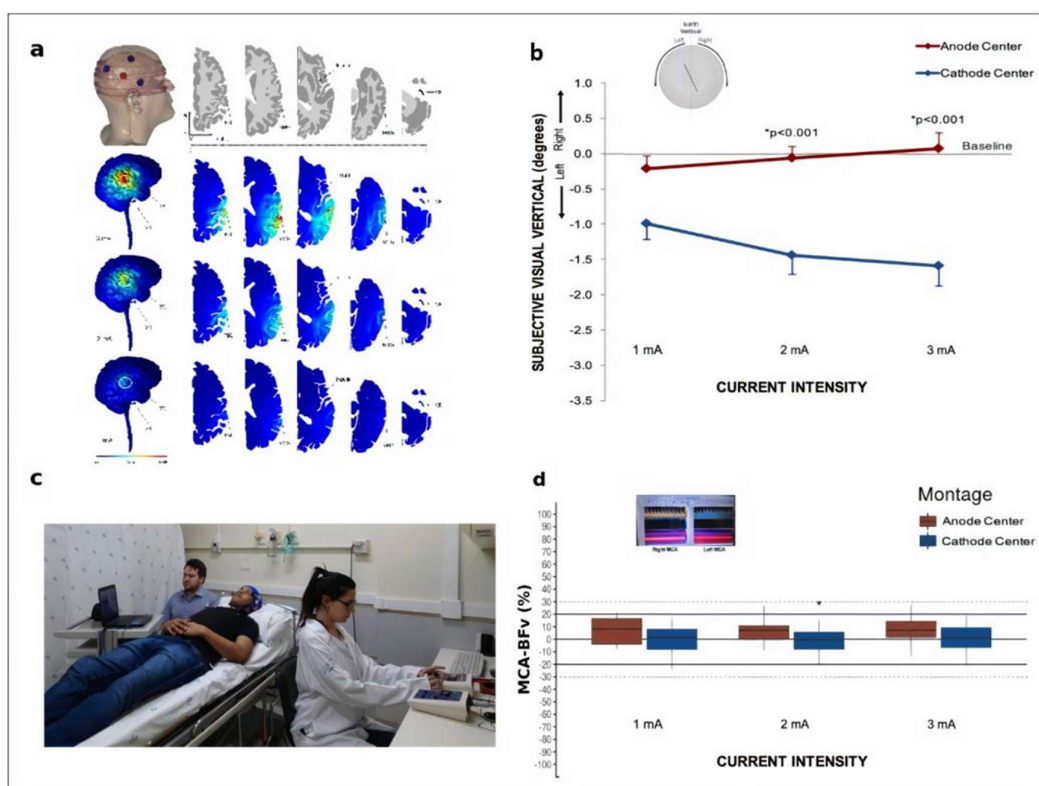
Current Intensity	SH	CC	AC
	Mean (SD) Median [IQ]	Mean (SD) Median [IQ]	Mean (SD) Median [IQ]
Baseline	0 ± 0 0 [0]	0 ± 0 0 [0]	0 ± 0 0 [0]
1 mA	0.72 ± 1.19 0 [0; 1]	2.36 ± 2.06 1 [1; 4.5]	0.63 ± 0.67 1 [0; 1]
2 mA	0.90 ± 1.22 1 [0; 1]	2.54 ± 2.58 2 [0.5; 3.5]	2.90 ± 2.54 2 [1.5; 4.5]
3 mA	1.45 ± 1.63 1 [0; 2.5]	3.81 ± 1.83 4 [3; 5]	3 ± 2 3 [1.5; 4]

AC: anodo central; CC: cathodo central; SH: sham; SD= desvio padrão; IQ: intervalo interquartil

Tabela 3. Descrição da média e mediana das velocidades da artéria cerebral média direita e esquerda antes da estimulação, em cada intensidade e em cada condição de estimulação.

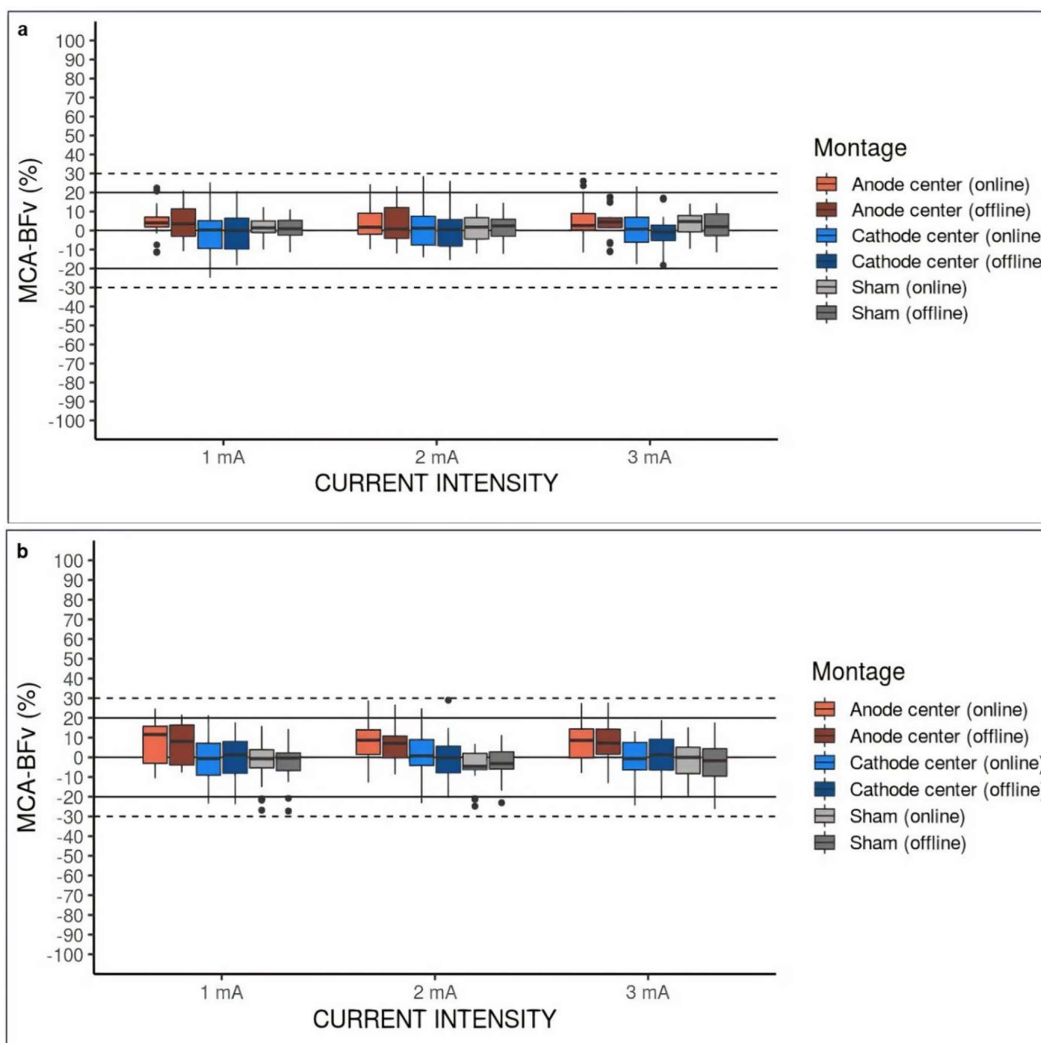
Label		Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
		Median [IQ]	Median [IQ]	Median [IQ]
Time-points of assessment	Current Intensity	Sham	Cathode Center	Anode Center
RIGHT MCA-BFv (cm/s)				
Baseline (raw data)	0	68.73 ± 7.04 67.50 [64; 70.83]	66.66 ± 9.18 63.17 [60.42; 69.58]	67.23 ± 7.68 64.83 [62.83; 74.58]
Online (30s) - baseline	1	1.86 ± 5.3 1.91 [-0.19; 5.83]	-0.95 ± 12.44 -1.14 [-7.83; 3.12]	4.04 ± 8.64 3.29 [0.96; 5.73]
	2	2 ± 7.87 3.31 [-3.67; 6.11]	2.51 ± 12.37 4.2 [-5.88; 6]	4.06 ± 10.24 1.71 [-0.65; 8.39]
	3	4.49 ± 6.15 7.01 [0.35; 8]	-0.11 ± 11.3 1.1 [-4.63; 2.25]	5.38 ± 10.29 3.55 [-0.68; 8.87]
Online (2min) baseline	1	0.87 ± 6.86 0.47 [-1.52; 2.72]	-0.07 ± 12.47 -1.84 [-7.85; 8.51]	5.45 ± 6.26 5.12 [3; 9.76]
	2	0.32 ± 7.47 -0.27 [-4.42; 7.01]	1.62 ± 11.62 -0.46 [-7.87; 8.62]	4.4 ± 9.43 2.79 [-1.91; 9.92]
	3	1.94 ± 7.22 3.68 [-3.39; 7.84]	0.28 ± 11 -0.65 [-5.51; 5.83]	5.1 ± 8.85 2.62 [1.8; 6.23]
Offline (30s) - baseline	1	2.5 ± 4.92 1.5 [-0.58; 5.34]	0.18 ± 11.82 1.35 [-7.73; 7.84]	6.1 ± 10.41 6.55 [-0.47; 13.48]
	2	3.11 ± 8.3 2.42 [-2.33; 10.25]	0.1 ± 12.31 0.47 [-9.78; 4.85]	5.78 ± 11.01 0.81 [0.39; 15.52]
	3	3.32 ± 8.21 3.69 [-1.28; 8.51]	0.25 ± 11.07 -0.74 [-6.34; 6.05]	5.58 ± 8.16 5.15 [2.83; 7.06]
Offline (5min) baseline	1	0.43 ± 6.17 0.95 [-2.98; 4.23]	-1 ± 11.92 -1.56 [-8.99; 4.94]	2.26 ± 9.94 2.81 [-5.26; 9.37]
	2	-0.22 ± 6.55 1.99 [-2.68; 4.75]	-0.41 ± 8.74 2 [-7.01; 5.5]	2.53 ± 9.97 0.42 [-4.45; 10.2]
	3	1.8 ± 5.74 1.59 [-3.26; 7.38]	-2.89 ± 7.84 -0.8 [-4.23; 1.96]	2.4 ± 8.68 2.94 [-4.38; 5.87]

Figura 10. O protocolo de HD-tDCS não induziu resposta vascular significativa. **a)** Modelo computadorizado usando a montagem de eletrodo 3 × 1 HD-tDCS sobre a junção temporo-parietal direita previu o campo elétrico induzido no cérebro (publicado anteriormente por SANTOS et al., 2018). **b)** Em outro estudo, foi avaliada a diferença entre a percepção visual vertical no início e 2 minutos após o término da HD-tDCS com intensidades de corrente de 1, 2 e 3 mA. Houve efeitos específicos de intensidade e polaridade somente após a condição de estimulação cátodo. A inserção representa a linha dentro do balde usada para avaliar a percepção visual vertical da perspectiva do participante. As setas ilustram o lado de rotação do balde (publicado anteriormente por SANTOS et al., 2018). **c)** Montagem completa do presente estudo, demonstrando a monitorização por ultrassom doppler transcraniano e a estimulação por HD-tDCS. **d)** Diferença entre a velocidade do fluxo sanguíneo da artéria cerebral média (expressa em porcentagem) avaliada no início e 2 minutos após o término da estimulação por HD-tDCS com intensidades de corrente de 1, 2 e 3 mA, sem alteração significativa. A inserção representa uma amostra de dados do doppler transcraniano (imagem do monitor) durante o HD-tDCS a 3 mA. (a-b) Imagens de acesso aberto. O consentimento informado por escrito foi obtido dos participantes para a publicação da imagem c.



Fonte: arquivo pessoal. 2020. Artigo publicado em anexo.

Figura 11 a) Variação da velocidade média (MCA-BFv) da artéria cerebral média direita (grafico superior) e **b)** Variação da Velocidade média da artéria cerebral média esquerda (gráfico inferior). Em ambos os hemisférios cerebrais e condições de estimulação não houve alteração significativa.



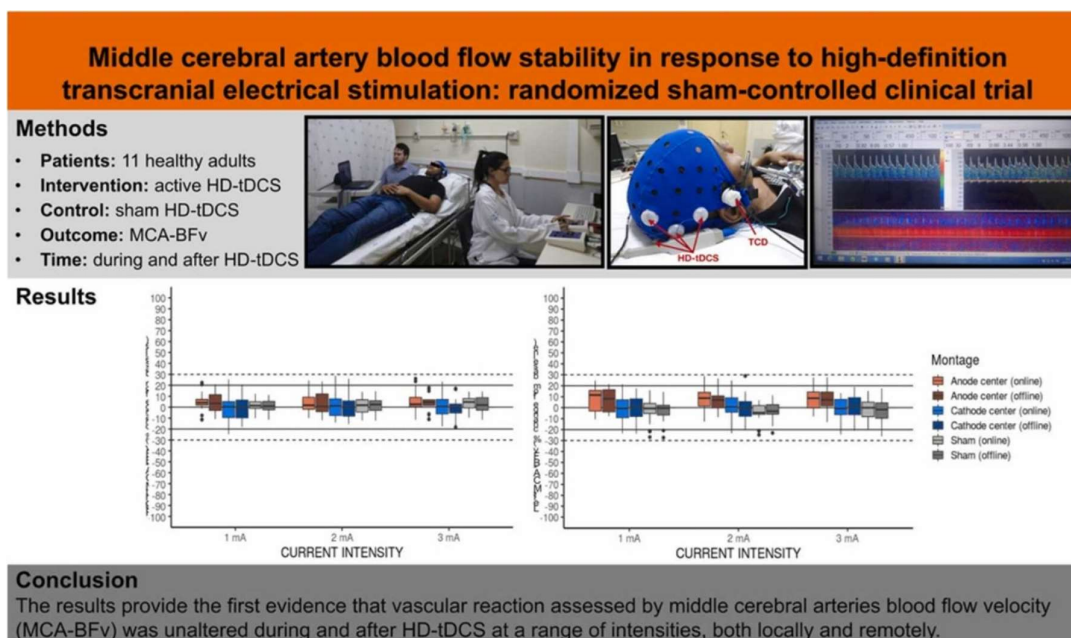
Fonte: arquivo pessoal. 2020. Artigo publicado em anexo.

4.1 Publicação dos resultados

Foram publicados 2 artigos em revistas internacionais referentes a este estudo.

A primeira publicação foi aceita em 16 de junho de 2022 pela revista Clinical Neurology and Neurosurgery - editora Elsevier (DOI: 10.1016/j.clineuro.2022.107345), consistindo em artigo completo sobre o estudo.

Figura 12. *Graphical abstract* do artigo publicado.



Fonte: arquivo pessoal. 2020. Artigo publicado em anexo.

A segunda publicação foi aceita em 15 de setembro de 2022 pela revista Data in Brief – editora Elsevier (DOI: [10.1016/j.dib.2022.108603](https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.108603)), especializada na descrição de metodologias, onde foram detalhadas as técnicas utilizadas e a montagem dos equipamentos que possibilitaram atingir os resultados apresentados e dessa forma abrir caminho para pesquisas futuras.

5. CONCLUSÃO E DISCUSSÃO

5.1 Conclusão a partir dos resultados e do objetivo primário

No presente estudo não houve alteração significativa das velocidades de fluxo sanguíneo na artéria cerebral média bilateralmente, assim como não houve reação adversa significativa com aplicação da metodologia utilizada. Ressaltamos que esta montagem do HD-tDCS estimula uma área extensa do córtex cerebral localmente e também produz efeitos a distância, o que é observado no modelo computadorizado (figuras 3 e 10). Além disso estimula por mais tempo e com diferentes intensidades, enquanto outros estudos utilizam a intensidade de 1mA apenas (GIORLI et al., 2015; VERNIERI et al., 2010). Estes achados demonstram a segurança da estimulação não invasiva por HD-tDCS e abre caminho para futuros estudos em pacientes com AVC.

A segurança do método já foi estudada por Bikson e colaboradores em 2016 (BIKSON et al., 2016), os quais realizaram uma revisão sobre a evidência disponível acerca da segurança e efeitos colaterais da estimulação por TDCS e HD-tDCS abrangendo mais de mil sujeitos de pesquisa e 33200 sessões de estimulação; Não houve nenhum evento adverso grave como dor local severa, crises convulsivas, cefaleia refratária ou qualquer outro efeito adverso significativo. Porém pouco é conhecido sobre os efeitos na hemodinâmica cerebral, com apenas um estudo (VERNIERI et al., 2010) abordando o tema nesta extensa revisão.

Dessa forma, o resultado deste estudo reforça a segurança do método e possibilita novas pesquisas, disponibilizando para comunidade científica a metodologia utilizada.

5.2 Discussão e comparação com outros estudos

O estudo é pioneiro em avaliar os efeitos da estimulação elétrica transcraniana não invasiva de alta definição (HD-tDCS) sobre a circulação

cerebral com um método direto de monitorização do fluxo sanguíneo cerebral (ultrassom doppler transcraniano).

Poucas pesquisas foram realizadas utilizando ultrassom doppler transcraniano para avaliar a hemodinâmica cerebral associada a outras técnicas de estimulação cerebral não invasiva, porém os estudos realizados, têm diferentes protocolos de estimulação e apresentaram resultados discrepantes (IYER; MADHAVAN, 2018).

Vernieri e colaboradores em 2010 (VERNIERI et al., 2010) analisaram os efeitos da estimulação elétrica transcraniana convencional (TDCS) sobre a hemodinâmica cerebral quantificando a velocidade média da artéria cerebral média por ultrassom doppler transcraniano bilateralmente, assim como a vasorreatividade cerebral. O conceito de vasorreatividade cerebral compreende a capacidade da musculatura lisa vascular cerebral dilatar-se ou contrair-se em resposta a estímulos metabólicos ou vasoativos com objetivo de auxiliar na regulação do fluxo sanguíneo (FISHER; MIKULIS, 2021). Neste estudo, Vernieri recrutou 10 indivíduos saudáveis e para o estudo da reatividade vascular forneceu inalação de ar com 7% de gás carbônico (CO₂) durante a estimulação por TDCS (1mA com eletrodo posicionado sobre o córtex motor a esquerda) associada a monitorização por ultrassom doppler transcraniano e com capnógrafo (CO₂ expirado).

A vasorreatividade foi calculada a partir da fórmula: reatividade vascular = (velocidade média da artéria cerebral média sem CO₂ – velocidade média da artéria cerebral média com inalação de CO₂ / velocidade média da artéria cerebral média sem CO₂) X 100.

Assim como no presente estudo, não houve mudança nas velocidades médias da artéria cerebral média, porém houve discreta alteração da reatividade vascular ($p = 0.0001$), com redução bilateral da vasorreatividade sob estimulação com TDCS-ânodo (redução de 3.4%/mm Hg CO₂ expirado) e aumento bilateral da vasorreatividade com TDCS-cátodo (elevação de 0.8%/mm Hg CO₂ expirado). O autor atribuiu este efeito à modulação pelo sistema simpático em resposta ao CO₂, e não à estimulação por TDCS.

Giorli e colaboradores em 2015 (GIORLI et al., 2015) recrutaram 25 voluntários saudáveis e também avaliou a hemodinâmica cerebral utilizando ultrassom doppler transcraniano associado a estimulação por TDCS com intensidade de 1mA. Porém uma limitação importante deste estudo foi a não utilização de fixador do probe do ultrassom, de forma que aferiram as velocidades médias da artéria cerebral média direita por 20 segundos e depois a esquerda, ou seja, sem coleta contínua e persistente destas velocidades. Neste estudo os autores encontraram alterações estatisticamente significativas referentes a velocidade média da artéria cerebral média, de forma que observaram aumento de velocidade com o TDCS-ânodo e redução da velocidade com TDCS-cátodo, porém não foi claro qual ponto de corte utilizado para a velocidade normal da artéria cerebral média.

Em 2015, List e colaboradores (LIST et al., 2015) utilizaram TDCS com intensidade de 1mA por 20 minutos em 15 voluntários saudáveis sobre o córtex motor esquerdo, associado a monitorização por ultrassom doppler transcraniano e cálculo da vasorreatividade, não encontraram alterações após a estimulação.

5.3 Limitações do estudo

O presente estudo apresentou limitações, as quais é importante descrever e aprimorar para as próximas pesquisas:

- a. Limitação técnica do próprio aparelho de ultrassom disponível, o qual não consegue gravar o exame em tempo real e exportar tais informações para análise estatística, necessitando, portanto, a coleta manual das informações conforme apresentado neste estudo.
- b. Baixo número amostral, devido a característica do estudo como unicêntrico, dificuldade de espaço físico pois era o mesmo local disponível para a realização da rotina de exames de eletroencefalograma no hospital. Soma-se o fato da complexidade da montagem e do tempo extenso de protocolo limitando a disponibilidade de voluntários.

- c. Monitorização exclusiva da artéria cerebral média, que representa a principal via da circulação cerebral, porém é possível complementar com a monitorização das artérias cerebrais anteriores e posteriores, abrangendo uma área ainda maior da circulação cerebral.
- d. Não monitorização concomitante da vasorreatividade cerebral, a qual pode alterar-se durante o estímulo do HD-tDCS e carece de mais estudos.

5.4 Utilidade prática desta pesquisa e próximos passos

A próxima etapa seria realizar novo estudo randomizado, multicêntrico, abrangendo maior número de participantes e com insonação também da artéria cerebral posterior. Faz-se necessário também, em paralelo à avaliação das velocidades médias de fluxo, a monitorização da vasorreatividade cerebral, que pode alterar-se durante a estimulação por HD-tDCS e é um mecanismo associado ao funcionamento da unidade neurovascular descrito no item 1.4.

São necessários também novos ensaios clínicos em outros métodos de estimulação, como a estimulação magnética não-invasiva e associação com métodos de monitorização de fluxo que permitam também a avaliação da microcirculação (fNIRS ou ressonância magnética funcional) e não apenas da macrocirculação (ultrassom doppler transcraniano avaliando as artérias do polígono de Willis).

A partir destes estudos, certifica-se a segurança em relação a circulação cerebral, permitindo a ampla aplicação clínica e acadêmica em pacientes com doenças cérebrovasculares.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AASLID, Rune; MARKWALDER, Thomas-Marc; NORNES, Helge. Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. **Journal of Neurosurgery**, [S. l.], v. 57, n. 6, p. 769–774, 1982. DOI: 10.3171/jns.1982.57.6.0769.
2. BAKKER, Mireille J.; HOFMANN, Jessica; CHURCHES, Owen F.; BADCOCK, Nicholas A.; KOHLER, Mark; KEAGE, Hannah AD. Cerebrovascular function and cognition in childhood: a systematic review of transcranial doppler studies. **BMC Neurology**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 43–43, 2014. DOI: 10.1186/1471-2377-14-43.
3. BARKER, A. T.; JALINOUS, R.; FREESTON, I. L. NON-INVASIVE MAGNETIC STIMULATION OF HUMAN MOTOR CORTEX. **The Lancet**, [S. l.], v. 325, n. 8437, p. 1106–1107, 1985. DOI: 10.1016/S0140-6736(85)92413-4.
4. BIKSON, Marom et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. **Brain Stimulation**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 641–661, 2016. DOI: 10.1016/j.brs.2016.06.004.
5. BIKSON, Marom; REATO, Davide; RAHMAN, Asif. Cellular and Network Effects of Transcranial Direct Current Stimulation. *Em*: [s.l.: s.n.]. p. 55–91. DOI: 10.1201/b14174-5.
6. BRISSON, Rodrigo Tavares; SANTOS, Renata da Silva Almeida; STEFANO, Luiz Henrique Soares Santos; BARREIRA, Clara Monteiro Antunes; ARRUDA, Josevânia Fulgêncio de Lima; DIAS, Francisco Antunes; CAMILO, Millene Rodrigues; PONTES-NETO, Octávio Marques. Association between Tomographic Characteristics of the Temporal Bone and Transtemporal Window Quality on Transcranial Color Doppler Ultrasound in Patients with Stroke or Transient Ischemic Attack. **Ultrasound in Medicine & Biology**, [S. l.], v. 47, n. 3, p. 511–516, 2021. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2020.10.023.
7. BYRON JONES AND MICHAEL G. KENWARD. **Design and Analysis of Cross-Over Trials.**; 2014. 3rd. ed. [s.l.] : Taylor&Francis, 2014.
8. CHEN, Mo; DENG, Huiqiong; SCHMIDT, Rebekah L.; KIMBERLEY, Teresa J. Low-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Targeted to Premotor Cortex Followed by Primary Motor Cortex Modulates Excitability Differently Than Premotor Cortex or Primary Motor Cortex Stimulation Alone. **Neuromodulation: journal of the International Neuromodulation Society**, [S. l.], v. 18, n. 8, p. 678–85, 2015. DOI: 10.1111/ner.12337.
9. CORNELL-BELL, Ann H.; FINKBEINER, Steven M.; COOPER, Mark S.; SMITH, Stephen J. Glutamate Induces Calcium Waves in Cultured

- Astrocytes: Long-Range Glial Signaling. **Science**, [S. l.], v. 247, n. 4941, p. 470–473, 1990. DOI: 10.1126/science.1967852.
10. EDWARDS, Dylan; CORTES, Mar; DATTA, Abhishek; MINHAS, Preet; WASSERMANN, Eric M.; BIKSON, Marom. Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: A basis for high-definition tDCS. **NeuroImage**, [S. l.], v. 74, p. 266–275, 2013. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2013.01.042.
 11. ELSNER, Bernhard; KUGLER, Joachim; POHL, Marcus; MEHRHOLZ, Jan. Transcranial direct current stimulation (tDCS) for improving function and activities of daily living in patients after stroke. *Em*: ELSNER, Bernhard (org.). **Cochrane Database of Systematic Reviews**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. DOI: 10.1002/14651858.CD009645.pub2.
 12. FAVORETTO, Diandra B. et al. High Definition tDCS Effect on Postural Control in Healthy Individuals: Entropy Analysis of a Crossover Clinical Trial. **Applied Sciences**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 2703–2703, 2022. DOI: 10.3390/app12052703.
 13. FIGLEY, Chase R.; STROMAN, Patrick W. The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 577–588, 2011. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07584.x.
 14. FISHER, Joseph A.; MIKULIS, David J. Cerebrovascular Reactivity: Purpose, Optimizing Methods, and Limitations to Interpretation – A Personal 20-Year Odyssey of (Re)searching. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fphys.2021.629651.
 15. GIORLI, Elisa; TOGNAZZI, Silvia; BRISCESE, Lucia; BOCCI, Tommaso; MAZZATENTA, Andrea; PRIORI, Alberto; ORLANDI, Giovanni; DEL SETTE, Massimo; SARTUCCI, Ferdinando. Transcranial Direct Current Stimulation and Cerebral Vasomotor Reserve: A Study in Healthy Subjects. **Journal of Neuroimaging**, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 571–574, 2015. DOI: 10.1111/jon.12162.
 16. GIROUARD, Helene; IADECOLA, Costantino. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 100, n. 1, p. 328–335, 2006. DOI: 10.1152/jappphysiol.00966.2005.
 17. GULEYUPOGLU, Berkan; SCHESTATSKY, Pedro; EDWARDS, Dylan; FREGNI, Felipe; BIKSON, Marom. Classification of methods in transcranial Electrical Stimulation (tES) and evolving strategy from historical approaches to contemporary innovations. **Journal of Neuroscience Methods**, [S. l.], v. 219, n. 2, p. 297–311, 2013. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2013.07.016.

18. HARDER, David R.; ZHANG, Chenyang; GEBREMEDHIN, Debebe. Astrocytes Function in Matching Blood Flow to Metabolic Activity. **Physiology**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 27–31, 2002. DOI: 10.1152/physiologyonline.2002.17.1.27.
19. HAYDON, Philip G.; CARMIGNOTO, Giorgio. Astrocyte Control of Synaptic Transmission and Neurovascular Coupling. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 86, n. 3, p. 1009–1031, 2006. DOI: 10.1152/physrev.00049.2005.
20. HENNERICI, M.; RAUTENBERG, W.; SITZER, G.; SCHWARTZ, A. Transcranial doppler ultrasound for the assessment of intracranial arterial flow velocity—Part 1. Examination technique and normal values. **Surgical Neurology**, [S. l.], v. 27, n. 5, p. 439–448, 1987. DOI: 10.1016/0090-3019(87)90251-5.
21. IYER, Pooja C.; MADHAVAN, Sangeetha. Non-invasive brain stimulation in the modulation of cerebral blood flow after stroke: A systematic review of Transcranial Doppler studies. **Clinical Neurophysiology**, [S. l.], v. 129, n. 12, p. 2544–2551, 2018. DOI: 10.1016/j.clinph.2018.09.019.
22. KINCAID, M. Sean. Transcranial Doppler ultrasonography: a diagnostic tool of increasing utility. **Current Opinion in Anaesthesiology**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 552–559, 2008. DOI: 10.1097/ACO.0b013e32830edc0b.
23. KLOMJAI, Wanalee; KATZ, Rose; LACKMY-VALLÉE, Alexandra. Basic principles of transcranial magnetic stimulation (TMS) and repetitive TMS (rTMS). **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 208–213, 2015. DOI: 10.1016/j.rehab.2015.05.005.
24. KUO, Hsiao I.; BIKSON, Marom; DATTA, Abhishek; MINHAS, Preet; PAULUS, Walter; KUO, Min Fang; NITSCHKE, Michael A. Comparing Cortical Plasticity Induced by Conventional and High-Definition 4 × 1 Ring tDCS: A Neurophysiological Study. **Brain Stimulation**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 644–648, 2013. DOI: 10.1016/J.BRS.2012.09.010.
25. LANG, Nicolas; SIEBNER, Hartwig R.; WARD, Nick S.; LEE, Lucy; NITSCHKE, Michael A.; PAULUS, Walter; ROTHWELL, John C.; LEMON, Roger N.; FRACKOWIAK, Richard S. How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain? **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 495–504, 2005. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2005.04233.x.
26. LEWIS, Philip M.; THOMSON, Richard H.; ROSENFELD, Jeffrey V.; FITZGERALD, Paul B. Brain Neuromodulation Techniques. **The Neuroscientist**, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 406–421, 2016. DOI: 10.1177/1073858416646707.
27. LI, Meng; HUANG, Hanrui; BONINGER, Michael L.; SEJDIĆ, Ervin. An analysis of cerebral blood flow from middle cerebral arteries during cognitive tasks via functional transcranial Doppler recordings.

- Neuroscience Research**, [S. l.], v. 84, p. 19–26, 2014. DOI: 10.1016/j.neures.2014.02.009.
28. LIEBETANZ, David; NITSCHKE, Michael A.; TERGAU, Frithjof; PAULUS, Walter. **Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://academic.oup.com/brain/article/125/10/2238/300513>.
29. LIST, Jonathan; LESEMANN, Anne; KÜBKE, Jan C.; KÜLZOW, Nadine; SCHREIBER, Stephan J.; FLÖEL, Agnes. Impact of tDCS on cerebral autoregulation in aging and in patients with cerebrovascular diseases. **Neurology**, [S. l.], v. 84, n. 6, p. 626–628, 2015. DOI: 10.1212/WNL.0000000000001230.
30. MAGEE, P. Essential notes on the physics of Doppler ultrasound. **BJA Education**, [S. l.], v. 20, n. 4, p. 112–113, 2020. DOI: 10.1016/j.bjae.2020.01.003.
31. MARTIN, Kristin K.; WIGGINTON, Jeremy B.; BABIKIAN, Viken L.; POCHAY, Val E.; CRITTENDEN, Michael D.; RUDOLPH, James L. Intraoperative cerebral high-intensity transient signals and postoperative cognitive function: a systematic review. **The American Journal of Surgery**, [S. l.], v. 197, n. 1, p. 55–63, 2009. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.12.060.
32. MERZAGORA, A. C.; FOFFANI, G.; PANYAVIN, I.; MORDILLO-MATEOS, L.; AGUILAR, J.; ONARAL, B.; OLIVIERO, A. Prefrontal hemodynamic changes produced by anodal direct current stimulation. **NeuroImage**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 2304–2310, 2010. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2009.10.044.
33. MOLINA, Carlos A.; ALEXANDROV, Andrei V. Transcranial Ultrasound in Acute Stroke: From Diagnosis to Therapy. **Cerebrovascular Diseases**, [S. l.], v. 24, n. Suppl. 1, p. 1–6, 2007. DOI: 10.1159/000107373.
34. MONTE-SILVA, Katia; KUO, Min Fang; HESSENTHALER, Silvia; FRESNOZA, Shane; LIEBETANZ, David; PAULUS, Walter; NITSCHKE, Michael A. Induction of Late LTP-Like Plasticity in the Human Motor Cortex by Repeated Non-Invasive Brain Stimulation. **Brain Stimulation**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 424–432, 2013. DOI: 10.1016/J.BRS.2012.04.011.
35. MOSILHY, Ethar Ahmed; ALSHIAL, Eman E.; ELTARAS, Mennatullah Mohamed; RAHMAN, Mona Mamdouh Abdel; HELMY, Hagar Ismail; ELAZOUL, Abdelaziz Habib; HAMDY, Omnia; MOHAMMED, Haitham S. Non-invasive transcranial brain modulation for neurological disorders treatment: A narrative review. **Life Sciences**, [S. l.], v. 307, p. 120869–120869, 2022. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120869.

36. MUOIO, V.; PERSSON, P. B.; SENDESKI, M. M. The neurovascular unit - concept review. **Acta Physiologica**, [S. l.], v. 210, n. 4, p. 790–798, 2014. DOI: 10.1111/apha.12250.
37. NAQVI, Jawad; YAP, Kok Hooi; AHMAD, Gulraiz; GHOSH, Jonathan. Transcranial Doppler Ultrasound: A Review of the Physical Principles and Major Applications in Critical Care. **International Journal of Vascular Medicine**, [S. l.], v. 2013, p. 1–13, 2013. DOI: 10.1155/2013/629378.
38. NITSCHKE, M. A.; PAULUS, W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 527, n. 3, p. 633–639, 2000. DOI: 10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x.
39. PANERAI, Ronney B. Transcranial Doppler for evaluation of cerebral autoregulation. **Clinical Autonomic Research**, [S. l.], v. 19, n. 4, p. 197–211, 2009. DOI: 10.1007/s10286-009-0011-8.
40. PARENT, André. Giovanni Aldini: From Animal Electricity to Human Brain Stimulation. **Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques**, [S. l.], v. 31, n. 4, p. 576–584, 2004. DOI: 10.1017/S0317167100003851.
41. PEPPIATT, Claire M.; HOWARTH, Clare; MOBBS, Peter; ATTWELL, David. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. **Nature**, [S. l.], v. 443, n. 7112, p. 700–704, 2006. DOI: 10.1038/nature05193.
42. POLLOCK, Alex; ST GEORGE, Bridget; FENTON, Mark; FIRKINS, Lester. Top ten research priorities relating to life after stroke. **The Lancet Neurology**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 209–209, 2012. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70029-7.
43. PRIORI, Alberto. Brain polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non-invasive modulation of brain excitability. **Clinical Neurophysiology**, [S. l.], v. 114, n. 4, p. 589–595, 2003. DOI: 10.1016/S1388-2457(02)00437-6.
44. RINGELSTEIN, E. B.; KAHLSCHEUER, B.; NIGGEMEYER, E.; OTIS, S. M. Transcranial doppler sonography: Anatomical landmarks and normal velocity values. **Ultrasound in Medicine & Biology**, [S. l.], v. 16, n. 8, p. 745–761, 1990. DOI: 10.1016/0301-5629(90)90039-F.
45. ROCHE, N.; GEIGER, M.; BUSSEL, B. Mechanisms underlying transcranial direct current stimulation in rehabilitation. **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 214–219, 2015. DOI: 10.1016/j.rehab.2015.04.009.
46. SANTOS, Taiza E. G. et al. Manipulation of Human Verticality Using High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation. **Frontiers in Neurology**, [S. l.], v. 9, 2018. DOI: 10.3389/fneur.2018.00825.

47. SCHULZ, Kenneth F.; GRIMES, David A. Multiplicity in randomised trials I: endpoints and treatments. **The Lancet**, [S. l.], v. 365, n. 9470, p. 1591–1595, 2005. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)66461-6.
48. SORTEBERG, W.; LANGMOEN, I. A.; LINDEGAARD, K. F.; NORNES, H. Side-to-side differences and day-to-day variations of transcranial Doppler parameters in normal subjects. **Journal of Ultrasound in Medicine**, [S. l.], v. 9, n. 7, p. 403–409, 1990. DOI: 10.7863/jum.1990.9.7.403.
49. STEINBERG, Holger. A Pioneer Work on Electric Brain Stimulation in Psychotic Patients. Rudolph Gottfried Arndt and his 1870s Studies. **Brain Stimulation**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 477–481, 2013. DOI: 10.1016/j.brs.2012.11.004.
50. UTZ, Kathrin S.; DIMOVA, Violeta; OPPENLÄNDER, Karin; KERKHOFF, Georg. Electrified minds: Transcranial direct current stimulation (tDCS) and Galvanic Vestibular Stimulation (GVS) as methods of non-invasive brain stimulation in neuropsychology—A review of current data and future implications. **Neuropsychologia**, [S. l.], v. 48, n. 10, p. 2789–2810, 2010. DOI: 10.1016/j.neuropsychologia.2010.06.002.
51. VERNIERI, Fabrizio et al. Cortical Neuromodulation Modifies Cerebral Vasomotor Reactivity. **Stroke**, [S. l.], v. 41, n. 9, p. 2087–2090, 2010. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.583088.
52. ZHANG, Xiao-Hua; GU, Tao; LIU, Xuan-Wei; HAN, Ping; LV, Hui-Lan; WANG, Yu-Long; XIAO, Peng. The Effect of Transcranial Direct Current Stimulation and Functional Electrical Stimulation on the Lower Limb Function of Stroke Patients. **Frontiers in Neuroscience**, [S. l.], v. 15, 2021. DOI: 10.3389/fnins.2021.685931.
53. ZHENG, Xin; ALSOP, David C.; SCHLAUG, Gottfried. Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on human regional cerebral blood flow. **NeuroImage**, [S. l.], v. 58, n. 1, p. 26–33, 2011. DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.06.018.

7.1 Estudo publicado: Middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation: A randomized sham-controlled clinical trial.

Clinical Neurology and Neurosurgery 220 (2022) 107345



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Neurology and Neurosurgery

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clineneuro



Middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation: A randomized sham-controlled clinical trial

Luiz H.S. Stefano^a, Diandra B. Favoretto^a, Diego C. Nascimento^{b,c}, Luan R.A. Santos^a, Francisco Louzada^c, Marom Bikson^d, Joao P. Leite^a, Octavio M. Pontes-Neto^a, Dylan J. Edwards^{e,f}, Taiza G.S. Edwards^{a,*}

^a Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Departamento de Matemática, Facultad de Ingeniería, Universidad de Atacama, Copiapó, Chile

^c Instituto de Matemática, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brazil

^d Neural Engineering Laboratory, Department of Biomedical Engineering, The City College, City University of New York, New York, NY, USA

^e Mass Rehabilitation Research Institute, Thomas Jefferson University, PA, USA

^f Exercise Medicine Research Institute, School of Medical and Health Sciences, Edith Cowan University, Joondalup, Australia

ARTICLE INFO

Keywords:

High-definition transcranial electric stimulation
Transcranial doppler
Hemodynamic response
Safety

ABSTRACT

Since neuronal activity is coupled with neurovascular activity, we aimed to analyze the cerebral blood flow hemodynamics during and following high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). We assessed the mean middle cerebral artery blood flow velocity (MCA-BFv) bilaterally using transcranial doppler ultrasound, during and after HD-tDCS, in eleven right-handed healthy adult participants (6 women, 5 men; mean age 31 ± 5.6 years old), with no evidence of brain or cardiovascular dysfunction. The HD-tDCS electrode montage was centered over the right temporo-parietal junction. The stimulation protocol comprised 3 blocks of 2 min at each current intensity (1, 2, and 3 mA) and an inter-stimulus interval of 5 min between blocks. Participants received three electrical stimulation conditions (anode center, cathode center, and sham) on three different days, with an interval of at least 24 h. Stimulation was well tolerated across HD-tDCS conditions tested, and the volunteers reported no significant discomfort related to stimulation. There was no significant difference in the right or the left MCA-BFv during or after the stimulation protocol across all stimulation conditions. We conclude that at a range of intensities, vascular reaction assessed using middle cerebral artery blood flow is not significantly altered during or after HD-tDCS both locally and remotely, which provides further evidence for the safety of HD-tDCS.

1. Introduction

High-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) is an emergent experimental treatment option in psychiatry and neurology [1,2]. There has been a focus on HD-tDCS behavioral, imaging, and electrophysiological effects, yet there is a dearth of literature on hemodynamic effects of the main cerebral arteries, which may be particularly important in applications of cerebrovascular disease [3,4].

More than half of patients after stroke experience visual vertical (VV)

disorder, for which there is no present established treatment [5–7]. Typically, patients with VV disorder do not complain about their abnormal sense being undetected unless appropriately assessed [5]. While still overlooked in some neurological settings, VV disorder is known to strongly impact functional recovery after stroke [5,7,8]. The most severe expression of VV disorder is termed “pusher syndrome” or “lateropulsion”. It is a severe body tilt associated with pushing behavior and resistance to any external attempt to correct the patient’s body to the true vertical position [7,9–11]. The resolution of VV disorder is

Abbreviations: HD-tDCS, High-definition transcranial direct current stimulation; TPJ, temporo-parietal junction; MCA-BFv, middle cerebral artery blood flow velocity; TCD, transcranial doppler ultrasound.

* Correspondence to: Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, CEP 14049-900 SP, Brazil.

E-mail address: taiza@fmrp.usp.br (T.G.S. Edwards).

<https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107345>

Received 13 May 2022; Received in revised form 11 June 2022; Accepted 16 June 2022

Available online 20 June 2022

0303-8467/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

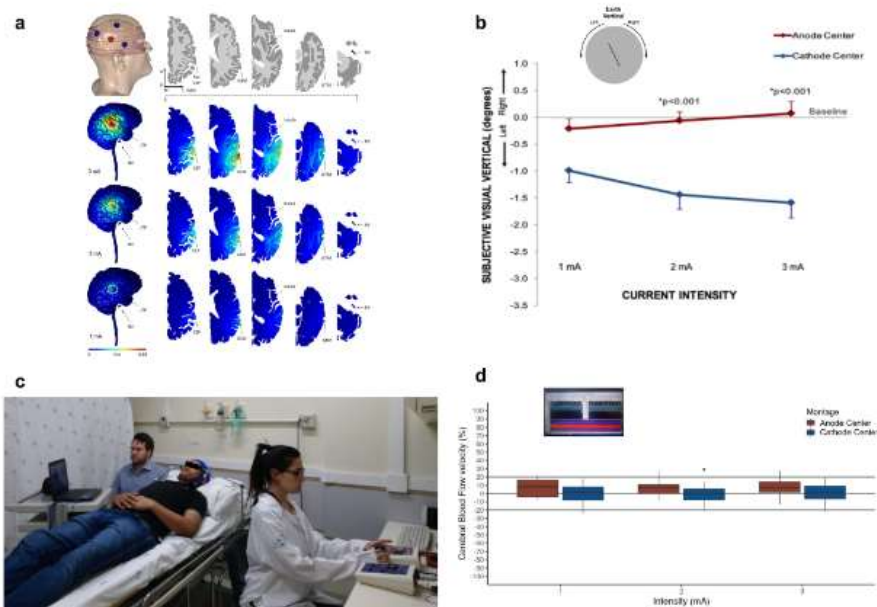


Fig. 1. : High-definition transcranial electrical stimulation (HD-tDCS) protocol that induced sustained behavioral effects did not induce a significant vascular response. a: Finite element models of tDCS using the 3×1 HD-tDCS electrode montage over TPJ predicted the induced electric field on the brain; previously published by Santos et al. [22]. b: Difference between the visual vertical perception assessed at baseline and 2 min after the end of HD-tDCS with current intensities of 1, 2, and 3 mA (mean; S.E.M.). There were intensity and polarity-specific effects only after the cathode center HD-tDCS condition. Inset represents the line inside the bucket used to assess visual vertical perception from the participant's perspective. The arrows illustrate the side of the bucket's rotation; previously published by Santos et al. [22]. c: Experimental setup of the cerebral hemodynamics trial. d: Difference between the middle cerebral artery blood flow velocity (MCA-BFV, expressed as a percentage) assessed at baseline and 2 min after the end of stimulation of HD-tDCS with current intensities of 1, 2, and 3 mA, showing no significant change. Inset represents a sample of transcranial doppler data (picture of the monitor) during the HD-tDCS at 3 mA. (a and b: Images under Open Access and Creative Commons Attribution License). Written informed consent was obtained from the participants to publish this image.

associated with better functional outcomes [7,8,12,13]. Neuroanatomical studies indicate several cortical areas associated with verticality disorder, including insula [9,14–16], postcentral gyrus [14,16], inferior frontal gyrus [9,16,17], parietal cortex [9,14,17,18], superior and middle temporal gyrus [9,16,17,19], and the temporo-parietal junction (TPJ) [20,21].

Targeting the TPJ, we have developed a non-invasive neuromodulation method that can exert a powerful, sustained direction-specific manipulation on visual vertical perception and postural control using HD-tDCS in neurotypical and post-stroke subjects [22,23]. However, to establish an effective and safe therapeutic strategy for stroke patients using HD-tDCS, it is critical to determine hemodynamic effects on main cerebral arteries.

Most recently, the need to investigate the hemodynamic effects of non-invasive transcranial electric neuromodulation on the main cerebral arteries using transcranial doppler ultrasound (TCD) was highlighted [3,4]. Changes in middle cerebral artery blood flow velocity were described after different transcranial electric and magnetic neuromodulation protocols [23–28] (for review, see [3,4]). However, no study described the hemodynamic effects of HD-tDCS on the main cerebral arteries.

montage involving a central cathode and surrounding anode electrodes where we previously demonstrated behavior effects. We reasoned that understanding potential main cerebral artery blood flow changes would be relevant to implementing our stimulation protocol in cerebrovascular disorders. We conducted a clinical trial using the range of our stimulation parameters typically applied and systematically evaluated during and after stimulation effects. We hypothesized that middle cerebral artery cerebral blood flow would increase associated with stimulation, either due to a direct effect on the blood vessel or secondary to the increase in neuronal activity, and that protocol would be well tolerated.

2. Methods

In a randomized, sham-controlled, double-blind, crossover design, we studied eleven right-handed healthy adult participants (6 women; mean 31 ± 5.6 years old) with no brain or cardiovascular dysfunction evidence.

This study was conducted according to the Helsinki Declaration requirements for human investigation and approved by the local ethics

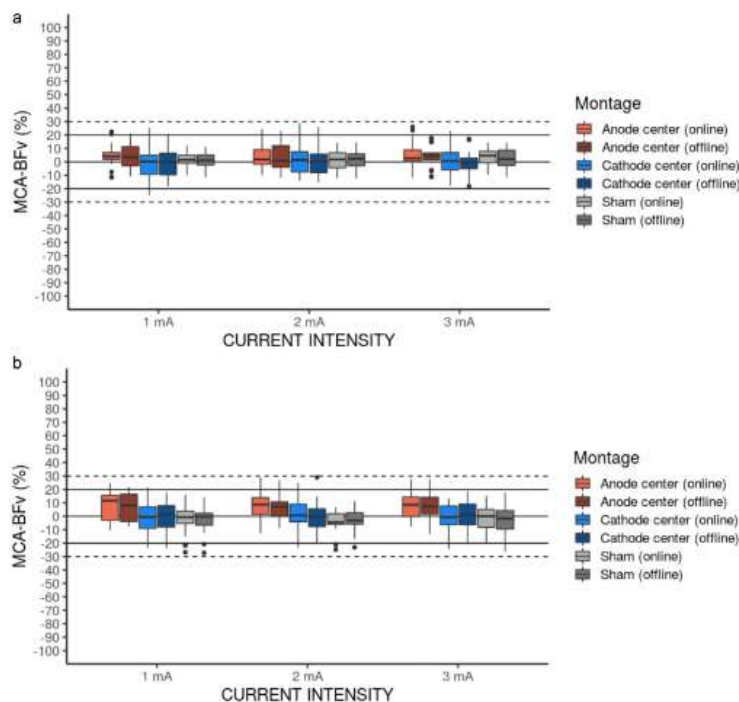


Fig. 2. : Right (upper graph) and left (lower graph) middle cerebral artery blood flow velocity (MCA-BFv); expressed by the difference from baseline as percentage) showing no significant changes during (2 min of stimulation) and after (5 min following stimulation) 1, 2, and 3 mA HD-tDCS over the right temporo-parietal junction.

2.1. Stimulation Protocol

The HD-tDCS (Soterix Medical, New York, USA) was placed over the right TPJ region and composed of four electrical stimulation electrodes; the single-center electrode was placed on the right hemisphere in the circumcenter of a triangle with vertices on the 10–20 electroencephalogram (EEG) system [27] coordinates C4, T4, P4. The three surrounding electrodes were placed over C4, T4, and P4. The same position of the electrodes was used during the sham condition. The stimulation protocol comprised 3 blocks of 2 min at each current intensity (1, 2, and 3 mA), and an inter-stimulus interval of 5 min between blocks. The approximate total duration of each session was 120 min. Participants received three electrical stimulation conditions (anode center, cathode center, and sham) on three different days, with an interval of at least 24 h.

Block randomization was used for HD-tDCS conditions (anode center, cathode center, and sham) and current intensity (1, 2, and 3 mA). Simple balanced randomization was used to determine the sham condition (anode or cathode center). A detailed description of the protocol can be found elsewhere [22].

The participants, assessor, and statistician were blind to the intervention.

2.2. Outcome measures

We assessed the middle cerebral artery blood flow velocity (MCA-BFv) using a portable transcranial doppler ultrasound (Compumedics, Germany). Two 2 MHz ultrasound transducers were placed over the right and the left temporal bone windows and fixed with a headpiece (Multidop®X; Compumedics, Germany), assessing the MCA-BFv at an average depth of 55 mm (± 3 mm) [29–31]. The primary outcome was the mean MCA-BFv since it is a central parameter in TGD with good reproducibility and less interindividual variability than the systolic or diastolic peak velocities [31–33]. The time-points of MCA-BFv assessment collected in relation to each block of stimulation were: T0: baseline; T1/online: 30 s after stimulation (immediately after ramp-up); T2/online: 2 min (before ramp-down); T3/offline: immediately after the end of stimulation (after ramp-down); T4/offline: 5 min after stimulation.

Tolerability was assessed using the visual analog scale for discomfort degree after each application of HD-tDCS, graded from zero to 10 [22, 34]. After each session, the participants were also instructed to report any study-related adverse effects.

Table 1
Descriptive data of the right and left Middle Cerebral Artery Blood Flow velocity (MCA-BFV) for each HD-tDCS condition and current intensity.

Label	Current Intensity (mA)	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
		Median [IQR]	Median [IQR]	Median [IQR]	Median [IQR]	Median [IQR]	Median [IQR]
Time-points of assessment		Sham	Cathode Center	Anode Center	Sham	Cathode Center	Anode Center
		RIGHT MCA-BFV (cm/s)			LEFT MCA-BFV (cm/s)		
Baseline (raw data)	0	68.73 ± 7.04 67.50 [64; 70.83]	66.66 ± 9.18 63.17 [60.42; 69.58]	67.23 ± 7.68 64.83 [62.83; 74.58]	72.03 ± 6.93 72 [66.75; 76.75]	68.43 ± 7.52 67.50 [61.42; 75.42]	65.23 ± 7.34 62.67 [60.67; 67.83]
	Online (30 s) - baseline	1	1.86 ± 5.3 1.91 [- 0.19; 5.83]	-0.95 ± 12.44 -1.14 [- 7.83; 3.12]	4.04 ± 8.64 3.29 [0.96; 5.73]	-1.68 ± 8.59 -0.18 [- 4.22; 3.44]	-0.34 ± 12.54 -0.59 [- 7.47; 7.17]
2		2.00 ± 7.87 3.31 [- 3.67; 6.11]	2.51 ± 12.37 4.2 [- 5.88; 6]	4.06 ± 10.24 1.71 [- 0.65; 8.39]	-3.5 ± 7.83 -4.92 [- 5.8; 1.78]	2.05 ± 13.26 1.67 [- 3.49; 8.78]	7.11 ± 10.05 6.3 [0.57; 16.08]
3		4.49 ± 6.15 7.01 [0.35; 8]	-0.11 ± 11.3 1.1 [- 4.63; 2.25]	5.38 ± 10.29 3.55 [- 0.68; 8.87]	0.26 ± 8.84 1.01 [- 7.46; 5.74]	0.86 ± 10.64 1.98 [- 6.32; 10.1]	7.76 ± 10.51 11.18 [- 0.49; 13.07]
Online (2 min) - baseline	1	0.87 ± 6.86 0.47 [- 1.52; 2.72]	-0.07 ± 12.47 -1.84 [- 7.85; 8.51]	5.45 ± 6.26 5.12 [3; 9.76]	-2.53 ± 10.09 -2.03 [- 5.49; 3.28]	-0.18 ± 13.19 0.51 [- 8.42; 6.58]	7.92 ± 12.68 9.16 [- 2.84; 18.78]
	2	0.32 ± 7.47 -0.27 [- 4.42; 7.01]	1.62 ± 11.62 -0.46 [- 7.87; 8.62]	4.4 ± 9.43 2.79 [- 1.91; 9.92]	-4.05 ± 7.57 -4.04 [- 6.93; 1.07]	1.63 ± 12.05 1.63 [- 4.09; 7.95]	7.66 ± 11.94 8.7 [2.02; 12.23]
	3	1.94 ± 7.22 3.68 [- 3.39; 7.84]	0.28 ± 11 -0.65 [- 5.51; 5.83]	5.1 ± 8.85 2.62 [1.8; 6.23]	-3.14 ± 9.61 -2.1 [- 9.37; 1.08]	-2.46 ± 11.17 -2.6 [- 6.62; 4.85]	6.8 ± 10.23 5.75 [1.06; 15.58]
Offline (30 s) - baseline	1	2.5 ± 4.92 1.5 [- 0.58; 5.34]	0.18 ± 11.82 1.35 [- 7.73; 7.84]	6.1 ± 10.41 6.55 [- 0.47; 13.48]	-1.88 ± 10.77 0.04 [- 3.64; 2.52]	0.46 ± 11.96 0.79 [- 6.35; 8.28]	6.96 ± 11.02 8.04 [- 4.16; 16.02]
	2	3.11 ± 8.3 2.42 [- 2.33; 10.25]	0.1 ± 12.31 0.47 [- 9.78; 4.85]	5.78 ± 11.01 0.81 [0.39; 15.52]	-3.49 ± 6.8 -4.35 [- 5.83; 2.26]	0.31 ± 13.06 -0.3 [- 6.85; 5.79]	8.04 ± 10.07 8.77 [1.4; 12.79]
	3	3.32 ± 8.21 3.69 [- 1.28; 8.51]	0.25 ± 11.07 -0.74 [- 6.34; 6.05]	5.58 ± 8.16 5.15 [2.83; 7.06]	-1.95 ± 12.2 -0.26 [- 8.65; 5.66]	1.09 ± 10.82 2.47 [- 5.39; 9.32]	7.64 ± 10.22 11.09 [1.67; 14.38]
Offline (5 min) - baseline	1	0.43 ± 6.17 0.95 [- 2.98; 4.23]	-1 ± 11.92 -1.56 [- 8.99; 4.94]	2.26 ± 9.94 2.81 [- 5.26; 9.37]	-3.93 ± 8.48 -2.51 [- 7.78; 1.59]	-1.7 ± 12.34 1.36 [- 9.74; 7.02]	6.75 ± 11.27 7.85 [- 3.15; 5.74]
	2	-0.22 ± 6.55 1.99 [- 2.68; 4.75]	-0.41 ± 8.74 2 [- 7.01; 5.5]	2.53 ± 9.97 0.42 [- 4.45; 10.2]	-3.04 ± 9.22 -3.08 [- 5.96; 2.43]	-0.68 ± 10.2 1.49 [- 7.12; 5.08]	5.57 ± 7.45 4.8 [0.2; 10.15]
	3	1.8 ± 5.74 1.59 [- 3.26; 7.38]	-2.89 ± 7.84 -0.8 [- 4.23; 1.96]	2.4 ± 8.68 2.94 [- 4.38; 5.87]	-3.75 ± 10.89 -1.69 [- 9.73; 2.23]	-0.89 ± 11.07 -2.38 [- 6.53; 5.91]	5.72 ± 11.47 3.61 [2.01; 11.58]

mA: milliampere; SD: standard deviation; IQR: interquartile interval range; MCA-BFV: middle cerebral artery blood flow velocity; cm: centimeter; s: second; min: minutes.

2.3. Statistical analysis

The statistical guidelines for the analysis of crossover studies were followed with its longitudinal/temporal structure [35]. We used the Kruskal-Wallis test to assess the effect of current intensity for each HD-tDCS condition (anode center, cathode center, or sham) and the effect of HD-tDCS condition for each current intensity (1, 2, or 3 mA). Since the hypotheses were defined a priori, and we used a global test across comparison treatments, no adjustments for multiple comparisons were performed [36]. A 5% level of significance was used (two-sided). Statistical analyses were performed using R Project for Statistical Computing. The descriptive results of the figures are presented as the difference from the baseline. A 20–30% difference from baseline in MCA-BFV is considered a clinically significant change for inducing neurological symptoms [30,31].

3. Results

Stimulation was well tolerated across stimulation conditions tested (see the companion dataset paper), consistent with prior results [22]. There were no serious adverse effects reported in this study.

The present study revealed no statistically significant difference in MCA-BFV during the stimulation protocol across all conditions, on either

the ipsilateral or the contralateral stimulation side (Figs. 1 and 2; Table 1). The change in MCA-BFV, observed both during and following stimulation, was below the range of change (20–30%) that is described to have a potential threshold for clinical significance [30,31] (Fig. 1).

4. Discussion

This is the first report of cerebral hemodynamic effects of HD-tDCS assessed using TCD. The effects of conventional tDCS were previously investigated by Vernieri et al. (2010), who did not observe any significant change in MCA-CBFV [3,4,25]. Under the same stimulation protocol, Giorli et al. (2015) found an increase in MCA-BFV during and after anodal condition and a decrease after cathodal condition [24]. Different results might occur due to methodology discrepancies or individual variability.

Changes in microvasculature cerebral blood flow and blood oxygenation during and after HD-tDCS were described in healthy subjects [37–40] and patients after traumatic brain injury [41]. Indeed, different methods such as functional magnetic resonance imaging, functional near-infrared spectroscopy, and computerized tomography can also investigate cerebral hemodynamic features [3,4]. However, TCD is advantageous since it is a non-invasive, low-cost, and radiation-free tool that allows measurement at the bedside, with

continuous and real-time evaluation of main cerebral artery hemodynamics. It is widely used in clinical practice as a reliable and high sensitivity tool in experienced hands for assessing the cerebral blood flow of main cerebral arteries [30,32]. Furthermore, TCD is recommended by the American Heart Association for monitoring cerebral vascular clinical situations such as stenosis, vasospasm, shunt, and emboli [30]. Thus, TCD can be considered an optimal tool to assess safety relating to middle cerebral artery hemodynamic effects from transcranial brain stimulation protocols.

The experimental use of tDCS for the prevention of infarct growth in hyperacute stroke requires cerebrovascular safety analyses [42,43]. A recent pilot study in humans showed a promising application of conventional tDCS applied before completing the recanalization procedure in hyperacute middle cerebral artery stroke patients [44]. The focal HD-tDCS method as used in the present study, might be applied for the same purpose in the future and our findings could contribute to a positive risk-benefit assessment for developing new protocols.

Here we provide evidence that vascular reaction assessed by blood flow was unaltered during and after HD-tDCS at a range of intensities, both locally and remotely. Together with the tolerability data, these findings are essential considerations in safety and mechanism for neurologic and psychiatric patients associated with cerebrovascular disease etiology. Yet, further exploration is warranted given that the potential middle cerebral artery vascular response to brain electric fields (either directly or indirectly) might increase with more prolonged stimulation or with brain lesions. Future studies should analyze the characteristics of continuous data.

CRedit authorship contribution statement

Luiz H Stefano: Conceptualization, Methodology, Project administration, Data curation, Formal analysis, Investigation, Writing – original draft. **Diandra B Favoretto:** Methodology, Data curation, Data curation, Investigation, Writing – original draft. **Francisco Louzada:** Data curation, Formal analysis, Visualization, Writing – review & editing. **Marom Bikson:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Joao P Leite:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing. **Octavio M Pontes-Neto:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – review & editing. **Dylan J Edwards:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Visualization, Writing – review & editing. **Taiza GS Edwards:** Conceptualization, Methodology, Project administration, Data curation, Formal analysis, Resources, Supervision, Visualization, Writing – review & editing.

Declaration of interest

The City University of New York has inventions on tES with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical and serves on the scientific advisory boards or has grants from Mecta, Halo Neuroscience, Boston Scientific and GlaxoSmithKline. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Acknowledgements

This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; funding code 001), Brazil. We acknowledge Dr. Mersedeh Bahr Hosseini for the helpful suggestions on the manuscript development, and Thiago Bronhara for the helpful development of the figures.

References

- Edwards, M., Cortes, A., Datta, P., Minhas, E.M., Wassermann, M., Bikson, J. Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: a basis for high-definition tDCS. *NeuroImage* 74 (2013) 266–275.
- J. Reckow, A. Rahman-Filipiak, S. Garcia, S. Schlesselin, O. Calhoun, A.F. DaSilva, et al., Tolerability and binding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamperes, *Brain Stimul.* 11 (5) (2018) 991–997.
- P.C. Iyer, S. Madhavan, Non-invasive brain stimulation in the modulation of cerebral blood flow after stroke: a systematic review of transcranial doppler studies, *Clin. Neurophysiol.* 129 (12) (2018) 2544–2551.
- M. Barh-Hosseini, M. Bikson, Neurovascular-modulation: a review of primary vascular responses to transcranial electrical stimulation as a mechanism of action, *Brain Stimul.* 14 (4) (2021) 837–847.
- J.A. Sharpe, What's up, doc? Altered perception of the haptic, postural, and visual vertical, *Neurology* 61 (9) (2003) 1172–1173.
- A.P. Yelnik, F.O. Lebehton, L.V. Bonan, F.M. Colle, F.A. Meurin, J.P. Guichard, et al., Perception of verticality after recent cerebral hemispheric stroke, *Stroke* 33 (9) (2002) 2247–2253.
- S. Dai, C. Piscicelli, E. Clarac, M. Baciú, M. Hommel, D. Pérennou, Balance, lateropulsion, and gait disorders in subacute stroke, *Neurology* 96 (17) (2021) e2147–e2159.
- S.R. Babyar, M.G. Peterson, M. Reding, Case-control study of impairments associated with recovery from "pusher syndrome" after stroke: logistic regression analyses, *J. Stroke Cereb. Dis.* 26 (1) (2017) 25–33.
- D.A. Pérennou, G. Mazibrada, V. Chauvineau, R. Greenwood, J. Rothwell, M. A. Gresty, et al., Lateropulsion, pushing and verticality perception in hemisphere stroke: a causal relationship? *Brain* 131 (Pt 9) (2008) 2401–2413.
- T.E. Santos-Pontelli, O.M. Pontes-Neto, J.F. Colafemina, D.B. de Araujo, A.C. Santos, J.P. Leite, Contraversive pushing in non-stroke patients, *J. Neurol.* 251 (11) (2004) 1324–1328.
- P.M. Pedersen, A. Wandel, H.S. Jørgensen, H. Nakayama, H.D. Ranschau, T. S. Olsen, Ipsilateral pushing in stroke: incidence, relation to neuropsychological symptoms, and impact on rehabilitation. The Copenhagen Stroke Study, *Arch. Phys. Med Rehabil.* 77 (1) (1996) 25–28.
- I.V. Bonan, K. Huboux, M.C. Gelles-Leman, J.P. Guichard, E. Vicaut, A.P. Yelnik, Influence of subjective vertical misperception on balance recovery after stroke, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 78 (3) (2007) 49–55.
- T. Brandt, M. Dieterich, Perceived vertical and lateropulsion: clinical syndromes, localization, and prognosis, *Neurorehabil. Neural Repair* 14 (1) (2000) 1–12.
- L. Johannsen, D. Broetz, T. Naegel, H.O. Karnath, "Pusher syndrome" following cortical lesions that spare the thalamus, *J. Neurol.* 253 (4) (2006) 455–463.
- T.E. Santos-Pontelli, O.M. Pontes-Neto, D.B. Araujo, A.C. Santos, J.P. Leite, Neuroimaging in stroke and non-stroke pusher patients, *Arq. Neuropsiquiatr.* 69 (6) (2011) 914–919.
- B. Baier, J. Suchan, H.O. Karnath, M. Dieterich, Neural correlates of disturbed perception of verticality, *Neurology* 78 (10) (2012) 728–735.
- L.F. Ticini, U. Klöse, T. Nägele, H.O. Karnath, Perfusion imaging in Pusher syndrome to investigate the neural substrates involved in controlling upright body position, *PLoS One* 5 (4) (2009), e5737.
- T.E. Santos-Pontelli, O.M. Pontes-Neto, D.B. Araujo, A.C. Santos, J.P. Leite, Neuroimaging in stroke and non-stroke pusher patients 69 (6) (2011) 914–919.
- B. Baier, F. Thonnes, J. Witting, C. Heinze, C. Geber, M. Dieterich, A pathway in the brainstem for roll-tilt of the subjective visual vertical: evidence from a lesion-behavior mapping study, *J. Neurosci.* 32 (43) (2012) 14854–14858.
- A. Kheradmand, A. Winnick, Perception of upright: multisensory convergence and the role of temporo-parietal cortex, *Front. Neurol.* 8 (2017) 552.
- F. Fiori, M. Candidi, A. Acciarino, N. David, S.M. Aglioti, The right temporoparietal junction plays a causal role in maintaining the internal representation of verticality, *J. Neurophysiol.* 114 (5) (2015) 2983–2990.
- T.E.G. Santos, D.B. Favoretto, I.G. Toostani, D.C. Nascimento, R.P. Rimoli, E. Bergonzoni, et al., Manipulation of human verticality using high-definition transcranial direct current stimulation, *Front. Neurosci.* 9 (2015) 825.
- S. Babyar, T. Santos, T. Will-Lemos, S. Mazin, D. Edwards, M. Reding, Sinusoidal transcranial direct current versus galvanic vestibular stimulation for treatment of lateropulsion poststroke, *J. Stroke Cereb. Dis.* 27 (12) (2018) 3621–3625.
- E. Gioelli, S. Tognazzi, L. Briscese, T. Bocsi, L. Mazzatenta, A. Priori, et al., Transcranial direct current stimulation and cerebral vasomotor reserve: a study in healthy subjects, *J. Neuroimaging* 25 (4) (2015) 571–574.
- F. Vernieri, P. Maggio, F. Tibazzi, M.M. Filippi, P. Pasqualetti, J.M. Melgari, et al., High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation decreases cerebral vasomotor reactivity, *Clin. Neurophysiol.* 120 (6) (2009) 1188–1194.
- J.D. Rollnik, A. Düsterhöft, J. Dauper, A. Kissek, K. Weissenborn, R. Dengler, Decrease of middle cerebral artery blood flow velocity after low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex, *Clin. Neurophysiol.* 113 (6) (2002) 951–955.
- M.B. Connolly, F.W. Sharbrough, P.K.H. Wong, Electrical Fields and Recording Techniques, in: J.S. Ebersole, T.A. Pedley (Eds.), *Current Practice of Clinical Electroencephalography*, 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003, pp. 72–99.
- D. Sander, B.U. Meyer, S. Rörich, J. Klingelhoefer, Effect of hemisphere-selective repetitive magnetic brain stimulation on middle cerebral artery blood flow velocity, *Electro Clin. Neurophysiol.* 97 (1) (1995) 43–48.
- A. D'Andrea, M. Conte, M. Cavallaro, B. Scaraffie, L. Riegler, R. Cocchia, et al., Transcranial doppler ultrasonography: from methodology to major clinical applications, *World J. Cardiol.* 8 (7) (2016) 383–400.
- C.K. Willie, F.L. Colino, D.M. Bailey, Y.C. Tzeng, G. Binsted, L.W. Jones, et al., Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function, *J. Neurosci. Methods* 196 (2) (2011) 221–237.

- [31] W. Soreberg, I.A. Langmoen, K.F. Lindegaard, H. Nornes, Side-to-side differences and day-to-day variations of transcranial Doppler parameters in normal subjects, *J. Ultrasound Med.* 9 (7) (1990) 403–409.
- [32] M. Hennesic, W. Rautenberg, G. Sitzer, A. Schwartz, Transcranial Doppler ultrasound for the assessment of intracranial arterial flow velocity—Part 1. examination technique and normal values, *Surg. Neurol.* 27 (5) (1987) 439–448.
- [33] Jawad Naqvi, Kok Hoi Yap, Gulraiz Ahmad, Jonathan Ghosh, Transcranial doppler ultrasound: a review of the physical principles and major applications in critical care, *Int. J. Vasc. Med.* (2013).
- [34] R. Russo, D. Wallace, P.B. Fitzgerald, N.R. Cooper, Perception of comfort during active and sham transcranial direct current stimulation: a double blind study, *Brain Stimul.* 6 (6) (2013) 946–951.
- [35] B. Jones, M. Kenward, In: D.C. Washington (Ed.), *Design and Analysis of Cross-over Trials*. Second Edition, Chapman & Hall/CRC, 2003.
- [36] K.F. Schulz, D.A. Grimes, Multiplicity in randomised trials 1: endpoints and treatments, *Lancet* 365 (9470) (2005) 1591–1595.
- [37] W. Soreberg, I.A. Langmoen, K.F. Lindegaard, H. Nornes, Side-to-side differences and day-to-day variations of transcranial Doppler parameters in normal subjects, *J. Ultrasound Med.* 9 (7) (1990) 403–409.
- [38] M. Muthalib, P. Besson, J. Rothwell, S. Perrey, Focal hemodynamic responses in the stimulated hemisphere during high-definition transcranial direct current stimulation, *Neuromodulation* 21 (4) (2018) 348–354.
- [39] M. Muthalib, P. Besson, J. Rothwell, T. Ward, S. Perrey, Effects of anodal high-definition transcranial direct current stimulation on bilateral sensorimotor cortex activation during sequential finger movements: an fNIRS study, *Adv. Exp. Med. Biol.* 876 (2016) 351–359.
- [40] M. Sood, P. Besson, M. Muthalib, U. Jindal, S. Perrey, A. Datta, et al., NIRS-EEG joint imaging during transcranial direct current stimulation: online parameter estimation with an autoregressive model, *J. Neurosci. Methods* 274 (2016) 71–80.
- [41] A.O. Trofimov, G. Kalentiev, M. Karel'sky, C. Ksenofontova, A. Ruzavina, M. Yuriev, et al., Cerebral hemodynamics after transcranial direct current stimulation (tDCS) in patients with consequences of traumatic brain injury, *Adv. Exp. Med. Biol.* 1072 (2018) 59–62.
- [42] F. Notturmo, M. Pace, F. Zappasodi, E. Cam, C.L. Bassetti, A. Uncini, Neuroprotective effect of cathodal transcranial direct current stimulation in a rat stroke model, *J. Neurol. Sci.* 342 (2014) 146–151.
- [43] L. Pevzotti-Jametti, M. Cambiaghi, M. Bacigaluppi, M. Gallizioli, E. Gaude, S. Mari, S. Sandrone, M. Cursi, L. Teseud, G. Comi, et al., Safety and efficacy of transcranial direct current stimulation in acute experimental ischemic stroke, *Stroke* 44 (2013) 3166–3174.
- [44] E. Pruvost-Robieux, J. Benzakoun, G. Turc, A. Marchi, R.L. Mancusi, C. Lamy, V. Domingo, C. Oppenheim, D. Calvet, J.C. Baron, J.L. Mas, M. Gavaret, Cathodal transcranial direct current stimulation in acute ischemic stroke: pilot randomized controlled trial, *Stroke* 52 (6) (2021) 1951–1960 (Jun).

7.2 Estudo publicado: Dataset of middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation.

Data in Brief 45 (2022) 108603



Contents lists available at ScienceDirect

Data in Brief

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dib



Data Article

Dataset of middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation



Luiz H. Stefano^a, Diandra B. Favoretto^a, Diego C. Nascimento^b,
Luan R.A. Santos^a, Marom Bikson^c, Joao P. Leite^a,
Octavio M. Pontes-Neto^a, Dylan J. Edwards^d, Taiza G.S. Edwards^{a,*}

^a Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Campus Universitário - CEP 14049-900, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

^b Departamento de Matemática, Facultad de Ingeniería, Universidad de Arica, Copiapó, Chile

^c Neural Engineering Laboratory, Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of the City University of New York, New York, NY, United States

^d Moss Rehabilitation Research Institute, Thomas Jefferson University, PA, USA, Exercise Medicine Research Institute, School of Medical and Health Sciences, Edith Cowan University, Joondalup, Australia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 July 2022

Revised 22 August 2022

Accepted 9 September 2022

Available online 15 September 2022

Dataset link: [Dataset of middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation \(Original data\)](#)

ABSTRACT

This supplementary dataset is supportive of the randomized sham-controlled, double-blind, crossover clinical trial investigating polarity- and intensity-dependent effects of high-definition transcranial electrical stimulation (HD-tDCS) applied over the right temporo-parietal junction on mean middle cerebral artery blood flow velocity (MCA-BFv) bilaterally. Data of eleven healthy right-handed adults (6 women, 5 men; mean age 31 ± 5.6 years old) were analyzed for MCA-BFv, assessed using transcranial doppler ultrasound on the stimulated and the contralateral hemisphere concomitantly, during and after 3 blocks of 2 min HD-tDCS at 1, 2, and

Abbreviations: HD-tDCS, high-definition transcranial direct current stimulation; TPJ, temporo-parietal junction; MCA-BFv, middle cerebral artery blood flow velocity; TCD, transcranial doppler ultrasound.

DOI of original article: [10.1016/j.dib.2022.107345](https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.107345)

* Corresponding author.

E-mail address: taiza@fmrp.usp.br (T.G.S. Edwards).

Social media: [@LuanRAGuiar_](#) (L.R.A. Santos), [@MaromBikson](#) (M. Bikson), [@JoaoPereiraLei3](#) (J.P. Leite), [@opontesnetoMD](#) (O.M. Pontes-Neto), [@edwardsneurolab](#) (T.G.S. Edwards)

<https://doi.org/10.1016/j.dib.2022.108603>

2352-3409/© 2022 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Keywords:

High-definition transcranial electric stimulation
 Transcranial doppler
 Hemodynamic response
 Safety

3 mA. Participants received three electrical stimulation conditions (anode center, cathode center, and sham) randomly ordered across different days. The collected data is publicly available at Mendeley Data. This article and the data will inform future related investigations and safety analysis of transcranial non-invasive brain stimulation.

© 2022 The Authors. Published by Elsevier Inc.

This is an open access article under the CC BY license

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Specifications Table

Subject	Neuroscience: General
Specific subject area	Transcranial Neuromodulation and Vascular Neurology.
Type of data	Table Image
How the data were acquired	The transcranial Doppler (TCD) ultrasound data was acquired using a Multidop®X; Compumedics, Germany device to assess the mean right and left middle cerebral arteries' blood flow velocity (MCA-BFV), through the transtemporal bone windows of the participants. At the same time, the HD-tDCS (Soterix Medical, New York, USA) was placed over the right temporo-parietal junction (TPJ), and participants received three electrical stimulation conditions (anode center, cathode center, and sham) on three different days. Data were recorded before (baseline), during, and after the stimulation.
Data format	Raw Analyzed Image
Description of data collection	The data of eleven healthy adults were collected in a hospital room dedicated to neurophysiological investigation, with the participant in a comfortable supine position, exposed to low light, and in silence. Bilateral MCA-BFV were concomitantly assessed using two TCD transducers fixed with a headpiece (Multidop®X; Compumedics, Germany), observed in the ultrasound display and video recorded. The time points of TCD data assessment were before, during, and after each stimulation trial. Visual analog scale data for discomfort was collected after each stimulation intensity block. The participants, assessor, and statistician were blinded to the stimulation protocol.
Data source location	Institution: Department of Neurosciences and Behavioral Sciences, Ribeirao Preto Medical School, University of Sao Paulo. City/Town/Region: Ribeirao Preto / São Paulo. Country: Brazil. Latitude: 21° 10' 36" South / Longitude: 47° 49' 15" West.
Data accessibility	https://data.mendeley.com/datasets/64n584n2d4/1 doi:10.17632/64n584n2d4.1
Related research article	Stefano LHS, Favoretto DB, Nascimento DC, Santos LRA, Louzada F, Bikson M, et al. Middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation : A randomized sham-controlled clinical trial. Clin Neurol Neurosurg. 2022;220(May):107345. https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107345

Value of the Data

- The high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) is an emergent experimental treatment for recovering cognitive and motor deficits following neurological disorders through the modulation of cortical excitability [1,2]. As different cerebral blood flow responses can occur following neuronal activity changes, the analysis of hemodynamic effects of the main cerebral arteries is significant for applying HD-tDCS [3].

- The data were obtained using the well-established transcranial Doppler ultrasound method to assess cerebral blood flow velocity of the right and left middle cerebral arteries.
- The dataset allows anyone to reproduce the analysis published in the companion paper entitled “Middle cerebral artery blood flow stability during and after high-definition transcranial electrical stimulation: a randomized sham-controlled clinical trial”.
- The dataset can benefit researchers aiming to analyze the safety and vascular modulatory potential of non-invasive brain stimulation.

1. Data Description

The dataset is in a workbook (.xls) accessible in Mendeley data (see Specifications table). This dataset is composed of 14 variables described in a separate legend sheet.

Table 1. Raw data of right and left Middle Cerebral Artery Blood Flow velocity (MCA-BFv) and Visual Analog Scale Score for discomfort for each HD-tDCS condition and current intensity.

2. Experimental Design, Materials and Methods

For methodical detail of the protocol, see the companion paper “Middle cerebral artery blood flow stability during and after high-definition transcranial electrical stimulation: a randomized sham-controlled clinical trial.” [4]. In brief, we assessed the mean middle cerebral arteries’ blood flow velocity (MCA-BFv) of eleven healthy right-handed adults (6 women; mean age 31 ± 5.6 years old) before, during, and after high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). The participants, assessor, and statistician were blind to the intervention.

The HD-tDCS device (Soterix Medical, New York, USA) was controlled by an independent investigator specialized in non-invasive neuromodulation that set and delivered the intervention condition to guarantee the allocation concealment. The stimulation electrodes were placed over the right temporo-parietal junction (TPJ) region and composed of four circular Ag/AgCl electrodes (1 cm radius, $5.99e7$ S/m) attached to plastic holders, filled with conductive gel (4 mm thickness, 1.4 S/m) and fixed by a HD cap. The position of the electrodes was selected after the analysis of finite element models of HD-tDCS over the targeted TPJ that predicted the induced electric field on the brain [6]. The center electrode was placed in the circumcenter of a triangle with vertices on the 10–20 electroencephalogram (EEG) system [5] coordinates C4, P4, T8, and surrounded by three electrodes placed over C4, P4, and T8. The stimulation was administered in 3 blocks of 2 min at each current intensity (1, 2, and 3 mA) and an inter-stimulus interval of 5 min between blocks. Participants received three electrical stimulation conditions (anode center, cathode center, and sham) with identical electrode positions, on three different days, with an interval of at least 24 h. In the active HD-tDCS conditions, the electric current ramped-up for the initial 30 s, maintained the current intensity for 2 min, and ramped-down for 30 s at the end of the stimulation. To ensure blinding of participant, the HD-tDCS device was positioned away from the participant’s visual field and, in the sham condition, the current followed a ramp-up of 30 s to the randomized current intensity and a subsequent ramp-down phase of 30 s. The HD-tDCS conditions and current intensities were block-randomized (Table 1). The sham condition (anode or cathode center) was determined using simple balanced randomization. The same stimulation protocol was applied previously to investigate its effects on verticality perception, postural balance and EEG [6,7].

The transcranial Doppler (TCD) ultrasound was assessed in a silent hospital room dedicated to the neurophysiological investigation. Participants were instructed not to drink caffeine or alcohol 24 h prior to each session. In a comfortable supine position with low light, participants were asked to stay still while data was collected from 2 MHz ultrasound transducers were placed over their right and the left temporal bone windows and fixed with a headpiece (Multidop®X; Compumedics, Germany;). The neurovascular neurologist (L.H.S.S.) supervised the TCD signal and

Table 1
Randomization method for the HD-tDCS condition and current intensity per session.

Randomization Code		Session 1	Session 2	Session 3
A	HD-tDCS condition	AC	CC	SH
	Current intensity sequence (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
B	HD-tDCS condition	AC	CC	SH
	Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
C	HD-tDCS condition	AC	CC	SH
	Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1
D	HD-tDCS condition	CC	SH	AC
	Current intensity sequence (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
E	HD-tDCS condition	CC	SH	AC
	Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
F	HD-tDCS condition	CC	SH	AC
	Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1
G	HD-tDCS condition	SH	AC	CC
	Current intensity sequence (mA)	1; 2; 3	2; 3; 1	3; 1; 2
H	HD-tDCS condition	SH	AC	CC
	Current intensity sequence (mA)	2; 3; 1	3; 1; 2	1; 2; 3
I	HD-tDCS condition	SH	AC	CC
	Current intensity sequence (mA)	3; 1; 2	1; 2; 3	2; 3; 1

AC, anode-center; CC, cathode-center; SH; sham; mA, milliamperes.

Table 2
Descriptive data of Visual Analog Scale Score for discomfort, with each HD-tDCS condition and current intensity.

Current Intensity	SHMean (SD)Median [IQR]	CCMean (SD)Median [IQR]	ACMean (SD)Median [IQR]
Baseline	0 ± 0 0 [0]	0 ± 0 0 [0]	0 ± 0 0 [0]
1 mA	0.72 ± 1.19 0 [0; 1]	2.36 ± 2.06 1 [1; 4.5]	0.63 ± 0.67 1 [0; 1]
2 mA	0.90 ± 1.22 1 [0; 1]	2.54 ± 2.58 2 [0.5; 3.5]	2.90 ± 2.54 2 [1.5; 4.5]
3 mA	1.45 ± 1.63 1 [0; 2.5]	3.81 ± 1.83 4 [3; 5]	3 ± 2 3 [1.5; 4]

AC: anode center; CC: cathode center; SH: sham; SD: standard deviation; IQR: interquartile range.

adjusted the transducers as needed during the data collection and was blind to the stimulation randomization. The TCD relies on pulsed wave Doppler to produce a spectral waveform with peak systolic velocity (PSV) and end diastolic velocity (EDV) values. The mean flow velocity is the result of $[\text{PSV} + (\text{EDV} \times 2) / 3]$ and was chosen as the primary outcome measure since it is a central parameter in TCD with good reproducibility and less interindividual variability compared to systolic or diastolic peak velocities (for review [8–10]). The MCA-BFV were assessed at an average depth of 55 mm (± 3 mm) [8,9], shown in the ultrasound display and recorded in real-time video. The time-points of MCA-BFV assessment collected within each block of stimulation were: T0: baseline; T1/online: 30 s after stimulation (immediately after ramp-up); T2/online: 2 min (before ramp-down); T3/offline: immediately after the end of stimulation (after ramp-down); T4/offline: 5 min after stimulation. After each session, participants were asked to report the discomfort degree using a visual analog scale, graded from zero to 10 (Table 2), and any adverse effects related to the study protocol during the study period.

Ethics Statements

This study was conducted according to the Helsinki Declaration requirements for human investigation and approved by the local ethics committee (HCRP Ethics Committee, protocol number 09.485.212.7.0000.5440). All participants provided written informed consent.

CRediT Author Statement

Luiz H Stefano: Conceptualization, Methodology, Project administration, Data curation, Formal analysis, Investigation, Writing – original draft; **Diandra B. Favoretto:** Methodology, Data curation, Data curation, Investigation, Writing – original draft; **Marom Bikson:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing; **Joao P. Leite:** Conceptualization, Methodology, Writing – review & editing; **Octavio M. Pontes-Neto:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – review & editing; **Dylan J. Edwards:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Visualization, Writing – review & editing; **Taiza G.S. Edwards:** Conceptualization, Methodology, Project administration, Data curation, Formal analysis, Resources, Supervision, Visualization, Writing – review & editing.

Declaration of Competing Interest

The City University of New York has inventions on tES with M.B. as inventor. M.B. has equity in Soterix Medical and serves on the scientific advisory boards or has grants from Mecta, Halo Neuroscience, Boston Scientific and GlaxoSmithKline. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Data Availability

Dataset of middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation (Original data) (Mendeley Data).

Acknowledgements

Funding: This work was supported by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES, funding code 001), Brazil.

References

- [1] D. Edwards, M. Cortes, A. Datta, P. Minhas, E.M. Wassermann, M. Bikson, Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: a basis for high-definition tDCS, *Neuroimage* 74 (2013) 266–275, doi:10.1016/j.neuroimage.2013.01.042.
- [2] J. Reckow, A. Rahman-Filipiak, S. Garcia, S. Schlaefelin, O. Calhoun, A.F. DaSilva, et al., Tolerability and blinding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamps, *Brain Stimul.* 11:5 (2018) 991–997, doi:10.1016/j.brs.2018.04.022.
- [3] P.C. Iyer, S. Madhavan, Non-invasive brain stimulation in the modulation of cerebral blood flow after stroke: a systematic review of Transcranial Doppler studies, *Clin. Neurophysiol.* 129:12 (2018) 2544–2551, doi:10.1016/j.clinph.2018.09.019.
- [4] L.H.S. Stefano, D.B. Favoretto, D.C. Nascimento, L.R.A. Santos, F. Louzada, M. Bikson, et al., Middle cerebral artery blood flow stability in response to high-definition transcranial electrical stimulation: a randomized sham-controlled clinical trial, *Clin. Neurol. Neurosurg.* 220 (May) (2022) 107345, doi:10.1016/j.clineuro.2022.107345.
- [5] M.B. Connolly, F.W. Sharbrough, P.K.H. Wong, Electrical fields and recording techniques, in: J.S. Ebersole, T.A. Pedley (Eds.), *Current Practice of Clinical Electroencephalography*, 3rd ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003, pp. 72–99.

- [6] T.E.G. Santos, D.B. Favoretto, I.G. Toostani, D.C. Nascimento, B.P. Rimoli, E. Bergonzoni, et al. Manipulation of Human Verticality Using High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation, *Front Neurol.* 9 (2018) 825. doi:[10.3389/fneur.2018.00825](https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00825).
- [7] D.B. Favoretto, E. Bergonzoni, D.C. Nascimento, F. Louzada, T.W. Lemos, R.A. Batistela, R. Moraes, J.P. Leite, B.P. Rimoli, D.J. Edwards, T.G.S Edwards, High definition tDCS Effect on Postural Control in Healthy Individuals: entropy Analysis of a Crossover Clinical Trial, *Appl. Sci.* 12 (2022) 2703, doi:[10.3390/app12052703](https://doi.org/10.3390/app12052703).
- [8] M. Hennerici, W. Rautenberg, G. Sitzler, A. Schwartz, Transcranial Doppler ultrasound for the assessment of intracranial arterial flow velocity—Part 1. Examination technique and normal values, *Surg. Neurol.* 27 (:5) (1987) 439–448, doi:[10.1016/0090-3019\(87\)90251-5](https://doi.org/10.1016/0090-3019(87)90251-5).
- [9] J. Naqvi, K.H. Yap, G. Ahmad, J. Ghosh, Transcranial doppler ultrasound: a review of the physical principles and major applications in critical care, *Int. J. Vasc. Med.* 2013 (2013) 629378, doi:[10.1155/2013/629378](https://doi.org/10.1155/2013/629378).
- [10] W. Sorteberg, I.A. Langmoen, K.F. Lindegaard, H. Nornes, Side-to-side differences and day-to-day variations of transcranial Doppler parameters in normal subjects, *J. Ultrasound Med.* 9:7 (1990) 403–409, doi:[10.7863/jum.1990.9.7.403](https://doi.org/10.7863/jum.1990.9.7.403).