



RESPOSTAS ELETROENCEFALOGRÁFICAS DURANTE ESTIMULAÇÃO
MAGNÉTICA TRANSCRANIANA EM ADULTOS NORMAIS

Alexandre Cardozo de Almeida

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Orientador: Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá

Rio de Janeiro
Março de 2019

RESPOSTAS ELETROENCEFALOGRÁFICAS DURANTE ESTIMULAÇÃO
MAGNÉTICA TRANSCRANIANA EM ADULTOS NORMAIS

Alexandre Cardozo de Almeida

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Examinada por:

Prof. Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá, D.Sc.

Prof. Mauricio Cagy, D.Sc.

Profa. Claudia Domingues Vargas, D.Sc.

Profa. Juliana Guimarães Martins Soares, D.Sc.

Prof. Egas Caparelli Moniz de Aragão Dáquer, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

Março de 2019

Almeida, Alexandre Cardozo de.

Respostas eletroencefalográficas durante estimulação magnética transcraniana em adultos normais/ Alexandre Cardozo de Almeida. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019. XII, 140 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá.

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2019.

Referências Bibliográficas: p.114-135.

1. Estimulação Magnética Transcraniana. 2. Eletroencefalograma. 3. Teste Espectral F. I. Sá, Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título.

Dedicatória

À minha família! Minha esposa Carmen e meus filhos Adriano e Antonio pelo amor e compreensão.

A meus pais Odyr e Teresinha, mesmo que não possam mais ver esta etapa de minha vida.

Aos meus tios, especialmente Oswaldo e Geni, pelo apoio e inspiração.

Agradecimentos

Agradeço a FAPERJ, CAPES e CNPq, pois mesmo sem apoio financeiro direto a mim, usufrui indiretamente do mesmo nas instalações da COPPE/ UFRJ.

Agradeço à Rede SARAHE de Hospitais de Reabilitação, seus diversos setores em diferentes cidades, dos quais tive apoio.

Aos docentes do Programa de Engenharia Biomédica da COPPE, que muito me inspiraram.

Aos amigos Antonio Mauricio e Mariana Massote, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

RESPOSTAS ELETROENCEFALOGRÁFICAS DURANTE ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA EM ADULTOS NORMAIS

Alexandre Cardozo de Almeida

Março/2019

Orientador: Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá

Programa: Engenharia Biomédica

Eletoencefalograma (EEG) é um método conhecido para medir em tempo real a atividade elétrica cerebral. Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) é um método não invasivo de ativação ou inibição da atividade elétrica neural, sendo uma ferramenta cada vez mais importante nas neurociências. No entanto, os mecanismos neuronais da EMT não são plenamente conhecidos. O registro simultâneo do EEG durante a EMT é tecnicamente desafiador. Mas, poderia acrescentar conhecimentos a esta lacuna. Para investigar o efeito da EMT no EEG da área primária motora de sujeitos normais, onze sujeitos normais foram submetidos a pulsos únicos de EMT. Estimulação foi aplicada também a um modelo não humano de crânio: melão (*Cucumis sp.*). No domínio do tempo, foram obtidos os componentes dos potenciais evocados P60, N100, P190 e N280. Os resultados no domínio da frequência mostraram inicialmente oscilações entre 0,5 a 70 Hz. Após a correção do tempo de recarga dos capacitores, as oscilações foram de 0,5 a 20 Hz. Os dados replicaram os resultados de outros pesquisadores. As informações obtidas poderão ser úteis em futuros estudos sobre a fisiologia e enfermidades das vias motoras. O tempo de recarga dos capacitores, que necessita ser configurado apropriadamente, para evitar as épocas de interesse e, conseqüentemente ativação neural indesejada pela corrente elétrica durante a recarga. Também é recomendável para os pesquisadores que lidam com o registro simultâneo do EEG durante a EMT, que atentem para possíveis artefatos provocados pela recarga dos capacitores, devendo informá-la na seção Métodos.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

ELECTROENCEPHALOGRAPHIC RESPONSES TO TRANSCRANIAL MAGNETIC
STIMULATION IN NORMAL ADULTS

Alexandre Cardozo de Almeida

March/2019

Advisor: Antonio Mauricio Ferreira Leite Miranda de Sá

Department: Biomedical Engineering

Electroencephalogram (EEG) is a well-known painless and noninvasive method, measuring real time brain electrical activity. Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) it is another noninvasive, painless and safe method, to modulate, by either activating or inhibiting nerve cells activity. TMS has been increasingly used as a tool in neurosciences. However, its basic mechanisms are not fully understood. Simultaneous TMS/EEG recordings are technically challenging, but could bring some missing information. To investigate the effect of TMS in EEG signals of the primary motor cortex area of normal subjects, describing its properties in the time and frequency domain eleven normal subjects were submitted to TMS single pulses during EEG. TMS was also applied to a non-human head model: muskmelon (*Cucumis sp.*). In the time domain the evoked potentials P60, N100, P190 and N280 were obtained. Frequency domain results showed initially oscillations between 0.5 to 70 Hz. After capacitor recharging time correction, set away from the epochs, oscillations were within 0.5 and 20Hz. Data from other publications were replicated in our population. This information can be useful for motor pathways future studies. TMS capacitors recharge time must be set-up to avoid undesired neuronal activation that could put results in doubt. It is also advisable to the researchers who record TMS/EEG that the recharge time must also be clearly informed in methods section.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
2.2.1 Domínio do tempo.....	3
2.2.2 Domínio da frequência.....	3
2.3 Motivação para o estudo.....	4
3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	5
3.1 Estimulação Magnética Transcraniana.....	5
3.1.1 Históricos das estimulações transcranianas elétrica e magnética.....	5
3.1.2 Mecanismos básicos.....	8
3.1.2.1 Bioeletromagnetismo.....	8
3.1.3 O equipamento de Estimulação Magnética Transcraniana.....	10
3.1.3.1 Capacitores.....	10
3.1.3.2 Tiristor.....	11
3.1.3.3 Bobina.....	11
3.1.3.4 Efeitos biológicos não cranianos.....	19
3.1.4 Efeitos biológicos obtidos com EMT.....	20
3.1.5 Efeitos da Estimulação Magnética Transcraniana nos tecidos biológicos do crânio.....	21
3.1.5.1 Modelos de ativação cortical.....	23
3.1.5.2 Aplicações.....	27
3.1.5.3 Segurança.....	28
3.2 Eletroencefalograma e Magnetoencefalograma.....	31
3.2.1 Histórico do registro da atividade eletromagnética encefálica.....	33
3.2.2 Potenciais Relacionados a Eventos.....	35

3.3	Processamento de Sinais.....	37
3.3.1	Conversão analógico-digital	37
3.3.2	Análise no domínio do tempo	38
3.3.3	Reconstrução das fontes geradoras.....	39
3.3.3.1	O Problema Inverso.....	40
3.3.3.2	Promediação	41
3.3.4	Domínio da frequência	43
3.3.5	O eletrodo da referência.....	45
3.3.5.1	Medidas independentes da escolha do eletrodo de referência	45
3.3.6	Aleatoriedade, estacionariedade e ergodicidade.	46
3.3.7	Transformada de Fourier.....	49
3.3.7.1	Estimativas de potência espectral	50
3.3.8	Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos.....	52
3.3.9	Teste F Espectral	54
3.4	Registro do Eletroencefalograma durante a Estimulação Magnética Transcraniana.....	56
3.4.1	Artefatos e interferências.....	57
3.4.1.1	Artefato de Estímulo	57
3.4.1.2	Artefatos Biológicos.....	58
3.4.2	Equipamentos compatíveis e procedimentos recomendados	59
3.4.2.1	Eletrodos	59
3.4.2.2	Cabos.....	60
3.4.2.3	Amplificadores.....	60
3.4.2.4	Pós-processamento.....	62
3.4.3	O Eletroencefalograma durante a Estimulação Magnética Transcraniana..	65
4	METODOLOGIA DA PESQUISA	70
4.1	Materiais e Métodos.....	70

4.1.1 Desenho.....	70
4.1.1.1 Critérios de exclusão	70
4.1.1.2 População	71
4.1.2 Equipamentos e programas	72
4.1.2.1 Estimulador magnético	72
4.1.2.2 Eletroencefalograma	72
4.1.2.3 Comunicação por Pulsos Digitais	73
4.1.3 Aplicativos.....	74
4.1.4 Condução dos experimentos.....	74
4.1.4.1 Posicionamento dos indivíduos	75
4.1.4.2 Posicionamento da bobina	75
4.1.4.3 Intensidade dos estímulos magnéticos.....	77
4.1.4.4 Respostas eletroencefalográficas indesejadas	77
4.1.4.5 Sessões	78
4.1.4.6 Estimulações em modelos não humanos	78
4.1.5 Processamento dos dados.....	79
4.1.5.1 Inspeção visual e remoção de artefatos	79
4.1.5.2 Segmentação em épocas.....	79
4.1.5.3 Análise dos dados no domínio do tempo.....	81
4.1.5.3.1 Promediação	81
4.1.5.3.2 Potenciais Evocados	81
4.1.5.4 Análise dos dados no domínio da frequência	82
4.1.5.4.1 Transformada de Fourier	82
4.1.5.4.2 Densidade de Potência Espectral	82
4.1.5.4.3 Teste F Espectral.....	82
4.1.6 Questões éticas	85
5 RESULTADOS	86

5.1 Sujeitos	86
5.2 Artefatos	87
5.2.1 O pulso magnético	87
5.2.2 Artefatos por indução eletromagnética	92
5.2.3 Os artefatos biológicos	94
5.3 Respostas obtidas.....	95
5.3.1 Respostas no domínio do tempo	95
5.3.2 Respostas no domínio da frequência	96
5.3.2.1 Densidade espectral de potência.....	96
5.3.2.2 O Teste F Espectral.....	97
5.3.2.3 Efeito do tempo de recarga dos capacitores na atividade	99
6 DISCUSSÃO.....	108
7 CONCLUSÃO	113
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
9 CAPÍTULO - ANEXOS.....	136
9.1 Questionário aos voluntários	136
9.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	138

Lista de abreviaturas e siglas

EMT – Estimulação Magnética Transcraniana

EEG – Eletroencefalograma

TEF – Teste Espectral F

FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

1 INTRODUÇÃO

A Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) é um método não invasivo de ativação do sistema nervoso central e periférico, com uma aplicação crescente tanto em pesquisa básica quanto na prática clínica (CHEN et al., 2008; HALLETT, 2007). Estima-se que, na última década, o número de publicações sobre a EMT tenha chegado a 20.000 artigos (CHIPCHASE et al., 2012).

Em relação ao método predecessor de estimulação transcraniana por eletricidade, a grande vantagem da estimulação magnética é ser indolor. Consequentemente, permitiu ampliar o horizonte de aplicações das técnicas de estimulação e estudo do sistema nervoso. Esta ampliação de fato ocorreu tanto em número de estímulos realizados por indivíduo, tanto na gama de situações em que a EMT foi utilizada como ferramenta de estudo (até mesmo durante o sono), como também na gama de indivíduos estimulados, incluindo crianças (CHEN et al., 2008; HALLETT, 2007). Recentemente, devido à sua capacidade de modulação das funções neuronais, a EMT também tem sido utilizada com sucesso crescente como técnica terapêutica (PETERCHEV et al., 2012; ELAHI; ELAHI; CHEN, 2009).

A aplicação de EMT sobre córtex cerebral desencadeia eventos associados à área estimulada. Por exemplo, quando aplicada sobre o córtex motor, produz respostas caracterizadas por ativação muscular (respostas excitatórias), seguidas por um período de inatividade muscular, também conhecido como Período Inibitório muscular (BARKER; JALINOUS; FREESTON, 1985; CANTELLO et al., 1992).

A EMT, seja sobre a área motora, visual ou qualquer outra região do córtex cerebral, provoca modificação nas funções da região cortical atingida pela geração de um campo elétrico induzido. Este campo ativa uma população de células neuronais pela modificação dos seus potenciais de membrana. Uma vez ativados, também modificam por si a atividade eletromagnética da região cerebral ativada, assim como as suas conexões. A estimulação de uma área cerebral como a motora ou a visual provoca efeitos respectivamente percebidos e visualizados. Mas, na maior parte do encéfalo, os efeitos da EMT não são evidentes. Entretanto, a modificação da atividade eletromagnética encefálica poderia ser registrada diretamente por meio do Eletroencefalograma (EEG), que é um método não invasivo de estudo do sistema nervoso, por meio do registro da atividade elétrica encefálica ao longo do tempo. Entretanto, a associação entre estes dois métodos apresenta limitações técnicas

cruciais que têm impedido sua aplicação pelos pesquisadores. Isto ocorre pelo fato de a maioria dos sistemas de eletroencefalografia ser construída de forma não compatível com o forte campo magnético produzido pelo estimulador magnético e os demais artefatos encontrados quando as duas técnicas são combinadas. Para o registro das respostas eletroencefalográficas causadas pela EMT, é necessário um sistema de aquisição do EEG de alta resolução e com amplificadores e eletrodos apropriadamente construídos para contornar as limitações técnicas. Além disso, as respostas são obtidas em meio a muitos outros ruídos e outros artefatos com dimensões menores do que o do estímulo, mas não negligenciáveis (KOMSSI et al., 2002; ILMONIEMI; KICIC, 2010).

Mesmo com o grande número de estudos acumulados sobre a EMT, pelo fato da mesma ser uma técnica ainda recente, os efeitos da estimulação magnética no sistema nervoso ainda não foram totalmente esclarecidos. Grandes esforços foram feitos pelos pesquisadores, mas os mecanismos de formação das respostas ainda não foram esclarecidos mesmo localmente no córtex estimulado (GROPPA et al., 2013). Outros exemplos são os mecanismos de formação das respostas musculares inibitórias (FARZAN et al., 2013), a dinâmica e a conectividade corticais após a ativação pelo estímulo magnético (FERRERI et al., 2011).

Apesar das dificuldades, a realização do registro eletroencefalográfico durante a EMT do córtex motor é viável. A análise dos sinais no domínio do tempo e no domínio da frequência poderia trazer informações importantes que contribuíssem com os mecanismos de geração das respostas musculares excitatórias e inibitórias à ativação do córtex motor.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal do estudo é investigar a relação entre os pulsos magnéticos aplicados no encéfalo de indivíduos normais e os seus sinais eletroencefalográficos.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Domínio do tempo

Descrever os Potenciais Evocados à EMT no domínio do tempo, com seus respectivos componentes.

2.2.2 Domínio da frequência

Descrever o espectro de potência no EEG dos estímulos magnéticos sobre o encéfalo.

Aplicar o Teste F Espectral (TFE) para identificar a dinâmica das atividades corticais relacionadas à EMT.

2.3 Motivação para o estudo

Como mostrado anteriormente, a EMT tem sido utilizada como ferramenta de pesquisa, método diagnóstico e método terapêutico das funções motoras.

O estudo foi ambientado na unidade Rio de Janeiro da Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação, instituição voltada para o atendimento de doenças neurológicas em crianças e adultos ("Rede SARAH", 1991). Assim, avanços no entendimento dos mecanismos de geração das respostas eletroencefalográficas poderão trazer mais informações sobre o funcionamento das funções motoras e ampliar o conhecimento nesta área, que poderá ser revertido em melhorias na avaliação e tratamento de pacientes com lesões neurológicas, principalmente nos casos de lesões das vias motoras.

3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

3.1 Estimulação Magnética Transcraniana

3.1.1 Históricos das estimulações transcranianas elétrica e magnética

A relação entre eletricidade e magnetismo foi demonstrada pela primeira vez por Ørsted, de forma elegante e com um experimento simples, realizado na sua própria sala de aula, deslocando no espaço uma agulha magnetizada pela aproximação de um metal condutor, submetido a uma corrente elétrica (ØRSTED, 1820).

Por meio das equações de Maxwell, estabeleceu-se matematicamente a relação entre radiações como a luz e o eletromagnetismo (MAXWELL, 1865). Este avanço permite, hoje, calcular com precisão o campo elétrico induzido em uma bobina de estimulação magnética.

Um dos primeiros registros históricos sobre o efeito biológico de um fenômeno elétrico está numa placa de pedra encontrada no Egito, datada do ano 3100 a.C. Nela, o peixe-gato elétrico da região é retratado com importância, pois teria poder sobre os homens. Era tido como “o mais sagrado dos peixes” e como “proibido para a alimentação”. O primeiro registro descrevendo efeitos biológicos da eletricidade encontra-se em um livro do ano de 1528. É também a primeira referência sobre terapêutica com eletricidade, pois orienta o uso das descargas de outra espécie de peixe elétrico (arraia) para tratar cefaleia e artrite (KELLAWAY, 1946; MALMIVUO; PLONSEY, 1995; LARGUS, 1528).

Galvani, em 1786, foi o pioneiro na descrição detalhada dos efeitos biológicos de uma preparação animal (rã) com estimulação elétrica direta. Um século depois, em 1896, d'Arsonval foi o primeiro a descrever efeitos biológicos em humanos da estimulação magnética, já ressaltando a necessidade de se utilizar um campo magnético que fosse alternante no tempo. Os efeitos observados nele e em outros voluntários foram vertigem e fosfenos, por si só já característicos como de origem neural (APUD GEDDES, 1990). Este efeito fisiológico provocado por estímulos

magnéticos não estáticos (50 Hz) foi detalhado por outro autor alguns anos mais tarde. Nele, os fosfenos foram detalhados em frequência, localização no campo visual e até mesmo foi descrito um efeito dose-resposta direto, obtido com o aumento da intensidade do campo magnético (THOMPSON, 1910).

Helmholtz realizou avanços importantes e pioneiros na fisiologia do sistema nervoso e no campo do bioeletromagnetismo (APUD MALMIVUO; PLONSEY, 1995; HELMHOLTZ, 1847).

Os primeiros registros demonstrando a existência de atividade elétrica cortical ocorreram de forma invasiva, com o cérebro exposto de cães e macacos, e com a utilização de um galvanômetro para sua mensuração (CATON, 1875).

Estudos iniciais do funcionamento do córtex foram realizados com estimulação não somente elétrica, mas também com estimulação química e tátil. Tais experimentos de estimulação do córtex motor foram realizados em cães. Um grande marco foi descobrir que a ativação do córtex motor produzia respostas musculares excitatórias e inibitórias. (BUBNOFF; REIDENHAIN, R., 1881).

Quase um século se passou até que fosse desenvolvida uma técnica de estimulação elétrica do encéfalo que fosse não invasiva. Quando aplicada sobre a localização do córtex motor, no couro cabeludo intacto, respostas musculares são evocadas. Um Período Inibitório muscular também foi descrito desde os primeiros achados. Apesar de não invasiva, a ativação do encéfalo produz uma estimulação dolorosa do couro cabeludo, periósteo, meninges e outros tecidos atravessados pela corrente elétrica. Por isso, limitou-se até hoje a ser usada somente em ambiente cirúrgico e sob indução anestésica (MERTON; MORTON, 1980). Apenas cinco anos após, a técnica de estimulação elétrica foi suplantada, com o desenvolvimento da EMT. Além de não invasiva, indolor, devido às propriedades do estímulo magnético, a estimulação magnética sequer necessita de contato direto com o crânio (BARKER; JALINOUS; FREESTON, 1985).

A comparação de respostas musculares obtidas por diversas técnicas de estimulação elétrica transcraniana com as respostas obtidas por EMT evidenciou uma desvantagem desta última, pela menor capacidade de focalização do estímulo magnético. Entretanto, com a vantagem de ser indolor, a técnica suplantou as limitações da estimulação elétrica e popularizou-se nas neurociências (CRACCO et al., 1989).

Em resumo, as técnicas de estimulação transcraniana elétrica e magnética apresentam a possibilidade de ativação cortical não invasiva e focalizada. Esta característica abriu portas para uma investigação sem precedentes das vias motoras, pois a ativação é também independente de vontade do indivíduo (MATTHEWS, 2004)

Detalhes do sistema e dos mecanismos da EMT e de seus componentes eletrônicos serão fornecidos a seguir.

3.1.2 Mecanismos básicos

No texto a seguir, será feito um resumo dos efeitos da corrente elétrica e do campo magnético nos tecidos biológicos, ressaltando o efeito nos neurônios.

3.1.2.1 Bioeletromagnetismo

Um campo elétrico \vec{E} induzido no tecido neural gera uma densidade de corrente \vec{J} como a equação 1:

$$\vec{J} = \sigma \vec{E} \quad (1)$$

onde σ é a condutividade (o inverso da resistividade) do tecido biológico. A corrente leva a uma despolarização das membranas dos neurônios que, quando suficiente, desencadeia um potencial de ação. Estima-se que para ativar os músculos da mão, seja necessário um campo elétrico induzido de 100 V/m. Sendo a condutividade do córtex estimada em 0,4 S/m, o campo induzido geraria uma densidade de corrente cortical de 40 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ (RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005).

Na época das primeiras descrições dos fenômenos biológicos causados por um campo magnético, ficou clara a necessidade de que o campo magnético fosse variável no tempo (APUD GEDDES, 1990; THOMPSON, 1910). Isto porque o campo elétrico induzido necessita também ser variável no tempo para excitar as membranas celulares, ativar os neurônios e os efeitos biológicos ocorrerem.

Na metade do século XX, experimentos com neurônios de invertebrados permitiram o importante desenvolvimento de um modelo teórico do axônio, considerando-o como um cabo condutor, com diferentes condutividades iônicas, dadas por seus íons mais importantes: o sódio, potássio e cloro (HODGKIN; HUXLEY, 1952; GABBIANI; COX, 2009).

Somente muitas décadas mais tarde, foram obtidas respostas musculares à estimulação magnética de nervos periféricos, experimentos estes que comprovaram na prática o modelo acima, que considera o axônio de um neurônio como tendo as

propriedades físicas de um cabo coaxial. (POLSON; BARKER; FREESTON, 1982; MALMIVUO; PLONSEY, 1995).

3.1.3 O equipamento de Estimulação Magnética Transcraniana

Resumidamente (Figura 3.1), um estimulador magnético é composto de uma fonte de energia obtida das instalações locais, capacitores para acumular cargas, um circuito para controlar e liberar as cargas elétricas e um indutor, que, por meio do qual um campo magnético variável no tempo, induzirá uma corrente elétrica no tecido neural a ser ativado (MIRANDA, 2005; RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005). O indutor será denominado doravante de bobina, devido ao termo ter se popularizado entre os profissionais das áreas de Neurofisiologia Básica e Clínica.

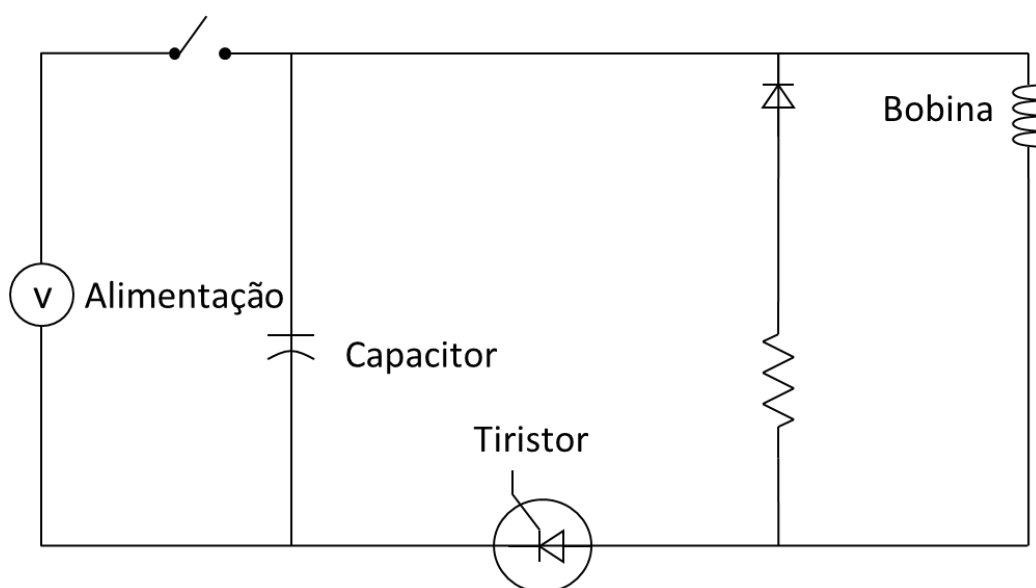


Figura 3.1. Circuito simplificado do Estimulador Magnético

3.1.3.1 Capacitores

O capacitor dos primeiros equipamentos de estimulação magnética já era capaz de acumular uma quantidade de cargas grande o suficiente a ponto de liberar um pico de corrente com mais de 5000 A. Até hoje, a tensão necessária para carregar tais capacitores é da ordem de 1000 a 3000 V (POLSON; BARKER; FREESTON, 1982). Experimentos determinaram os limites de segurança dos pacientes, quanto aos protocolos de estimulação magnética. Aqueles que utilizam frequências acima dos 50 Hz deverão levantar preocupações. Tanto pelo esperado aquecimento da bobina, quanto pelas modificações e risco de lesão tecidual neural (RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005). Mais informações estão descritas na seção 3.1.5.3 Segurança.

A membrana dos neurônios mielinizados dissipa e reduz a transmissão dos estímulos elétricos com durações maiores que 100 ms. Assim, para sua maior eficácia, os estímulos utilizados devem ter a menor duração possível e a maior tensão possível. Entretanto, uma limitação dos condutores metálicos ao lidar com grandes quantidades de energia é o aquecimento dos componentes do estimulador magnético. Uma alternativa a esta limitação é aumentar o número de fases da curva de variação da intensidade do pulso eletromagnético ao longo do tempo. Na maioria das vezes, duas fases já são compatíveis com um estímulo magnético capaz de ativar de maneira eficaz o tecido neural sem provocar grande aquecimento do equipamento. Porém, os estímulos polifásicos necessitam de uma recarga mais rápida dos capacitores do que quando usados simplesmente estímulos monofásicos. Os equipamentos recentes para a estimulação magnética possuem o formato do estímulo monofásico, bifásico, polifásico ou até mesmo em formato de uma meia onda senoidal (ROTH; BASSER, 1990).

3.1.3.2 Tiristor

O tiristor controla a saída para a bobina dos elétrons armazenados nos capacitores após o momento de recarga. É necessário que seu acionamento seja o mais rápido possível, para não acrescentar atrasos na resposta dos neurônios (MALMIVUO; PLONSEY, 1995b).

3.1.3.3 Bobina

Quando a corrente elétrica é liberada pelo tiristor, ela segue para a bobina, cujo arranjo em espiral dos fios de cobre será responsável pela geração do campo magnético. De acordo com a lei de Faraday, quando um condutor de eletricidade em um circuito recebe uma corrente elétrica, ele é submetido a uma força eletromotriz e ocorre a formação de um campo magnético variante no tempo. A relação entre a força eletromotriz (F) e o campo elétrico \vec{E} em um circuito fechado é descrita pela integral da equação 2 (MIRANDA, 2005).

$$F = \int \vec{E} \cdot d\vec{l} \quad (2)$$

onde l é o comprimento do fio no circuito elétrico.

Esta força eletromotriz é responsável por movimentações nos componentes internos dos equipamentos, causando artefatos de movimento e ruído, que serão abordados adiante na seção 3.1.3.

A seguir serão fornecidas evidências de que a bobina possui um papel importante na maneira como os tecidos biológicos serão estimulados. As características como o tamanho, o formato e seus componentes determinam que seja possível conseguir estímulos focalizados ou não, superficiais ou profundos, simples ou duplos. Quanto maior seu diâmetro, maior a intensidade do campo magnético induzido e menor a focalidade. Bobinas circulares possuem menor focalidade do que as em “figura de oito” (MALMIVUO; PLONSEY, 1995b; MIRANDA, 2005).

Os principais fatores que determinam o campo elétrico induzido nos tecidos biológicos são o do formato da bobina, sua localização, orientação em relação aos tecidos e condutividade dos próprios tecidos sob sua influência. Sendo \vec{E}_1 o campo elétrico primário, cuja densidade de corrente $\vec{J}_1 = \sigma \vec{E}_1$ foi induzida diretamente pelo campo magnético $\vec{B}(t)$ da bobina, e sendo \vec{E}_2 o campo elétrico secundário, causado por acúmulos das cargas pelas mudanças na condutividade dos tecidos ao longo da passagem da corrente, tem-se a equação 3:

$$\vec{E} = \vec{E}_1 + \vec{E}_2 = \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} - \nabla V \quad (3)$$

onde V é a tensão medida em volts. ∇ é o operador diferencial rotacional.

Considerando-se o crânio como um conjunto de esferas concêntricas e com diferentes condutividades, o campo elétrico gerado ocorre tangencialmente à superfície de cada esfera (MEIJS et al.; 1987; MIRANDA, 2005;).

Considerando-se a como sendo o raio da bobina, o campo elétrico induzido segue o modelo da equação 4:

$$\vec{E}(\mathbf{r}) = \mu_0 \frac{dI}{dt} \frac{a(y\mathbf{i} + x\mathbf{j})}{2\pi k \sigma^2} [(2 - k^2)K(k) - 2E(k)] \quad (4)$$

Nele, r possui coordenadas x, y, z , sendo $k^2 = 4a\rho[(a + \rho)^2 + z^2]^{-1}$ e $\rho^2 = x^2 + y^2$. $K(k)$ e $E(k)$ são integrais elípticas e μ_0 H/m é a permeabilidade do campo elétrico no espaço ($4\pi \times 10^{-7}$) (RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005).

A equação não leva em consideração os limites entre diferentes meios condutores nos tecidos biológicos, o que está presente no crânio devido às várias camadas formadas, basicamente, pela pele, osso, meninges, líquido, substância cinzenta e substância branca. Entretanto, a equação se mostra adequada para explicar os efeitos da estimulação magnética em condições mais simples ou em estruturas anatômicas menos complexas como os nervos periféricos. Quando o desejo é explicar o comportamento do campo elétrico em estruturas como o crânio, tais parâmetros não são mais suficientes. Para que as diferentes condutividades de cada tecido biológico e o efeito da interface entre as diferentes condutividades sejam quantificados, os cálculos da projeção do campo elétrico induzido tornam-se muito mais complicados computacionalmente (HELLER; VAN HULSTEYN, 1992; RAVAZZANI et al., 1996; FUCHS et al., 2002; DAVEY et al., 2003; NUMMENMAA et al., 2013).

A figura 3.2 ilustra o campo magnético e o respectivo campo elétrico induzido por uma bobina de um equipamento teórico de Estimulação Magnética Transcraniana, agindo sobre o cérebro.

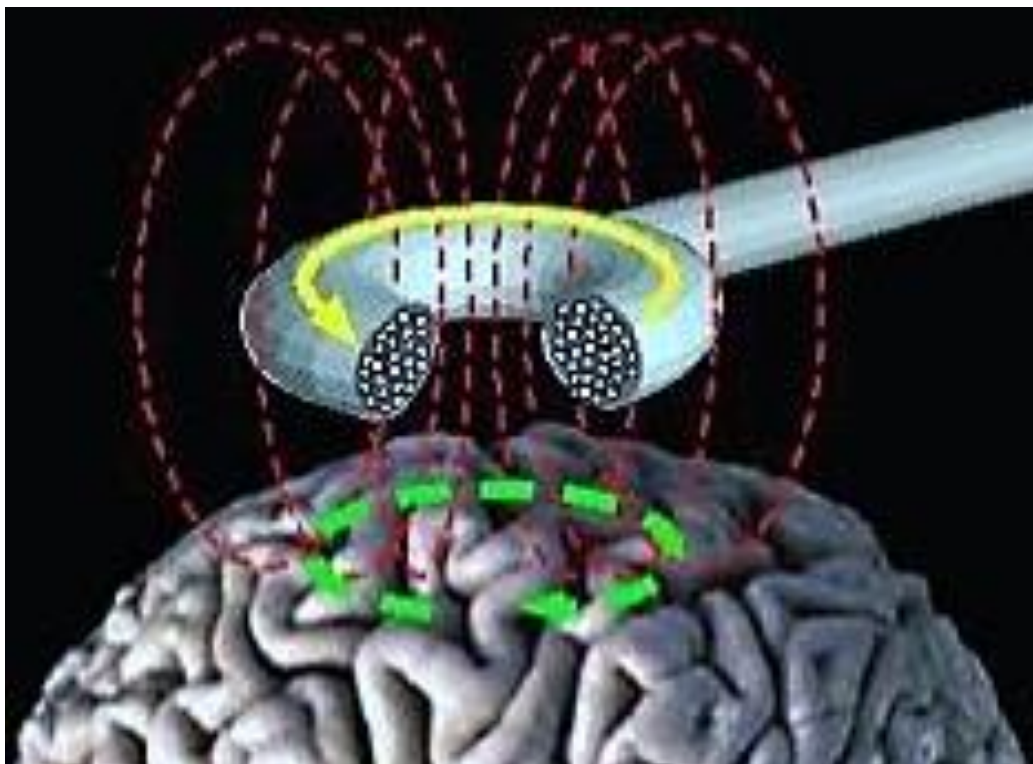


Figura 3.2. Campo magnético (em vermelho) e campo elétrico induzido (verde). From Wikimedia Commons, the free media repository https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Transcranial_magnetic_stimulation.jpg

No projeto de bobinas para a estimulação magnética, outras variáveis entram em jogo para atingir os objetivos desejados, como composição e quantidade dos materiais, assim como seu formato. Nas publicações sobre EMT, as bobinas mais frequentemente encontradas possuem o formato circular ou o formato em “figura de oito”. O formato circular trata-se do arranjo dos fios de cobre, dentro de uma carenagem em forma de disco. Este formato possui uma área de ativação mais ampla, porém distribuída, sendo máxima ao longo do seu contorno. As bobinas em “figura de oito” são também chamadas de “em borboleta”, pois são dois discos adjacentes em suas circunferências. Estas bobinas possuem um arranjo dos fios em seu interior que permite uma focalização maior do campo magnético, sendo utilizadas quando existe necessidade de maior precisão na estimulação. O decréscimo da intensidade do campo magnético proporcional ao quadrado da distância é igual nos dois formatos. É possível, ainda, encontrar adaptações das bobinas citadas anteriormente, para ajustar-se melhor a um crânio menor como de animais ou de crianças, como o formato em cone, que foi desenvolvida a partir da bobina com formato circular. É possível ainda

fabricar a bobina em “figura de oito” com as suas “asas” inclinadas em relação ao plano horizontal. Esta adaptação e a da bobina em cone mostraram-se mais eficientes para ativar regiões mais profundas ou ativar o cerebelo (PAPAZOV; DASKALOV, 2002; THIELSCHER; KAMMER, 2004; SOMMER et al., 2006; JUNG et al., 2012; DENG; LISANBY; PETERCHEV, 2013; HARDWICK; LESAGE; MIAL, 2014).

Define-se a focalidade de uma bobina de estimulação como a área da superfície de uma esfera no espaço, na qual o valor campo elétrico é maior que dois limites pré-estipulados: 50 e 90% do máximo. Quanto maior a focalidade, menor as áreas compreendendo os valores maiores que 90% e os maiores que 50% do campo elétrico induzido máximo. Quanto menor a bobina, mais focalidade no campo induzido, porém é necessário um valor maior de corrente. No cálculo feito utilizando a bobina em “figura de oito” e o modelo das diferentes condutividades, para se conseguir um valor de 50% do campo elétrico induzido, chegou-se a um limite inferior de 20 mm de diâmetro para a construção de bobinas para estimulação transcraniana. Entretanto, há até estudos que conseguiram com sucesso medir os efeitos da estimulação magnética de culturas de tecido neural, utilizando equipamentos microscópicos (ROTEM; MOSES, 2008; BONMASSAR et al., 2012).

Como já foi dito, uma limitação ao uso da estimulação magnética com pulsos repetitivos é o aquecimento dos componentes da bobina, quando a corrente elétrica de alta intensidade passa por eles. Após um pulso magnético único, o aquecimento dos fios de cobre na bobina segue o modelo da equação 5, sendo uma função do quadrado da corrente elétrica:

$$\Delta\theta = \int_0^T I^2(t)dt = \frac{P_{bobina}}{mcf} \quad (5)$$

nela, T é a duração do pulso produzindo pela bobina, P_{bobina} a potência em watts, m a massa do cobre, c o calor específico (387 J/Kg*°C), f a frequência de estimulação. Por segurança, os equipamentos comerciais limitam o aquecimento da bobina em 41° C. O aquecimento em joules dos componentes e da bobina, medido pela potência média, é da forma mostrada na equação 6:

$$P_{bobina} = fR \int_0^T I^2(t)dt \quad (6)$$

sendo R a resistência nos circuitos. Como pode ser visualizado pela fórmula, o calor produzido é proporcional ao quadrado da intensidade da corrente. Já há a possibilidade do acoplamento de sistemas de refrigeração à bobina. Tais sistemas aumentam o número de estímulos necessários até que o valor limite do aquecimento da bobina chegue a ser atingido. Conseqüentemente, ampliam o número de estímulos ou as frequências possíveis para a utilização em seres humanos, resguardados os devidos limites.

A passagem da corrente elétrica pela espiral de fios da bobina provoca não somente aquecimento, mas também grandes forças no seu interior. Estima-se que estas forças cheguem a valores de 10000 Newtons (RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005). Os componentes da bobina são submetidos a esta força subitamente. Como consequência, provoca-se um ruído do tipo clique, cuja concentração de energia é maior nas frequências de 2000 a 7000 Hz. Tais cliques são fonte de artefatos biológicos, produzindo Potenciais Evocados Auditivos e Cognitivos que devem ser identificados e separados na análise das respostas eletroencefalográficas. O valor máximo do som dos cliques varia com a intensidade do pulso e também conforme o formato, modelo e fabricante da bobina. Os equipamentos comerciais envolvem a bobina em proteção de plástico forrada com material para absorção acústica. Estima-se que, a uma distância de 10 cm, o som do clique da bobina sem proteção acústica possa atingir valores inseguros como 300 dBspl (RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005; DHAMNE et al., 2014). O pico de intensidade de pressão sonora da bobina utilizada nesta Tese possui isolamento acústico melhor. Medido na mesma distância, apresentou valor de 82,1 dBspl, com a saída do estimulador na intensidade máxima (figura 3.3).



Figura 3.3. Medida do pico de intensidade de pressão sonora da bobina, medido com 10 cm de distância, com a saída do estimulador na intensidade máxima.

Foi realizada a comparação entre três diferentes modelos comerciais de estimulador magnético, entre quatro diferentes modelos de bobina. Foi realizada a medida dos valores do ruído produzido, entre diversas intensidades e em duas distâncias diferentes. Entre os achados, foi observado um aumento da intensidade sonora quanto maior o valor do estimulador e quanto mais próximo se está da bobina. Os modelos com maiores valores atingiram $94,70 \pm 0,10$ dBspl a 05 cm de distância e $92,18 \pm 0,13$ dBspl a 10 cm de distância. O equipamento utilizado nesta Tese foi incluído neste estudo, tendo evidenciado os menores valores máximos de ruído acústico em todas as comparações: $83,22 \pm 0,16$ dBspl a 05 cm de distância e $80,60 \pm 0,16$ dBspl a 10 cm de distância (DHAMNE et al., 2014).

A demanda por estudos com grupo controle incentivou o desenvolvimento de bobinas placebo. O ato de inclinar ou afastar a bobina do couro cabeludo não é recomendado, pois pode ser percebido pelos sujeitos estimulados, não sendo um procedimento adequado. Além disso, o campo elétrico induzido não é reduzido a zero

com tais posicionamentos. Estimulação placebo pode ser eficientemente conseguida quando a bobina possui o formato em “figura de oito”. Os fios são dispostos convenientemente em cada uma de duas espirais, de maneira a cancelar o campo elétrico induzido, fornecendo a sensação parecida com uma estimulação real, mas com a intensidade do campo elétrico perto de zero.

Há uma variedade maior de formatos de bobina, que pode ser encontrada na literatura sobre estimulação magnética de tecidos biológicos, dependendo da finalidade do estudo. Já há estudos que modificaram a estrutura e composição atual das bobinas, permitindo que tenham capacidade de estimular estruturas mais profundas do crânio. Assim como são encontrados em alto-falantes, núcleos de ferro são utilizados para direcionar e concentrar o campo magnético nas bobinas de estimulação. Entretanto, tais modelos ainda estão em desenvolvimento, pois o material satura com campos com intensidades maiores que meio tesla. Além disso, e comporta-se de maneira não linear com a variação da temperatura (DENG; LISANBY; PETERCHEV, 2014; HARDWICK; LESAGE; MIAL, 2014; ROTH; ZANGEN; HALLETT, 2002; (TRAAD et al., 1989).

Uma modificação interessante no projeto de uma bobina foi permitir a rotação do campo elétrico induzido com uma combinação de duas bobinas em “figura de oito”, dispensando a necessidade de mudanças no posicionamento da bobina após serem posicionadas no crânio (ROTEM et al., 2014).

Nas células, o efeito dos campos elétricos induzidos pelos pulsos magnéticos ocorre pela alteração dos potenciais elétricos das membranas celulares. No caso dos neurônios, este potencial pode ser modelado seguindo-se a “Equação do Cabo”, aqui descrita na equação 7.

$$\tau \frac{\partial V(t)}{\partial t} + V(t) = -\frac{\partial F(t)}{\partial t} \quad (7)$$

sendo τ a constante de tempo da membrana, com valor de 100 a 200 μs , $V(t)$ é o potencial elétrico de membrana em repouso. O valor de $F(t)$ é uma função proporcional à intensidade da corrente na bobina $\propto I(t)$ (HODGKIN; HUXLEY, 1952; RUOHONEN; ILMONIEMI, 2005; GABBIANI; COX, 2009).

Dos vários formatos de onda do pulso magnético, o bifásico é o que consegue ser o mais eficiente na despolarização das membranas neuronais, produzindo respostas com latências mais curtas. Além disso, a curva bifásica reduz a duração do artefato de estímulo, facilitando a análise das respostas (JUNG et al., 2012).

3.1.3.4 Efeitos biológicos não cranianos

Quando aplicada em humanos, a estimulação elétrica provoca uma concentração de corrente cutânea, devido à maior resistência deste tecido, ativando as terminações dolorosas dos nervos periféricos. Conseqüentemente, torna-se desconfortável qualquer ativação eficaz de tecidos mais profundos como o encéfalo. Diferentemente do campo elétrico, os tecidos biológicos não possuem resistividade ao campo magnético e não o atenuam. Portanto, o estímulo magnético é indolor. Entretanto, focalizar um campo magnético em tecidos biológicos com diferentes condutividades elétricas é conseguido com menor precisão (POLSON; BARKER; FREESTON, 1982; KRASTEVA; PAPAZOV; DASKALOV, 2002; KRASTEVA; PAPAZOV; DASKALOV, 2003). Foram estabelecidos os limites de segurança para que sejam evitadas queimaduras cutâneas causadas por componentes em contato com as pessoas como eletrodos para o registro simultâneo do EEG ou de respostas musculares cranianas, sujeitos ao aquecimento induzido pelo campo eletromagnético. Os testes foram efetuados por meio de estimulação magnética repetitiva. A frequência máxima capaz de permitir um tempo de resfriamento dos eletrodos foi de 0,4 Hz, para um número máximo 20 estímulos. Taxas superiores ou quantidades de estímulos maiores necessitam de resfriamento direto ou de maiores intervalos de tempo para a recuperação e uso novamente nos indivíduos submetidos à estimulação magnética. Os eletrodos derivados de ouro e prata são os que apresentaram maior aquecimento quando submetidos ao campo magnético variável no tempo produzido pelo estimulador. (ROTH et al., 1992).

3.1.4 Efeitos biológicos obtidos com EMT

Um dos efeitos conhecidos da estimulação magnética é a modulação da atividade cortical. Aplicada sobre o córtex motor, provoca contração muscular, seguida por algumas dezenas de milissegundos de inativação. Aplicada sobre o córtex visual, produz fosfenos ou escotomas, dependendo do protocolo de estimulação utilizado (KAMMER et al., 2005a; KAMMER et al., 2005b; THIELSCHER et al., 2010). Aplicada sobre a área cortical da fala, produz a interrupção transitória desta função cortical (EPSTEIN et al., 1999; COWEY, 2005).

Resumindo, com a EMT é possível provocar ativações e inibições neuronais em diversas áreas cerebrais e no restante do sistema nervoso. Tais modulações da atividade neuronal podem ser transitórias e fugazes ou tornarem-se duradouras, pela indução de plasticidade neuronal. Os pesquisadores vêm-se aproveitando de tais propriedades transformando a técnica em uma poderosa ferramenta de estudo em diversos campos da neurociência (DI LAZZARO, 2004; BESTMANN, 2008; HUERTA; VOLPE, 2009).

3.1.5 Efeitos da Estimulação Magnética Transcraniana nos tecidos biológicos do crânio

Um campo magnético estático não induz corrente elétrica em condutores. É necessário que o campo magnético seja variante no tempo. A corrente elétrica induzida por ele é concentrada e atinge valores máximos em regiões adjacentes umas às outras, onde há uma diferença súbita de condutividade. Um exemplo é a fronteira entre a substância cinzenta e a substância branca, no córtex cerebral, sendo considerada como uma das regiões de ativação dos neurônios (HELLER; VAN HULSTEYN, 1992). Modelos indicam também que neurônios com limiares mais baixos são os mais sujeitos à despolarização das membranas pelo campo elétrico induzido (PASHUT et al., 2011).

Assim como a intensidade de um campo magnético cai com o quadrado da distância, respostas biológicas à estimulação magnética também são por ela influenciadas. Um exemplo é o limiar das respostas musculares obtido por EMT, cujo valor é aumentado linearmente com a distância entre a bobina do estimulador e o crânio (STOKES et al., 2013).

O formato da bobina e, conseqüentemente, do campo magnético, influencia a corrente elétrica induzida no cérebro. Um estudo comparativo dos dois formatos mais usados de bobina, o circular e o em “figura de oito”, comparando também com estímulos elétricos, mostrou a maior focalidade da bobina em “figura de oito”, embora a bobina circular possua latências menores, já que apresenta uma superfície maior de estimulação (DI LAZZARO et al., 2002).

Analisando as modificações em ressonância nuclear magnética, relacionadas ao envelhecimento dos indivíduos, foi possível determinar uma associação entre anormalidades da substância branca cerebral e a obtenção das respostas musculares à EMT. Quanto maior o volume da perda de tecido neuronal nos pacientes atribuído ao envelhecimento, maior o limiar das respostas musculares, causada, provavelmente, pelo distanciamento do córtex da bobina (SILBERT et al., 2006).

O estudo das respostas musculares após privação de sono não evidenciou alterações nas respostas obtidas por estímulos magnéticos únicos. Por outro lado, as respostas por estímulos pareados, dependentes de conectividade entre diferentes regiões, mostraram um aumento da excitabilidade cortical nos indivíduos privados de sono (CIVARDI et al., 2001).

Quando se estudam os efeitos do pulso magnético na circulação sanguínea dos tecidos neurais estimulados, é possível encontrar mudanças no nível de oxigenação da hemoglobina que refletem o aumento da demanda de oxigênio pelo aumento do nível de atividade neuronal (THOMSON et al., 2011). Um estudo aplicando estímulos magnéticos sobre o córtex visual de gatos encontrou modificações que atingem escalas de tempo muito maiores do que as dos fenômenos corticais esperados. Por exemplo, um único estímulo magnético é capaz de provocar um aumento do nível de oxigenação da hemoglobina com duração de cerca de um minuto, seguido por uma redução do nível de oxigenação por cerca de 5 a 10 min (ALLEN et al., 2007).

A localização por Ressonância Nuclear Magnética Funcional da região cerebral ativada quando do acionamento voluntário de um músculo é diferente da localização da região cerebral ativada por EMT daquele mesmo músculo. Tais discrepâncias podem ser explicadas pela dependência da Ressonância Nuclear Magnética Funcional da oxigenação da hemoglobina e organização vascular cerebral, o que não reflete diretamente a propagação do campo elétrico induzido pela EMT através dos tecidos do encéfalo (LOTZE et al., 2003), que será detalhado melhor na próxima seção, “Modelos de ativação cortical”. Também poderiam sugerir que a ativação voluntária utiliza diferentes redes neuronais da ativação por estimulação magnética.

A avaliação da atividade da membrana neuronal por meio de métodos invasivos em animais permitiu evidenciar, após estímulos magnéticos únicos, um padrão fugaz de ativação dos neurônios, seguido por sua supressão por algumas centenas de milissegundos. Esta supressão está envolvida nos mecanismos inibitórios corticais que são ativados pelo estímulo magnético, juntamente com os excitatórios (KOZYREV; EYSEL; JANCKE, 2014).

A busca pelos efeitos corticais da estimulação repetitiva levou a um protocolo bastante utilizado para a modificação das propriedades corticais cognitivas (neuromodulação), constituído por estimulação magnética repetitiva de alta frequência modulada sobre uma de menor frequência (“surto teta”). Após uma única sessão de “surto teta”, há modificações celulares que vão além das variações de corrente elétrica. Há modificações na expressão de genes associados à criação de receptores de membrana, à formação de sinapses e à plasticidade neuronal. Os protocolos de estimulação repetitiva são capazes de acentuar e consolidar estes efeitos moleculares, celulares e teciduais. Tais fenômenos foram encontrados tanto em animais quanto em

humanos, sendo os responsáveis pelos efeitos em longo prazo da EMT, quando utilizada para fins de neuromodulação (VOLZ et al., 2013; MONTE-SILVA et al., 2013).

3.1.5.1 Modelos de ativação cortical

Uma publicação conseguiu unificar de forma marcante e pioneira várias equações e definir um modelo preciso de ativação do nervo por um campo magnético variante no tempo. Foi possível incluir neste modelo muitas variáveis, entre elas, diversas propriedades da bobina e do nervo, incluindo orientação e curvatura de fibras nervosas (ROTH; BASSER, 1990). Entretanto, devido à complexidade da distribuição da população dos neurônios e de outras células em meio a toda complexidade anatômica do córtex e do encéfalo, ainda é difícil prever a distribuição, intensidade e propagação deste campo elétrico nas estruturas que atravessa ao estimular o crânio.

A necessidade de maior precisão na relação à localização da bobina no crânio e a projeção do campo elétrico induzido fez surgir os métodos de controle do posicionamento e da orientação da bobina no espaço. Atualmente, por meio da digitalização das dimensões, posição e inclinação no espaço da bobina magnética, é possível criar um sistema de posicionamento, chamado de navegação. O sistema estima o campo elétrico induzido e projeta o seu vetor de máxima intensidade em uma imagem de ressonância magnética do próprio indivíduo, propondo acompanhar as modificações de posição da bobina em tempo real com a localização do campo elétrico. Os sistemas mais complexos possuem um braço robótico para modificar a posição e inclinações da bobina no espaço. Ao mesmo tempo em que encarece todo o sistema, ainda há controvérsias de se o equipamento realmente aumentaria a precisão e a reprodutibilidade da EMT (JUNG et al., 2010; KRINGS et al., 2001; NUMMENMAA et al., 2013; SÄISÄNEN et al., 2008; SCHMIDT et al., 2015; SPARING et al., 2008; DIEKHOFF et al., 2011).

Quando tecidos biológicos anatomicamente complexos e de diferentes condutividades como o crânio são estimulados por um campo magnético variante no tempo, há dificuldades em se prever o comportamento do campo elétrico induzido (MEIJS et al., 1987;). A figura 3.4 identifica os diferentes tecidos atravessados pelo campo magnético e pelo respectivo campo elétrico induzido.

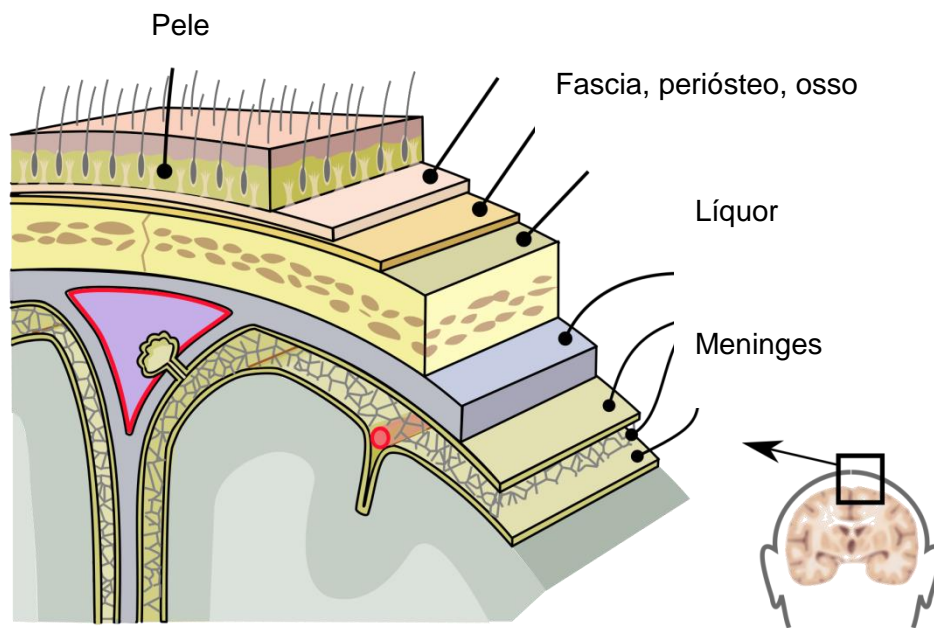


Figura 3.4. Tecidos atravessados pelo campo magnético e por seu campo elétrico induzido. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/8e/Meninges-en.svg/2000px-Meninges-en.svg.png>

Para aumentar a fidelidade entre as propriedades do campo magnético, as propriedades do campo elétrico induzido e as propriedades físicas dos tecidos estimulados, modelos teóricos foram criados contemplando as diferentes condutividades e estruturas anatómicas. Tais modelos se aplicam tanto para prever o comportamento do campo elétrico induzido em nervos periféricos quanto para estruturas anatómicas mais complexas como o encéfalo (THIELSCHER; KAMMER, 2002; KRASTEVA; PAPAHOV; DASKALOV, 2002; KRASTEVA; PAPAHOV; DASKALOV, 2003; DAVEY et al., 2003). Incorporando informações mais detalhadas de estruturas microscópicas como a organização colunar do córtex e a orientação das fibras nervosas, foi possível aperfeiçoar os modelos de ativação do tecido neural. Assim foi possível demonstrar que, na EMT da área motora primária da mão (M1), a ativação ocorre, preferencialmente, em axônios horizontais situados no fundo do sulco central (conforme a figura 3.5), podendo ser extrapolada para outras áreas corticais (MOUNTCASTLE, 1997; MIRANDA; HALLETT; BASSER, 2003:74–1085, set. 2003.; FOX et al., 2004; DE LUCIA et al., 2007; SILVA; BASSER; MIRANDA, 2008; THIELSCHER; OPITZ; WINDHOFF, 2011; SALVADOR et al., 2011; NUMMENMAA et al., 2013). A utilização de modelos completos permitiu a descrição

detalhada do campo elétrico induzido, quando a bobina era localizada sobre treze eletrodos posicionados de acordo com o sistema internacional 10-20. Foram fornecidas informações importantes para estimulações cerebrais e cerebelares. Estas informações serviram de referência para os demais pesquisadores no planejamento da ativação encefálica, aumentando a eficiência e precisão da estimulação, com uma energia requerida menor (BIJSTERBOSCH et al., 2012).

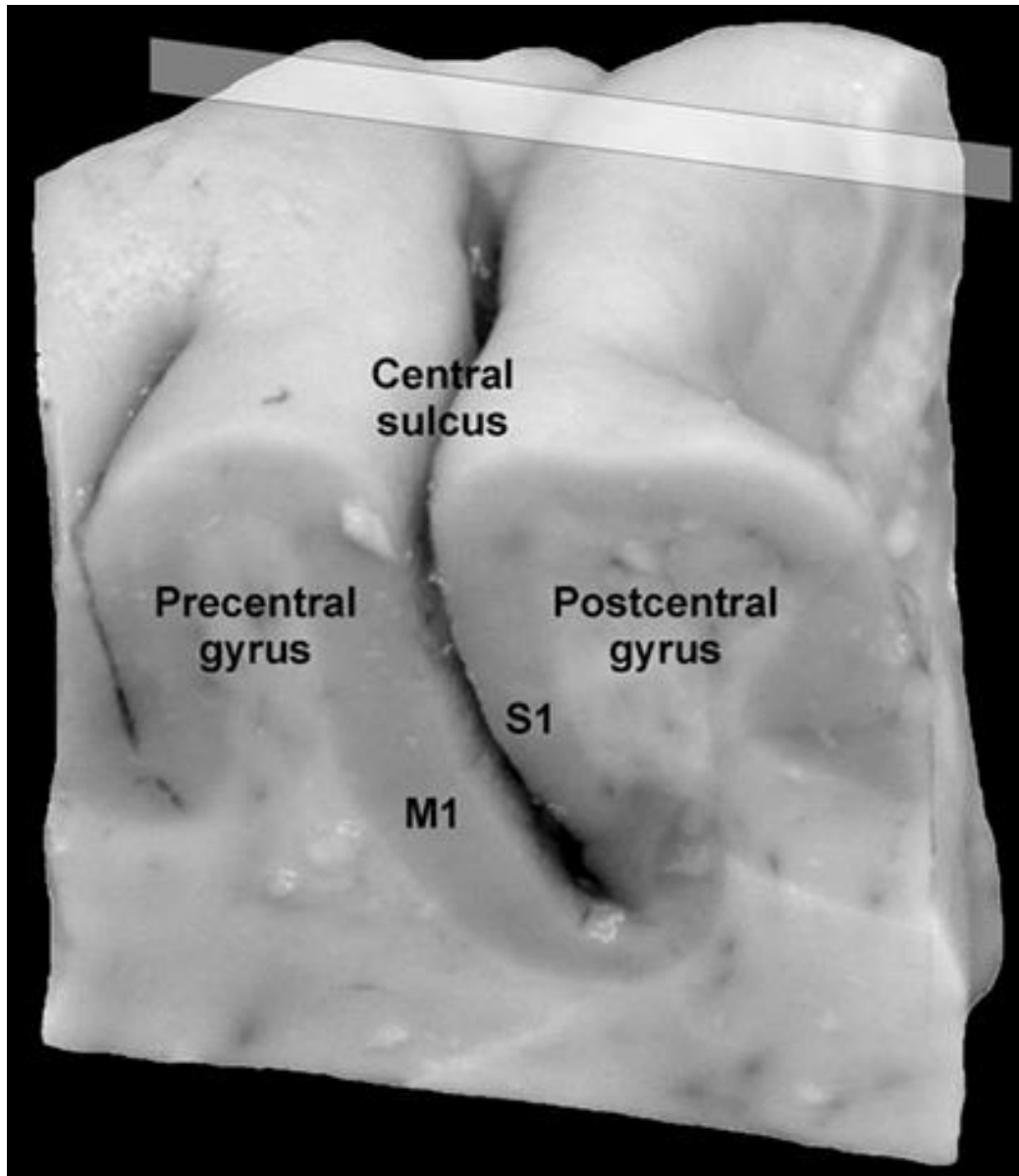


Figura 3.5. Área motora primária (M1), no fundo do sulco central, no giro precentral. A área sensitiva primária (S1) aparece posteriormente, no giro poscentral.

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/51/Pre-_and_post-central_gyrus%2C_right_hemisphere_cropped.png

O modelamento detalhado do campo elétrico induzido nos diferentes tecidos por ele atravessado, associado a informações anatômicas precisas por ressonância nuclear magnética, permite a construção de sistemas, que realizam a projeção precisa do vetor máximo sobre imagens encefálicas. Tais sistemas atualizam a projeção do vetor ao mesmo tempo em que a bobina é movida no espaço, permitindo ajustes e correções. Para fins de ilustração, o sistema foi utilizado em um dos sujeitos, como demonstrado na figura 3.6.

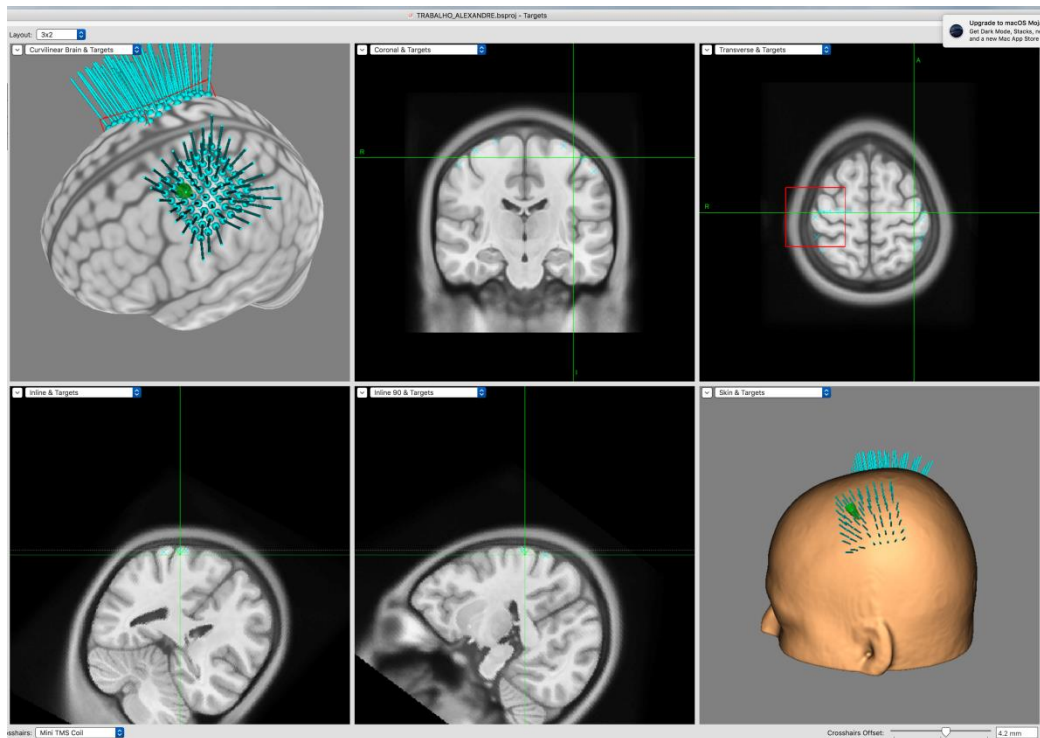


Figura 3.6. Projeção do vetor máximo do campo elétrico induzido (seta verde) sobre a imagem de ressonância nuclear magnética do córtex motor esquerdo de um dos sujeitos do estudo.

3.1.5.2 Aplicações

Grandes avanços surgiram com a utilização da EMT no estudo da fisiologia do movimento. Tais avanços ocorreram tanto como técnica de ativação quanto como de inibição, criando “lesões virtuais” transitórias nas regiões e circuitos do sistema nervoso (CHEN; HALLETT, 1999; CHEN, 2000; REIS et al., 2008; ABBRUZZESE; TROMPETTO, 2002; AMASSIAN et al., 1992; FERRERI et al., 2011).

A combinação da EMT (um método funcional) com a Ressonância Nuclear Magnética (um método anatômico) resulta em um enriquecimento multidimensional das informações sobre um fenômeno neural. A EMT com sua versatilidade funcional e resolução temporal na escala dos milissegundos carece de precisão na localização anatômica, que é fornecida em escala milimétrica pela Ressonância Nuclear Magnética. (SIEBNER et al., 2009; DIEKHOF et al., 2011; SARFELD et al., 2012; PARKS, 2013). A EMT serve também como método de intervenção, ativando ou inibindo determinada região ou circuito neuronal, conseguindo testar hipóteses sobre o funcionamento das estruturas estudadas.

Os parâmetros da EMT foram usados com sucesso para o acompanhamento do desenvolvimento motor em crianças, comparados aos marcos do desenvolvimento (GARVEY et al., 2003).

As aplicações clínicas mais conhecidas da EMT são o diagnóstico e o prognóstico de todas as doenças ou condições neurológicas que envolvam as vias motoras, por meio das medidas do Potencial Evocado Motor (CANTELLO, 2002; ROMEO et al., 1998; KOBAYASHI; PASCUAL-LEONE, 2003; ELAHI; ELAHI; CHEN, 2009; WARD, 2011; CANTONE et al., 2014).

Um campo novo e promissor das neurociências baseia-se na interferência e modificação de funções encefálicas, conhecido como neuromodulação. Estudos já mostraram evidências da eficácia da EMT no tratamento modulador de dor crônica, depressão, compulsões e outras enfermidades (FITZGERALD; BROWN; DASKALAKIS, 2002; LISANBY; KINNUNEN; CRUPAIN, 2002; HUANG et al., 2005; REIS et al., 2008b.; HUANG et al., 2009).

Os córtices sensoriomotor, visual e da fala, por meio de suas respectivas respostas características, podem ser mapeados e delimitados pela EMT. Estas informações são de importância no planejamento neurocirúrgico de lesões cerebrais com indicação de extirpação, principalmente quando vizinhas daquelas áreas. A

delimitação de córtices eloquentes como aqueles permite evitar sequelas como paralisia ou afasia. Mesmo quando há invasão daquelas áreas pelas lesões, ainda assim é possível prever as sequelas e adequar a reabilitação para cada caso (EPSTEIN et al., 1999; ESPADALER; CONESA; DUFFAU, HUGUES, 2011; PICT, 2011). Na tabela 3.1, estão resumidas as aplicações clínicas da EMT.

Tabela 3.1. Aplicações da Estimulação Magnética Transcraniana

Técnica	Parâmetro	Exemplo
Limiar Motor	Excitabilidade cortical	Esclerose Lateral Amiotrófica
Mapeamento Motor	Local e área da representação de um músculo no córtex	Acidente Vascular Encefálico; Neurocirurgia
Potencial Evocado Motor	Tempo de Condução Central	Esclerose Múltipla
Período Inibitório	Inibição cortical motora	Distonia
Estimulação Repetitiva	Plasticidade	Depressão

3.1.5.3 Segurança

Quando se leva em conta que a EMT ativa neurônios de maneira intensa e sincronizada, logo vem à mente a preocupação pela possibilidade da indução de crises epiléticas. Até o momento, nenhuma crise foi relatada na literatura com o uso de estímulos únicos. Com base em todos estes riscos que a estimulação magnética poderia causar aos indivíduos, foram estabelecidas normas e recomendações de segurança para a sua prática segura (ROTHWELL et al., 1991; WASSERMANN, 1998; ROSSI et al., 2009; PETERCHEV et al., 2012; ROSSINI et al., 2015).

Em um estudo, foi observado que 160 estímulos aplicados mesmo com intervalo de um segundo entre eles foram capazes de aumentar a temperatura de um eletrodo de eletroencefalograma em 4,4°C. Um intervalo de 3 a 4 min de espera foi recomendado para retornar a temperatura dos componentes ao valor basal. Neste estudo, um dos participantes sofreu queimadura da pele sob um dos eletrodos de EEG (PASCUAL-LEONE et al., 1990). Os aparelhos de estimulação magnética atuais são fabricados com monitorização da temperatura da bobina. Quando o valor limite é alcançado, um circuito de proteção impede que outros estímulos aconteçam até que a temperatura dos componentes retorne aos valores dentro de limites de segurança. Já há modelos até com sistemas de resfriamento da bobina, permitindo um maior número de estímulos e uma maior frequência de estimulação. Porém, mesmo que controlemos a temperatura da bobina, os eletrodos e cabos em contato com os indivíduos ainda devem levantar preocupações com relação ao aquecimento e queimaduras.

No caso de estimulações repetitivas ou na presença de implantes intracranianos, surge o risco de a estimulação provocar crises epilépticas, induzidas pela ativação neuronal forçada, intensa e sincronizada. Este foi o motivo pelo qual foram criadas recomendações específicas e limites de segurança para tais casos (WASSERMANN, 1998; SCHULZE-BONHAGE et al., 1999; MACHII et al., 2006; BENNINGER et al., 2009; OBERMAN et al., 2011; PHILIP; CARPENTER; CARPENTER, 2014).

Apesar das preocupações iniciais, a técnica da EMT mostrou-se tão segura, utilizando-se os limites recomendados que tem sido utilizada em uma gama ampla de indivíduos e situações, incluindo crianças e gestantes (LIN; PASCUAL-LEONE, 2002; FRYE et al., 2007; GARVEY; MALL, 2008; KRISHNAN et al., 2015).

Outra preocupação com os indivíduos que são submetidos e os que aplicam a técnica é quanto ao ruído provocado pela bobina. Uma comparação de três estimuladores presentes no mercado encontrou valores do ruído acústico acima de limites de segurança estabelecidos, apenas para o caso de estimulações magnéticas repetitivas com a intensidade máxima dos aparelhos (DHAMNE et al., 2014).

Com base em todos estes riscos que a estimulação magnética poderia causar aos indivíduos, foram estabelecidas normas e recomendações de segurança para a sua prática segura (ROTHWELL et al., 1991; WASSERMANN, 1998; ROSSI et al., 2009; PETERCHEV et al., 2012; ROSSINI et al., 2015).

Os protocolos de estimulação magnética utilizados em pesquisa e na prática clínica devem ser desenvolvidos seguindo as recomendações atuais de segurança, evitando expor os profissionais de saúde e os pacientes a riscos desnecessários e previsíveis.

3.2 Eletroencefalograma e Magnetoencefalograma

A todo o momento, seja em vigília ou durante o sono, o encéfalo desempenha suas funções como um órgão integrado ao resto do corpo, além de integrado dentro si. Esta integração ocorre anatomicamente e funcionalmente por meio das informações recebidas pelas aferências assim como das informações enviadas às eferências. A integração encefálica interna pela criação e tradução destas informações pode ser medida nos processos cognitivos cotidianos (VARELA et al., 2001). Para que este fluxo de informação ocorra, é necessário que haja integridade nas várias estruturas anatômicas e funcionais envolvidas, organizadas em várias escalas de complexidade. Exemplos desta organização são encontrados desde as unidades funcionais mínimas corticais, chamadas de minicolunas (BUXHOEVEDEN; CASANOVA, 2002), até nas redes formadas por componentes complexos e diversos, como as áreas encefálicas especializadas e envolvidas no simples e rotineiro movimento de alcançar um objeto com a mão (FILIMON, 2010).

Toda esta informação é codificada por meio de variação do potencial eletromagnético das membranas celulares e controlada pelos próprios neurônios. Esta variação de potencial eletromagnético é captada em tempo real por métodos que registram com eletrodos desde o meio intracelular de um único neurônio, passando pelo meio extracelular de um único neurônio até o meio extracelular de populações de neurônios. Tais registros intracelulares ou extracelulares são invasivos, necessitando de eletrodos intracranianos subdurais ou epidurais. O registro da variação de potencial eletromagnético em tempo real também pode ser feito por eletrodos extracranianos sobre o couro cabeludo, portanto, de forma não invasiva e indolor, conhecido como o EEG (LOPES DA SILVA; VAN ROTTERDAM, 2011). Um exemplo de uso clínico está demonstrado na figura 3.7, onde cada canal mede em tempo real, com resolução de 1 ms, a projeção da atividade elétrica encefálica em pares de sensores no couro cabeludo.

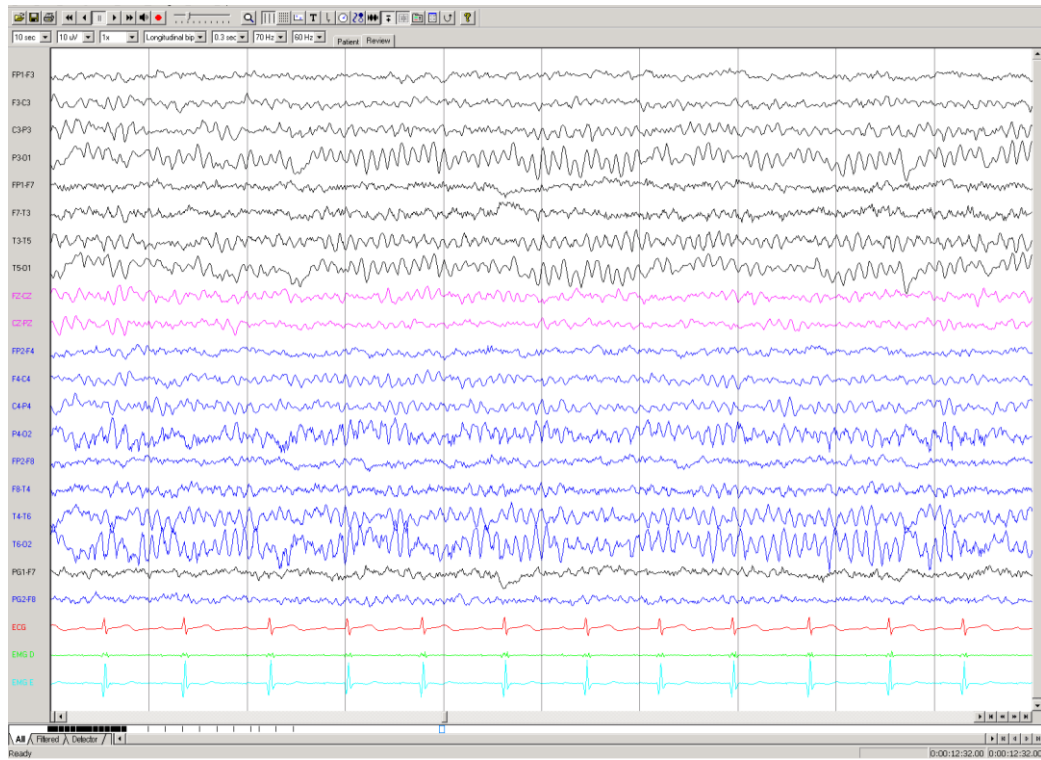


Figura 3.7. o eletroencefalograma. Em preto os pares de sensores esquerdos, em rosa os medianos e em azul os sensores direitos. Os três últimos canais registram respectivamente o ECG e atividade muscular em membros superiores.

3.2.1 Histórico do registro da atividade eletromagnética encefálica

A primeira vez que correntes elétricas foram registradas e atribuídas como de origem cerebral foi em 1875, com uso de coelho e macaco como modelos animais. O estudo utilizou um galvanômetro único, observando correntes que fluíam em várias direções, registradas com eletrodos sobre o córtex, crânio e até mesmo sobre a pele (CATON, 1875).

Já em humanos, o registro não invasivo da atividade elétrica cerebral foi realizado pela primeira vez no início do século XX, em um aparelho que também possuía apenas um canal. Já na ocasião foi possível perceber as características oscilatórias e a dimensão reduzida (1 a 100 μV) desses sinais, facilmente ocultados por artefatos, mesmo de origem biológica (BERGER, 1929).

Os sinais eletroencefalográficos obtidos por estimulação externa como, por exemplo, visual, apresentam amplitudes da ordem de 1 a 30 μV , enquanto o ruído da ordem de centenas de microvolts. Para a visualização dos sinais dos primeiros EEG, o procedimento padrão consistia na sobreposição dos sinais e inspeção visual. Duas décadas mais tarde, foi desenvolvida a primeira técnica de Promediação, permitindo a detecção de respostas cerebrais de dimensões menores do que o ruído que as ocultasse. Por meio de vários capacitores no circuito elétrico de registro, era realizada a média de várias repetições do mesmo sinal, causando o cancelamento de ruídos aleatórios (DAWSON, 1951).

Mais tarde, com a informatização da medicina, um procedimento como o da Promediação ficou muito mais simples, podendo ocorrer quase que em tempo real. A informatização traz também a busca por uma redução da subjetividade e variabilidade da análise individual feita pelo ser humano, viabilizada por meio da quantificação e reconhecimento de padrões. No primeiro registro digitalizado do sinal do EEG, já houve um grande passo nesta direção. Ao serem aplicados algoritmos nos sinais, foi possível detectar atividades que são associadas à ocorrência de crises epiléticas. Houve uma correlação de 60 a 90% entre o método automático e o visual (GOTMAN; GLOOR; SCHAUL, 1978).

Em 1932, logo após a descoberta do EEG e muito antes da informatização da medicina, foi realizada a primeira análise quantitativa do método, por meio da análise de Fourier (DIETSCH, 1932).

Desde então, após décadas de desenvolvimento tecnológico da medicina, o método ganhou ferramentas poderosas de análise visual e processamento de sinais. A miniaturização dos componentes permitiu a sua portabilidade, acompanhando pacientes em suas casas ou atletas nas montanhas. Para citar apenas alguns exemplos nos dias de hoje, com o EEG foi aumentado o entendimento das funções encefálicas em todas as faixas etárias, trazendo inclusive muita informação clínica para os recém-nascidos prematuros. Também é o instrumento principal do estudo do sono dos animais e humanos. Com a tecnologia atual, é possível utilizar as informações do sinal de EEG em diversas áreas da medicina, inclusive a aeroespacial (SCHOMER; LOPES DA SILVA, 2011).

Usando um magnetômetro e apenas um canal de EEG, a atividade magnética cerebral foi observada pela primeira vez. O mesmo tipo de fenômeno oscilatório relatado no primeiro registro do sinal também foi evidenciado (BERGER, 1929; COHEN, 1968).

O sinal EEG registra o deslocamento de correntes elétricas, que são atenuadas desde sua geração até os eletrodos no couro cabeludo. O campo magnético não é atenuado desde sua origem e é registrado em valores absolutos, dispensando o uso do eletrodo de referência do sinal. Portanto, a localização das fontes geradoras obtida pela atividade magnética é mais precisa do que quando obtida pela atividade elétrica. Esta vantagem é extremamente importante quando se deseja, por exemplo, a localização de focos epiléticos (HARI, 2011). Por outro lado, campo magnético gerado pela atividade neuronal encefálica é muito pequeno, da ordem de 10^{-11} tesla. Apenas o ruído pequeno, mas onipresente do campo magnético do planeta Terra já é maior, de 5×10^{-5} tesla. Isto demanda instalações muito mais caras em relação àquelas para o registro do EEG, com isolamento magnético, o uso de supercondutores e de sensores muito sensíveis nos equipamentos. O Magnetoencefalograma necessita de uma infraestrutura maior, mas tem sido utilizado como uma ferramenta de estudo, quando o desejo é obter as informações sobre o funcionamento do encéfalo, sem as limitações do EEG. Também é o único método até então capaz de registrar a atividade elétrica cerebral em indivíduos ainda dentro do útero da mãe (LOPES DA SILVA; VAN ROTTERDAM, 2011). Magnetoencefalograma não foi utilizado nesta Tese. As informações são apenas para enriquecer as informações sobre o desenvolvimento do registro das respostas eletromagnéticas do encéfalo.

3.2.2 Potenciais Relacionados a Eventos

O encéfalo sofre mudanças em sua atividade eletromagnética, sob o efeito de eventos externos, como um som, ou internos, como o processamento neuronal deste som. As ativações dos neurônios são representadas por variações de potenciais elétricos e, conseqüentemente, de campos magnéticos. Tais mudanças são sinais de pequena dimensão em relação a muitos outros, de toda a atividade neural do próprio EEG e outros sinais biológicos, considerados então como ruídos. As variações de potencial elétrico são chamadas de Potenciais Relacionados a Eventos, sendo identificados pelo tipo de evento que as gerou. Por exemplo, se o evento gerador for um estímulo sensitivo de um segmento corporal, os Potenciais Relacionados a Eventos são chamados de Potenciais Evocados Somatossensitivos. Os mesmos eventos que geram as variações de potencial elétrico dos Potenciais Evocados provocam paralelamente Oscilações Induzidas, que serão abordadas com mais detalhe na seção 3.3.3 (LOPES DA SILVA; VAN ROTTERDAM, 2011).

É inevitável extrapolar o raciocínio e concluir que Potenciais Evocados ocorrem a todo o momento no encéfalo humano, relacionado a estímulos extrínsecos (visuais, auditivos, etc.) e intrínsecos (cognitivos). A maioria dos eventos não é nem consciente para os indivíduos. Como exemplo, temos os potenciais evocados por estímulos das vias visuais, registrados por eletrodos sobre o crânio (figura 3.8).

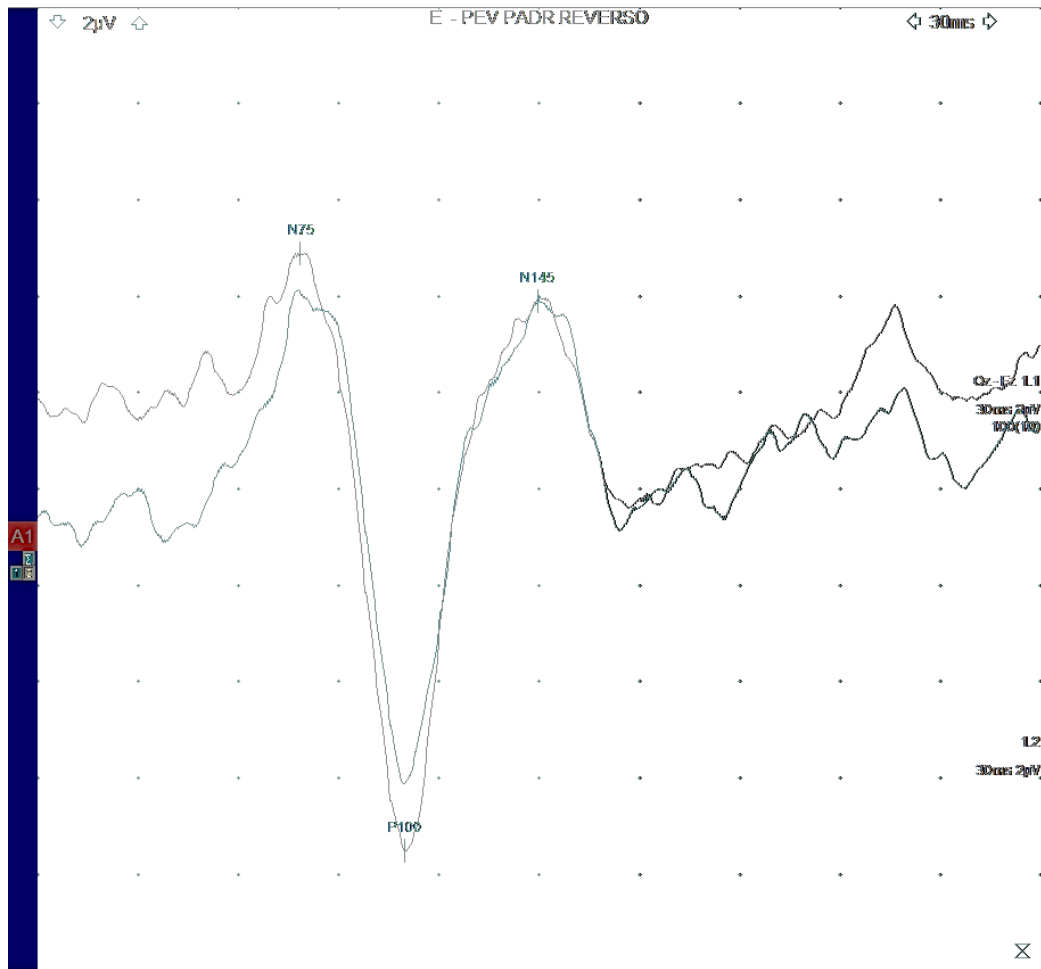


Figura 3.8. Potenciais evocados por estímulos visuais no olho esquerdo, registrados no crânio de um sujeito normal.

3.3 Processamento de Sinais

Na maioria dos casos, os sinais mensurados dos fenômenos físicos no mundo real são analógicos. Para ter acesso à informatização e suas versáteis e poderosas ferramentas de análise e processamento de sinais, é preciso transformar os dados para o formato digital.

3.3.1 Conversão analógico-digital

Converter um sinal analógico em digital requer a amostragem e transformação de dados contínuos no tempo em uma série temporal de valores discretos. Durante o processo de conversão, para que todas as frequências que compõem o sinal possam ser representadas sem distorções, é necessário que a frequência de amostragem do sinal seja pelo menos duas vezes maior que a maior frequência encontrada no sinal. Caso contrário, haverá um deslocamento da representação das frequências para valores mais baixos, distorção esta chamada de “aliasing”. Um dos avanços importantes deste desenvolvimento tecnológico é a conversão analógico-digital dos sinais amostrados, facilitando o cálculo quando técnicas estatísticas são aplicadas sobre o sinal. Considerando-se que um sinal assumidamente estacionário foi amostrado a uma taxa pelo menos o dobro da maior frequência nele encontrada, pode-se dizer que o procedimento foi adequado (BENDAT; PIERSOL, 2010).

Assim como a amostragem está para a conversão analógico-digital no tempo, a quantização está para a conversão analógico-digital da magnitude dos sinais. As amplitudes de sinais contínuos podem apresentar, para qualquer faixa, uma infinidade de valores, mas a quantidade de dados representados pelos bits de um conversor analógico-digital, por maior que seja, é finita. Então, na prática, apenas é possível uma aproximação da real magnitude do sinal (BENDAT; PIERSOL, 2010).

3.3.2 Análise no domínio do tempo

A análise da variação de magnitude das respostas encefálicas, especialmente dos Potenciais Evocados, no domínio do tempo implica que tais respostas apresentem suas latências (ou tempo de aparecimento das respostas) temporalmente sincronizadas com o momento do estímulo. Para uma medida correta da variação de magnitude ao longo do tempo das respostas eletroencefalográficas é preciso utilizar um valor de referência do que seria considerado o valor zero da magnitude. Uma das estimativas desta referência é obtida pela técnica de Correção da Linha de Base. Ela utiliza um trecho de algumas dezenas de milissegundos do sinal, antes da obtenção das respostas de interesse. A média do sinal no trecho anterior ao evento é calculada e, depois, subtraída em cada ponto no trecho após o evento, onde as respostas serão observadas, obtendo-se uma medida precisa da variação de magnitude (KEIL et al., 2014).

3.3.3 Reconstrução das fontes geradoras

Desde o pioneiro e clássico trabalho publicado sobre o EEG, foi possível visualizar o enorme potencial de utilização da atividade elétrica cerebral como uma medida não invasiva do funcionamento neuronal (BERGER, 1929). Entretanto, as propriedades de propagação do fenômeno elétrico e sua passagem pelos tecidos biológicos distorcem o sinal de EEG, limitando as informações registradas. Desde a integração da atividade dos potenciais pós-sinápticos nos dendritos dos neurônios até a captação no couro cabeludo, grande parte da complexidade da informação é perdida (MAGEE, 2000; OLEJNICZAK, 2006; LOPES DA SILVA; VAN ROTTERDAM, 2011.).

Uma das informações perdidas é a capacidade de localização do fenômeno elétrico, a partir da sua projeção na superfície do couro cabeludo, após o sinal ser distorcido pela passagem pelas várias camadas de tecidos biológicos com características elétricas diferentes.

Há a necessidade de uso de equipamentos, aplicativos e conhecimento apropriados. Desde o número mínimo de sensores distribuídos sobre o couro cabeludo, passando pelos modelos teóricos de propagação da atividade eletromagnética no crânio até as técnicas estatísticas utilizadas. Em teoria, variações desta propagação da atividade eletromagnética significariam variações nas propriedades das suas fontes geradoras, em última análise, os neurônios. Os registros da variação da atividade elétrica cerebral no domínio do tempo são dependentes do eletrodo de referência utilizado. Já as projeções topográficas desta atividade são, por sua vez, independentes do eletrodo de referência escolhido. Mais detalhes serão expostos na seção III 3.5 O Eletrodo de referência (SCHERG, 1992; MICHEL; HE, 2011.).

Como será visto na seção sobre o Problema Inverso, devido às propriedades do fenômeno eletromagnético em tecidos condutores, a amostragem espacial com sensores é sujeita aos mesmos erros de amostragem do que a amostragem no tempo. Para uma representação adequada das projeções das fontes geradoras dos neurônios sobre o couro cabeludo, é necessário evitar que as frequências espaciais rápidas sejam registradas erroneamente como mais lentas. Por meio de redução da taxa de amostragem em simulações teóricas e registros reais do EEG, foi estimado em 128 o número mínimo de sensores sobre o couro cabeludo, suficiente para a amostragem adequada dos sinais eletromagnéticos, sem a ocorrência de “aliasing” (SRINIVASAN; TUCKER; MURIAS, 1998).

3.3.3.1 O Problema Inverso

Dado um fenômeno eletromagnético e um conjunto de tecidos biológicos interpostos, tem-se que uma mesma projeção na superfície destes tecidos pode ser causada por infinitas combinações de dois parâmetros da projeção daquele fenômeno: localização e orientação. A falta de solução única para este problema já havia sido detectada quase dois séculos atrás (HELMHOLTZ, 1847; MOSHER; LEAHY; LEWIS, 1999; MICHEL et al., 2004; HALLEZ et al., 2007; MALMIVUO; PLONSEY, 1995).

A precisão da localização do fenômeno eletromagnético está relacionada ao número de eletrodos. A distribuição espacial dos mesmos também é importante. Ou seja, melhor quanto mais os eletrodos são distribuídos sobre uma superfície esférica, em aproximação ao formato do crânio humano, ou o mais próximo disso possível (LANTZ et al., 2003; FERREE; TUCKER, 1999; MASSIMINI; TONONI; HUBER, 2009; HOLMES, 2008; PETROV et al., 2014; SRINIVASAN; TUCKER; MURIAS, 1998; SONGA et al., 2006).

Para que toda a informação funcional obtida pela medida das respostas encefálicas, tanto no domínio do tempo quanto no da frequência, faça sentido fisiológico, é preciso complementá-la com informações anatômicas. Basicamente, tais informações buscam restringir o número de soluções do Problema Inverso, a origem das respostas, que serão exibidas em imagens. Esta integração é trabalhosa e sujeita a imprecisões, apesar de progressos a cada dia na superação de suas limitações.

3.3.3.2 Promediação

Os Potenciais Evocados são respostas encefálicas de amplitudes reduzidas em relação ao próprio EEG. Para sua visualização, são necessárias técnicas de processamento de sinais como a Promediação, também chamada de Média Coerente. Na época da introdução da primeira técnica de Promediação, foi preciso um circuito analógico com uma bancada de 60 capacitores para realizar a média de todos os sinais (DAWSON, 1951). As técnicas de somação utilizadas nos equipamentos atuais são aplicadas após a conversão analógico-digital e amostragem. Os Potenciais Evocados $\bar{x}(k)$ podem ser considerados como um sinal $s(k)$, sendo corrompido por um ruído aleatório $\bar{r}(k)$, de acordo com a equação 8.

$$\underline{x}(k) = s(k) + \bar{r}(k) \quad (8)$$

Para o cálculo da Promediação são necessárias algumas considerações, junto ao modelo de mecanismo dos Potenciais Evocados. A primeira, de que o sinal $s(k)$ é o mesmo ao longo de todas as repetições em que as respostas são adquiridas (número de N), principalmente ao longo do tempo. Na segunda, considera-se que o ruído $r(k)$ seja aleatório e de média zero. Assim, a razão sinal/ ruído é melhorada com o aumento do número de aquisições (N), pela progressiva redução da potência do ruído aleatório em relação à dos Potenciais Evocados, foi assumido que o sinal $s(k)$ é o mesmo (determinístico) ao longo de todas as repetições (N). Também foi assumido que o ruído $r(k)$ é aleatório e não correlacionado.

Alguns exemplos clínicos: o teste de Potencial Evocado Visual possui amplitude média de seus componentes em torno de 100 μV e conclui-se com 100 a 200 repetições. Já o Potencial Evocado Auditivo, muito menor (1 μV de amplitude dos componentes), conclui-se com 1000 a 2000 repetições.

Após a Promediação, se obtém uma sequência de curvas ou componentes, variando em amplitude ao longo do tempo. A sequência de componentes alterna em polaridade em relação ao registro do eletrodo de referência. São utilizadas as letras N (negatividade) e P (positividade) para os componentes. Cada componente, em teoria, corresponderia a uma rede distinta de estruturas anatômicas funcionalmente relacionadas no tempo. A descrição dos Potenciais Relacionados a Eventos no domínio do tempo leva em conta o tempo de aparecimento e a amplitude das

respostas. O tempo de surgimento ou sua latência é medido no início do aparecimento ou na máxima amplitude (mais utilizado) de cada um dos componentes. Para facilitar o entendimento, toma-se o exemplo do Potencial Evocado Visual registrado no córtex visual. São formados por uma sequência de componentes, denominados N75, P100 e P175. Ou seja, os componentes apresentam suas amplitudes máximas respectivamente em 75, 100 e 175 ms, o primeiro e o terceiro com polaridade negativa e o P100 com polaridade positiva (LOPES DA SILVA, 2011), de acordo com a figura 3.2.

A técnica de Promediação é interessante, pois reduz a variância dos dados obtidos. A análise dos dados no domínio do tempo necessita de muitas suposições prévias quanto ao sinal, o que nem sempre ocorre em situações reais. Uma alternativa à esta análise é a realizada no domínio da frequência, como será visto a seguir.

3.3.4 Domínio da frequência

Há casos em que a atividade elétrica encefálica é muito rítmica, o aumento de repetições das medidas não levaria em teoria a um aumento da razão sinal/ruído. Outra situação em que o aumento de repetições da Promediação não leva a um aumento da razão sinal/ruído é quando há uma variabilidade intrínseca das respostas encefálicas de interesse. Estas situações podem ser abordadas por técnicas de processamento no domínio das frequências, para avaliar as Oscilações Induzidas.

Supõe-se que a atividade elétrica encefálica seja composta de uma somação espacial e temporal de várias frequências. Os sinais podem ser decompostos nestas frequências e a contribuição de cada uma ser medida. Como vantagem em relação à análise das respostas no domínio do tempo, não há a necessidade de que as respostas induzidas sejam sincronizadas temporalmente em relação ao evento que os tenha provocado. Entretanto, esta premissa é mais adequada para sinais estacionários. Nem todas as respostas eletrofisiológicas são estacionárias, mas sim transientes como muitos dos Potenciais Evocados (LOPES DA SILVA, 2011).

A primeira análise das frequências do sinal EEG já utilizou a Transformada de Fourier, conseguindo decompor o sinal em uma soma de diversas ondas senoidais. Este método consagrou-se como o mais popular de análise das respostas biológicas no domínio da frequência (DIETSCH, 1932).

Um dos estudos pioneiros utilizando a análise dos Potenciais Evocados no domínio das frequências evidenciou uma vantagem desta em relação à análise no domínio do tempo. Houve a constatação de que o sinal $s(k)$, ou seja, os Potenciais Evocados são invariáveis no tempo: a distribuição da fase do sinal variava com a intensidade do estímulo (no caso, sonoro), influenciando a magnitude das respostas no tempo, mas não o espectro de potência das suas frequências (SAYERS; BEAGLEY; HENSHALL, 1974).

Como já foi dito, a análise no domínio do tempo fica prejudicada se o sinal de interesse não possuir uma grande sincronia temporal com seu estímulo desencadeante. A análise no domínio da frequência permite a detecção nestes casos, evidenciando as modificações na potência de frequências específicas e de forma independente da sincronização entre os estímulos e as respostas (PFURTSCHELLER; ARANIBAR, 1977).

Novas técnicas de análise no domínio da frequência possuem também informação no domínio do tempo, como, por exemplo, a análise de “Wavelets”. Além disto, tais técnicas representam melhor as respostas por contemplar a representação de transientes (TREJO; SHENSA, 1999; LOPES DA SILVA, 2011.).

Apesar do estudo dos Potenciais Evocados com técnicas no domínio do tempo ter sido capaz de trazer grandes informações sobre o funcionamento das vias sensoriais e dos mecanismos de processamento da informação no encéfalo, este modelo de mecanismo básico possui questionamentos. Além disto, as presunções que necessitam ser tomadas poderiam introduzir vieses às análises. Há evidências considerando também os mecanismos dos Potenciais Evocados como uma reorganização da atividade espontânea e de seus espectros de potências das frequências (SAYERS; BEAGLEY; HENSHALL, 1974; PFURTSCHELLER; ARANIBAR, 1977; MAKEIG, 1993). Assim, a análise com técnicas no domínio da frequência apresenta-se como mais indicada para investigar o funcionamento dos processos neuronais em questão.

3.3.5 O eletrodo da referência

A escolha de um eletrodo referência para o registro das atividades elétricas cerebrais depende de uma série de fatores, pois a localização deste eletrodo modifica a projeção medida no couro cabeludo. Mesmo quando se usam ferramentas no domínio da frequência, o problema não é eliminado, pois um eletrodo de referência contaminado por ruídos influencia a medida final, como no caso nas medidas de fase e de coerência do sinal do EEG (ESSL; RAPPELSBERGER, 1998; MIMA; HALLETT, 1999; MIMA; HALLETT, 1999b; HU et al., 2007).

Já foram descritas diferentes técnicas de Separação de Fontes, utilizadas para a estimativa de uma referência eletricamente nula. Apesar de bem-sucedidas, as diferentes técnicas exibiram resultados diferentes entre si. Além disto, adicionam maior complexidade e tempo computacional (RANTA; MADHU, 2012; HU; STEAD; WORRELL, 2007; HU et al., 2007; HU et al., 2010; BERTRAND; PERRIN; PERNIER, 1985; OREKHOVA; WALLIN; HEDSTRÖM, 2002).

Não há ainda técnica ideal para a estimativa do eletrodo de referência. Há a necessidade de descrição detalhada do método a ser utilizado, assim como o conhecimento de seus benefícios e de suas limitações.

3.3.5.1 Medidas independentes da escolha do eletrodo de referência

Duas técnicas, baseadas no desvio padrão da amplitude da atividade elétrica, ganharam fama por serem medidas independentes do eletrodo de referência, escolhido para o registro eletroencefalográfico. Trata-se do “Global Field Power” e, suas adaptações, o “Global Mean Field Amplitude” e o “Global Map Dissimilarity”. O “Global Field Power” é calculado com o desvio padrão dos potenciais de todos os eletrodos de uma medida utilizando no cálculo da referência o valor de todos os eletrodos. São calculados em cada momento do tempo, utilizando todos os eletrodos simultaneamente. São convenientes como técnicas de localização dos geradores eletromagnéticos, pois seus cálculos são simples (LEHMANN; SKRANDIES, 1980; BRANDEIS; LEHMANN, 1986). Tais medidas têm sido adotadas nas publicações mais recentes sobre o registro das respostas eletroencefalográficas durante o estímulo magnético transcraniano (KÄHKÖNEN et al., 2005; FARZAN et al., 2013).

3.3.6 Aleatoriedade, estacionariedade e ergodicidade.

Um fenômeno é considerado aleatório quando não há uma relação matemática explícita que o descreva. Fenômenos aleatórios são descritos por observações pontuais no tempo, chamadas de funções amostrais. A uma coleção das possíveis funções amostrais chama-se de processo estocástico. Tais processos são divididos em estacionários ou não estacionários. Processos estacionários são aqueles em que é possível descrever as propriedades do sinal em qualquer instante, por meio de promediações das funções amostrais. Nos não estacionários, não é possível fazer tais inferências por meio das funções amostrais. Os processos estacionários são, ainda, divididos em ergódigos ou não. Quando os processos estacionários são ergódigos as propriedades de todo o processo podem ser determinadas por promediações no tempo de uma função amostral.

Ou seja, para medir fenômenos aleatórios estacionários ergódicos é apropriado apenas um evento no tempo (BENDAT, PIERSOL, 2010).

Assim como a maioria dos fenômenos da natureza (BENDAT, PIERSOL, 2010), o EEG tem sido historicamente considerado um sinal com propriedades estacionárias e ergódicas em trechos com duração de até 10 s (LOPES DA SILVA, 2011).

Para a análise de um único sinal estacionário registrado, propõe-se que a descrição estatística de suas propriedades seja feita pelas seguintes funções:

1. Média e Desvio Padrão;
2. Funções de Densidade de Probabilidade;
3. Funções de Autocorrelação;
4. Funções de Densidade Autoespectral.

Já para a análise de dois ou mais sinais estacionários e suas interrelações, as descrições estatísticas dos pares de sinais serão feitas pelas seguintes funções:

1. Densidade de Probabilidade Conjunta;
2. Correlação Cruzada;

3. Densidade Espectral Cruzada;
4. Resposta em Frequência;
5. Coerência.

A premissa descrita anteriormente, de que geradores biológicos de campos eletromagnéticos variantes no tempo possuem características “quasi-estacionárias” é recomendada para facilitar o estudo das fontes destes geradores (PLONSEY; HEPPNER, 1967).

Entretanto, as características “quasi-estacionárias” do EEG já foram questionadas, com dados analisados no domínio da frequência por meio da análise espectral. Foi encontrada uma variação das propriedades, que era maior quanto mais longa a duração das épocas (janelas) utilizadas no cálculo. Épocas de 02 s foram as que apresentaram a menor variabilidade entre si, em troca da menor perda na resolução das frequências constituintes do sinal (LEVY, 1987).

Mais ainda: evidências experimentais demonstraram que o sinal do EEG é constituído sim por períodos estacionários chamados de estados. Mas, tais estados possuem uma escala temporal muito menor do que aquela de 10 a 20 s, que vinha sendo historicamente assumida. Em indivíduos normais, tanto durante a vigília quanto durante o sono, ocorrem repetições de séries de quatro a cinco diferentes estados estacionários. Cada um possui duração de 100 a 300 ms, durante os quais as propriedades são estacionárias e ergódicas. Tais evidências invalidam as premissas anteriores de estacionariedade do EEG, a não ser que as mesmas sejam feitas durante cada microestado, diferentemente para cada tipo (BRODBECK et al., 2012; KOENIG, 2002; VAN DE VILLE; BRITZ; MICHEL, 2010; LEHMANN; MICHEL, 2011).

Ao se utilizar das premissas históricas da estacionariedade e da aleatoriedade citadas anteriormente no estudo do sinal de EEG, limitações teóricas são impostas. Entretanto, mesmo com tais modelos questionados com as evidências recentes dos microestados, sua aplicação permitiu grandes avanços no entendimento da fisiologia neural (MICHEL; HE, 2011). Há exemplos do uso bem-sucedido das tecnologias mais avançadas no sinal de EEG utilizando as premissas acima. Como um deles, temos o que, utilizando o conhecimento da fisiologia dos neurônios durante o movimento, permitiu a detecção de atividades encefálicas específicas da movimentação, que puderam ser utilizadas como ferramenta de comunicação em interfaces cérebro-

máquina (WOLPAW et al., 2002; (MIRANDA DE SA; INFANTOSI, 2008). As premissas histórias também foram utilizadas em algumas técnicas nesta Tese.

3.3.7 Transformada de Fourier

É bem conhecida a decomposição da luz branca em diferentes cores por um prisma e recomposição por outro. Ao caráter oculto dos componentes da luz, foi denominado espectro (NEWTON, 1671). É sabido hoje que cada uma das cores do espectro possui uma faixa de frequência eletromagnética que as identifica. Também é sabido que, pela análise de frequências, é possível descrever a composição atômica dos objetos mais próximos do cotidiano e até dos astros mais distantes.

A busca pela descrição das propriedades da condução térmica nos objetos levou ao desenvolvimento de técnicas matemáticas como a Transformada de Fourier, permitindo a decomposição de vários tipos de sinais em senóides ou (facilitando ainda mais o cálculo) em exponenciais complexas. O sinal passa a ser representado no domínio da frequência (FOURIER, 1822). Tal técnica se popularizou entre os cientistas. Uma transformada expressa um sinal em termos de uma combinação de sinais mais elementares. A transformada de Fourier é a mais utilizada em processamento de sinais. Ela os decompõe em uma soma de funções senoidais, podendo ser utilizada mesmo para expressar sinais não periódicos (VASEGHI, 2008).

Grandes progressos foram conseguidos também com o EEG, modelando-o como um fenômeno linear (PARRA et al., 2005; MAKEIG, 1993). Entretanto, o sinal de EEG já foi modelado como um fenômeno não linear e até mesmo como um fenômeno caótico também com sucesso. Foi possível identificar padrões distintos entre pessoas normais e diferenciar das pessoas com patologias neurológicas (STAM, 2005; KORN; FAURE, 2003).

Quase simultaneamente à descrição do EEG, surgiu a preocupação em quantificar seus achados no domínio da frequência, aplicando-se a Transformada de Fourier, tendo sido possível na época encontrar diferenças na distribuição das frequências e das suas harmônicas, entre indivíduos normais e enfermos (DIETSCH, 1932). A Transformada de Fourier é indicada para sinais estacionários, supondo-se serem compostos por uma soma de senóides. É de uso prático, pois seu cálculo é simples, conseqüentemente, com um tempo computacional reduzido. No caso do EEG, permite a visualização dos resultados quase que em tempo real. Contudo, não possui boa resolução quando os trechos selecionados para análise são muito curtos, ou quando são compostos por outros sinais transitórios, como é o caso de Potenciais Relacionados a Eventos (AL-FAHOUM; AL-FRAIHAT, 2014).

A seguir está a equação da Transformada de Fourier para sinais de tempo discreto, considerando-se que o sinal $x[n]$ tenha duração finita, representada por N amostras $\{x[n], n = 0, 1, \dots, L - 1\}$:

$$X(e^{j\omega}) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} x[n]. e^{-j\omega n} \quad (9)$$

onde $e^{j\omega} = \cos\omega + jsen\omega$; $\omega = 2\pi F$; e F a frequência em Hz. $X(e^{j\omega})$ representa o conteúdo das frequências decompostas do sinal, representado por $x[n]$.

3.3.7.1 Estimativas de potência espectral

Tendo em conta que Potenciais Evocados são sinais que apresentam flutuações ao longo do tempo, eles têm que ser abordados por técnicas estatísticas. A potência espectral de um sinal da fornece a distribuição da potência das suas diversas frequências. Uma de suas estimativas é a função densidade de potência espectral ou periodograma, baseada na transformada de Fourier, exibida na equação 10 (VASEGHI, 2008).

$$\hat{P}_{XX}(f) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} x[n]. e^{-j\omega n} \quad (10)$$

Devido à aleatoriedade e comprimento finito dos sinais, o periodograma obtido de diferentes registros de um sinal varia, necessitando medidas para reduzir tal variância. Uma destas medidas é a promediação dos periodogramas, de acordo com a equação 11:

$$\hat{P}_{XX}(f) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} r_{xx}(m). e^{-j\omega n} \quad (11)$$

onde m é o número de épocas (independentes e de mesmas durações).

Ao longo do desenvolvimento tecnológico, várias técnicas de avaliação da atividade eletromagnética vêm surgindo e sendo testadas. Algumas continuam sendo utilizadas e algumas delas sendo definitivamente substituídas. As simplicidades do conceito e do uso permitiram que a Transformada de Fourier trouxesse para os pesquisadores muitas respostas sobre a fisiologia das respostas biológicas.

3.3.8 Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos

Há evidências no sinal EEG da modificação da energia das bandas de frequência entre 8 a 12 Hz, associadas ao planejamento de movimentos e estimulações sensoriais do tipo visual e sensitiva (PFURTSCHELLER; ARANIBAR, 1977). No estudo, foi sugerido pelos autores que tais fenômenos ocorriam por sincronização e dessincronização de neurônios.

Estudos detalharam este fenômeno em outras bandas de frequências. Também se demonstrou a especificidade das suas respostas, associando Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos à dependência de circuitos neuronais bem definidos para uma determinada tarefa realizada por um sujeito (PFURTSCHELLER; ANDREW, 1999; PFURTSCHELLER; ANDREW, 1999b).

A técnica clássica consiste em: após a amostragem é escolhido um trecho antes e depois de um dado evento. Um filtro passa-banda pré-selecionado é aplicado nos dois trechos. Em seguida, os valores de amplitudes em cada trecho são elevados ao quadrado, para a obtenção da potência dos sinais e, depois, da média dos valores ao longo das repetições. Os dados são então promediados ao longo do tempo para reduzir a variabilidade dos dados.

O cálculo da modificação da potência de uma banda de frequência específica é dado pela equação 12. Na expressão, a letra A significa o trecho do sinal do EEG antes um determinado evento (por exemplo, uma estimulação sensorial) e D o trecho do sinal após do evento.

$$ERD\% = \left[\frac{(D-A)}{A} \right] * 100 \quad (12)$$

Ou seja, a determinação da energia do sinal é sujeita ao viés da escolha prévia de uma banda de frequência pelo examinador e não há um tratamento estatístico nesta técnica.

Desde a primeira descrição da Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos, diferentes métodos de determinação da energia do sinal do EEG vêm sendo desenvolvidos. Passando pelos métodos baseados na Transformada de Fourier até os com base na técnica de Wavelets. Recentemente, foram criadas técnicas cujos algoritmos embasados estatisticamente fornecem informações mais

precisas. Outra vantagem destas técnicas é não ser necessária a escolha prévia da banda de frequência. Esta vantagem eliminaria o viés do investigador, que ocorre durante o cálculo da Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos. Tais métodos parecem ser mais adequados para a representação da energia de um sinal eletromagnético biológico. Entretanto, possuem uma computação muito mais demorada em relação aos demais (MAKEIG, 1993; DURKA et al., 2004).

3.3.9 Teste F Espectral

O Teste F Espectral (TFE) é uma técnica usada para determinar se duas estimativas espectrais diferentes podem pertencer a uma população como mesmo espectro das frequências teórico. Este teste tem sido aplicado para avaliar a relação entre dois espectros de potência e saber se são estatisticamente diferentes numa mesma banda de frequência. Também é possível utilizá-lo para, no mesmo espectro, avaliar se duas bandas de frequências são diferentes entre si. Seu fundamento estatístico está baseado no fato de que a razão entre duas estimativas espectrais utilizando trechos distintos de sinais independentes com distribuição normal está relacionada a uma distribuição F de Fisher (JOHNSON; KOTZ; BALAKRISHNAN, 1994; SHUMWAY; STOFFER, 2011).

Por definição, pode ser calculado conforme a equação 13, como uma razão entre estimativas espectrais de dois sinais, $x[k]$ e $y[k]$.

$$\hat{\phi}_{xy}(f) = \frac{\sum_{i=1}^M |Y_i(f)|^2}{\sum_{i=1}^M |X_i(f)|^2} \quad (13)$$

onde o sinal depois do estímulo é representado por $x[k]$ e antes do estímulo por $y[k]$. $X_i(f)$ e $Y_i(f)$ são as Transformadas de Fourier das i -ésimas janelas de $x[k]$ e $y[k]$ respectivamente. Continuando com o cálculo de $\hat{\phi}_{xy}(f)$ (TFE), os sinais são divididos em janelas de formato retangular, representadas na equação por M . No caso específico de as variâncias das estimativas do denominador e do numerador serem iguais, a equação 13 segue uma distribuição $F_{2M,2M}$, ou seja $2M$ graus de liberdade (SIMPSON et al., 2000).

Para calcular os índices de Dessincronização/ Sincronização citados anteriormente ($\hat{\mathcal{E}}_{yx}(f)$), o TFE necessita da premissa de estacionariedade da atividade de base do sinal do EEG, como na função vista na equação 14.

$$\hat{\mathcal{E}}_{yx}(f) = 100 \times [\hat{\phi}_{xy}(f) - 1] \quad (14)$$

O TFE pode ser considerado como uma razão entre a distribuição da energia por faixas de frequência antes e depois de um evento. Esta razão entre espectros de potência permite detectar se houve um aumento ou diminuição na energia no sinal do EEG. Tal variação da energia seria supostamente provocada por uma determinada intervenção (o evento). Como um exemplo de evento, temos o pulso da EMT. Um aumento de energia associado à estimulação é assumido como uma consequência da atividade sincronizada de neurônios. Esta atividade ocorre em estruturas anatômicas localmente no córtex motor e ocorre também na relação entre estruturas distantes, como entre o tálamo e o próprio córtex motor (BROWN; MARSDEN, 2001).

O TFE foi capaz de detectar eficazmente a atividade em a aplicação de diversos tipos de estímulos e registro das respostas encefálicas: somatossensitivo (SIMPSON et al., 2000), auditivo (RAMOS et al., 2000) e visual (MIRANDA DE SA; INFANTOSI, 2008; MIRANDA DE SA et al., 2010).

Em resumo, o TFE já foi utilizado com sucesso como ferramenta para a detecção de Sincronização e Dessincronização Relacionadas a Eventos no sinal do EEG.

3.4 Registro do Eletroencefalograma durante a Estimulação Magnética Transcraniana

Tanto o Magnetoencefalograma quanto o EEG são técnicas de observação, que não podem intervir no funcionamento do encéfalo. Apenas no caso da estimulação utilizada nos Potenciais Evocados é que há uma restrita modificação destas funções no espaço e no tempo. Por outro lado, tanto a EMT quanto a Estimulação Elétrica Transcraniana são técnicas de intervenção, causando modificações funcionais nas estruturas anatômicas estudadas. Porém não são capazes de revelar diretamente os mecanismos dos efeitos destas modificações. A combinação de técnicas de observação com técnicas de intervenção permite uma complementação entre as duas ferramentas de estudo.

Há um ganho de informações quando, para o estudo do funcionamento do sistema nervoso, técnicas de observação de alta resolução temporal como o EEG são complementadas por técnicas de intervenção como a EMT. Os componentes dos circuitos anatômicos e funcionais do encéfalo podem ser ativados ou inibidos, dependendo dos parâmetros do estimulador e ser acompanhados em tempo real. Hipóteses sobre o funcionamento de determinadas regiões podem ser testadas sob o efeito do estímulo magnético. Até mesmo podem ser feitos experimentos questionando sobre os mecanismos do próprio EEG. O interesse nos detalhes dos mecanismos de modificação da atividade neuronal acompanha os pesquisadores desde as primeiras técnicas de estimulação elétrica e magnética. Entretanto, foi necessário aguardar o desenvolvimento em tecnologias que permitissem lidar com diversos e grandes desafios técnicos envolvidos nestas poderosas ferramentas de modulação neuronal (KOMSSI; KÄHKÖNEN, 2006; FARZAN et al., 2012; DASKALAKIS et al., 2012). Além disso, tanto o EEG quanto a EMT são técnicas não invasivas e de grande aceitação pelos sujeitos a elas submetidos.

3.4.1 Artefatos e interferências

Os artefatos que o estímulo magnético produz nos eletrodos cabos e também no crânio são registrados pelos equipamentos de EEG com elevadas ordens de magnitude. Como será dito na seção 3.4.2.3, apenas recentemente é que foram desenvolvidos amplificadores apresentando tecnologia suficiente para lidar com os tais diferentes e significativos artefatos. O maior conhecimento das propriedades destes artefatos permitiu um melhor desenvolvimento de técnicas para identificá-los e reduzi-los e removê-los (IZUMI et al., 1997; ILMONIEMI et al., 1997; VIRTANEN et al., 1999). Algumas das contribuições mais importantes ao conhecimento sobre os artefatos estão resumidas a seguir.

3.4.1.1 Artefato de Estímulo

Um estudo interessante comparou a atividade elétrica registrada durante estímulos magnéticos no crânio de um voluntário e, em momentos diferentes, no joelho do mesmo voluntário. O joelho, obviamente desprovido de atividade cortical permitiu a comparação com as respostas do encéfalo. Foram descritas as propriedades do artefato de estímulo com diversas mudanças na intensidade dos estímulos, na frequência de estimulação e nos tipos de eletrodos de registro. Esta descrição pormenorizada das características do artefato de estímulo poderia ser útil nas técnicas da sua eliminação. Entretanto, os três diferentes estimuladores magnéticos foram todos de um único fabricante, não utilizado nesta Tese (VENIERO; BORTOLETTO; MINIUSSI, 2009).

Outro estudo interessante foi o que registrou o EEG em doze voluntários e registrou a densidade de corrente em um melão (*Cucumis sp.*). Este estudo também explorou e avançou no conhecimento das propriedades e das características do artefato de estímulo, pela comparação com o melão. Para tal, foram utilizados três sistemas comerciais diferentes, incluindo o utilizado nesta Tese, sendo que cada sistema apresentou sua assinatura, com artefatos de características diferentes. Além do mesmo estimulador magnético utilizado nesta Tese, também foi o mesmo modelo de bobina. Em comparação com os outros sistemas, durante estímulos bifásicos em humanos, o mesmo sistema usado na Tese apresentou artefatos com duração média de $47,2 \pm 40$ ms (ROGASCH et al., 2013).

Um estudo mais recente realizou estimulação magnética em seis voluntários normais com também três modelos de estimulador, incluindo também o equipamento utilizado nesta Tese. Este modelo apresentou na comparação um campo magnético com maior intensidade e menor duração do fluxo magnético. Tais propriedades estão relacionadas diretamente com a magnitude do artefato de estímulo. Com relação às respostas motoras excitatórias, o limiar de aparecimento foi mais curto. Com relação às respostas corticais, a recuperação dos artefatos também foi mais curta (VAN DOREN; LANGGUTH; SCHECKLMANN, 2015).

3.4.1.2 Artefatos Biológicos

As respostas indesejadas como os artefatos de estímulo podem atingir valores de vários volts, enquanto o sinal elétrico encefálico é da ordem de microvolts. A visualização das respostas de origem cortical é prejudicada não somente pelos artefatos de estimulação, mas também pelo artefato somatossensitivo por ativação do nervo trigêmeo, pela contração muscular da ativação motora e ativação local, e pela ativação do nervo auditivo pelo ruído da bobina (ILMONIEMI; KICIC, 2010).

Um grupo de pesquisadores conseguiu descrever as propriedades do artefato de estímulo, estimulando dezesseis regiões diferentes do crânio de três voluntários. Conseguiram também a descrição detalhada do artefato por contração muscular. O estudo se deteve mais na estimulação específica da área motora primária da mão (M1), enquanto alterava-se a intensidade do estimulador, inclinação e ângulo da bobina. As duas últimas variáveis foram controladas por meio de um sistema de posicionamento e navegação (MUTANEN; MÄKI; ILMONIEMI, 2013).

Quando é necessário ativar áreas como o córtex pré-frontal dorsolateral, a estimulação ocorre em áreas mais anteriores do crânio, onde há a inserção dos músculos faciais. Como consequência, a contaminação dos registros eletroencefalográficos com artefatos musculares fica mais intensa. Um estudo concentrado neste problema abordou 27 voluntários com estímulos reais nesta área e em nove voluntários com estímulos placebo, para identificar os estímulos auditivos. Em seguida, utilizando a técnica de análise de componentes independentes foi possível a identificação e remoção dos diferentes artefatos de estímulo, muscular e auditivo (ROGASCH et al., 2014).

3.4.2 Equipamentos compatíveis e procedimentos recomendados

Quando a EMT era utilizada em registros do EEG com equipamentos convencionais, seus amplificadores saturavam por centenas de milissegundos (VIRTANEN et al., 1999; USAKLI, 2010). Por meio de muito esforço e estratégias tecnológicas, foi possível a construção de eletroencefalógrafos compatíveis com os estimuladores magnéticos. Alguns dos requerimentos físicos dos componentes destes sistemas estão descritos a seguir.

3.4.2.1 Eletrodos

Correntes de Foucault (parasitas, ou “eddy”, na língua inglesa), ocorrem quando um metal ou tecido condutor é submetido a um campo magnético alternante. Devido à sua maior condutividade elétrica, os metais apresentam os maiores valores desta corrente, sendo a principal causa de mais um desafio da aplicação de estimulação magnética simultânea ao EEG (FOUCAULT, 1878; FOUCAULT, 1878a). Como já foi dito na seção 3.1.5.3 sobre Segurança, o aquecimento dos eletrodos aumenta acompanhando quanto maior for a frequência da estimulação.

A importância do aquecimento dos eletrodos pelas correntes de Foucault como complicação, motivou outros pesquisadores conseguirem estabelecer as curvas de aquecimento e resfriamento de eletrodos feitos de vários metais como ouro, prata, aço inoxidável, bronze e alumínio. O aumento da temperatura foi independente da espessura do eletrodo. Porém, acompanhou o valor da condutividade do metal, sendo maior nos eletrodos de prata. Valores como o quadrado do raio do eletrodo e o quadrado da duração do estímulo também foram acompanhadas de um maior aumento da temperatura, induzido pela estimulação magnética. As curvas foram construídas para os parâmetros de EMT. Foram também definidos importantes limites de segurança, que devem ser seguidos, quando há estimulação magnética repetitiva.

Há também outros artefatos de eletrodos, ocasionados pelo deslocamento no espaço dos mesmos. São provocados por ação eletromagnética nos componentes metálicos ou por contrações musculares cranianas (ROTH et al., 1992; ILMONIEMI; KICIC, 2010).

3.4.2.2 Cabos

Medidas simples são capazes de causar uma redução dos artefatos de origem extracraniana. No caso dos campos elétricos induzidos pela linha elétrica e pelo equipamento de estimulação magnética, principalmente a bobina, uma das medidas é o reposicionamento dos cabos dos eletrodos diante dos campos eletromagnéticos. Com o objetivo de medir a influência deste posicionamento, um estudo interessante desenvolveu um modelo simplificado de circuito elétrico, com eletrodos e cabos paralelos entre e aplicou estímulos magnéticos neste circuito e também em voluntários. Foi medida a magnitude dos artefatos em intensidades crescentes do estimulador. Foram feitos estímulos com uma bobina em “figura de oito”, posicionada em relação aos cabos dos eletrodos, em ângulos de 0°, 45°, 90°, 135° e 180°. Foi observado que a magnitude dos artefatos era dependente da área do circuito, da intensidade do estímulo (linearmente) e do ângulo de posicionamento da bobina. Os ângulos de posicionamento que apresentaram as menores magnitudes foram os de 0 e 180°. Isto ocorreu quando os campos induzidos por cada asa da bobina em “figura de oito” atuavam de forma oposta relação aos cabos do circuito modelo. Em uma segunda etapa do estudo, já com quatro voluntários saudáveis, os artefatos provocados pela EMT obtida durante o EEG foram registrados. As toucas de 60 eletrodos utilizadas dispunham do recurso de que cada eletrodo pudesse ser rodado em seu eixo e seus cabos reposicionados em relação à bobina. Os artefatos registrados apresentaram maior magnitude com o arranjo dos fios simétrico original do que com o arranjo otimizado, em que os cabos dos eletrodos se mantinham paralelos e o mais próximo de 90° em relação à bobina (SEKIGUCHI et al., 2011).

3.4.2.3 Amplificadores

Em 1999, foi desenvolvido um eletroencefalógrafo cuja estratégia para evitar a saturação dos amplificadores foi desviar a elevadíssima corrente induzida pelo artefato para um circuito (“sample and hold”). Tal circuito torna seu valor de saída igual a zero enquanto durante o estímulo (VIRTANEN et al., 1999). O amplificador deste primeiro sistema possuía sessenta canais, resolução vertical de 16 bits e taxa de amostragem de 1450 Hz. Este sistema continua sendo utilizado por muitos laboratórios até recentemente (IVES et al., 2006). Entretanto, o sistema não elimina outros artefatos gerados pela indução dos cabos e componentes.

Posteriormente, foram desenvolvidos equipamentos cujos amplificadores são completamente compatíveis com o registro de corrente contínua, com maior resolução em bits e maior taxa de amostragem, permitindo lidar com as grandes dimensões dos registros dos estímulos assim como os da atividade cerebral (BONATO; MINIUSI; ROSSINI, 2006)

Visando reduzir os artefatos de eletrodos relacionados ao estímulo magnético, um estudo comparou a maneira de preparação da pele do EEG com uma punção da epiderme, reduzindo sua capacitância e resistência. O método proposto mostrou-se muito eficiente em reduzir a intensidade, duração e extensão de todos os artefatos relacionados à realização conjunta da EMT e do EEG. Porém, os materiais em contato com a pele necessitariam de esterilização. Assim, estudos com um maior número de eletrodos tornar-se-iam muito difíceis de tolerar pelos voluntários. (JULKUNEN et al., 2008). Até mesmo a convencional preparação da epiderme com abrasivos deixa a pele vulnerável. Em teoria, haveria também a necessidade de esterilização dos eletrodos e cabos, pois tais componentes entrariam em contato com pele não íntegra, sujeitando os indivíduos a enfermidades transmitidas por vírus e príons.

A dispensa no processo de abrasão da pele, para a realização de registros neurofisiológicos requer tolerar impedâncias maiores que o limite teórico de 5000 Ω . Já existem sistemas desenvolvidos para a aquisição de sinais neuronais no couro cabeludo, com a pele íntegra. Tais sistemas utilizam eletrodos envoltos em uma esponja embebida de solução salina. Cada eletrodo é montado em uma touca ajustável ao crânio. A estrutura de fixação dos eletrodos na touca permite um espaçamento homogêneo e uma pressão semelhante sobre o couro cabeludo. Os eletrodos também são distribuídos para que cubram a face e as partes baixas do crânio, amostrando de maneira mais simétrica as fontes geradoras dos fenômenos eletromagnéticos encefálicos, em densidades de até 256 eletrodos, como o sistema utilizado nesta Tese. Mantendo-se as esponjas hidratadas com solução salina, é possível manter impedâncias do contato dos eletrodos com a pele abaixo entre 10000 e 40000 Ω (TUCKER, 1993).

Eletroencefalógrafos para realizar os registros com as impedâncias do contato eletrodo com a pele como estas necessitam de amplificadores apropriadamente construídos. Sistemas recentes, cujos amplificadores possuem elevada impedância de entrada (aproximadamente 200000 Ω), são capazes de eficazmente realizar registros com aproximadamente 40000 Ω de impedância dos eletrodos em contato com a pele e

discrepâncias de até 40000 Ω entre elas. Por meio da injeção de uma corrente conhecida em um dos eletrodos e registro da mesma pelos outros, foi possível detectar erros de aquisição menores que 0,1%. Toda esta precisão foi obtida com alta resolução de eletrodos (256), sem desconfortos e sequer dor para os indivíduos (FERREE; TUCKER, 1999; FERREE et al., 2001; LANTZ et al., 2003).

3.4.2.4 Pós-processamento

O sinal do EEG, registrado durante EMT também pode ser encarado como um modelo de entrada e saída com ruído correlacionado, de um sistema linear invariante no tempo (BENDAT; PIERSOL, 2010b). As dificuldades encontradas com os diversos artefatos gerados diretamente e indiretamente pela EMT podem ser contornadas por técnicas de processamento de sinais. Após o processo de aquisição (“off-line”) dos registros, os sinais do EEG podem receber tratamentos matemáticos. Se não for possível identificar e remover os sinais indesejáveis, é importante pelo menos reduzir sua contribuição. Dos diversos métodos de processamento de sinais para a remoção de artefatos, as chamadas técnicas de Separação de Fontes por combinação linear recebem maior aceitação entre a comunidade científica. Tais métodos baseiam-se na premissa de que o sinal eletromagnético é uma mistura de diversas fontes. Destacam-se a Análise de Componentes Principais e Análise de Componentes Independentes.

A Análise de Componentes Principais de um conjunto de n variáveis com média zero permite reduzir a dimensionalidade de um conjunto de variáveis, ao se restringir menos componentes retidas para análise do que de dados registrados. Este conjunto é composto por muitas variáveis relacionadas entre si. Para o seu cálculo, inicialmente, extrai-se a matriz de covariância das variáveis originais. Multiplicando-se as variáveis originais por uma matriz formada pelas coordenadas dos autovetores daquela matriz de covariância, cria-se um conjunto novo de variáveis não correlacionadas entre si. Ordenando-se as componentes pelas de maior variância, é possível identificar as que melhor explicam o sinal. Removendo tais componentes de maior variância antes de reconstruir o sinal, é possível minimizar os efeitos dos artefatos (CHAPMAN; MCCRARY, 1995; DIEN, 1998; TER BRAACK; DE JONGE; VAN PUTTEN, 2013). Com o objetivo de remover os artefatos por piscamento palpebral do sinal do EEG através de Análise de Componentes Principais (vide a seção 3.4.2.4 Pós-processamento), foi desenvolvido outro método de Separação de

Fontes, em que os artefatos são removidos por meio da computação de um operador linear inverso (BERG; SCHERG, 1994; LITVAK et al., 2007).

Utilizando a de Análise de Componentes Principais, um grupo de pesquisadores conseguiu a visualização das respostas do sinal do EEG nas primeiras dezenas de milissegundos logo após os estímulos magnéticos, que eram completamente obliteradas pelo artefato de estímulo (MÄKI; ILMONIEMI, 2011; TER BRAACK; DE JONGE; VAN PUTTEN, 2013).

Assim como a Análise de Componentes Principais, a Análise de Componentes Independentes baseia-se na premissa de que o EEG registrado no escalpo é uma mistura de diversas fontes, no caso, independentes. Uma de suas diferenças é extrair das variáveis originais não somente a matriz de covariância, mas usar outras estatísticas de ordem maior. (MAKEIG et al., 1997; THUT et al., 2005; MORBIDI et al., 2007; LITVAK et al., 2007; KORHONEN et al., 2011; MÄKI; ILMONIEMI, 2011; PETERS et al., 2013; TER BRAACK; DE JONGE; VAN PUTTEN, 2013; METSOMAA; SARVAS; ILMONIEMI, 2014; ROGASCH et al., 2014).

Outra técnica de Separação de Fontes utilizada, a da Análise de Componentes Independentes (vide a seção 3.4.2.4 Pós-processamento), permitiu a separação dos componentes com elevada variância gerados pelos artefatos. Um estudo descritivo realizado em quatro voluntários mediu a propagação da atividade elétrica gerada pelo estímulo magnético em quatro pontos diferentes do crânio. Por meio da distribuição do cálculo da densidade de corrente foi possível descrever em detalhes o formato de onda do artefato de estímulo. Com base em análise de componentes independentes, foi possível a remoção completa do artefato de estímulo (IWAHASHI et al., 2008).

Um estudo desenvolveu uma melhoria em um dos algoritmos da Análise de Componentes Independentes, que foi chamada de “aumento da deflação”. Este desenvolvimento foi aplicado ao registro eletroencefalográfico de três voluntários normais. Então, foi possível obter resultados mais automatizados e com desempenhos superiores aos do algoritmo original da Análise de Componentes Independentes (KORHONEN et al., 2011).

Os avanços em equipamentos dedicados ao registro simultâneo das respostas encefálicas à EMT foram crescentes, mas, com o desenvolvimento das técnicas de processamento dos sinais, foi possível coletar informações relevantes mesmo em sistemas não desenvolvidos especificamente para este fim. Para citar um exemplo, tem-se o estudo feito em pacientes com esquizofrenia que, por meio da remoção dos

artefatos por análise de componentes independentes, foi capaz de replicar achados observados com equipamentos dedicados (LEVIT-BINNUN et al., 2010).

A técnica de “Wavelets” decompõe o sinal, representando-o em eventos transitórios de curta duração, escalonados nos domínios do tempo e da frequência. É uma ferramenta para a representação simultânea do sinal nos domínios do tempo e da frequência. É indicada para sinais não estacionários e transitórios, como no caso dos Potenciais Relacionados a Eventos. Por meio da aplicação de Wavelets do tipo Daubechies de 4ª ordem, foi possível a identificação e redução de ruídos e artefatos por inspeção visual nos sinais dos EEGs registrados em 16 voluntários normais (CHRAPKA; DE BRUIN; HASEY, 2012).

Para resumir, as técnicas de processamento de sinais vêm progredindo no tratamento da grande quantidade de artefatos, que comprometem as respostas eletroencefalográficas obtidas pela EMT. Entretanto, depois de satisfeitos os requerimentos técnicos, a solução mais eficiente para evitar o artefato pelo estímulo magnético continua sendo, simplesmente, o recorte do trecho comprometido, assumindo conseqüentemente alguma perda de informação.

3.4.3 O Eletroencefalograma durante a Estimulação Magnética Transcraniana

As primeiras respostas eletroencefalográficas obtidas sob o efeito da EMT necessitavam aguardar até 10 s após cada estímulo, até que o amplificador dessaturasse e ficasse pronto para o próximo. Muita informação era perdida neste período, o que pôde explicar o motivo de a primeira publicação não ter observado alterações significativas no sinal eletroencefalográfico (BRIDGERS; DELANEY, 1989).

Num dos estudos pioneiros que registraram o EEG durante a EMT, os autores recorreram a um artifício para evitar a saturação do amplificador pelo pulso do estímulo: foi criado um circuito que bloqueava a entrada do amplificador durante os primeiros 150 ms após o estímulo. Foram detectadas respostas eletroencefalográficas complexas à análise visual, com ondas agudas sobrepostas a oscilações de 5 a 7 ciclos/ segundo (IZUMI et al., 1997).

O primeiro eletroencefalógrafo compatível com estimulação magnética com alta resolução de canais registrou as respostas com 48 sensores (THUT et al., 2005; IVES et al., 2006).

A primeira descrição no domínio do tempo das respostas do EEG à EMT foi feita em um estudo para investigar também a conectividade entre as áreas cerebrais, provocada pela ativação neuronal forçada pelo estímulo. A identificação e denominação dada aos componentes dos Potenciais Evocados obtidos por EMT continuam sendo utilizadas até o momento atual, servindo de referência para outros estudiosos do assunto. São eles N7, P13, N18, P30, N44, P60, N100 P190 e N280 (KOMSSI; KÄHKÖNEN, 2006; FERRERI et al., 2011; FERRERI, 2015).

Pesquisadores nem tão pioneiros, sem equipamento compatível para o registro do EEG durante a EMT, optaram por aguardar 60 s antes de iniciar o registro das respostas. A estimulação usada foi repetitiva e de alta frequência (10 ciclos/ segundo). Foi observado um aumento global da coerência em todos os sensores, nas frequências de 0,5 a 40 Hz. Apesar das limitações, foi possível aplicar uma função de coerência direcionada, diferentemente de todas as publicações até aquele momento. Dentre os achados, houve o aumento da coerência naquelas frequências, especificamente nos sensores mais afetados pela estimulação. Com relação à coerência direcionada, foi encontrada uma propagação da atividade evocada, inicialmente para os sensores regionalmente próximos e depois para os contralaterais (JING; TAKIGAWA, 2000).

Usando estímulos magnéticos únicos, uma metodologia semelhante à da presente Tese, um grupo de pesquisadores encontrou modificações nas oscilações nas áreas estimuladas. No caso do estudo, a área primária da mão. Esta modificação nas oscilações reflete um aumento da sincronização entre a região diretamente ativada e outras anatomicamente interligadas. Especificamente, houve um aumento no espectro das frequências até 7 Hz e redução no espectro de potência das frequências entre 8 e 20 Hz (FUGGETTA; FIASCHI; MANGANOTTI, 2005).

Não somente a aplicação de estímulos únicos foi capaz de aumentar a potência do espectro das frequências. Usando estímulos repetitivos com frequência de 1 Hz durante 10 min, outros pesquisadores foram capazes de aumentar a potência do espectro das frequências de 8 a 20 Hz. O efeito ocorreu principalmente sobre o hemisfério estimulado e foi proporcional à duração da estimulação em minutos, sugerindo um aumento da sincronização na atividade elétrica neuronal (BRIGNANI et al., 2008). Um resultado semelhante foi obtido utilizando frequências de estimulação de 20 Hz, principalmente nas regiões centrais (local de estimulação) e parietais bilateralmente (VENIERO et al., 2011).

Qualquer resposta biológica recém-descrita necessita da determinação de sua reprodutibilidade, para que os dados possam ser interpretados nas comparações entre os vários estudos. Este parâmetro foi medido nas respostas eletroencefalográficas durante a EMT por meio de um coeficiente de correlação. Foi encontrado um valor médio de 0,8 (LIOUMIS et al., 2009). Um grupo de pesquisadores foi mais além e variou parâmetros de estimulação como localização, intensidade e ângulo da bobina, em repetições realizadas no mesmo dia e uma semana após, avaliando sensibilidade e reprodutibilidade. Foi possível calcular uma curva do tipo "Receiver Operator" e obter valores de sensibilidade de 95,1% e especificidade de 100% nos valores das respostas. A reprodutibilidade foi medida também através de um índice de divergência. O mesmo atingiu valores bem baixos, de 0,28% para um máximo de 1,0% (CASAROTTO et al., 2010). O mesmo grupo de pesquisadores comparou as respostas eletroencefalográficas durante a EMT em diferentes faixas etárias, incluindo idosos (idade média de 72 anos) saudáveis e com doença de Alzheimer. A normalização da projeção do campo elétrico no córtex foi feita por um sistema de localização. Entre os resultados, foi possível concluir que as respostas não são afetadas por supostas modificações anatômicas encefálicas pelo envelhecimento, mas sim por doenças neurológicas como a demência de Alzheimer, que foi incluída no estudo (CASAROTTO et al., 2011).

Atualmente, os equipamentos eletroencefalográficos mais sofisticados já conseguem obter sinais de qualidade não somente durante a estimulação magnética. Já é possível realizar registros simultaneamente durante Ressonância Magnética funcional. Este método também impõe diversos desafios à realização conjunta com o EEG. Tais desafios ocorrem devido aos diversos artefatos e pelo aquecimento, induzidos por ação eletromagnética. O registro simultâneo triplo fornece um acréscimo de informação obtido pela alta resolução espacial da Ressonância Magnética, com a alta resolução temporal e avaliação de conectividade do EEG, associadas à intervenção ativadora ou inibidora da estimulação. A principal vantagem é poder estudar um fenômeno neuronal com ferramentas poderosas e complementares (PETERS et al., 2013). Após o registro simultâneo do EEG com a Ressonância Magnética, surgiu a possibilidade de se estudar a conectividade cerebral quando um estímulo magnético é aplicado ao crânio, interferindo com as atividades em curso. Quando aplicada sobre a área motora da mão, a EMT produz respostas registráveis simultaneamente pelo EEG com a Ressonância Magnética funcional. Tais atividades propagaram-se localmente e para o lado contralateral. Já sobre a área parietal posterior, ocorreu apenas uma propagação regional restrita. Esta informação mostrou a importância para a fisiologia das vias motoras e das demais, das redes neuronais que incluem os dois hemisférios cerebrais, evidenciando uma característica diferente dependente da área estimulada (IWAHASHI et al., 2008)

Um estudo teórico criou um modelo de funcionamento cortical incluindo funções de conectividade, obtidas por simulações de respostas elétricas a estímulos magnéticos. Os dados das simulações foram comparados com o resultado de sinais eletroencefalográficos reais obtidos durante estímulos magnéticos em sujeitos normais. O modelo foi capaz de reproduzir os resultados e, conseqüentemente, aprimorar o modelo, para que possa ser útil em futuros estudos em que haja limitações do uso em humanos, como previsões do efeito de drogas que atuam no sistema nervoso central (CONA et al., 2011).

Como foi dito anteriormente, as respostas musculares à EMT apresentam-se na forma excitatória (contrações musculares) e inibitória (interrupções de contrações). A amplitude das respostas musculares da mão é positivamente dependente da modulação do espectro das frequências obtidas pelas respostas corticais captadas no mesmo eletrodo de estimulação, na área motora da mão contralateral. Outro fator que aumentou a amplitude das respostas musculares foi o incremento do patamar de

excitabilidade cortical pela EMT, quando obtido simultaneamente por Estimulação Elétrica Transcraniana por Corrente Contínua (SCHUTTER; HORTENSIUS, 2011).

Já sobre a relação entre as respostas eletroencefalográficas e musculares analisadas no domínio da frequência, foi encontrado um aumento do valor da coerência das frequências em torno de 30 Hz, provocado pela EMT. Este incremento foi proporcional ao aumento da amplitude das respostas musculares, indicando uma relação próxima e sincronizada das vias motoras quando recrutadas pela ativação causada pelo estímulo magnético (KEIL et al., 2014).

Foi encontrada uma correspondência entre respostas eletroencefalográficas e respostas musculares inibitórias. Houve uma redução de amplitude das respostas eletroencefalográficas acompanhando a inibição das respostas musculares (FITZGERALD et al., 2008). Já no domínio da frequência, houve um aumento da potência espectral de 1 a 50 Hz, principalmente no córtex premotor e motor (GARCIA DOMINGUEZ et al., 2014).

Para estudar a fisiologia de outro fenômeno inibitório muscular devido à EMT, pesquisadores estimularam a área motora da mão e captaram o Período Inibitório muscular contralateral. Eles evidenciaram um aumento da potência espectral das frequências de 0,5 a 30 Hz, preferencialmente nos eletrodos próximos da estimulação, durante o Período Inibitório. Isto evidencia que, pelo menos o componente cortical do Período Inibitório possui um mecanismo ativo da sua respectiva rede neuronal (FARZAN et al., 2013).

Apesar de estudiosos dos efeitos da EMT terem, inicialmente, descrito seus mecanismos de ação como sendo uma interrupção intensa e momentânea da atividade neuronal, o contrário já foi provado: o estímulo magnético provoca, em diferentes regiões cerebrais (visual, motora, central), aumentos específicos da sincronização nas frequências, correspondendo às assinaturas específicas de cada local ativado (PASCUAL-LEONE; WALSH; ROTHWELL, 2000; GARCIA; GROSSMAN; SRINIVASAN, 2011).

As aplicações da combinação das técnicas eletroencefalográficas com EMT cobrem o estudo da conectividade entre as diferentes áreas corticais (ILMONIEMI et al., 1997; TAYLOR; WALSH; EIMER, 2008; GROPPA et al., 2013), a psicofisiologia do córtex sensoriomotor (BABILONI et al., 2014; SPIESER; MEZIANE; BONNARD, 2010), a fisiologia do sono e do processo de consciência (MASSIMINI et al., 2005; MASSIMINI; TONONI; HUBER, 2009; BALDUZZI, 2011.; BERGMANN et al., 2012;

MASSIMINI et al., 2012), a fisiologia dos fenômenos inibitórios à EMT (FARZAN et al., 2013; GARCIA DOMINGUEZ et al., 2014), até o estudo das enfermidades neurológicas e psiquiátricas (FERRARELLI et al., 2008).

Levando em conta todas as evidências citadas até então, pode-se resumir que, as respostas eletroencefalográficas durante a EMT analisadas no domínio do tempo apresentam os seguintes componentes: N7, P13, N18, P30, N44, P60, N100 P190 e N280. Por vezes, os componentes iniciais são ocultados pelo artefato de estímulo. Analisando-se as respostas no domínio da frequência, há variação entre as publicações. Foram descritos um aumento da potência do espectro das frequências e um aumento da coerência, distribuídos entre 0,5 a 50 Hz. Também pôde ser encontrado um aumento da coerência corticomuscular, aproximadamente na frequência de 30 Hz. Tais frequências sugerem uma assinatura eletroencefalográfica do córtex motor, caracteristicamente evocada quando o mesmo é ativado pelo estímulo magnético. Não há até o momento publicações sobre o uso do TFE na detecção de respostas no EEG, sob EMT.

Como método recente e ainda em desenvolvimento, as informações sobre os mecanismos do registro simultâneo do EEG com o da EMT são extraídas de estudos muitas vezes realizados com outros objetivos como, por exemplo, em psiquiatria. Ainda há obstáculos técnicos para serem superados, abrindo espaço para o aprimoramento de técnicas atuais e o surgimento de novas.

As evidências acumuladas até o momento mostraram grandes avanços nos métodos não invasivos como o EEG, de estudo dos geradores eletromagnéticos neuronais. Mesmo com as limitações da captação do campo elétrico no couro cabeludo, os registros do EEG (atividade elétrica) e do Magnetoencefalograma (atividade magnética) continuam sendo as únicas medidas da atividade elétrica neuronal em tempo real, com resolução na escala de milissegundos, que podem ser realizadas de forma não invasiva em seres humanos.

Retomando os objetivos desta Tese, a relação entre os pulsos gerados pela EMT e EEG por meio do TFE poderia identificar a dinâmica das atividades corticais relacionadas à EMT.

4 METODOLOGIA DA PESQUISA

4.1 Materiais e Métodos

4.1.1 Desenho

Trata-se de um estudo experimental controlado que registrou, em voluntários normais, o sinal EEG obtido durante a EMT.

Os sujeitos foram submetidos ao Inventário de Dominância Manual de Edinburgh (OLDFIELD, 1971). Somente foram selecionados a participar do estudo aqueles voluntários que conseguiram um índice de lateralidade para o uso da mão direita com valor superior a 85 (COHEN, 2006). O motivo da verificação do grau de dominância manual foi para que somente indivíduos destros fossem selecionados, uma vez que a ambidestrezza é comum em indivíduos canhotos. Canhotos ou ambidestros foram excluídos, pois foi mostrado que a representação cortical dos músculos das mãos dos canhotos, obtida pela EMT, é diferente da dos indivíduos destros (BÄUMER et al., 2007; DAVIDSON; TREMBLAY, 2013; DE GENNARO et al., 2004; PRIORI et al., 1999; REID; SERRIEN, 2012; TRIGGS; SUBRAMANIAM; ROSSI, 1999; VAN DEN BERG; SWINNEN; WENDEROTH, 2011; VOLKMANN et al., 1998).

4.1.1.1 Critérios de exclusão

Os voluntários responderam a um questionário (Anexos: Questionário aos voluntários) e foram submetidos a um exame médico direcionado, para detectar condições médicas que pudessem alterar as respostas de interesse. Como exemplo de tais condições, a presença de sinais, sintomas ou enfermidades neurológicas e também o uso de substâncias psicoativas. Também foram considerados como impedimentos para a realização de EMT implantes, marca-passos e metais no crânio (Anexo I).

4.1.1.2 População

O estudo foi realizado na unidade Rio de Janeiro da Rede SARAHA de Hospitais para a Reabilitação (“Rede SARAHA”, 1991). Em busca de uma população sadia, os seus funcionários foram abordados para participar do estudo.

Os sujeitos foram esclarecidos quanto aos objetivos do estudo e quanto aos procedimentos da EMT e do EEG. Os indivíduos que concordaram em participar forneceram seu consentimento por escrito.

O Termo de Consentimento Livre Esclarecido que os voluntários assinaram (Anexo 2) já foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da instituição. Somente após os sujeitos terem expressado seu consentimento por escrito é que foram submetidos às sessões de EMT do córtex motor.

Depois de todo o processo de seleção, a população final de voluntários foi composta de indivíduos normais adultos e destros, de ambos os sexos e que não apresentaram positividade nos itens do questionário nem nos do exame médico.

Os indivíduos selecionados foram, então, encaminhados às sessões de EMT, durante as quais foram registrados, simultaneamente, os EEG.

4.1.2 Equipamentos e programas

4.1.2.1 Estimulador magnético

O estimulador magnético utilizado foi o modelo MagPro® X100 (MagVenture® A/S). Ele foi ajustado para fornecer pulsos bifásicos com 280 μ s de duração, por meio de uma bobina em “figura de oito”, modelo MC-B70 (MagVenture® A/S) com 100 mm diâmetro em cada metade do oito, (“MagPro X100 With Option, Technical Data”, 2007; MAGVENTURE, 2007).

O aparelho está registrado na Agência Nacional de Vigilância Sanitária com o número 10339190271 (“ANVISA Consulta de Produto”, [s.d.]).

4.1.2.2 Eletroencefalograma

O registro das respostas encefálicas à EMT foi realizado em um eletroencefalógrafo digital com 257 canais (Geodesic Inc.), com um amplificador (Net Amps 300) com as seguintes características:

- taxa de amostragem de 20000 Hz;
- filtro analógico do tipo elíptico de 6000 Hz (“antialiasing”);
- banda passante de 0,1 a 500 Hz;
- resolução vertical de 24 bits;
- impedância de entrada de 200 M Ω ;
- taxa de rejeição em modo comum de 90 dB;
- taxa de rejeição em resposta de imagem de 120 dB.

Por limitações do fabricante, os sinais são posteriormente decimados a 1000 amostras por segundo (FERREE; TUCKER, 1999; “GES Hardware Technical Manual”, 2006).

Os 257 eletrodos utilizados são em formato de pastilha, com três mm de diâmetro e três mm de altura, compostos de fibra de carbono, revestida de AgCl. Os eletrodos ficam pré-montados em uma touca ajustável, composta de silicone (TUCKER, 1993; “Geodesic Sensor Net Technical Manual”, 2006). O eletrodo de

referência utilizado corresponde ao Cz do Sistema Internacional de Posicionamento de Eletrodos 10/20 (JASPER, 1957).

Na etapa de posicionamento das toucas de eletrodos, as mesmas foram postas e ajustadas ao crânio de cada um dos indivíduos. O perímetro cefálico e pontos como o nasion, inion, vertex e as regiões pré-auriculares foram utilizados como marcos anatômicos para um posicionamento comum das toucas, podendo ser comparado entre os indivíduos.

4.1.2.3 Comunicação por Pulsos Digitais

Para a sincronização entre o estimulador magnético e o registro eletroencefalográfico, foi construído um circuito, permitindo a comunicação por pulsos digitais. O acionamento manual pelo examinador de um botão disparava pulsos simultaneamente para os dois aparelhos, gerando no registro do sinal um evento com uma marca de tempo. Cada pulso digital possuía a tensão de + 5 V e a duração de 25 μ s.

Os momentos do acionamento manual do botão sincronizador foram indicados para o examinador por meio de uma apresentação de slides, em um segundo monitor. O intervalo entre os pulsos foi propositalmente impreciso, de aproximadamente 10 s, para fornecer certa aleatoriedade aos estímulos recebidos pelos sujeitos.

A intenção de tal aleatoriedade do intervalo entre os estímulos foi evitar a geração de respostas encefálicas pelo efeito de antecipação (LOPES DA SILVA, 2011).

As respostas do eletroencefalógrafo foram, em seguida, exportadas para o software MATLAB® versão 8.4.0.150421, R2014b (MathWorks) para a leitura, processamento e análise dos sinais do EEG.

4.1.3 Aplicativos

Devido ao tamanho dos arquivos das várias linhas de comando, as rotinas do MATLAB® encontram-se à disposição em arquivo anexo.

4.1.4 Condução dos experimentos

Os procedimentos foram realizados em uma sala com iluminação reduzida e que possui temperatura controlada entre 24 e 26°C.

Posicionamento dos indivíduos

Os indivíduos se deitaram em decúbito dorsal sobre uma cama-maca ajustável em uma posição reclinada confortável. O corpo foi coberto para manter os membros aquecidos. A inclinação da cama-maca foi ajustada para melhorar o conforto dos indivíduos. Os sujeitos foram orientados a manter os olhos fechados de forma passiva e relaxada, para evitar o fenômeno de Facilitação e reduzir artefatos de contração desta musculatura (figura 4.1).



Figura 4.1. Sistema de estimulação, sistema de aquisição e posicionamento dos sujeitos.

4.1.4.1 Posicionamento da bobina

A bobina foi posicionada tangencialmente ao couro cabeludo, com uma rotação lateral de 45° em relação ao plano sagital, pois já foi demonstrado ser o posicionamento com melhor ativação da área primária da mão, equivalente ao canal 59, que é o mesmo C3 do sistema internacional 10-20 (FIGURA 4.2). A localização da área no córtex motor representativa da mão foi feita baseada na magnitude ótima da

resposta excitatória, de acordo com a forma aceita na literatura (CHEN et al., 2008; HALLETT, 2007; HESS; MILLS; MURRAY, 1987; FILEVICH; KÜHN; HAGGARD, 2012). As respostas eletroencefalográficas foram captadas mantendo-se fixa a localização da bobina sobre o córtex motor por meio de um suporte regulável nos três eixos do espaço.

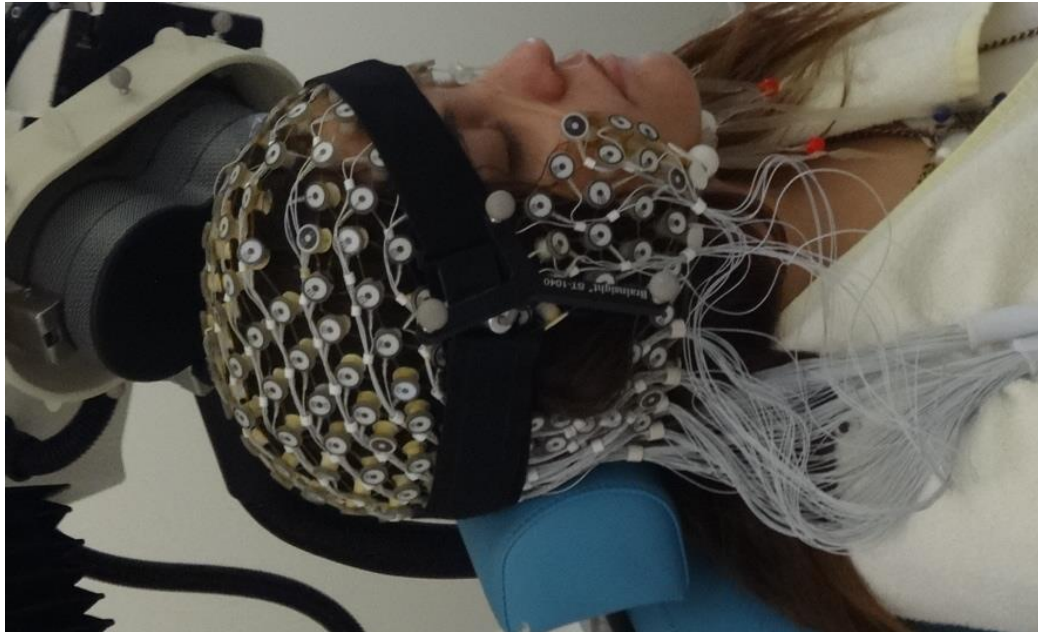


Figura 4.2. Posicionamento da bobina sobre o canal 59, equivalente ao C3 do sistema 10-20.

4.1.4.2 Intensidade dos estímulos magnéticos

Devido à distância entre a bobina e o crânio de 0,5 cm, provocada pela touca de eletrodos, todos os voluntários receberam pulsos magnéticos com 100% da saída do estimulador (figura 4.3).

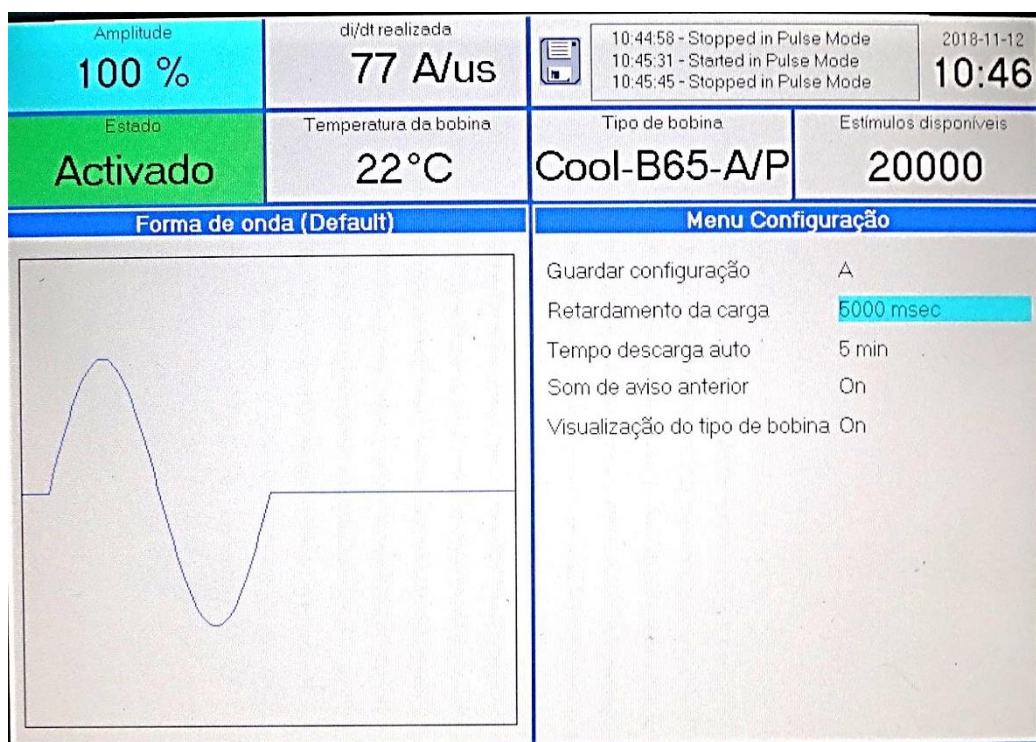


Figura 4.3. Configurações dos estímulos magnéticos.

4.1.4.3 Respostas eletroencefalográficas indesejadas

Para minimizar a geração de respostas evocadas auditivas pelo clique da bobina, que pudessem interferir na análise das respostas de interesse, os indivíduos usaram plugues de orelha para abafar o ruído provocado pela estimulação magnética. (DHAMNE et al., 2014). Este método mostrou-se eficaz quando comparado com outros sete diferentes, incluindo o mascaramento com ruído (TER BRAACK; DE VOS; VAN PUTTEN, 2015).

4.1.4.4 Sessões

Um sistema de localização por navegação não era disponível. Portanto, para reduzir a variabilidade interexaminador na localização das áreas alvo nos indivíduos, todas as sessões de EMT foram realizadas pelo mesmo experimentador (LIOUMIS et al., 2009; CASAROTTO et al., 2010).

4.1.4.5 Estimulações em modelos não humanos

Para a caracterização dos artefatos de estímulo obtidos pela estimulação magnética sem o registro de atividade encefálica, foram aplicados estímulos magnéticos em modelos de crânio. Seus sinais foram registrados com o mesmo sistema de eletroencefalografia. Dois modelos foram utilizados. No primeiro, a touca de eletrodos foi imersa em um balde com a mesma solução de *KCl* (0,2%) utilizada para os registros do EEG. O centro da bobina foi posicionado e alinhado com o eletrodo de número 59, correspondente nos voluntários ao ponto motor das respostas excitatórias. No segundo, foram aplicados estímulos com a touca de eletrodos aplicada em um melão (*Cucumis sp.*) De maneira semelhante à utilizada nos voluntários, o centro da bobina também foi posicionado alinhado com o eletrodo 59. Pelo menos 50 estímulos foram aplicados em cada localização.

4.1.5 Processamento dos dados

Os dados foram exportados para o aplicativo MATLAB®, instalado em uma estação de trabalho Apple®, modelo iMac, com processador Intel® de 3,5 GHz e 32 Gigabytes de memória RAM.

4.1.5.1 Inspeção visual e remoção de artefatos

Inicialmente, as respostas obtidas foram analisadas visualmente pelo autor para a exclusão de trechos contaminados por artefatos como, por exemplo, movimento, contração muscular ou outras interferências não desejadas. Ao final, trinta foi o número mínimo de épocas comum a todos os indivíduos e utilizado para análise.

4.1.5.2 Segmentação em épocas

Em seguida, as respostas eletroencefalográficas foram segmentadas em épocas, utilizando-se o evento gerado do estímulo por pulsos digitais como marco zero comum a ambas as respostas. Após os sinais serem visualmente conferidos, observou-se uma imprecisão aleatória entre o pulso gerado pelo botão de acionamento dos pulsos digitais e o momento real do artefato de estímulo registrado no eletroencefalógrafo. Após tal constatação, todos os estímulos foram revistos. Eles receberam pelo examinador correção manual do evento correspondente ao tempo zero em cada época.

Para a segmentação, o sinal original de cada voluntário foi dividido em janelas de 4000 pontos (4 s) antes e 4000 pontos depois de cada estímulo magnético, considerado como tempo zero o marco gerado pelo evento gerado pelo circuito por pulsos digitais e corrigido manualmente.

Para o tratamento do artefato de estímulo, foi efetuado o recorte do trecho contaminado. Como a média da duração do artefato foi de 37 ms, em cada época, os valores correspondentes ao artefato de estímulo foram substituídos interpolando-se cubicamente um trecho de 10 ms antes do tempo zero e 50 ms após. Esta estratégia foi exatamente a utilizada por outro grupo de autores, que foi publicado enquanto a coleta de dados ocorria, dando respaldo à decisão (FARZAN et al., 2013). Devido à grande contaminação dos sinais pelo artefato de estímulo, os valores correspondentes

ao artefato de estímulo também foram substituídos interpolando-se cubicamente um trecho maior, de 50 ms antes do tempo zero e 100 ms após.

O programa MATLAB® foi, então, empregado para posterior análise.

4.1.5.3 Análise dos dados no domínio do tempo

4.1.5.3.1 Promediação

Foi assumido que o sinal $s(k)$ é o mesmo (determinístico) ao longo de todas as repetições (N). Também foi assumido que o ruído $r(k)$ é aleatório, de o Valor Esperado = zero. Assim, quando o número de repetições tender ao infinito, o Valor Esperado do sinal tende ao valor medido.

4.1.5.3.2 Potenciais Evocados

Os valores de amplitude dos Potenciais Evocados à Estimulação Magnética foram expressos em uma medida não dependente da escolha do eletrodo de referência. Trata-se do “Global Mean Field Amplitude”, sem tradução na língua portuguesa, que informa a máxima amplitude por eletrodo, sendo a raiz quadrada da média das diferenças de tensão ao quadrado, de todos os eletrodos (LEHMANN; SKRANDIES, 1980; BRANDEIS; LEHMANN, 1986). Para o seu cálculo, foi usada a equação 15 abaixo.

$$\text{“Global Mean Field Amplitude”} = \sqrt{\frac{\sum_i^E (T_i(t) - T_{média}(t))^2}{E}} \quad (15)$$

Na equação, T_i representa a tensão em um determinado eletrodo, $T_{média}$ a soma da tensão de todos os eletrodos, e E o número de eletrodos.

4.1.5.4 Análise dos dados no domínio da frequência

4.1.5.4.1 Transformada de Fourier

Para a análise das frequências dos sinais, foi realizada a Transformada de Fourier no tempo discreto. Para efetuar o seu cálculo, retorna-se à equação 9.

Foi utilizada a função de janela retangular (boxcar), vista na equação 16 a seguir;

$$\omega(t) = \begin{cases} 1 & |t| \leq M \\ 0 & \text{ou} \end{cases} \quad (16)$$

4.1.5.4.2 Densidade de Potência Espectral

Esta foi estimada pelo periodograma e seu cálculo seguiu a equação 10.

A duração das janelas utilizadas inicialmente foi de 1000 e 4000 pontos. Para evitar a possível ocorrência de "aliasing" durante a amostragem, a duração das janelas apresentou os valores de 1024 e 4096 pontos respectivamente.

4.1.5.4.3 Teste F Espectral

Esta técnica foi calculada como uma razão entre a energia do sinal depois da estimulação sobre a energia do sinal antes da estimulação. Seu cálculo foi baseado na equação 13.

Com a premissa de estacionariedade da atividade de fundo do sinal do EEG, os índices de Dessincronização/ Sincronização foram uma função vista na equação 14.

Foi considerada hipótese nula H_0 não haver aumento de energia do sinal do EEG após cada pulso de EMT. O nível de significância para a rejeição da hipótese nula foi definido em 0,05, em teste monocaudal. Deste modo, a hipótese alternativa refletiria um aumento significativo da energia do sinal (numerador da fração) após o

estímulo, em relação ao sinal antes do mesmo (denominador da fração da equação 13)

O valor de $\hat{\phi}_{xy}(f)$, quando maior que o valor crítico superior da distribuição F , gerou histogramas para cada tamanho de janela, de acordo com a equação 17, onde α é o nível de significância.

$$\hat{\phi}_{xy \text{ CRÍTICO}} = F_{2Mx, 2My, \alpha} \quad (17)$$

Como o procedimento do teste foi realizado a cada um dos estímulos magnéticos, foi realizada uma correção de Bonferroni para evitar falsas detecções pelos múltiplos testes. Para a correção, $\alpha = 1 - \left(\frac{0,05}{N}\right)$, onde N é o número de estímulos. O número realizado em cada indivíduo foi de 50. Porém, como alguns indivíduos necessitaram do descarte de alguns trechos irrecuperavelmente contaminados por artefatos, 30 foi o número inteiro mínimo comum entre todos os sujeitos.

Para reduzir a variabilidade do sinal entre as janelas, foi realizada uma promediação das janelas antes e depois do estímulo. Seus valores foram, então, calculados em um único teste, para cada indivíduo.

Histogramas com as a probabilidades de detecção de mudanças na energia foram calculados em toda a banda passante (0,1 a 500 Hz), porém, para exibição, as ocorridas na banda de frequências de 1 a 70 Hz, como na figura 4.4.

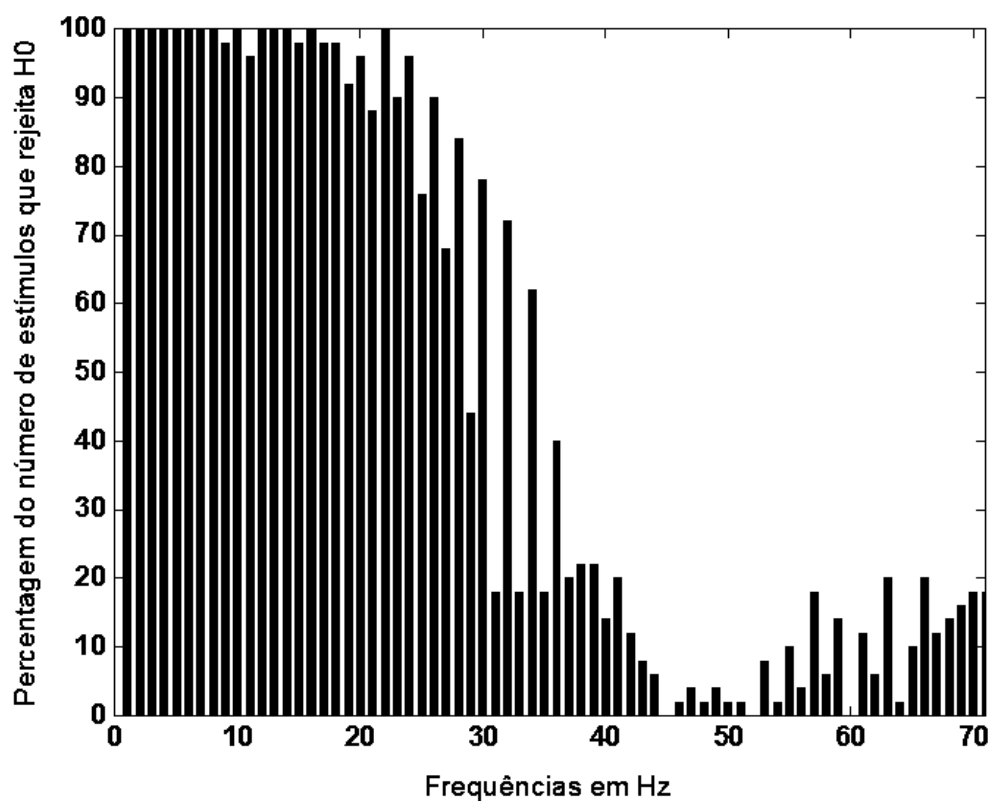


Figura 4.4. Teste F Espectral no grupo de sujeitos. Histograma com as porcentagens por frequência para a qual a H_0 foi rejeitada (de que a estimulação não altera o espectro do sinal).

4.1.6 Questões éticas

A realização do estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética e pelo Comitê Científico da Rede SARAHA de Hospitais de Reabilitação. O estudo encontra-se registrado na Plataforma Brasil, do Ministério da Saúde, estando disponível para consulta sob o número de 02673512.0.0000.0022 (“Plataforma Brasil”, [s.d.]).

5 RESULTADOS

5.1 Sujeitos

Quarenta e três indivíduos apresentaram-se como voluntários para a realização o estudo. As exclusões ocorreram durante o processo de seleção e durante inspeção visual dos sinais sem condição de análise devido aos artefatos. A tabela 5,1 identifica os motivos para a exclusão dos voluntários.

Tabela 5.1. Motivos para a exclusão dos voluntários.

Motivo*	Número
Artefatos	11
Dominância manual < 85	5
Uso de medicamentos	4
Sem respostas	1
Total	21

Após todo o processo de seleção, 11 voluntários participaram do estudo, sendo 6 do sexo masculino e 5 do sexo feminino.

A idade média foi de 44,55 anos, com desvio padrão de 6,08 anos.

A estatura média dos indivíduos foi de 167,00 cm, com desvio padrão de 9,79 cm.

5.2 Artefatos

Apesar de o equipamento do Eletroencefalógrafo ser supostamente compatível com estímulos magnéticos, grande parte do esforço para a realização do estudo foi direcionada em estratégias para reduzir os significativos artefatos relacionados ao uso simultâneo das duas técnicas. Tais estratégias foram tomadas para que as respostas obtidas tivessem representatividade dos processos cerebrais e não de respostas indesejadas.

5.2.1 O pulso magnético

O principal artefato, o do próprio estímulo magnético (Figuras 5.1 e 5.2), foi recortado durante a segmentação. A duração média deste foi de $37,0 \pm 3,0$ ms. O artefato pelo próprio estímulo magnético repercute de maneira significativa nos sinais registrados. Qualquer tentativa de filtragem transforma o pulso em uma oscilação atenuada. Esta oscilação possui elevada amplitude e uma duração de até 02 s, comprometendo ainda mais as informações do sinal (VAN DOREN; LANGGUTH; SCHECKLMANN, 2015). Tal efeito pode ser visualizado na Figura 5.3, mesmo utilizando-se filtros Butterworth de Resposta Infinita ao Impulso de 2ª ordem, de 0,3 a 70 Hz, associados a filtro “notch” de 60 Hz.

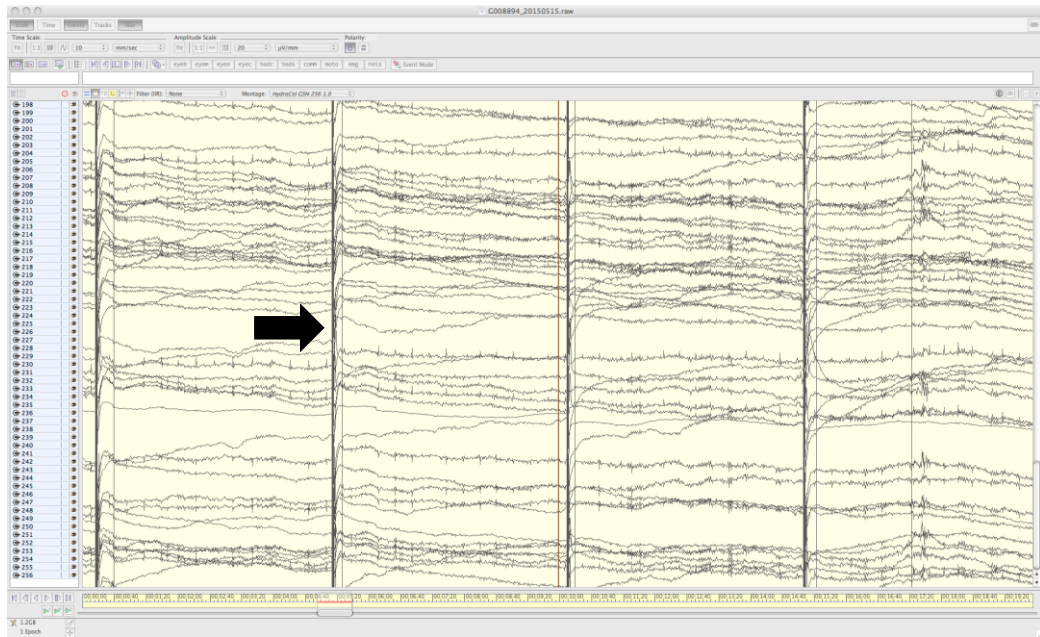


Figura 5.1. Eletroencefalograma sem filtros (D.C. a 1000 Hz), evidenciando artefatos de estímulo com amplitudes muito elevadas em relação ao sinal do EEG (seta). O intervalo entre os estímulos é de 10 segundos. Escala 20 $\mu\text{V}/\text{mm}$.

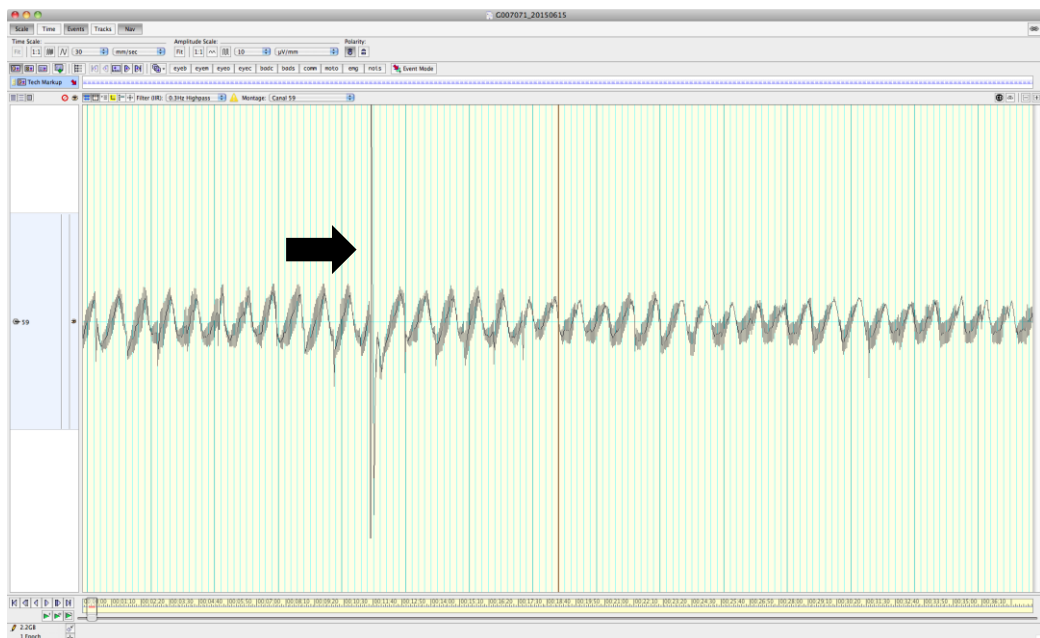


Figura 5.2. Artefato de estímulo, em destaque no canal 59. Escalas 30 mm/s e 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$.

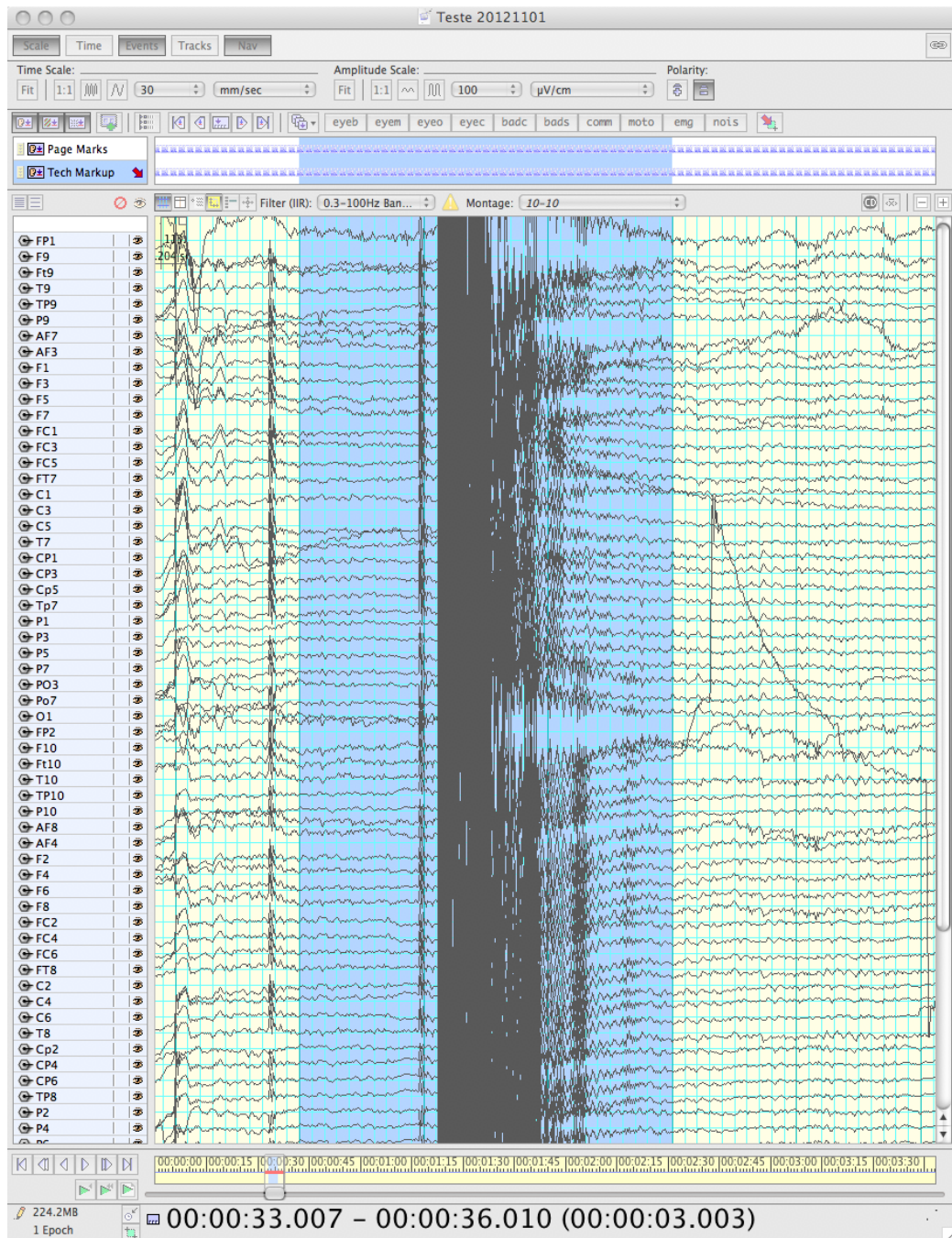


Figura 5.3. Eletroencefalograma com filtros (0,3 a 100 Hz e “notch”), causando a transformação do artefato de estímulo em uma oscilação atenuada (destaque em azul). Escalas 30 mm/s e 100 µV/mm.

Mesmo reconhecendo a perda definitiva de informação, a falta de sucesso em eliminar o artefato de estímulo fez com que alguns autores simplesmente retirassem da análise o trecho contaminado de algumas dezenas de milissegundos. Outros

pesquisadores removeram os artefatos de estímulo com técnicas de Separação de Fontes (Análise de Componentes Independentes), relatando poder analisar respostas até com menos de 15 ms (ROGASCH et al., 2014; IWAHASHI et al., 2008). Por outro lado, um grupo de autores não conseguiu o mesmo feito, mesmo após a remoção dos componentes com as três maiores variâncias do sinal. A retirada dos demais componentes implicaria uma redução significativa de informação quando da etapa de reconstrução do sinal da Análise de Componentes Independentes (TER BRAACK; DE JONGE; VAN PUTTEN, 2013).

Alguns equipamentos mais recentes do que o utilizado nesta Tese possuem amplificadores com propriedades muito mais compatíveis com os estímulos da EMT, aproveitando o sinal desde apenas 15 ms, sem qualquer processamento do sinal (ROGASCH et al., 2014). Em uma publicação anterior o mesmo autor deste sistema mais recente utilizou os mesmos equipamento e parâmetros de estimulação utilizados nesta Tese. Entre os resultados, foi encontrado um artefato de estímulo semelhante, com uma duração média até maior, de $47,2 \pm 40$ ms (ROGASCH et al., 2013.). Outros autores recortaram 30 ms do sinal (IVES et al., 2006) e outros recortaram 50 ms, assim como foi feito no presente estudo (FARZAN et al., 2013). Nesta última publicação, podem ser encontradas muitas semelhanças metodológicas com a presente Tese, incluindo o tratamento do artefato de estímulo.

A Tabela 5.2 evidencia os valores de amplitude e duração do artefato pelo estímulo magnético nos modelos de crânio utilizados. Os valores obtidos nesta Tese estão comparados com os de outras publicações, referindo-se ao causado por um único pulso bifásico, utilizando o mesmo sistema de EMT.

Tabela 5.2. Valores do artefato de estímulo em modelos de crânio no estudo (melão) e utilizados na literatura.

Autor	Duração ms	Amplitude mV
Almeida	5 ± 3	2131 ± 1522
Rogasch et al 2013	10 a 12	>200
Van Doren et al 2015	6 ± 01	?

“?” = sem informações precisas no artigo.

A Tabela 5.3 evidencia a amplitude e a duração do artefato pelo estímulo magnético em humanos. Os valores obtidos nesta Tese estão comparados com os de publicações e referem-se ao causado por um único pulso bifásico, com o mesmo sistema de EMT.

Tabela 5.3. Valores do artefato de estímulo em humanos, obtidos na literatura.

Autor	Duração ms	Amplitude mV
Medido	37±03	2131±1522
Farzan et al 2013	36±10	-
Rogasch et al 2013	47±40	-

5.2.2 Artefatos por indução eletromagnética

Como já foi citado anteriormente, o reposicionamento dos cabos dos eletrodos do eletroencefalógrafo é capaz de reduzir os artefatos do estimulador magnético (SEKIGUCHI et al., 2011). Tal rearranjo não pôde ser aplicado à touca dos 257 eletrodos utilizada no estudo, pois poderia causar dano ao material e quebra de garantia pelo fornecedor.

Durante o registro do eletroencefalógrafo dos sujeitos, do melão e da melancia, mesmo sem ter aplicado nenhum estímulo sequer, bastava aproximar a bobina da touca de eletrodos que surgiam dois tipos de artefatos complexos e sobrepostos: um de 60 Hz, com cerca de 10 μV de amplitude e outro de 2 Hz, com cerca de 100 μV de amplitude e aspecto em “dente de serra” (Figuras 5.3 e 5.4).

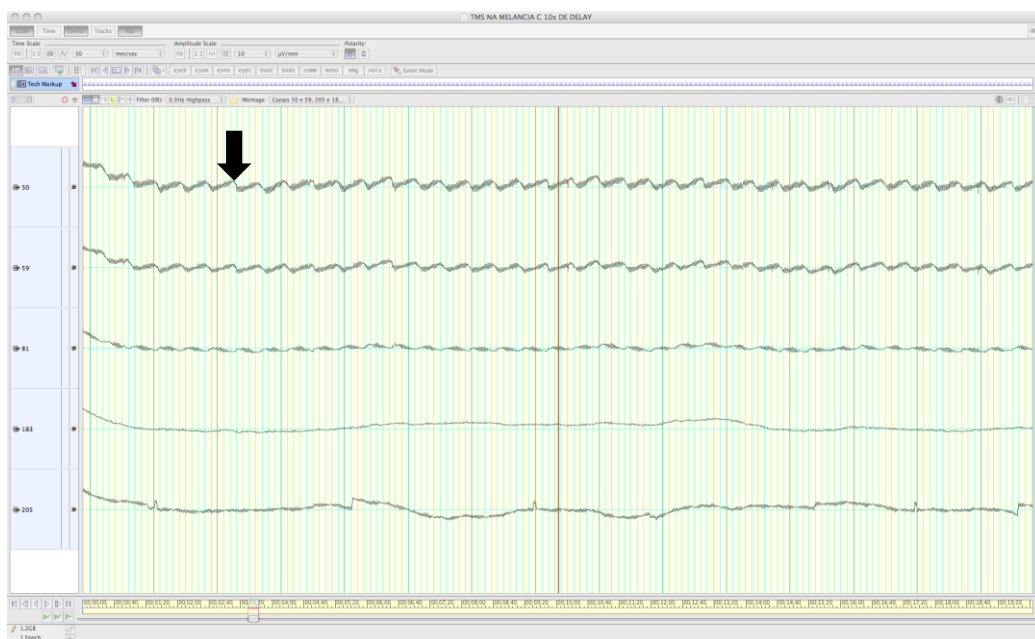


Figura 5.3. Artefatos em “dente de serra” e em 60 Hz (mostrados pela seta) obtidos pelo registro no modelo de crânio. O canal 183 é simétrico ao 59. O canal 81 é correspondente ao Cz do sistema internacional 10-20. Escalas 30 mm/s e 10 $\mu\text{V}/\text{mm}$.

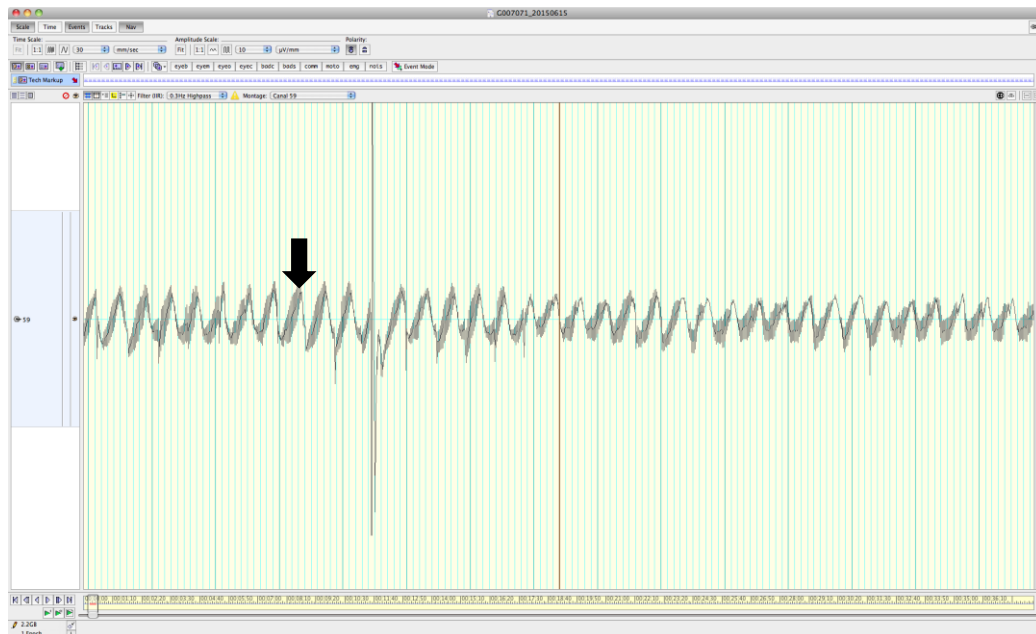


Figura 5.4. Artefatos em “dente de serra” (2 Hz) e de 60 Hz (mostrados pela seta) registrados em um dos sujeitos do estudo. Escalas 30 mm/s e 10 μ V/mm.

Outros artefatos ainda poderiam ser explicados pelas interferências vindas das instalações onde as sessões ocorreram. A sala de exames onde as aquisições foram realizadas possui aterramento comum em todos os circuitos, que são estabilizados por meio de um “nobreak” SitePro 80 – 120 kVA, Série 6, (IMV INVERTOMATIC TECHNOLOGY SA, [s.d.]). Além disto, o “nobreak” atende a mais quatro salas vizinhas, onde são realizados outros exames neurofisiológicos, portanto, teoricamente, sujeitas a falhas de aterramento e à entrada de interferências. Entretanto, o eletroencefalógrafo foi conectado a diferentes tomadas elétricas, sem modificação nos artefatos de 2 e 60 Hz registrados nos modelos de cabeça. A mudança de alimentação de 127 V para 220 V também não modificou os artefatos.

5.2.3 Os artefatos biológicos

Dependendo do posicionamento da bobina sobre o crânio, algumas terminações nervosas periféricas são ativadas e há a contração dos músculos cranianos como o *frontalis* e o *temporalis*. Esta ativação por si pode causar a geração de Potenciais Evocados Sensitivos pela contração muscular. Uma característica da contração muscular facial por estimulação craniana magnética ou elétrica é sua latência precoce, abaixo de 20 ms. Assim, os artefatos por contração muscular craniana não são uma preocupação. Como no caso da Tese, tais respostas ocorrem, na maioria das vezes, ocultadas pelo próprio artefato de estímulo (MUTANEN; MÄKI; ILMONIEMI, 2013).

Artefatos por movimentos oculares e piscamento foram removidos da análise após inspeção visual.

5.3 Respostas obtidas

5.3.1 Respostas no domínio do tempo

Devido ao fato de os sinais só puderam ser aproveitados a partir de 50 ms após os estímulos, somente os seguintes Potenciais Evocados obtidos com a EMT foram evidenciados: P60, N100, P190 e N280, de acordo com a denominação atualmente utilizada (KOMSSI; KÄHKÖNEN, 2006; FERRERI et al., 2011; FERRERI, 2015).

Outros autores enfrentaram a mesma limitação, de analisar os trechos do sinal mais próximos do estímulo, devido ao artefato do mesmo. Um grupo de autores referiu o valor da duração do artefato sendo de aproximadamente 50 ms e o outro grupo como sendo $47,2 \pm 40$ ms (ROGASCH et al., 2013.; FARZAN et al., 2013).

A figura 5.5 ilustra a sobreposição das curvas amplitude X tempo, obtidas da promediação do sinal de EEG de todos os sujeitos, calculadas no canal 81 (Cz), após segmentação e interpolação.

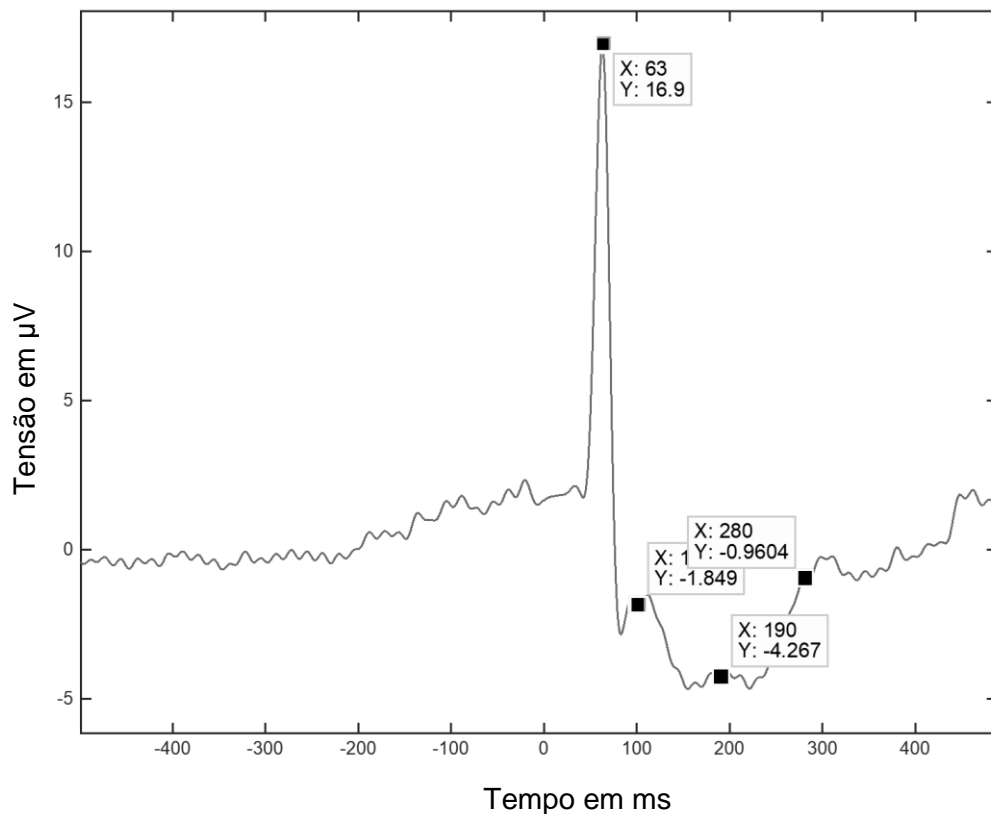


Figura 5.5. Respostas no domínio do tempo do canal 81 (Cz) em todos os sujeitos (média do grupo). Os componentes P60, N100, P190 e N280 foram identificados em sequência por suas latências (valores de x). Amplitudes = valores de y .

5.3.2 Respostas no domínio da frequência

5.3.2.1 Densidade espectral de potência

A janela utilizada foi de 1000 pontos no tempo, logo a seguir da segmentação do artefato de estímulo (50 pontos), para reduzir a influência do mesmo sobre os achados. Após um único pulso de EMT, o EEG exibe as frequências com maior potência até 25 Hz. Dentre as que estão neste intervalo, destacam-se as frequências de 10 Hz e abaixo de 5 Hz por suas maiores energias, como visto na figura 5.6.

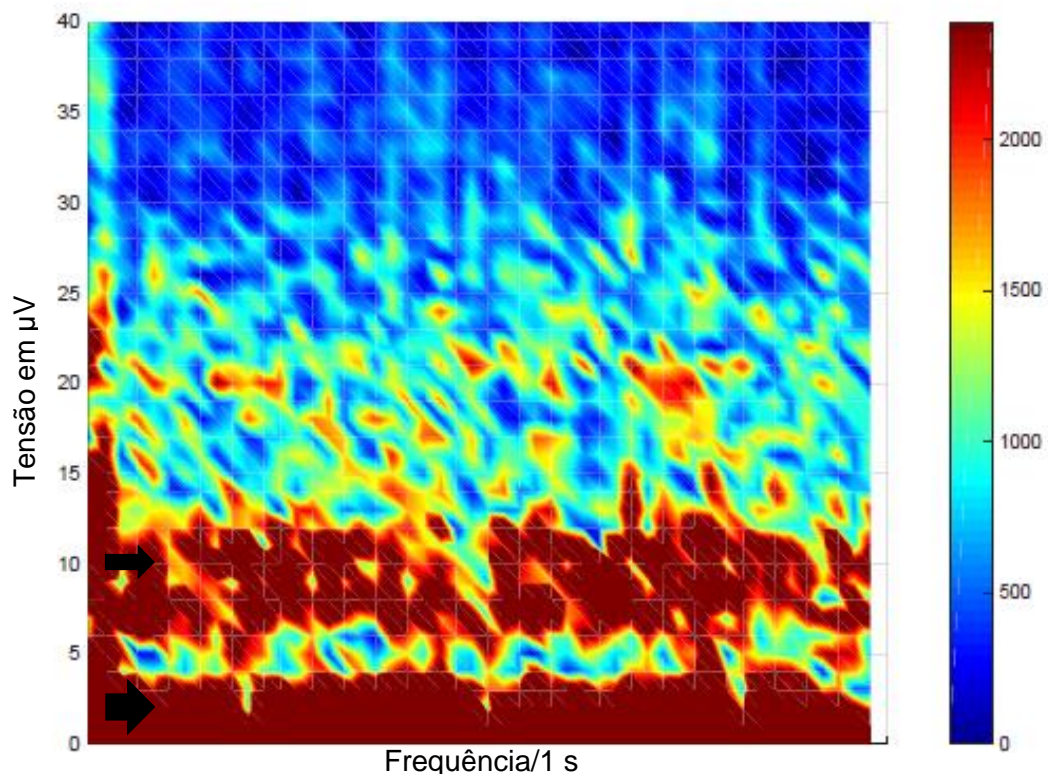


Figura 5.6. Espectrograma do EEG após um pulso magnético único. As setas mostram as atividades até 5 Hz (larga) e 10 Hz (estreita).

5.3.2.2 O Teste F Espectral

O TFE detectou com sucesso aumentos na energia do EEG, relacionadas ao estímulo magnético. Os resultados foram estatisticamente significativos na faixa entre 1 e 30 Hz, conforme ilustra a Figura 5.7.

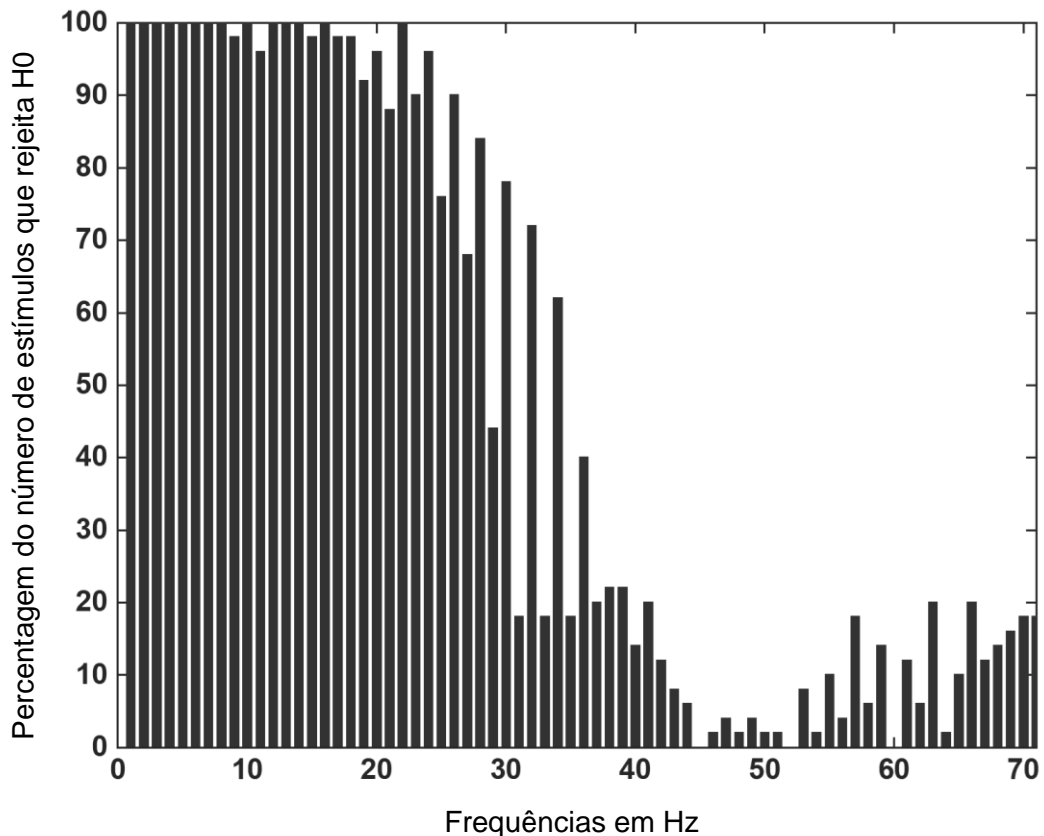


Figura 5.7. Teste F Espectral, grupo de sujeitos. Porcentagens para a qual a H_0 foi rejeitada (de que a estimulação não altera o espectro do sinal).

Também se observa o fato interessante que, na frequência de 60 Hz, não houve a rejeição da hipótese nula. Isto ocorreu já que a contribuição deste tipo de artefato por interferência eletromagnética no ambiente manteve-se a mesma antes, durante e depois da estimulação magnética. Este parâmetro serviu também como um controle do funcionamento da técnica.

Em MIRANDA DE SÁ; INFANTOSI (2008), o TFE mostrou-se como uma alternativa para a detecção de alterações de potências das frequências do EEG. Além disto, foi fornecida a função de Densidade de Probabilidade do detector. No estudo, foi

proposto que os resultados obtidos por este teste possam ser utilizados como detectores de respostas encefálicas em interfaces cérebro-máquina.

O método clássico de detecção de dessincronização/ sincronização nas respostas do EEG é de cálculo mais simples do que o TFE (PFURTSCHELLER; ARANIBAR, 1977). Entretanto, a escolha dos valores de referência desta técnica é feita previamente pelo examinador, baseada em um valor de porcentagem, configurando um viés de seleção. Esta falha já foi levantada anteriormente (DURKA et al., 2004). Outra limitação é que as bandas de frequência para a análise têm que ser previamente selecionadas pelo examinador, levando a outro viés de seleção e, potencialmente, resultados distintos para os mesmos trechos selecionados.

Além do embasamento estatístico oferecido, o TFE, possui a vantagem em relação ao método clássico da possibilidade de comparar e exibir todas as frequências ao mesmo tempo, informando aquelas que significativamente denotam uma detecção de resposta.

Valores semelhantes aos resultados obtidos pelo TFE já foram previamente descritos utilizando-se outras técnicas no domínio da frequência (FUGGETTA; FIASCHI; MANGANOTTI, 2005; ROSANOVA et al., 2009; FARZAN, F. et al., 2013). Tais resultados trazem reprodutibilidade aos dados desta Tese.

Os resultados da análise no domínio das frequências pelo TFE foram apresentados no “XIV Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2016” (ALMEIDA et al., 2016).

5.3.2.3 Efeito do tempo de recarga dos capacitores na atividade

Considerando-se as propriedades dos capacitores do Estimulador Magnético, há uma grande movimentação de elétrons durante o momento de recarga. Com base neste raciocínio, surge a hipótese de que esta recarga seria por si suficiente para provocar modificações no sinal do EEG.

Para testar esta hipótese, de que a recarga dos capacitores poderia ter algum efeito nas frequências do EEG, os experimentos foram repetidos em um dos voluntários e nos modelos de crânio.

O registro eletroencefalográfico a EMT foi comparado em duas situações metodológicas distintas:

- de maneira idêntica até o momento, aplicando TFE em trechos do EEG submetidos ao estímulo magnético, com a recarga dos capacitores acontecendo sem atraso;

- na outra situação, os registros foram obtidos em trechos do EEG submetidos ao estímulo magnético, com um atraso de 05 s na recarga dos capacitores. Assim, caso ocorresse alguma ativação neuronal pela recarga, a mesma ocorreria após e sem contaminar as épocas de interesse.

O TFE foi aplicado em uma simulação utilizando-se de matrizes criadas pelo comando *randn* no aplicativo MATLAB®. Os resultados mostraram um aumento significativo da energia de todas as frequências (Figura 5.8).

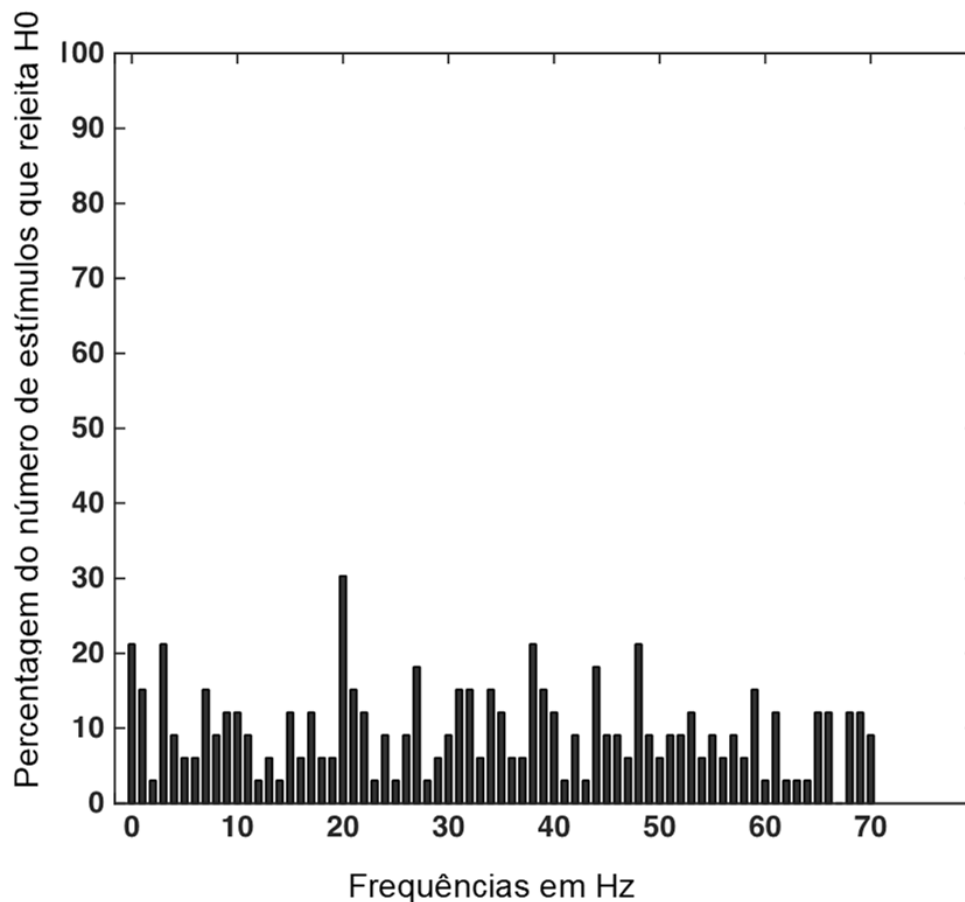


Figura 5.8 Teste F Espectral. Simulação com *randn* sem correção para o efeito de múltiplas repetições.

Considera-se que a aleatoriedade das frequências contida nas matrizes no numerador e denominador (Equação 13) seja a mesma. Portanto, não causaria uma modificação significativa da energia das frequências no TFE. Tal resultado não foi, em teoria, o esperado.

Este aumento global da detecção das frequências poderia ser explicado por um efeito de múltiplas repetições do TFE, realizado a cada janela, a cada estímulo magnético.

Após a incorporação no cálculo do valor de significância de uma correção para o efeito estatístico de múltiplas repetições, do tipo Bonferroni ($\alpha = 1 - \frac{0,05}{\text{número de estímulos}}$), o resultado da aplicação do TFE sobre a simulação com *randn* apresentou um comportamento esperado de ausência de detecção (Figura 5.9).

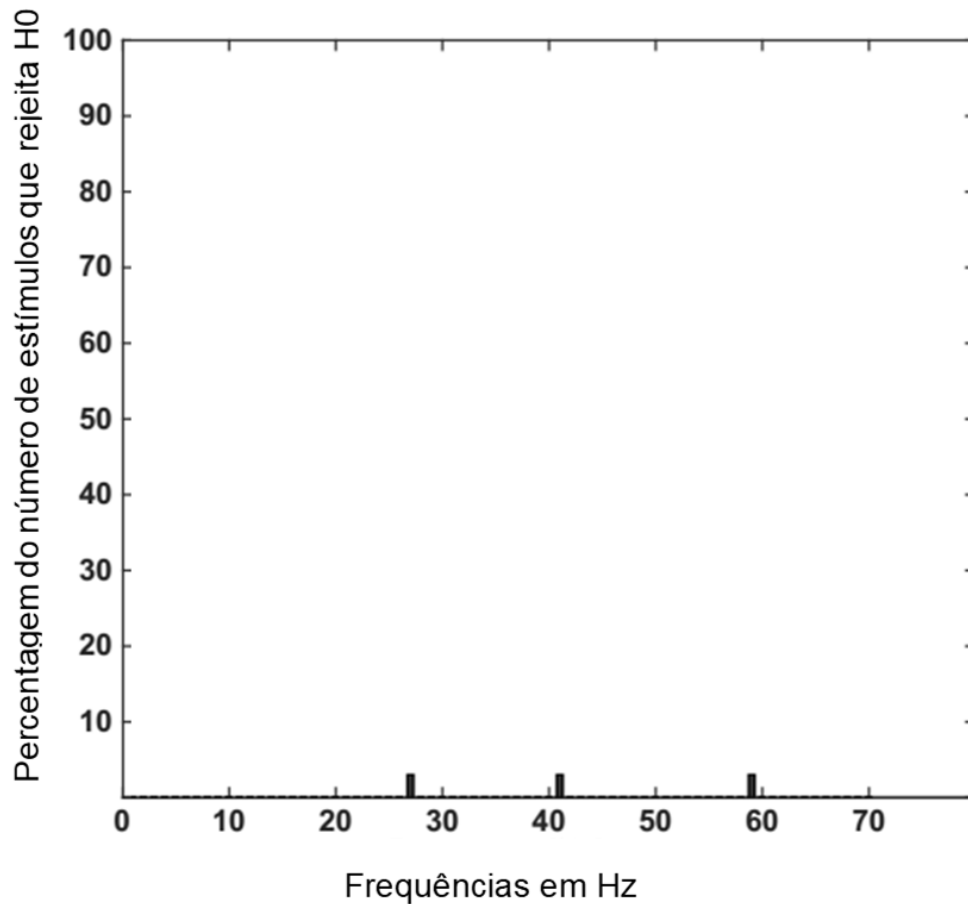


Figura 5.9 Teste F Espectral. Simulação com randn com correção de Bonferroni.

Assim como com os testes aplicados às simulações de sinais com conteúdo aleatório, a repetição dos experimentos no voluntário e nos modelos de crânio foi feita aplicando-se a correção de Bonferroni.

No registro dos sinais com a touca de eletrodos dentro do balde com solução salina, houve um aumento da energia de todas as frequências exceto 60 Hz (Figura 5.10).

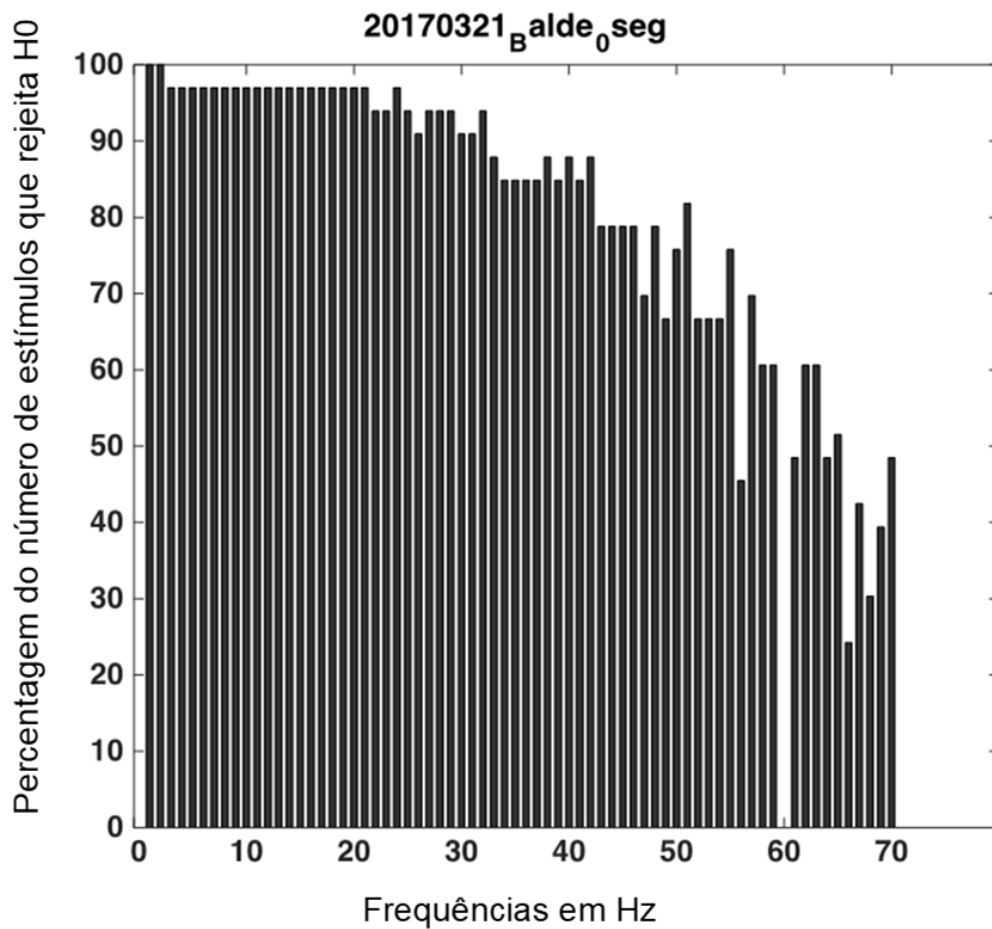


Figura 5.10 Teste F Espectral. Balde. Recarga no tempo zero.

Não houve modificação significativa na detecção das frequências entre os diferentes tempos de recarga dos capacitores (Figura 5.11).

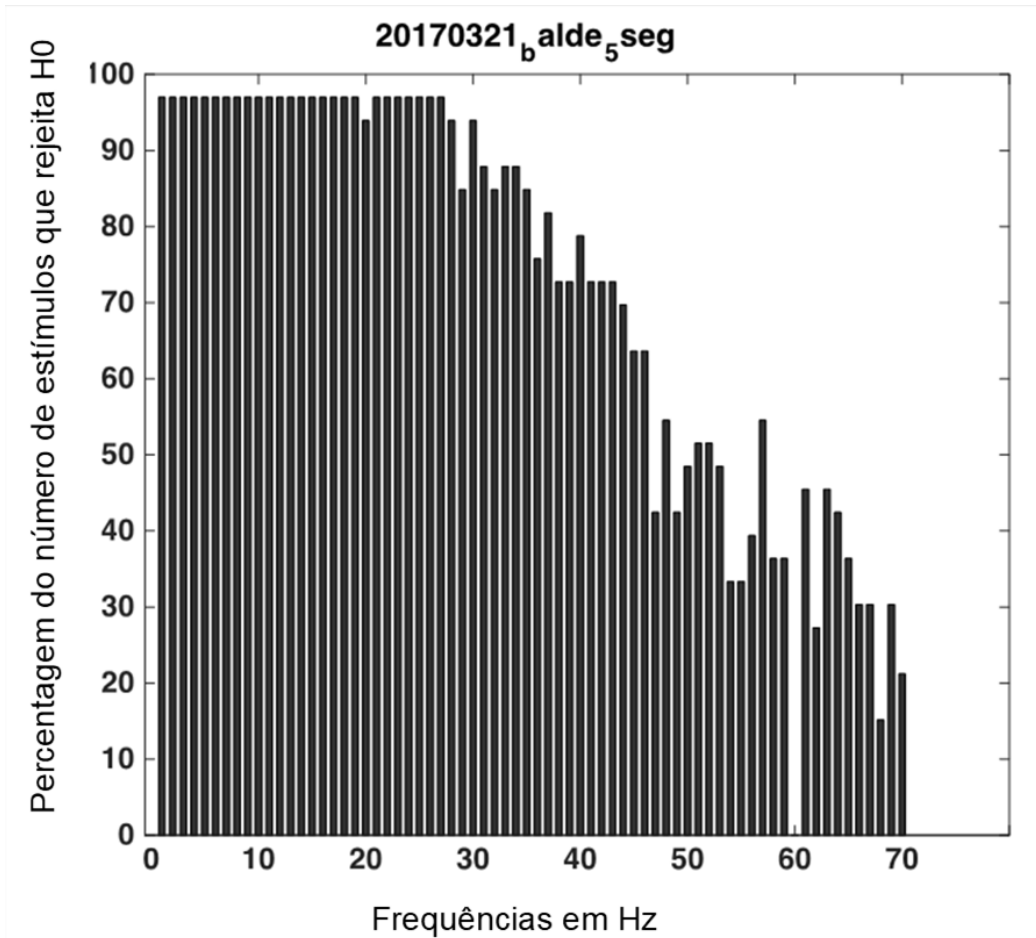


Figura 5.11 Teste F Espectral. Balde. 5 s de atraso da recarga.

A detecção de qualquer modificação significativa das frequências neste experimento não foi esperada. A aplicação do teste com sinais obtidos com a touca de eletrodo imersa em solução salina foi repetida em situações diferentes e os mesmos resultados foram encontrados. Provavelmente, algum detalhe técnico não foi verificado, permitindo a indução eletromagnética dos circuitos pela bobina. A ausência de detecção da frequência de 60 Hz indica que o cálculo está correto, já que a mesma interferência eletromagnética do ambiente está presente igualmente no numerador e no denominador da equação 13.

No registro dos sinais com a touca de eletrodos aplicada ao melão, com correção de Bonferroni, houve detecção das frequências abaixo de 5 Hz (Figura 5.12).

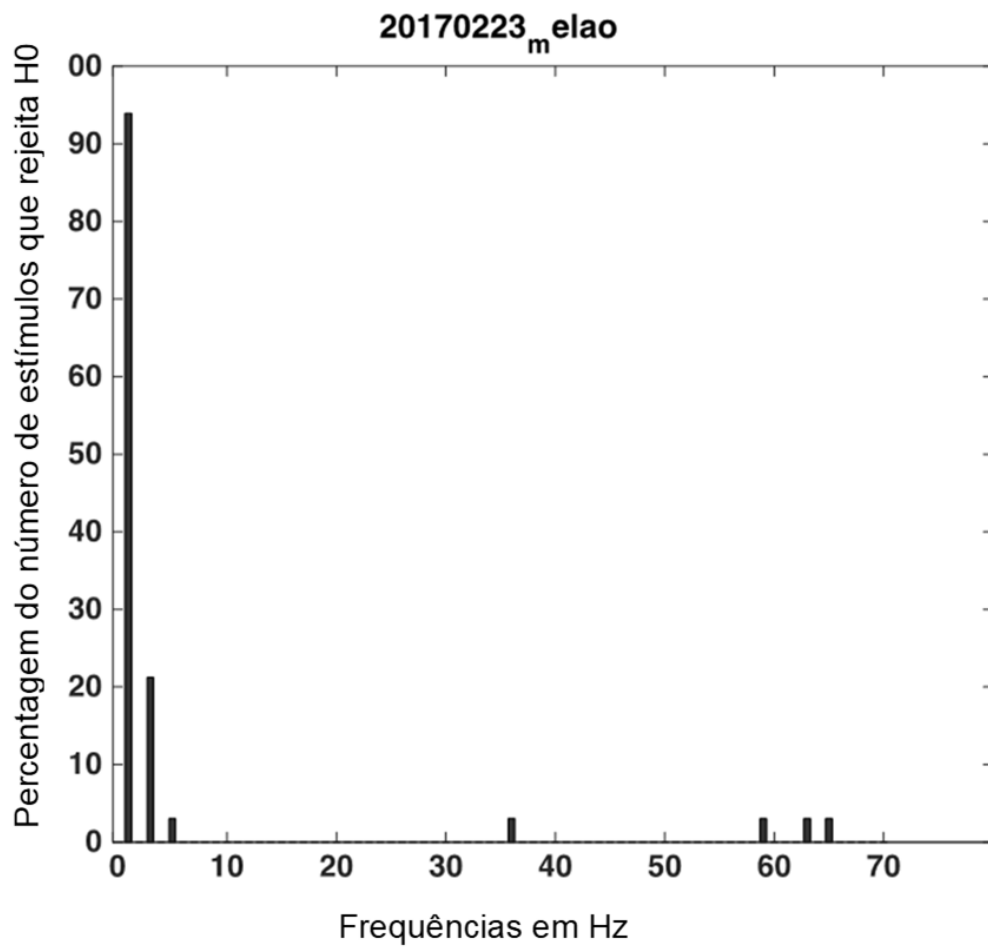


Figura 5.12 Teste F Espectral. Melão. Recarga no tempo zero.

De maneira semelhante à aplicação do estímulo magnético à touca de eletrodos dentro da solução salina, não houve influência significativa da diferença do tempo de recarga dos capacitores nas frequências (Figura 5.13).

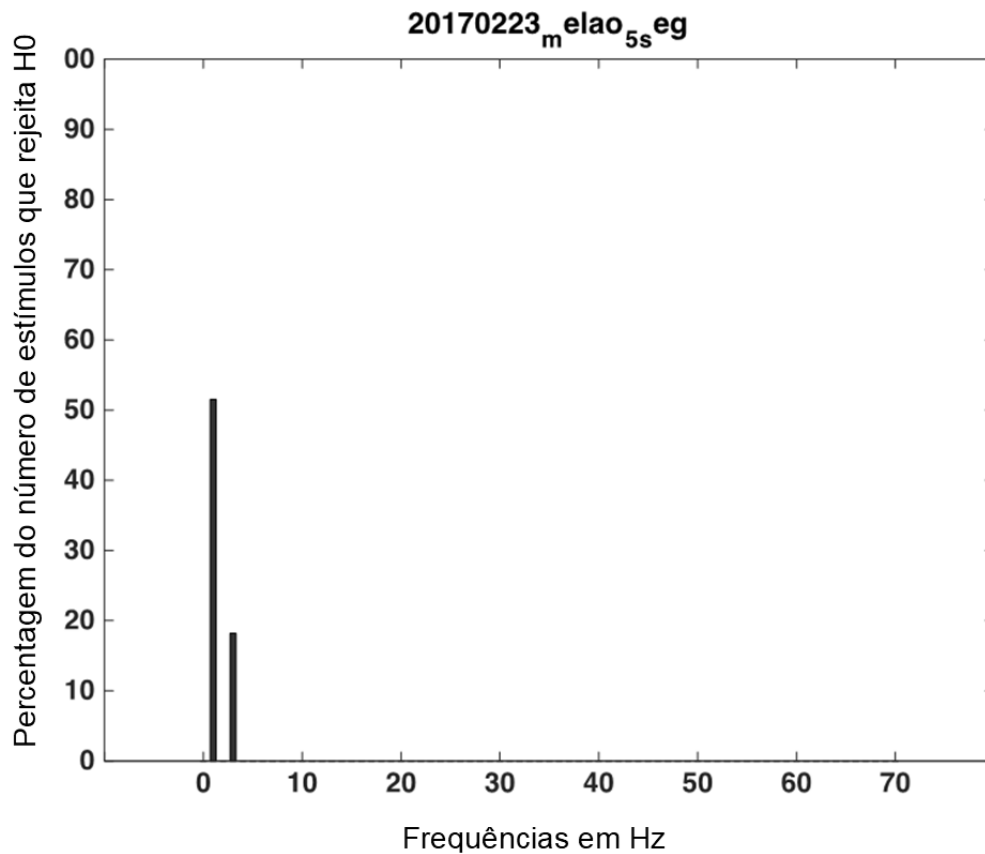


Figura 5.13 Teste F Espectral. Melão. 5 s de atraso da recarga dos capacitores.

O aumento na energia das frequências abaixo de 5 Hz, encontrado na touca aplicada ao melão poderia ser explicado por algum movimento dos componentes eletrônicos ocasionado pelo estímulo magnético (ROTH et al., 1992).

No voluntário, a aplicação do TFE incorporando a correção de Bonferroni exibiu uma detecção de frequências diferente da observada na figura 5.7 (Figura 5.14).

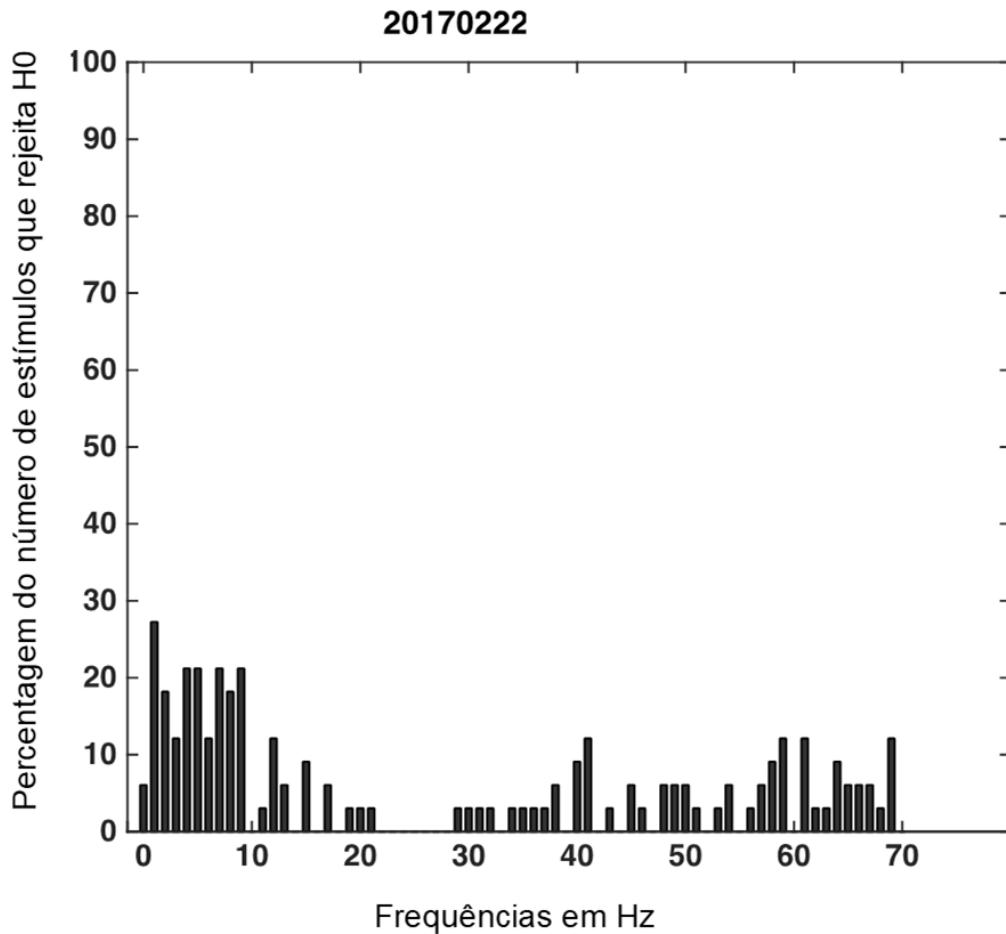


Figura 5.14 Teste F Espectral. Voluntário. Recarga no tempo zero.

A diferença foi observada não somente no valor da porcentagem de detecção da hipótese nula, como também na quantidade de frequências detectadas no EEG após um pulso magnético.

A detecção das frequências no EEG após pulsos únicos de estimulação magnética apresentou influência significativa da diferença do tempo de recarga dos capacitores (Figura 5.15).

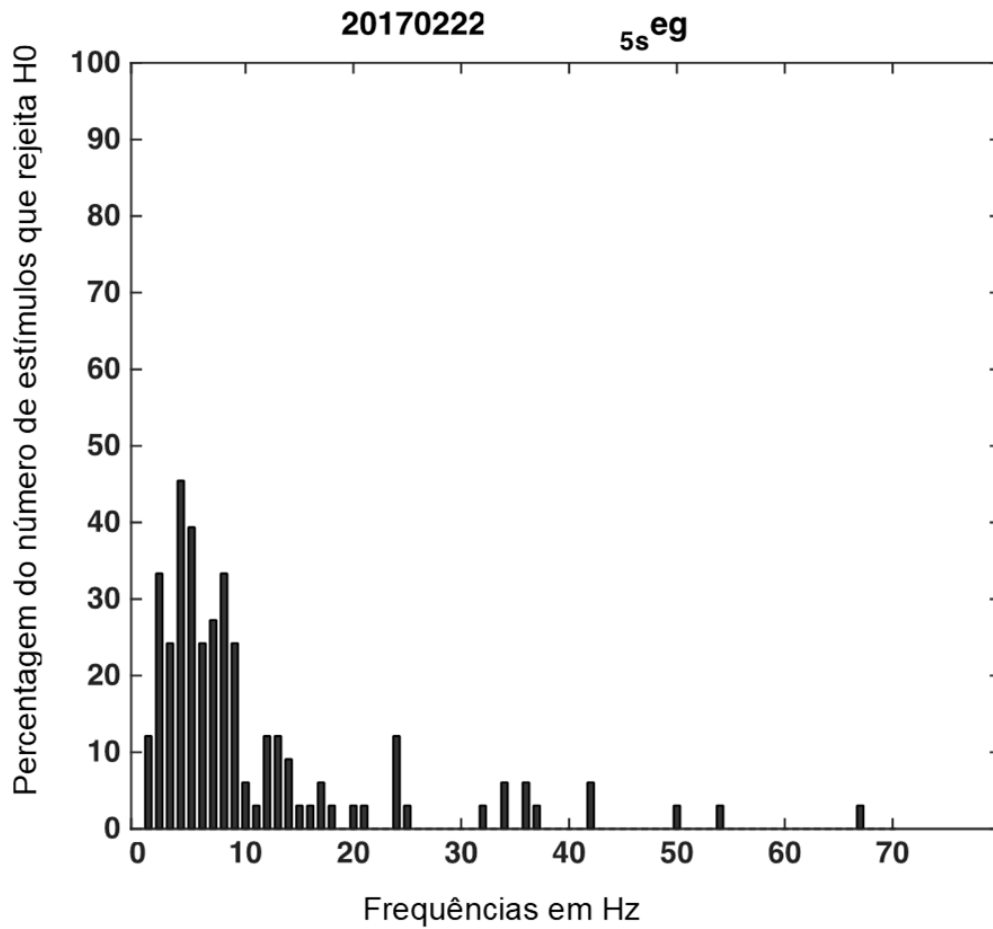


Figura 5.15 Teste F Espectral. Voluntário. 5 s de atraso da recarga dos capacitores.

Foram obtidas respostas evocadas induzidas, oscilando predominantemente entre 0,5 a 20 Hz.

6 DISCUSSÃO

A EMT é uma ferramenta de grande uso em neurociências por ser capaz de ativar neurônios de forma indolor e não invasiva. Apesar de seu uso crescente, os mecanismos de geração das suas respostas não são plenamente conhecidos, principalmente os corticais. Envolvem a ativação de estruturas anatomicamente e fisiologicamente complexas.

Mesmo que a representação dos fenômenos neuronais pelo EEG seja modificada pelos tecidos atravessados até o seu registro no couro cabeludo, as informações ocorrem em tempo real, de forma totalmente incômoda e indolor. Seus equipamentos não requerem sistemas e instalações complexos, mesmo os compatíveis com EMT. Todas estas características fazem do EEG um método com ampla utilização em neurociências.

O distanciamento da bobina causado pelo eletrodo do EEG resulta em uma menor intensidade do estímulo magnético no córtex. Porém os Potenciais Evocados à EMT são obtidos mesmo com intensidades de estímulos abaixo do próprio limiar motor (KOMSSI, KÄHKÖNEN, ILMONIEMI; 2004).

O registro simultâneo do EEG durante a EMT traz a tona lacunas de conhecimento sobre o efeito do campo magnético, e seu campo elétrico induzido, sobre os neurônios por eles ativados. Entretanto, muitos desafios técnicos necessitam ser vencidos para a obtenção destas respostas. O principal desafio de todos é lidar com o artefato de estímulo. Qualquer filtragem o transforma em uma oscilação atenuada de elevadas amplitude e duração, como visualizado na Figura 5.2. Para poder analisar o restante do sinal, a solução encontrada pela maioria dos pesquisadores e pelo autor desta Tese foi recortar das épocas o segmento contendo os artefatos. Foram retirados das épocas 10 ms antes e 50 ms após o tempo zero, sendo o sinal reconstruído por interpolação cúbica. Esta remoção incluiu os componentes mais precoces (N7, P13, N18, P30, N44) dos Potenciais Evocados à EMT. Entretanto, removeu também os artefatos por contração muscular por ativação direta pelo campo elétrico induzido, que possuem latências menores.

Apesar do seu cálculo mais simples, o método clássico de detecção de dessincronização/ sincronização no EEG apresenta desvantagens em relação ao TFE. A necessidade de escolha das bandas de frequência e dos valores de referência pelo examinador trazem vieses de seleção. O resultado deletério em potencial destes

vieses seria a obtenção de resultados distintos para os mesmos trechos selecionados a depender das escolhas do pesquisador. O TFE testa todas as frequências ao mesmo tempo e apresenta os resultados calculados estatisticamente. Os achados do TFE desta Tese, de 0,5 a 20 Hz, foram de encontro aos resultados descritos utilizando-se outras técnicas no domínio da frequência (FUGGETTA; FIASCHI; MANGANOTTI, 2005; ROSANOVA et al., 2009; FARZAN, F. et al., 2013). Tais resultados trazem reprodutibilidade aos dados desta Tese.

A metodologia seguida nesta Tese para os registros eletroencefalográficos durante a EMT foi recomendada e utilizada em outras publicações (ILMONIEMI; KICIC, 2010; FARZAN et al., 2013; ROGASCH et al., 2014). Os resultados dos experimentos indicam que o momento da recarga dos capacitores também é uma variável importante. Seu momento de ocorrer deve ser ajustado para evitar um efeito confundidor, pela ativação direta dos neurônios causada pela significativa movimentação de elétrons.

Diante das evidências acumuladas pelos experimentos, incluindo todos os procedimentos metodológicos para reduzir os artefatos e outros efeitos confundidores, na figura 5.15 estão representadas as frequências encefálicas ativadas pelo estímulo magnético, sem contaminação pela ativação neural provocada corrente elétrica da recarga dos capacitores.

Assim como foi encontrado nos testes com o melão, a movimentação dos circuitos por indução eletromagnética poderia explicar o aumento da energia em frequências abaixo de 5 Hz. Entretanto a percentagem de rejeição da hipótese nula foi menor no voluntário.

Grandes dificuldades técnicas foram encontradas desde o planejamento até a execução desta Tese. Apesar das limitações decorrentes de contaminação por artefatos, a abordagem correta destes desafios permitiu a obtenção de respostas originalmente encefálicas. Nossos dados revelaram oscilações cerebrais evocadas pelo estímulo magnético, variando de 0,5 a 20 Hz. Esta banda de frequências entre 5 e 20 Hz também foi um achado dos experimentos de outros pesquisadores (FUGGETTA; FIASCHI; MANGANOTTI, 2005; VENIERO et al., 2011), demonstrados pela primeira vez com o uso do TFE.

A geração das respostas encefálicas pela EMT ainda não está definida pela literatura. Nos estudos dos pesquisadores que descreveram e identificaram os componentes destas respostas. No domínio do tempo, há referências de uma

somação temporal e espacial envolvendo neurônios e interneurônios. No domínio da frequência, há referências a uma ativação sincronizada de estruturas envolvendo a área alvo do estímulo magnético e suas conexões (KOMSSI; KÄHKÖNEN, 2006; FERRERI et al., 2011; FERRERI, 2015). Estudos em cérebros de ratos identificaram a participação de neurônios piramidais das camadas corticais I e V e de circuitos GABA-mediados (MUELLER et al, 2014; MURPHY, 2016). Uma ativação sincronizada ou uma modulação da atividade pré-existente poderia explicar os achados do TFE. Tais modificações ocorreriam em estruturas corticais locais diretamente ativadas e/ou em redes corticocorticais ou corticotálâmicas, anatomicamente e funcionalmente interligadas (IZUMI et al., 1997; FUGGETTA; FIASCHI; MANGANOTTI, 2005; VENIERO et al., 2011).

As regiões do encéfalo envolvidas em movimentos voluntários são o córtex motor, o córtex sensitivo, área motora suplementar, o córtex prémotor, os núcleos da base e o cerebelo. Tais regiões estão interligadas entre si e também entre as estruturas das outras hierarquias como as do tronco encefálico e medula espinhal, que por fim vão dar origem ao conjunto de contrações musculares coordenadas e precisas, necessárias para cada movimento. Entre os córtices motor e sensitivo existe uma sobreposição parcial das somatotopias sensitiva e motora (HLUSTÍK, 2001; SCHIEBER, 2000; SCHIEBER, 2001). Regiões corticais anteriores à área motora primária, como a área motora suplementar e o córtex premotor, participam do planejamento dos movimentos. Apesar da importância da área motora primária na execução dos movimentos, a área motora suplementar isoladamente apresenta uma quantidade de conexões muito superior à das outras áreas motoras e também troca informações com as áreas motoras contralaterais, com a própria M1, com as áreas sensitivas e até mesmo com as áreas visuais e auditivas do encéfalo (CHOUINARD, 2006). As áreas descritas no início do parágrafo possuem uma integração funcional e anatômica que poderia ser o arcabouço das respostas do EEG à EMT. Algumas delas estão exibidas na figura 6.1.

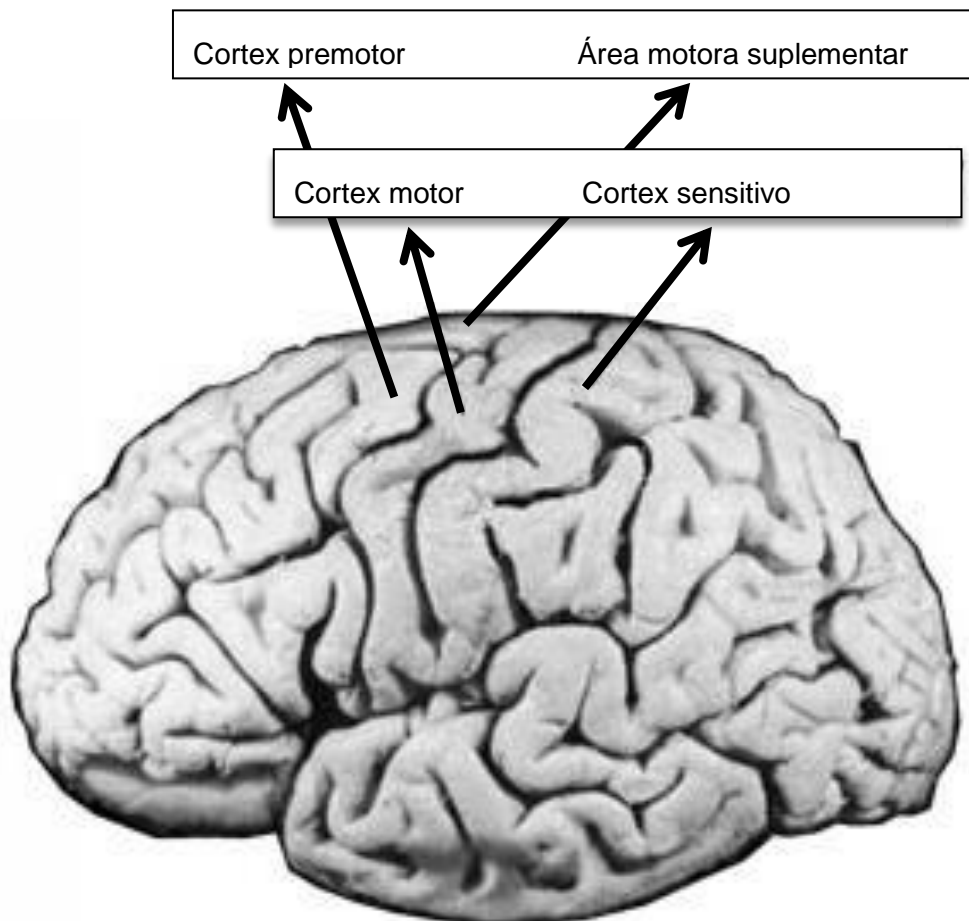


Figura 6.1. Algumas áreas corticais provavelmente envolvidas nas respostas do EEG à EMT. http://guerillascience.org/thecontent/uploads/2011/09/somato_and_motor.jpg

EEG durante a EMT é uma combinação de métodos com dificuldades de execução. Porém, o registro simultâneo permite conjugar alta resolução temporal com neuromodulação de forma única em neurociências. Com isso, a investigação fisiológica detalhada é associada à poderosa e controlada ativação neural.

Há evidências de pelo menos dois modelos, não excludentes, para explicar como os potenciais evocados são gerados pelos seus estímulos extrínsecos e intrínsecos no sistema nervoso. No mais antigo, os neurônios teriam sua atividade elétrica aumentada e sincronizada com os estímulos (DAWSON, 1951). Em outro mais recente, as respostas evocadas surgiriam também como uma reorganização da atividade elétrica (SAYERS; BEAGLEY; HENSHALL, 1974; PFURTSCHELLER; ARANIBAR, 1977; MAKEIG, 1993). A EMT possuiria energia suficiente para ir de encontro aos dois modelos, ativando os neurônios cerebrais diretamente e/ou modulando a atividade elétrica em curso. O papel que cada modelo possui na geração das respostas encefálicas à EMT ainda deverá ser testado pela comunidade científica.

A partir da ativação da área alvo, mais próxima do maior campo magnético da bobina, uma sequência de eventos tem início: a ativação de áreas cerebrais conectadas com a área alvo em escala regional, dentro do hemisfério cerebral ativado. Em maiores escalas envolvendo as áreas homólogas dos hemisférios contralaterais. Este arcabouço anatômico funcional, quando a área motora da mão é ativada, envolve as regiões do córtex sensoriomotor, área motora suplementar e córtices homólogos (BABILONI et al., 2014; SPIESER; MEZIANE; BONNARD, 2010). Toda esta sequência de eventos de ativação da área motora teria uma assinatura no domínio do tempo pelos componentes P60, N100, P190 e N280 dos potenciais evocados à EMT. No domínio da frequência, respostas induzidas oscilando entre 0,5 a 20 Hz, como foi demonstrado, de forma inédita, utilizando-se o TFE.

A EMT tem sido uma ferramenta de estudo do encéfalo, aplicada sobre córtices eloquentes por meio dos efeitos motores e visuais, por exemplo. O registro do EEG durante a EMT é capaz de informar sobre a fisiologia de outras áreas como córtices não eloquentes, onde a ativação pela EMT produz eventos diretamente observáveis.

7 CONCLUSÃO

Os dados das publicações citadas e os desta Tese forneceram evidências de que os estímulos magnéticos aplicados sobre a área motora primária da mão de sujeitos normais produzem respostas corticais pela ativação direta e indireta de várias redes neurais. A ativação ocorre em redes abrangendo desde conexões regionais como entre o próprio córtex motor, o córtex sensitivo e área motora suplementar. Também são ativadas outras redes mais abrangentes, incluindo até áreas distantes como o hemisfério contralateral e o tálamo, porém anatomicamente e funcionalmente associadas.

O registro simultâneo do EEG durante a EMT provou ser um instrumento de estudo capaz de aliar uma resolução temporal elevada ao mesmo tempo em que permite modificar as funções neurofisiológicas estudadas. As informações obtidas podem ser úteis para o avanço do conhecimento da fisiologia e de doenças. A caracterização precisa das respostas da área sensitivomotora pode ser útil como parâmetro para a calibração e controle de interfaces cérebro-máquina. O TFE mostrou-se como ferramenta útil para a identificação das respostas evocadas induzidas na área motora. O TFE poderá ser aplicado para comparar os registros de EEG associados à EMT das demais áreas do encéfalo.

É fundamental que os pesquisadores configurem corretamente o tempo de recarga dos capacitores para não coincidir com as épocas de interesse no EEG e evitar que suas respostas possam ser meramente causadas pelo pico de energia provocado pela própria recarga. Os pesquisadores também devem informar explicitamente este momento na seção Materiais e Métodos de suas publicações.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBRUZZESE, G.; TROMPETTO, C. Clinical and research methods for evaluating cortical excitability. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 19, n. 4, p. 307–321, ago. 2002.

AL-FAHOUM, A. S.; AL-FRAIHAT, A. A. Methods of EEG Signal Features Extraction Using Linear Analysis in Frequency and Time-Frequency Domains. **ISRN Neuroscience**, v. 2014, p. 1–7, 2014.

ALLEN, E. A. et al. Transcranial Magnetic Stimulation Elicits Coupled Neural and Hemodynamic Consequences. **Science**, v. 317, n. 5846, p. 1918–1921, 28 set. 2007.

ALMEIDA, A. C. et al. Spectral F Test for Detecting EEG Event Related Synchronization/Desynchronization Caused by Transcranial Magnetic Stimulation. XIV Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2016. Anais...Springer, 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-32703-7_5>. Acesso em: 17 jun. 2016

AMASSIAN, V. E. et al. Cerebello-frontal cortical projections in humans studied with the magnetic coil. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, v. 85, n. 4, p. 265–272, ago. 1992.

ANVISA Consulta de Produto. Disponível em: <http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/rconsulta_produto_detalhe.asp>. Acesso em: 5 nov. 2015.

BABILONI, C. et al. Cortical EEG alpha rhythms reflect task-specific somatosensory and motor interactions in humans. **Clinical Neurophysiology**, v. 125, n. 10, p. 1936–1945, out. 2014.

BALDUZZI, D. Estimating integrated information with TMS pulses during wakefulness, sleep, and under anesthesia. Conference proceedings: ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. **Anais... IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**. Annual Conference, v. 2011, p. 4717–4720, 2011.

BARKER, A. T.; JALINOUS, R.; FREESTON, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. **Lancet**, v. 1, n. 8437, p. 1106–1107, 11 maio 1985.

BÄUMER, T. et al. Laterality of interhemispheric inhibition depends on handedness. **Experimental Brain Research**, v. 180, n. 2, p. 195–203, 6 jun. 2007.

BENDAT, J. S.; PIERSOL, A. G. Basis Descriptions and Properties. In: **Random data: analysis and measurement procedures**. Wiley series in probability and statistics. 4. ed ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2010. p. 1–23.

BENDAT, J. S.; PIERSOL, A. G. Multiple-Input/Output Relationships. In: **Random data: analysis and measurement procedures**. Wiley series in probability and statistics. 4. ed ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2010a. p. 201–248.

BENDAT, J. S.; PIERSOL, A. G. Single-Input/Output Relationships. In: **Random data: analysis and measurement procedures**. Wiley series in probability and statistics. 4. ed ed. Hoboken, NJ: Wiley, 2010b. p. 173–200.

BENNINGER, D. H. et al. Safety study of 50Hz repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with Parkinson's disease. **Clinical Neurophysiology**, v. 120, n. 4, p. 809–815, abr. 2009.

BERGER, H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. **Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten**, v. 87, n. 1, p. 527–570, 1 dez. 1929.

BERG, P.; SCHERG, M. A multiple source approach to the correction of eye artifacts. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 90, n. 3, p. 229–241, mar. 1994.

BERGMANN, T. O. et al. EEG-Guided Transcranial Magnetic Stimulation Reveals Rapid Shifts in Motor Cortical Excitability during the Human Sleep Slow Oscillation. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 1, p. 243–253, 4 jan. 2012.

BERTRAND, O.; PERRIN, F.; PERNIER, J. A theoretical justification of the average reference in topographic evoked potential studies. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 62, n. 6, p. 462–464, nov. 1985.

BESTMANN, S. The physiological basis of transcranial magnetic stimulation. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 12, n. 3, p. 81–83, mar. 2008.

BIJSTERBOSCH, J. D. et al. Where does transcranial magnetic stimulation (TMS) stimulate? Modelling of induced field maps for some common cortical and cerebellar targets. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 50, n. 7, p. 671–681, jul. 2012.

BONATO, C.; MINIUSSI, C.; ROSSINI, P. M. Transcranial magnetic stimulation and cortical evoked potentials: A TMS/EEG co-registration study. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 8, p. 1699–1707, ago. 2006.

BONMASSAR, G. et al. Microscopic magnetic stimulation of neural tissue. **Nature Communications**, v. 3, p. 921, 26 jun. 2012.

BRANDEIS, D.; LEHMANN, D. Event-related potentials of the brain and cognitive processes: approaches and applications. **Neuropsychologia**, v. 24, n. 1, p. 151–168, 1986.

BRIDGERS, S. L.; DELANEY, R. C. Transcranial magnetic stimulation: an assessment of cognitive and other cerebral effects. **Neurology**, v. 39, n. 3, p. 417–419, mar. 1989.

BRIGNANI, D. et al. Modulation of cortical oscillatory activity during transcranial magnetic stimulation. **Human Brain Mapping**, v. 29, n. 5, p. 603–612, maio 2008.

BRODBECK, V. et al. EEG microstates of wakefulness and NREM sleep. **NeuroImage**, v. 62, n. 3, p. 2129–2139, set. 2012.

BUBNOFF, N.; REIDENHAIN, R. Ueber Erregungs- und Hemmungsvorgänge innerhalb der motorischen Hirncentren. **Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere**, v. 26, n. Issue 1, p. 137–203, 1881.

BUXHOEVEDEN, D. P.; CASANOVA, M. F. The minicolumn hypothesis in neuroscience. **Brain**, v. 125, n. Pt 5, p. 935–951, maio 2002.

CANTELLO, R. et al. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. **Neurology**, v. 42, n. 10, p. 1951–1959, out. 1992.

CANTELLO, R. Applications of transcranial magnetic stimulation in movement disorders. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 19, n. 4, p. 272–293, 2002.

CANTONE, M. et al. The contribution of transcranial magnetic stimulation in the diagnosis and in the management of dementia. **Clinical Neurophysiology**, v. 125, n. 8, p. 1509–1532, ago. 2014.

CASAROTTO, S. et al. EEG Responses to TMS Are Sensitive to Changes in the Perturbation Parameters and Repeatable over Time. **PLoS ONE**, v. 5, n. 4, p. e10281, 22 abr. 2010.

CASAROTTO, S. et al. Transcranial magnetic stimulation-evoked EEG/cortical potentials in physiological and pathological aging. **Neuroreport**, v. 22, n. 12, p. 592–597, 24 ago. 2011.

CATON, R. The electric currents of the brain. Proceedings of 43th Annual Meeting of th British Medical Association, August 1875. **Anais. British Medical Journal**, v. 2, p. 278, 28 ago. 1875.

CHAPMAN, R. M.; MCCRARY, J. W. EP component identification and measurement by principal components analysis. **Brain and Cognition**, v. 27, n. 3, p. 288–310, abr. 1995.

CHEN, R. Studies of human motor physiology with transcranial magnetic stimulation. **Muscle & Nerve. Supplement**, v. 9, p. S26–32, 2000.

CHEN, R. et al. The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. **Clinical Neurophysiology**, v. 119, n. 3, p. 504–532, mar. 2008.

CHEN, R.; HALLETT, M. The time course of changes in motor cortex excitability associated with voluntary movement. **The Canadian Journal of Neurological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 163–169, ago. 1999.

CHIPCHASE, L. et al. A checklist for assessing the methodological quality of studies using transcranial magnetic stimulation to study the motor system: an international consensus study. **Clinical Neurophysiology**, v. 123, n. 9, p. 1698–1704, set. 2012.

CHOUINARD, P. A. The Primary Motor and Premotor Areas of the Human Cerebral Cortex. **The Neuroscientist**, v. 12, n. 2, p. 143–152, 1 abr. 2006.

CIVARDI, C. et al. Cortical excitability and sleep deprivation: a transcranial magnetic stimulation study. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 71, n. 6, p. 809–812, 2001.

COHEN, D. Magnetoencephalography: evidence of magnetic fields produced by alpha-rhythm currents. **Science**, v. 161, n. 3843, p. 784–786, 23 ago. 1968.

COHEN, M. **Handedness Questionnaire**. Disponível em: <<http://www.brainmapping.org/shared/Edinburgh.php#>>. Acesso em: 21 abr. 2015.

CONA, F. et al. A neural mass model of interconnected regions simulates rhythm propagation observed via TMS-EEG. **NeuroImage**, v. 57, n. 3, p. 1045–1058, ago. 2011.

COWEY, A. The Ferrier Lecture 2004 What can transcranial magnetic stimulation tell us about how the brain works? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1458, p. 1185–1205, 29 jun. 2005.

CRACCO, R. Q. et al. Comparison of human transcallosal responses evoked by magnetic coil and electrical stimulation. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 74, n. 6, p. 417–424, dez. 1989.

CHRAPKA, P.; DE BRUIN, H.; HASEY, G. Application of wavelet based denoising techniques to rTMS evoked potentials Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2012 Annual International Conference of the IEEE. **Anais... IEEE**, 2012 Disponível em: <http://ieeexplore.ieee.org/xpls/abs_all.jsp?arnumber=6347025>. Acesso em: 7 maio. 2015.

DASKALAKIS, Z. J. et al. Combined transcranial magnetic stimulation and electroencephalography: Its past, present and future. **Brain Research**, v. 1463, p. 93–107, jun. 2012.

DAVEY, K. et al. Modeling the effects of electrical conductivity of the head on the induced electric field in the brain during magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, v. 114, n. 11, p. 2204–2209, nov. 2003.

DAVIDSON, T.; TREMBLAY, F. Hemispheric Differences in Corticospinal Excitability and in Transcallosal Inhibition in Relation to Degree of Handedness. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. e70286, 25 jul. 2013b.

DAWSON, G. D. A summation technique for detecting small signals in a large irregular background. **The Journal of Physiology**, v. 115, n. 1, p. 2p–3p, set. 1951.

DE GENNARO, L. et al. Handedness is mainly associated with an asymmetry of corticospinal excitability and not of transcallosal inhibition. **Clinical Neurophysiology**, v. 115, n. 6, p. 1305–1312, jun. 2004.

DE LUCIA, M. et al. Diffusion tensor MRI-based estimation of the influence of brain tissue anisotropy on the effects of transcranial magnetic stimulation. **NeuroImage**, v. 36, n. 4, p. 1159–1170, jul. 2007.

DENG, Z.-D.; LISANBY, S. H.; PETERCHEV, A. V. Electric field depth–focality tradeoff in transcranial magnetic stimulation: Simulation comparison of 50 coil designs. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 1, p. 1–13, jan. 2013.

DENG, Z.-D.; LISANBY, S. H.; PETERCHEV, A. V. Coil design considerations for deep transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, v. 125, n. 6, p. 1202–1212, jun. 2014.

DHAMNE, S. C. et al. A Measure of Acoustic Noise Generated From Transcranial Magnetic Stimulation Coils. **Brain Stimulation**, v. 7, n. 3, p. 432–434, maio 2014.

DIEKHOFF, S. et al. Functional localization in the human brain: Gradient-echo, spin-echo, and arterial spin-labeling fMRI compared with neuronavigated TMS. **Human Brain Mapping**, v. 32, n. 3, p. 341–357, mar. 2011.

DIEN, J. Addressing misallocation of variance in principal components analysis of event-related potentials. **Brain Topography**, v. 11, n. 1, p. 43–55, 1998.

DIETSCH, G. Fourier-Analyse von Elektrencephalogrammen des Menschen. **Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere**, v. 230, n. 1, p. 106–112, dez. 1932.

DI LAZZARO, V. et al. Descending volleys evoked by transcranial magnetic stimulation of the brain in conscious humans: effects of coil shape. **Clinical neurophysiology**, v. 113, n. 1, p. 114–119, 2002.

DI LAZZARO, V. The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. **Clinical Neurophysiology**, v. 115, n. 2, p. 255–266, fev. 2004.

DI LAZZARO, V. et al. I-wave origin and modulation. **Brain Stimulation**, v. 5, n. 4, p. 512–525, out. 2012.

DURKA, P. J. et al. On the statistical significance of event-related EEG desynchronization and synchronization in the time-frequency plane. **IEEE transactions on bio-medical engineering**, v. 51, n. 7, p. 1167–1175, jul. 2004.

ELAHI, B.; ELAHI, B.; CHEN, R. Effect of transcranial magnetic stimulation on Parkinson motor function-Systematic review of controlled clinical trials: Effect of TMS on Parkinson Motor Function. **Movement Disorders**, v. 24, n. 3, p. 357–363, 15 fev. 2009.

EPSTEIN, C. M. et al. Localization and characterization of speech arrest during transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, v. 110, n. 6, p. 1073–1079, jun. 1999.

ESPADALER, J. M.; CONESA, G.; DUFFAU, HUGUES. “Navigated repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) for language mapping: a new tool for surgical planning”. In: **Brain mapping: from neural basis of cognition to surgical applications**. Wien; London: Springer, 2011. p. 253–262.

ESSL, M. M.; RAPPELSBERGER, P. EEG coherence and reference signals: experimental results and mathematical explanations. **Medical and Biological Engineering and Computing**, v. 36, n. 4, p. 399–406, 1998.

FARZAN, F. et al. "Combination of transcranial magnetic stimulation with electromyography and electroencephalography". In: SCHWARTZ, M. (Ed.). **EMG Methods for Evaluating Muscle and Nerve Function**. [s.l.] INTECH Open Access Publisher, 2012. p. 341–372.

FARZAN, F. et al. The EEG correlates of the TMS-induced EMG silent period in humans. **NeuroImage**, v. 83, p. 120–134, dez. 2013.

FERRARELLI, F. et al. Reduced evoked gamma oscillations in the frontal cortex in schizophrenia patients: a TMS/EEG study. **The American journal of psychiatry**, v. 165, n. 8, p. 996–1005, 2008.

FERREE, T. C. et al. Scalp electrode impedance, infection risk, and EEG data quality. **Clinical Neurophysiology**, v. 112, n. 3, p. 536–544, 2001.

FERREE, T. C.; TUCKER, D. M. Development of high-resolution EEG devices. **International Journal of Bioelectromagnetism**, v. 1, n. 1, p. 4–10, 1999.

FERRERI, F. et al. Human brain connectivity during single and paired pulse transcranial magnetic stimulation. **NeuroImage**, v. 54, n. 1, p. 90–102, jan. 2011.

FERRERI, F. I. M. **TMS and TMS-EEG studies on the excitability, connectivity and plasticity of the human motor cortex**. Dissertação. Disponível em: <http://epublications.uef.fi/pub/urn_isbn_978-952-61-0505-5/index_en.html>. Acesso em: 28 abr. 2015.

FILEVICH, E.; KÜHN, S.; HAGGARD, P. Negative motor phenomena in cortical stimulation: implications for inhibitory control of human action. **Cortex**, v. 48, n. 10, p. 1251–1261, nov. 2012.

FILIMON, F. Human Cortical Control of Hand Movements: Parietofrontal Networks for Reaching, Grasping, and Pointing. **The Neuroscientist**, v. 16, n. 4, p. 388–407, 1 ago. 2010.

FITZGERALD, P. B. et al. Cortical inhibition in motor and non-motor regions: a combined TMS-EEG study. **Clinical EEG and neuroscience**, v. 39, n. 3, p. 112–117, jul. 2008.

FITZGERALD, P. B.; BROWN, T. L.; DASKALAKIS, Z. J. The application of transcranial magnetic stimulation in psychiatry and neurosciences research. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 105, n. 5, p. 324–340, maio 2002.

FOUCAULT, L. **Recueil des travaux scientifiques / de Léon Foucault, ... ; publié par Madame veuve Foucault sa mère ; mis en ordre par C.-M. Gariel, ... ; et précédé d'une notice sur les oeuvres de L. Foucault, par J. Bertrand, ..** Paris: Gauthier-Villars, 1878b.

FOUCAULT, L. **Recueil des travaux scientifiques / de Léon Foucault, ... ; publié par Madame veuve Foucault sa mère ; mis en ordre par C.-M. Gariel, ... ; et précédé d'une notice sur les oeuvres de L. Foucault, par J. Bertrand, ..** Paris: Gauthier-Villars, 1878a.

FOURIER, J. B. J. **Théorie analytique de la chaleur**. [s.l.] Chez Firmin Didot, père et fils, 1822.

FOX, P. T. et al. Column-based model of electric field excitation of cerebral cortex. **Human Brain Mapping**, v. 22, n. 1, p. 1–14, maio 2004.

FRYE, R. E. et al. Transcranial Magnetic Stimulation in Child Neurology: Current and Future Directions. **Journal of Child Neurology**, v. 23, n. 1, p. 79–96, 3 dez. 2007.

FUCHS, M. et al. A standardized boundary element method volume conductor model. **Clinical Neurophysiology**, v. 113, n. 5, p. 702–712, 2002.

FUGGETTA, G.; FIASCHI, A.; MANGANOTTI, P. Modulation of cortical oscillatory activities induced by varying single-pulse transcranial magnetic stimulation intensity over the left primary motor area: A combined EEG and TMS study. **NeuroImage**, v. 27, n. 4, p. 896–908, out. 2005.

GABBIANI, F.; COX, S. J. “The Passive Cable”. In: WALLISCH, P. (Ed.). **MATLAB for neuroscientists: an introduction to scientific computing in MATLAB**. Amsterdam; Boston: Elsevier/Academic Press, 2009. p. 67–86.

GARCIA DOMINGUEZ, L. et al. Characterizing Long Interval Cortical Inhibition over the Time-Frequency Domain. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e92354, 18 mar. 2014.

GARCIA, J. O.; GROSSMAN, E. D.; SRINIVASAN, R. Evoked potentials in large-scale cortical networks elicited by TMS of the visual cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 106, n. 4, p. 1734–1746, 1 out. 2011.

GARVEY, M. A. et al. Cortical correlates of neuromotor development in healthy children. **Clinical Neurophysiology**, v. 114, n. 9, p. 1662–1670, set. 2003.

GARVEY, M. A.; MALL, V. Transcranial magnetic stimulation in children. **Clinical Neurophysiology**, v. 119, n. 5, p. 973–984, maio 2008.

GEDDES, L. A. “The history of stimulation with eddy currents due to time-varying magnetics fields”. In: CHOKROVERTY, S. (Ed.). **Magnetic Stimulation in Clinical Neurophysiology**. Boston: Butterworth-Heinemann Medical, 1990. p. 5–12.

Geodesic Sensor Net Technical Manual. Electrical Geodesics Inc, , 2006. Disponível em: <www.egi.com/documentation.html>

GES Hardware Technical Manual. Electrical Geodesics Inc, , 2006. Disponível em: <www.egi.com/documentation.html>

GOTMAN, J.; GLOOR, P.; SCHAUL, N. Comparison of traditional reading of the EEG and automatic recognition of interictal epileptic activity. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 44, n. 1, p. 48–60, jan. 1978.

GROPPIA, S. et al. Subcortical substrates of TMS induced modulation of the cortico-cortical connectivity. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 2, p. 138–146, mar. 2013.

HALLETT, M. Transcranial magnetic stimulation: a primer. **Neuron**, v. 55, n. 2, p. 187–199, 19 jul. 2007b.

HALLEZ, H. et al. Review on solving the forward problem in EEG source analysis. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 4, n. 1, p. 46, 2007.

HARDWICK, R. M.; LESAGE, E.; MIALL, R. C. Cerebellar Transcranial Magnetic Stimulation: The Role of Coil Geometry and Tissue Depth. **Brain Stimulation**, v. 7, n. 5, p. 643–649, set. 2014.

HARI, R. Magnetoencephalography in Clinical Neurophysiological Assessment of Human Cortical Functions. In: SCHOMER, D. L.; LOPES DA SILVA, F. (Eds.). . **Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 1147–1177.

HELLER, L.; VAN HULSTEYN, D. B. Brain stimulation using electromagnetic sources: theoretical aspects. **Biophysical journal**, v. 63, n. 1, p. 129, 1992.

HELMHOLTZ, H. VON. Über die Erhaltung der Kraft - eine physikalische Abhandlung, vorgetragen in der **Sitzung der physikalischen Gesellschaft zu Berlin**. [s.l.] Reimer, 1847.

HESS, C. W.; MILLS, K. R.; MURRAY, N. M. Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. **The Journal of Physiology**, v. 388, p. 397–419, jul. 1987.

HLUSTÍK, P. et al. Somatotopy in human primary motor and somatosensory hand representations revisited. **Cerebral Cortex**, v. 11, n. 4, p. 312–321, abr. 2001.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. Propagation of Electrical Signals Along Giant Nerve Fibres. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 140, n. 899, p. 177–183, 16 out. 1952.

HOLMES, M. D. Dense array EEG: Methodology and new hypothesis on epilepsy syndromes. **Epilepsia**, v. 49, n. s3, p. 3–14, mar. 2008.

HU, S.; STEAD, M.; WORRELL, G. A. Automatic Identification and Removal of Scalp Reference Signal for Intracranial EEGs Based on Independent Component Analysis. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 54, n. 9, p. 1560–1572, set. 2007.

HU, S. et al. "The effect of recording reference on eeg: Phase synchrony and coherence". In: **Advances in Neural Networks–ISNN 2007**. [s.l.] Springer, 2007. p. 1273–1280.

HU, S. et al. On the Recording Reference Contribution to EEG Correlation, Phase Synchrony, and Coherence. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part B (Cybernetics)**, v. 40, n. 5, p. 1294–1304, out. 2010.

HUANG, Y.-Z. et al. Theta Burst Stimulation of the Human Motor Cortex. **Neuron**, v. 45, n. 2, p. 201–206, jan. 2005.

HUANG, Y.-Z. et al. Consensus: New methodologies for brain stimulation. **Brain Stimulation**, v. 2, n. 1, p. 2–13, jan. 2009.

HUERTA, P. T.; VOLPE, B. T. Transcranial magnetic stimulation, synaptic plasticity and network oscillations. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 6, n. 1, p. 7, 2009.

ILMONIEMI, R. J. et al. Neuronal responses to magnetic stimulation reveal cortical reactivity and connectivity. **Neuroreport**, v. 8, n. 16, p. 3537–3540, 10 nov. 1997.

ILMONIEMI, R. J.; KICIC, D. Methodology for combined TMS and EEG. **Brain Topography**, v. 22, n. 4, p. 233–248, jan. 2010.

IVES, J. R. et al. Electroencephalographic recording during transcranial magnetic stimulation in humans and animals. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 8, p. 1870–1875, ago. 2006.

IMV INVERTOMATIC TECHNOLOGY SA. **SitePro 80 – 120 kVA**. Disponível em: <www.imv.com/EDW_SPE_XXX_80K_M12_6GB_V010.doc>. Acesso em: 6 jan. 2016.

IWAHASHI, M. et al. Differences in evoked EEG by transcranial magnetic stimulation at various stimulus points on the head. Engineering in Medicine and Biology Society, 2008. EMBS 2008. 30th Annual International Conference of the IEEE. **Anais...IEEE**, 2008 Disponível em: <http://ieeexplore.ieee.org/xpls/abs_all.jsp?arnumber=4649725>. Acesso em: 7 maio. 2015.

IZUMI, S. et al. Transcranial magnetic stimulation-induced changes in EEG and responses recorded from the scalp of healthy humans. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 103, n. 2, p. 319–322, ago. 1997.

JASPER, H. Report of the committee on methods of clinical examination in electroencephalography. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 10, n. 2, p. 370–375, maio 1957.

JING, H.; TAKIGAWA, M. Observation of EEG coherence after repetitive transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, v. 111, n. 9, p. 1620–1631, set. 2000.

JOHNSON, N.; KOTZ, S.; BALAKRISHNAN, N. F-Distribution. In: **Continuous Univariate Distributions**, Volume 2, 2nd Edition. Second ed. [s.l.] John Wiley and Sons, 1994. v. 2p. 348–350.

JULKUNEN, P. et al. Efficient reduction of stimulus artefact in TMS–EEG by epithelial short-circuiting by mini-punctures. **Clinical Neurophysiology**, v. 119, n. 2, p. 475–481, fev. 2008.

JUNG, N. H. et al. Navigated transcranial magnetic stimulation does not decrease the variability of motor-evoked potentials. **Brain Stimulation**, v. 3, n. 2, p. 87–94, abr. 2010.

JUNG, N. H. et al. Transcranial magnetic stimulation with a half-sine wave pulse elicits direction-specific effects in human motor cortex. **BMC Neuroscience**, v. 13, n. 1, p. 139, 2012.

KÄHKÖNEN, S. et al. Prefrontal transcranial magnetic stimulation produces intensity-dependent EEG responses in humans. **NeuroImage**, v. 24, n. 4, p. 955–960, fev. 2005.

KAMMER, T. et al. Transcranial magnetic stimulation in the visual system. I. The psychophysics of visual suppression. **Experimental Brain Research**, v. 160, n. 1, p. 118–128, jan. 2005.

KAMMER, T. et al. Transcranial magnetic stimulation in the visual system. II. Characterization of induced phosphenes and scotomas. **Experimental Brain Research**, v. 160, n. 1, p. 129–140, jan. 2005.

KEIL, A. et al. Committee report: Publication guidelines and recommendations for studies using electroencephalography and magnetoencephalography: Guidelines for EEG and MEG. **Psychophysiology**, v. 51, n. 1, p. 1–21, jan. 2014.

KEIL, J. et al. Cortical brain states and corticospinal synchronization influence TMS-evoked motor potentials. **Journal of Neurophysiology**, v. 111, n. 3, p. 513–519, 1 fev. 2014.

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

KOBAYASHI, M.; PASCUAL-LEONE, A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. **The Lancet Neurology**, v. 2, n. 3, p. 145–156, 2003.

KOENIG, T. Millisecond by Millisecond, Year by Year: Normative EEG Microstates and Developmental Stages. **NeuroImage**, v. 16, n. 1, p. 41–48, maio 2002.

KOMSSI, S. et al. Ipsi- and contralateral EEG reactions to transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, v. 113, n. 2, p. 175–184, fev. 2002.

KOMSSI, S.; KÄHKÖNEN, S.; ILMONIEMI R. J.. The effect of stimulus intensity on brain responses evoked by transcranial magnetic stimulation. **Human Brain Mapping**, v. 21, p. 154–164, fev. 2004.

KOMSSI, S.; KÄHKÖNEN, S. The novelty value of the combined use of electroencephalography and transcranial magnetic stimulation for neuroscience research. **Brain Research Reviews**, v. 52, n. 1, p. 183–192, ago. 2006.

KORHONEN, R. J. et al. Removal of large muscle artifacts from transcranial magnetic stimulation-evoked EEG by independent component analysis. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 49, n. 4, p. 397–407, abr. 2011.

KORN, H.; FAURE, P. Is there chaos in the brain? II. Experimental evidence and related models. **Comptes Rendus Biologies**, v. 326, n. 9, p. 787–840, set. 2003.

KOZYREV, V.; EYSEL, U. T.; JANCKE, D. Voltage-sensitive dye imaging of transcranial magnetic stimulation-induced intracortical dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 37, p. 13553–13558, 16 set. 2014.

KRASTEVA, V. T.; PAPAZOV, S. P.; DASKALOV, I. K. Magnetic stimulation for non-homogeneous biological structures. **Biomedical engineering online**, v. 1, n. 1, p. 3, 2002.

KRASTEVA, V. T. Z.; PAPAZOV, S. P.; DASKALOV, I. K. Peripheral nerve magnetic stimulation: influence of tissue non-homogeneity. **Biomedical Engineering Online**, v. 2, p. 19, 23 dez. 2003.

KRINGS, T. et al. Introducing navigated transcranial magnetic stimulation as a refined brain mapping methodology. **Neurosurgical Review**, v. 24, n. 4-6, p. 171–179, dez. 2001.

KRISHNAN, C. et al. Safety of Noninvasive Brain Stimulation in Children and Adolescents. **Brain Stimulation**, v. 8, n. 1, p. 76–87, jan. 2015.

LANTZ, G. et al. Epileptic source localization with high density EEG: how many electrodes are needed? **Clinical neurophysiology**, v. 114, n. 1, p. 63–69, 2003.

LARGUS, S. **Scribonii Largi De compositione medicamentorum liber vnus, antehac nusquam excusus, Ioanne Ruellio ... castigatore. [S.I.]**. Simon Siluius, 1528. 89p.

LEHMANN, D.; SKRANDIES, W. Reference-free identification of components of checkerboard-evoked multichannel potential fields. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 48, n. 6, p. 609–621, jun. 1980.

LEHMANN, D.; MICHEL, C. M. EEG-defined functional microstates as basic building blocks of mental processes. **Clinical Neurophysiology**, v. 122, n. 6, p. 1073–1074, jun. 2011.

LEVIT-BINNUN, N. et al. Differences in TMS-evoked responses between schizophrenia patients and healthy controls can be observed without a dedicated EEG system. **Clinical Neurophysiology**, v. 121, n. 3, p. 332–339, mar. 2010.

LEVY, W. J. Effect of epoch length on power spectrum analysis of the EEG. **Anesthesiology**, v. 66, n. 4, p. 489–495, abr. 1987.

LIN, K.-L.; PASCUAL-LEONE, A. Transcranial magnetic stimulation and its applications in children. **Chang Gung Medical Journal**, v. 25, n. 7, p. 424–436, jul. 2002.

LIOUMIS, P. et al. Reproducibility of TMS-Evoked EEG responses. **Human Brain Mapping**, v. 30, n. 4, p. 1387–1396, abr. 2009.

LISANBY, S. H.; KINNUNEN, L. H.; CRUPAIN, M. J. Applications of TMS to therapy in psychiatry. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 19, n. 4, p. 344–360, 2002.

LITVAK, V. et al. Artifact correction and source analysis of early electroencephalographic responses evoked by transcranial magnetic stimulation over primary motor cortex. **NeuroImage**, v. 37, n. 1, p. 56–70, ago. 2007.

LOPES DA SILVA, F. H.; VAN ROTTERDAM, A. "Biophysical Aspects of EEG and Magnetoencephalogram Generation". In: SCHOMER, D. L.; SILVA, F. H. L. DA (Eds.).

Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 91–110.

LOPES DA SILVA, F. H.. Event related potentials: General aspects of methodology and quantification. In: SCHOMER, D. L.; SILVA, F. H. L. DA (Eds.). **Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields.** [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 923–934.

LOPES DA SILVA, F. H.. EEG analysis: Theory and practice. In: SCHOMER, D. L.; SILVA, F. H. L. DA (Eds.). **Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields.** [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 1147–1177.

LOTZE, M. et al. Comparison of representational maps using functional magnetic resonance imaging and transcranial magnetic stimulation. **Clinical neurophysiology**, v. 114, n. 2, p. 306–312, 2003.

MACHII, K. et al. Safety of rTMS to non-motor cortical areas in healthy participants and patients. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 2, p. 455–471, fev. 2006.

MAGEE, J. C. Dendritic integration of excitatory synaptic input. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 1, n. 3, p. 181–190, dez. 2000.

MagPro X100 With Option, Technical Data. , out. 2007. Disponível em: <<http://www.magventure.com>>

MAKEIG, S. Auditory event-related dynamics of the EEG spectrum and effects of exposure to tones. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 86, n. 4, p. 283–293, abr. 1993.

MAKEIG, S. et al. Blind separation of auditory event-related brain responses into independent components. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 20, p. 10979–10984, 1997.

MÄKI, H.; ILMONIEMI, R. J. Projecting out muscle artifacts from TMS-evoked EEG. **NeuroImage**, v. 54, n. 4, p. 2706–2710, fev. 2011.

MALMIVUO, J.; PLONSEY, R. "Introduction". In: **Bioelectromagnetism: principles and applications of bioelectric and biomagnetic fields.** 1 edition ed. New York: Oxford University Press, 1995a.

MALMIVUO, J.; PLONSEY, R. Magnetic Stimulation of Neural Tissue. In: **Bioelectromagnetism: principles and applications of bioelectric and biomagnetic fields.** 1 edition ed. New York: Oxford University Press, 1995. p. 471–479.

MASSIMINI, M. et al. Breakdown of cortical effective connectivity during sleep. **Science**, v. 309, n. 5744, p. 2228–2232, 30 set. 2005.

MASSIMINI, M. et al. Cortical mechanisms of loss of consciousness: insight from TMS/EEG studies. **Arch Ital Biol**, v. 150, n. 2-3, p. 44–55, 2012.

MASSIMINI, M.; TONONI, G.; HUBER, R. Slow waves, synaptic plasticity and information processing: insights from transcranial magnetic stimulation and high-

density EEG experiments. **European Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 9, p. 1761–1770, maio 2009.

MAXWELL, J. C. A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 155, p. 459–512, 1865.

MATTHEWS, P. B. C. Historical analysis of the neural control of movement from the bedrock of animal experimentation to human studies. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, n. 4, p. 1478–1485, 1 abr. 2004.

MAGVENTURE. MC-B70 Butterfly Coil, 2007. Disponível em: <<http://www.magventure.com>>

MEIJS, J. W.; BOSCH, F. G.; PETERS, M. J.; LOPES DA SILVA, F. H. On the magnetic field distribution generated by a dipolar current source situated in a realistically shaped compartment model of the head. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 66, n. 3, p. 286–298, Março 1987.

MERTON, P. A.; MORTON, H. B. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. **Nature**, v. 285, n. 5762, p. 227, 22 maio 1980.

METSOMAA, J.; SARVAS, J.; ILMONIEMI, R. J. Multi-trial evoked EEG and independent component analysis. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 228, p. 15–26, maio 2014.

MICHEL, C. M. et al. EEG source imaging. **Clinical Neurophysiology**, v. 115, n. 10, p. 2195–2222, out. 2004.

MICHEL, C. M.; HE, B. EEG mapping and source imaging. In: SCHOMER, D. L.; SILVA, F. H. L. DA (Eds.). **Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields**. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 1179–1202.

MIMA, T.; HALLETT, M. Corticomuscular coherence: a review. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 16, n. 6, p. 501, 1999a.

MIMA, T.; HALLETT, M. Electroencephalographic analysis of cortico-muscular coherence: reference effect, volume conduction and generator mechanism. **Clinical Neurophysiology**, v. 110, n. 11, p. 1892–1899, 1999b.

MINIUSSI, C.; THUT, G. Combining TMS and EEG Offers New Prospects in Cognitive Neuroscience. **Brain Topography**, v. 22, n. 4, p. 249–256, jan. 2010.

MINIUSSI, C. et al. “Accessing Cortical Connectivity Using TMS: EEG Co-registration”. In: CHEN, R.; ROTHWELL, J. C. (Eds.). **Cortical Connectivity. Brain Stimulation for Assessing and Modulating Cortical Connectivity and Function**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 93–110.

MIRANDA DE SA, A. M. F. L. A Note on the Sampling Distribution of Coherence Estimate for the Detection of Periodic Signals. **IEEE Signal Processing Letters**, v. 11, n. 3, p. 323–325, mar. 2004.

MIRANDA DE SA, A. M. F. L.; INFANTOSI, A. F. C. A Statistical Test for Evaluating the Event-Related Synchronization/ Desynchronization and its Potential use in Brain-Computer-Interfaces. IV Latin American Congress on Biomedical Engineering 2007, Bioengineering Solutions for Latin America Health. **Anais...** Springer, 2008. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-74471-9_260>. Acesso em: 18 jun. 2015.

MIRANDA DE SA, A. M. F. L. et al. Assessing time-and phase-locked changes in the eeg during sensory stimulation by means of spectral techniques. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7-12, 2009, Munich, Germany. **Anais...** Springer, 2010. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-03882-2_567>. Acesso em: 11 jun. 2015.

MIRANDA, P. C.; HALLETT, M.; BASSER, P. J. The electric field induced in the brain by magnetic stimulation: a 3-d finite-element analysis of the effect of tissue heterogeneity and anisotropy. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 50, n. 9, p. 1074–1085, set. 2003.

MIRANDA, P. C. “Basic Electromagnetism”. In: HALLETT, M.; CHOKROVERTY, S. (Eds.). **Magnetic stimulation in clinical neurophysiology**. 2nd ed ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Butterworth-Heinemann, 2005. p. 1–15.

MONTE-SILVA, K. et al. Induction of Late LTP-Like Plasticity in the Human Motor Cortex by Repeated Non-Invasive Brain Stimulation. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 3, p. 424–432, maio 2013.

MOUNTCASTLE, V. B. The columnar organization of the neocortex. **Brain**, v. 120, n. 4, p. 701–722, 1997.

MORBIDI, F. et al. Off-line removal of TMS-induced artifacts on human electroencephalography by Kalman filter. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 162, n. 1-2, p. 293–302, maio 2007.

MOSHER, J. C.; LEAHY, R. M.; LEWIS, P. S. EEG and MEG: forward solutions for inverse methods. **Biomedical Engineering, IEEE Transactions on**, v. 46, n. 3, p. 245–259, 1999.

MUELLER, J. K. Simultaneous transcranial magnetic stimulation and single-neuron recording in alert non-human primates. **Nature Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 1130–1136, agosto 2014.

MURPHY, S. C. Transcranial magnetic stimulation (TMS) inhibits cortical dendrites. **Elife**. v. 18, n. 5, p. 1-12, Março 2016.

NUMMENMAA, A. et al. Comparison of spherical and realistically shaped boundary element head models for transcranial magnetic stimulation navigation. **Clinical Neurophysiology**, v. 124, n. 10, p. 1995–2007, out. 2013.

OBERMAN, L. et al. Safety of theta burst transcranial magnetic stimulation: a systematic review of the literature. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 28, n. 1, p. 67–74, fev. 2011.

OLDFIELD, R. C. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. **Neuropsychologia**, v. 9, n. 1, p. 97–113, mar. 1971.

OLEJNICZAK, P. Neurophysiologic basis of EEG. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 23, n. 3, p. 186–189, 2006.

OREKHOVA, E. V.; WALLIN, B. G.; HEDSTRÖM, A. Modification of the average reference montage: dynamic average reference. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 19, n. 3, p. 209–218, 2002.

ØRSTED, H. C. Experimenta Circa Effectum Conflictus Eletrici In Acum Magneticam. **Journal für Chemie und Physik**, v. 29, 1820.

PAPAZOV, S. P.; DASKALOV, I. K. Effect of contour shape of nervous system electromagnetic stimulation coils on the induced electrical field distribution. **Biomedical Engineering Online**, v. 1, p. 1, 14 maio 2002.

PARKS, N. A. Concurrent application of TMS and near-infrared optical imaging: methodological considerations and potential artifacts. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 7, 2013.

PARRA, L. C. et al. Recipes for the linear analysis of EEG. **NeuroImage**, v. 28, n. 2, p. 326–341, nov. 2005.

PASCUAL-LEONE, A. et al. Risk of burns during rapid-rate magnetic stimulation in presence of electrodes. **The Lancet**, v. 336, n. 8724, p. 1195–1196, 1990.

PASCUAL-LEONE, A.; WALSH, V.; ROTHWELL, J. Transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience--virtual lesion, chronometry, and functional connectivity. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, n. 2, p. 232–237, abr. 2000.

PASHUT, T. et al. Mechanisms of Magnetic Stimulation of Central Nervous System Neurons. **PLoS Computational Biology**, v. 7, n. 3, p. e1002022, 24 mar. 2011.

PETERCHEV, A. V. et al. Fundamentals of transcranial electric and magnetic stimulation dose: Definition, selection, and reporting practices. **Brain Stimulation**, v. 5, n. 4, p. 435–453, out. 2012.

PETERS, J. C. et al. On the feasibility of concurrent human TMS-EEG-fMRI measurements. **Journal of Neurophysiology**, v. 109, n. 4, p. 1214–1227, 15 fev. 2013.

PETROV, Y. et al. Ultra-dense EEG sampling results in two-fold increase of functional brain information. **NeuroImage**, v. 90, p. 140–145, abr. 2014.

PFURTSCHELLER, G.; ARANIBAR, A. Event-related cortical desynchronization detected by power measurements of scalp EEG. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 42, n. 6, p. 817–826, jun. 1977.

PFURTSCHELLER, G.; ANDREW, C. Event-related changes of band power and coherence: methodology and interpretation. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 16, n. 6, p. 512, 1999.

PFURTSCHELLER, G.; DA SILVA, F. L. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. **Clinical neurophysiology**, v. 110, n. 11, p. 1842–1857, 1999.

PHILIP, N. S.; CARPENTER, S. L.; CARPENTER, L. L. Safe Use of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation in Patients With Implanted Vagus Nerve Stimulators. **Brain Stimulation**, v. 7, n. 4, p. 608–612, jul. 2014.

PICHT, T. “Preoperative transcranial magnetic stimulation: Basic principles for mapping a tumorous primary motor cortex”. In: DUFFAU, HUGUES (Ed.). . **Brain mapping: from neural basis of cognition to surgical applications**. Wien; London: Springer, 2011. p. 241–252.

Plataforma Brasil. Disponível em: <<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/login.jsf>>. Acesso em: 5 nov. 2015.

PLONSEY, R.; HEPNER, D. B. Considerations of quasi-stationarity in electrophysiological systems. **The Bulletin of mathematical biophysics**, v. 29, n. 4, p. 657–664, 1967.

POLSON, M. J.; BARKER, A. T.; FREESTON, I. L. Stimulation of nerve trunks with time-varying magnetic fields. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 20, n. 2, p. 243–244, mar. 1982.

PRIORI, A. et al. Human handedness and asymmetry of the motor cortical silent period. **Experimental Brain Research**, v. 128, n. 3, p. 390–396, out. 1999.

RAMOS, E. G. et al. Detecção da resposta auditiva no EEG de crianças utilizando técnicas no domínio da frequência. **Rev. bras. eng. biomed**, n. 16, p. 127–137., set 2000.

RANTA, R.; MADHU, N. Reference Estimation in EEG: Analysis of Equivalent Approaches. **IEEE Signal Processing Letters**, v. 19, n. 1, p. 12–15, jan. 2012.

RAVAZZANI, P. et al. Magnetic stimulation of the nervous system: induced electric field in unbounded, semi-infinite, spherical, and cylindrical media. **Annals of biomedical engineering**, v. 24, n. 5, p. 606–616, 1996.

Rede SARAH. Disponível em: <<http://www.sarah.br/a-rede-SARAH/>>. Acesso em: 1 jul. 2016.

REID, C. S.; SERRIEN, D. J. Handedness and the excitability of cortical inhibitory circuits. **Behavioural Brain Research**, v. 230, n. 1, p. 144–148, abr. 2012.

REIS, J. et al. Contribution of transcranial magnetic stimulation to the understanding of cortical mechanisms involved in motor control: TMS and motor control. **The Journal of Physiology**, v. 586, n. 2, p. 325–351, 15 jan. 2008a.

REIS, J. et al. Consensus: Can transcranial direct current stimulation and transcranial magnetic stimulation enhance motor learning and memory formation? **Brain Stimulation**, v. 1, n. 4, p. 363–369, out. 2008b.

- ROGASCH, N. C. et al. Short-Latency Artifacts Associated with Concurrent TMS–EEG. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 6, p. 868–876, nov. 2013.
- ROGASCH, N. C. et al. Removing artefacts from TMS-EEG recordings using independent component analysis: Importance for assessing prefrontal and motor cortex network properties. **NeuroImage**, v. 101, p. 425–439, nov. 2014.
- ROGASCH, N. C.; FITZGERALD, P. B. Assessing cortical network properties using TMS-EEG. **Human Brain Mapping**, v. 34, n. 7, p. 1652–1669, jul. 2013.
- ROMEO, S. et al. Cortical excitability in patients with essential tremor. **Muscle & Nerve**, v. 21, n. 10, p. 1304–1308, out. 1998.
- ROSANOVA, M. et al. Natural Frequencies of Human Corticothalamic Circuits. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 24, p. 7679–7685, 17 jun. 2009.
- ROSSI, S. et al. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. **Clinical Neurophysiology**, v. 120, n. 12, p. 2008–2039, dez. 2009.
- ROSSINI, P. M. et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. **Clinical Neurophysiology**, 10 fev. 2015.
- ROTEM, A.; MOSES, E. Magnetic Stimulation of One-Dimensional Neuronal Cultures. **Biophysical Journal**, v. 94, n. 12, p. 5065–5078, jun. 2008.
- ROTEM, A. et al. Solving the Orientation Specific Constraints in Transcranial Magnetic Stimulation by Rotating Fields. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e86794, 5 fev. 2014.
- ROTH, B. J. et al. The heating of metal electrodes during rapid-rate magnetic stimulation: a possible safety hazard. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 85, n. 2, p. 116–123, abr. 1992.
- ROTH, B. J.; BASSER, P. J. A model of the stimulation of a nerve fiber by electromagnetic induction. **Biomedical Engineering, IEEE Transactions on**, v. 37, n. 6, p. 588–597, 1990.
- ROTHWELL, J. C. et al. Stimulation of the human motor cortex through the scalp. **Experimental Physiology**, v. 76, n. 2, p. 159–200, mar. 1991.
- ROTH, Y.; ZANGEN, A.; HALLETT, M. A coil design for transcranial magnetic stimulation of deep brain regions. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 19, n. 4, p. 361–370, ago. 2002.
- RUOHONEN, J.; ILMONIEMI, R. J. “Basic Physics and Design of Transcranial Magnetic Stimulation Devices and Coil”. In: HALLETT, M.; CHOKROVERTY, S. (Eds.). **Magnetic stimulation in clinical neurophysiology**. 2nd ed ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Butterworth-Heinemann, 2005. p. 1–15.

SÄISÄNEN, L. et al. Motor potentials evoked by navigated transcranial magnetic stimulation in healthy subjects. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 25, n. 6, p. 367–372, 2008a.

SALVADOR, R. et al. Determining which mechanisms lead to activation in the motor cortex: A modeling study of transcranial magnetic stimulation using realistic stimulus waveforms and sulcal geometry. **Clinical Neurophysiology**, v. 122, n. 4, p. 748–758, abr. 2011.

SARFELD, A.-S. et al. Convergence of human brain mapping tools: Neuronavigated TMS Parameters and fMRI activity in the hand motor area. **Human Brain Mapping**, v. 33, n. 5, p. 1107–1123, maio 2012.

SAYERS, B. M.; BEAGLEY, H. A.; HENSHALL, W. R. The Mechanism of Auditory Evoked EEG Responses. **Nature**, v. 247, n. 5441, p. 481–483, 15 fev. 1974.

SCHERG, M. Functional imaging and localization of electromagnetic brain activity. **Brain Topography**, v. 5, n. 2, p. 103–111, 1992.

SCHIEBER, M. H. New views of the primary motor cortex. **The Neuroscientist**, v. 6, n. 5, p. 380–389, 2000.

SCHIEBER, M. H. Constraints on somatotopic organization in the primary motor cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 86, n. 5, p. 2125–2143, nov. 2001.

SCHMIDT, S. et al. Nonphysiological factors in navigated TMS studies; Confounding covariates and valid intracortical estimates: Physical Parameters in nTMS, Variance and Validity. **Human Brain Mapping**, v. 36, n. 1, p. 40–49, jan. 2015.

SCHOMER, D. .; LOPES DA SILVA, F. (EDS.). **Niedermeyer's Electroencephalography Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields**. 6th. ed. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

SCHULZE-BONHAGE, A. et al. Safety of single and repetitive focal transcranial magnetic stimuli as assessed by intracranial EEG recordings in patients with partial epilepsy. **Journal of Neurology**, v. 246, n. 10, p. 914–919, out. 1999.

SCHUTTER, D. J. L. G.; HORTENSIUS, R. Brain oscillations and frequency-dependent modulation of cortical excitability. **Brain Stimulation**, v. 4, n. 2, p. 97–103, abr. 2011.

SEKIGUCHI, H. et al. TMS-induced artifacts on EEG can be reduced by rearrangement of the electrode's lead wire before recording. **Clinical Neurophysiology**, v. 122, n. 5, p. 984–990, maio 2011.

SHUMWAY, R. H.; STOFFER, D. S. **Time Series Analysis and Its Applications**. New York, NY: Springer New York, 2011.

SIEBNER, H. R. et al. Consensus paper: Combining transcranial stimulation with neuroimaging. **Brain Stimulation**, v. 2, n. 2, p. 58–80, abr. 2009.

SILBERT, L. et al. Cortical excitability and age-related volumetric MRI changes. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 5, p. 1029–1036, maio 2006.

SILVA, S.; BASSER, P. J.; MIRANDA, P. C. Elucidating the mechanisms and loci of neuronal excitation by transcranial magnetic stimulation using a finite element model of a cortical sulcus. **Clinical Neurophysiology**, v. 119, n. 10, p. 2405–2413, out. 2008.

SIMPSON, D. M. et al. Objective response detection in an electroencephalogram during somatosensory stimulation. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 28, n. 6, p. 691–698, 2000.

SOMMER, M. et al. Half sine, monophasic and biphasic transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 4, p. 838–844, abr. 2006.

SONGA, J. et al. Evaluating an empirical Bayesian source estimation method with dense array EEG and a realistic head model. **International Journal of Bioelectromagnetism**, v. 8, n. 1, p. 167–172, 2006.

SPARING, R. et al. Transcranial magnetic stimulation and the challenge of coil placement: A comparison of conventional and stereotaxic neuronavigational strategies. **Human Brain Mapping**, v. 29, n. 1, p. 82–96, jan. 2008.

SPIESER, L.; MEZIANE, H. B.; BONNARD, M. Cortical mechanisms underlying stretch reflex adaptation to intention: A combined EEG–TMS study. **NeuroImage**, v. 52, n. 1, p. 316–325, ago. 2010.

SRINIVASAN, R.; TUCKER, D. M.; MURIAS, M. Estimating the spatial Nyquist of the human EEG. **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 30, n. 1, p. 8–19, 1998.

STAM, C. J. Nonlinear dynamical analysis of EEG and MEG: Review of an emerging field. **Clinical Neurophysiology**, v. 116, n. 10, p. 2266–2301, out. 2005.

STOKES, M. G. et al. Biophysical determinants of transcranial magnetic stimulation: effects of excitability and depth of targeted area. **Journal of Neurophysiology**, v. 109, n. 2, p. 437–444, 15 jan. 2013.

TAYLOR, P. C. J.; THUT, G. Brain activity underlying visual perception and attention as inferred from TMS–EEG: A review. **Brain Stimulation**, v. 5, n. 2, p. 124–129, abr. 2012.

TAYLOR, P. C. J.; WALSH, V.; EIMER, M. Combining TMS and EEG to study cognitive function and cortico–cortico interactions. **Behavioural Brain Research**, v. 191, n. 2, p. 141–147, ago. 2008.

TER BRAACK, E. M.; DE JONGE, B.; VAN PUTTEN, M. J. A. M. Reduction of TMS Induced Artifacts in EEG Using Principal Component Analysis. **IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering**, v. 21, n. 3, p. 376–382, maio 2013.

TER BRAACK, E. M.; DE VOS, C. C.; VAN PUTTEN, M. J. A. M. Masking the Auditory Evoked Potential in TMS–EEG: A Comparison of Various Methods. **Brain Topography**, v. 28, n. 3, p. 520–528, maio 2015.

THIELSCHER, A. et al. The Cortical Site of Visual Suppression by Transcranial Magnetic Stimulation. **Cerebral Cortex**, v. 20, n. 2, p. 328–338, 1 fev. 2010.

THIELSCHER, A.; KAMMER, T. Linking Physics with Physiology in TMS: A Sphere Field Model to Determine the Cortical Stimulation Site in TMS. **NeuroImage**, v. 17, n. 3, p. 1117–1130, nov. 2002.

THIELSCHER, A.; KAMMER, T. Electric field properties of two commercial figure-8 coils in TMS: calculation of focality and efficiency. **Clinical Neurophysiology**, v. 115, n. 7, p. 1697–1708, jul. 2004.

THIELSCHER, A.; OPITZ, A.; WINDHOFF, M. Impact of the gyral geometry on the electric field induced by transcranial magnetic stimulation. **NeuroImage**, v. 54, n. 1, p. 234–243, jan. 2011.

THOMPSON, S. P. A Physiological Effect of an Alternating Magnetic Field. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 82, n. 557, p. 396–398, 21 jul. 1910.

THOMSON, R. H. et al. Blood oxygenation changes resulting from suprathreshold transcranial magnetic stimulation. **Brain Stimulation**, v. 4, n. 3, p. 165–168, jul. 2011.

THUT, G. et al. Effects of single-pulse transcranial magnetic stimulation (TMS) on functional brain activity: a combined event-related TMS and evoked potential study. **Clinical Neurophysiology**, v. 114, n. 11, p. 2071–2080, nov. 2003.

THUT, G. et al. A new device and protocol for combining TMS and online recordings of EEG and evoked potentials. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 141, n. 2, p. 207–217, fev. 2005.

THUT, G.; MINIUSI, C. New insights into rhythmic brain activity from TMS–EEG studies. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 13, n. 4, p. 182–189, abr. 2009.

TRAAD, M. et al. Model for calculating the magnetic field and the current density in the vicinity of a hemitoroidal coil for transcranial magnetic stimulation Engineering in Medicine and Biology Society, 1989. Images of the Twenty-First Century., Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in. **Anais... IEEE**, 1989. Disponível em: <http://ieeexplore.ieee.org/xpls/abs_all.jsp?arnumber=95699>. Acesso em: 24 maio. 2015.

TREJO, L. J.; SHENSA, M. J. Feature extraction of event-related potentials using wavelets: an application to human performance monitoring. **Brain and Language**, v. 66, n. 1, p. 89–107, jan. 1999.

TRIGGS, W. J.; SUBRAMANIAM, B.; ROSSI, F. Hand preference and transcranial magnetic stimulation asymmetry of cortical motor representation. **Brain Research**, v. 835, n. 2, p. 324–329, 24 jul. 1999.

TUCKER, D. M. Spatial sampling of head electrical fields: the geodesic sensor net. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 87, n. 3, p. 154–163, set. 1993.

USAkli, A. B. Improvement of EEG Signal Acquisition: An Electrical Aspect for State of the Art of Front End. **Computational Intelligence and Neuroscience**, v. 2010, p. 1–7, 2010.

UTANEN, T.; MÄKI, H.; ILMONIEMI, R. J. The Effect of Stimulus Parameters on TMS–EEG Muscle Artifacts. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 3, p. 371–376, maio 2013.

VAN DEN BERG, F. E.; SWINNEN, S. P.; WENDEROTH, N. Involvement of the primary motor cortex in controlling movements executed with the ipsilateral hand differs between left-and right-handers. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 23, n. 11, p. 3456–3469, 2011.

VAN DE VILLE, D.; BRITZ, J.; MICHEL, C. M. EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 42, p. 18179–18184, 19 out. 2010.

VAN DOREN, J.; LANGGUTH, B.; SCHECKLMANN, M. TMS-related potentials and artifacts in combined TMS-EEG measurements: Comparison of three different TMS devices. **Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology**, abr. 2015.

VARELA, F. et al. The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 2, n. 4, p. 229–239, abr. 2001.

VASEGHI, S. G. Single-Input/Output Relationships. In: **Advanced digital signal processing and noise reduction**. 4a. ed, NJ: Wiley, 2008. p. 3–5.

VENIERO, D. et al. Alpha-generation as basic response-signature to transcranial magnetic stimulation (TMS) targeting the human resting motor cortex: A TMS/EEG co-registration study: Alpha-generation as response-signature to TMS. **Psychophysiology**, v. 48, n. 10, p. 1381–1389, out. 2011.

VENIERO, D.; BORTOLETTO, M.; MINIUSSI, C. TMS-EEG co-registration: On TMS-induced artifact. **Clinical Neurophysiology**, v. 120, n. 7, p. 1392–1399, jul. 2009.

VIRTANEN, J. **EEG combined with MEG and TMS in studies of human brain function**. Dissertação—Espoo: Universidade de Tecnologia de Helsinki, 1998.

VIRTANEN, J. et al. Instrumentation for the measurement of electric brain responses to transcranial magnetic stimulation. **Medical & biological engineering & computing**, v. 37, n. 3, p. 322–326, 1999.

VOLKMANN, J. et al. Handedness and asymmetry of hand representation in human motor cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 79, n. 4, p. 2149–2154, abr. 1998.

VOLZ, L. J. et al. Dose-Dependence of Changes in Cortical Protein Expression Induced with Repeated Transcranial Magnetic Theta-Burst Stimulation in the Rat. **Brain Stimulation**, v. 6, n. 4, p. 598–606, jul. 2013.

WARD, N. Assessment of cortical reorganisation for hand function after stroke. **The Journal of Physiology**, v. 589, n. 23, p. 5625–5632, 1 dez. 2011.

WASSERMANN, E. M. et al. Topography of the inhibitory and excitatory responses to transcranial magnetic stimulation in a hand muscle. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 89, n. 6, p. 424–433, dez. 1993.

WASSERMANN, E. M. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of

Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996.
Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, v. 108, n. 1, p. 1–16, jan.
1998.

WOLPAW, J. R. et al. Brain–computer interfaces for communication and control.
Clinical Neurophysiology, v. 113, n. 6, p. 767–791, 2002.

9 CAPÍTULO - ANEXOS

9.1 Questionário aos voluntários

Identificação: _____

INICIAIS DO NOME: _____

SEXO: M () F ().

NASCIMENTO: __/__/____

LADO DOMINANTE: ().

ESTATURA: () cm

PESO: () Kg

ESCOLARIDADE: () até o 1º grau; () até o 2º grau; () até o 3º grau; ()
pós-graduação

PROFISSÃO:

Histórico de doenças

Já apresentou ou apresenta alguns dos abaixo?

- Meningite ()
- Traumatismo craniano ou medular ()
- Aneurisma cerebral ()
- Cirurgia craniana ()
- Ferimento por arma de fogo ()
- Perda súbita da visão ()
- Hidrocefalia ()

Já possuiu ou possui alguns dos abaixo?

- Objeto de metal no corpo ()
- Válvula de derivação ventricular ()
- Marca-passo ()

Questões direcionadas

- Faz uso de medicamentos? ()

Queixa- se de alguns dos abaixo?

- Fraqueza ()
- Dormência ()
- Queimação ()
- Anestesia ()
- Falta de coordenação ()
- Dificuldade para urinar ou segura a urina ()
- Hipertensão arterial sistêmica? () ____ x ____ mmHg

9.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Introdução

Leia as informações abaixo com atenção e calma.

Sua participação não é obrigatória. Você poderá também se recusar a fornecer o seu consentimento a qualquer momento, mesmo após já tê-lo dado e já ter participado da pesquisa. Caso você concorde com a importância da pesquisa e aceite participar do estudo, assine este termo, pois é uma exigência do Comitê de Ética e Pesquisa local e do Conselho Nacional de Saúde. Uma cópia ficará com você e outra será arquivada com os dados da pesquisa. Os seus dados serão sempre tratados com todo sigilo e confidencialidade.

Informações

Título do projeto de pesquisa: “PROCESSAMENTO DE SINAIS DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DURANTE A ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA”.

A Estimulação Magnética Transcraniana é um método de ativação do sistema nervoso, utilizada para testar o funcionamento dos nervos que comandam nossa movimentação. Estimula-se o cérebro com um ímã e mede-se a resposta de um músculo (exemplo: contração muscular).

O Eletroencefalograma é usado para medir a atividade e o funcionamento dos nervos no cérebro.

Procedimentos

Participantes como você serão recrutados entre os funcionários da Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação. Após consentirem, serão submetidos a um exame médico e responderão a um questionário. A seguir, realizarão o Eletroencefalograma de alta resolução associado à Estimulação Magnética Transcraniana.

Durante o Eletroencefalograma será preciso apenas usar uma touca com vários sensores e observar o gráfico da atividade cerebral. Para a estimulação

magnética do cérebro, basta encostar um ímã em forma de placa na cabeça. Quando o ímã for ligado, será ouvido um clique e seus músculos se ativarão rapidamente como um susto.

Todo o procedimento, desde o preparo até a realização da estimulação e registro, terá duração de cerca de uma hora e será realizado pelo autor do projeto.

Justificativa

A Estimulação Magnética Transcraniana já é utilizada na medicina como método de diagnóstico de pacientes há 30 anos. Porém, essa técnica produz muitas outras informações que ainda não estão com a sua utilidade totalmente definida e que, portanto, ainda não estão sendo totalmente aproveitadas. Por isso é tão importante realizar estudos que vão contribuir com informações e avançar no conhecimento da técnica.

Objetivos

Processar matematicamente os gráficos dos exames para entender os efeitos da Estimulação Magnética Transcraniana sobre o cérebro e definir melhor os efeitos musculares da ativação cerebral.

Desconfortos e riscos

O exame é indolor. A sensação é como se fosse um susto. Não há complicações ou efeitos posteriores.

Benefícios

Mais conhecimentos sobre a Estimulação Magnética Transcraniana permitirão ajudar mais pacientes com lesões neurológicas.

Ressarcimento e Indenizações

Não haverá remuneração pela colaboração com a pesquisa. Também não será cobrado nenhum valor do voluntário pelos exames realizados.

Para o caso de dúvidas ou saber sobre os dados encontrados, favor entrar em contato com o autor e responsável pelo projeto.

Caso algum voluntário sinta-se mal durante ou após o procedimento, procurar o responsável abaixo. Em caso de intercorrências, o médico de referência do dia será acionado para “Atendimento Imediato”.

Dr. Alexandre Cardozo de Almeida, Departamento de Neurofisiologia Clínica,
ramal 7333.

SARAH-RIO, Av. Embaixador Abelardo Bueno, Nº 1.500, Barra Da Tijuca, CEP
22775-040 – Rio de Janeiro – RJ.

Assinatura

NOME: _____

Entendi e concordo em participar da pesquisa.

Rio de Janeiro, 14/10/2012.