UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À
MEDICINA E BIOLOGIA

VICTOR HUGO DE OLIVEIRA E SOUZA

**Avaliação dos Efeitos da Orientação da Bobina de Estimulação Magnética
Transcraniana nos Potenciais Evocados Motores do Músculo Abductor Curto do Polegar
por Eletromiografia de Alta Densidade**

Ribeirão Preto – SP

Janeiro de 2014

VICTOR HUGO DE OLIVEIRA E SOUZA

**Avaliação dos Efeitos da Orientação da Bobina de Estimulação Magnética
Transcraniana nos Potenciais Evocados Motores do Músculo Abdutor Curto do Polegar
por Eletromiografia de Alta Densidade**

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Área de Concentração:
Física Aplicada à Medicina e Biologia.

Orientador:
Prof. Dr. Oswaldo Baffa Filho

Ribeirão Preto – SP

Janeiro de 2014

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Souza, Victor Hugo de Oliveira e

Avaliação dos Efeitos da Orientação da Bobina de Estimulação Magnética Transcraniana nos Potenciais Evocados Motores do Músculo Abdutor Curto do Polegar por Eletromiografia de Alta Densidade / Victor Hugo de Oliveira e Souza; Prof. Dr. Oswaldo Baffa Filho. Ribeirão Preto – SP, 2014.

80 p.: il

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-graduação em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2014.

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Baffa Filho

1. Estimulação Magnética Transcraniana. 2. Eletromiografia de Superfície de Alta Densidade. 3. Neuronavegação. 4. Potencial evocado motor. 5. Orientação da bobina.

Ao meu pai Alcione, minha mãe Irani

e minha irmã Lud!

Agradecimentos

Chegar ao final desta dissertação seria inimaginável sem que centenas de pessoas caminhassem ao meu lado, longe de mim ou contra mim.

Agradeço em primeiro lugar aos meus orientadores prof. Baffa e André por esses seis anos acreditando na minha capacidade, me orientando e me trazendo experiências profissionais de físicos cientistas que eu ainda quero ser.

Agradeço ao meu pai Alcione Jr. e à minha mãe Irani, que dedicaram suas vidas para que eu pudesse estar aqui hoje e sempre foram aqueles em que tentei seguir os passos. Agradeço à minha irmã Lud pelo amor e companheirismo sempre.

Agradeço ao André-lito novamente, mas como meu irmão mais velho em Ribeirão Preto, me guiando e me ajudando a formar como pessoa.

Agradeço muito ao Marquinho e ao Taian pela confiança no meu trabalho e pelas infinitas discussões, pois sem vocês esse projeto não teria sido tão prazeroso e produtivo.

Agradeço aos meus irmãos de criação: Branco, Chokito, Pedraum, Renato Dorado, Renato Schwambach, Silei, Victôr e Zozo pela amizade em todos os momentos da vida.

Aos toscos Cueio, Rasc, Mastão, Okuta, Tosco, Bixão, David, Genaro, Murça e Apache por fazerem da Rep. Tosca minha segunda família. E também aos moradores da Rep. Gruta pela amizade nestes sete anos que se passaram.

A TODOS os meus amigos de Ribeirão, por esses anos intensos de muita coisa boa! Em especial ao Timão e ao Psy.

Agradeço à Alê por todo o amor, carinho e incentivo pessoal e profissional!

Agradeço ao pessoal do Rio de Janeiro pela recepção sem igual durante meus experimentos, em especial à prof. Cláudia (Tita), Thiagão, Thiago Arruda, Magal e aos voluntários que dedicaram seu tempo a este projeto.

Agradeço ao técnico Lourenço por transformar água em vinho no laboratório.

Aos meus queridos amigos da Biomag, em especial ao Didi e ao Ajinomoto pela amizade, convívio e contribuições enormes aos trabalhos do laboratório.

Aos colegas de equipe do Handebol Filô, que nas vitórias e derrotas sempre me proporcionaram bons momentos.

Aos amigos colaboradores de Campinas, Dr. Jorge Vicente, Thiago e Paulo pelo trabalho conjunto e paciência em me ajudar com a programação do neuronavegador.

Agradeço à minha gigantesca família por ser a mais família de todas as famílias, especialmente Vó Lucília, Vô Alcione (em memória), Vó Maria e Vô Vicente! Aos tios e primaida!

Agradeço à Atlética Filô pelas experiências e ensinamentos de trabalho em grupo.

Agradeço à brilhante Atlética XXIX de Fevereiro pela amizade de todos.

Agradeço ao prof. Risto e ao dr. Julio Pavón, por tornarem possível minha participação na escola de verão em TMS-EEG que foi sem dúvida uma experiência profissional inesquecível. Aos demais participantes do curso pelo conhecimento compartilhado!

Agradeço ao prof. Merletti, ao dr. Alberto Botter e aos demais integrantes do LISiN em Turim, por me receberem tão generosamente e proporcionarem uma experiência muito valiosa.

Agradeço a todos os docentes e funcionários do Departamento de Física pelos serviços prestados à educação e à ciência do nosso país, em especial à Nilza e ao Ricardo que muito me ajudaram com a burocracia.

Agradeço às agências de fomento FAPESP, CAPES, CNPq e também à Pró-reitoria de pós-graduação pelo apoio financeiro.

Agradeço aos membros da banca por aceitarem o convite e contribuírem para conclusão desta etapa profissional.

Resumo

SOUZA, V. H. O. Avaliação dos Efeitos da Orientação da Bobina de Estimulação Magnética Transcraniana nos Potenciais Evocados Motores do Músculo Abductor Curto do Polegar por Eletromiografia de Alta Densidade. 2014. 80 p. Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-graduação em Física aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto - SP, 2014.

A estimulação magnética transcraniana (EMT) aplicada com diferentes orientações da bobina causa variações na amplitude e na latência dos potenciais evocados motores (PEM) dos músculos da mão. No entanto, as propriedades dos PEM são afetadas também pelos sistemas de detecção, e.g. localização e tamanho dos eletrodos de aquisição, e pela anatomia do músculo analisado, e.g. arquitetura dos tecidos muscular e adiposo. Neste estudo, verificamos como variam a distribuição espacial, a amplitude pico a pico, a latência, a velocidade de condução da fibra muscular e a frequência mediana do espectro de potência dos PEM em função da orientação da bobina de EMT. Utilizamos uma matriz bidimensional de eletrodos de superfície (grade com 13 linhas e 5 colunas) para aquisição do sinal de eletromiografia de superfície (EMGs) do músculo abductor curto do polegar (ACP) em oito orientações da bobina de EMT em relação à linha sagital, que conecta o ínio ao nácio. Duas abordagens distintas foram adotadas para comparação da amplitude em função da orientação da bobina: na primeira abordagem, calculamos a amplitude pico a pico média dos PEM compreendidos em uma região ativa do músculo localizada espacialmente a partir da matriz de EMGs, na segunda abordagem extraímos a amplitude do PEM no sinal diferencial de dois grupos de eletrodos simulando um sistema de EMGs em configuração bipolar, comumente utilizado nos procedimentos em EMT. Em ambos os métodos, identificamos amplitudes máximas para orientações da bobina em ângulos de 45° e 90°, corroborando os achados da literatura. A latência, frequência mediana e velocidade de condução dos PEM não apresentaram variações significativas com a orientação da bobina. Os mapas de distribuição espacial dos PEM indicam uma atividade muscular localizada na porção distal do músculo ACP para todos os ângulos de aplicação da EMT, demonstrando que os eletrodos convencionais de EMGs podem não estar idealmente localizados sobre a região do músculo ativada pela EMT. Por fim, identificamos que um sistema de neuronavegação pode facilitar a localização da estrutura cerebral a ser estimulada e aumentar a precisão no posicionamento da bobina. Adicionamos uma ferramenta para cálculo da orientação da bobina em função da linha sagital média de cada sujeito ao neuronavegador InVesalius Navigator, a ser utilizado nos próximos experimentos.

Palavras-chave: 1. Estimulação magnética transcraniana. 2. Eletromiografia de superfície de alta densidade. 3. Neuronavegação. 4. Potencial evocado motor. 5. Orientação da bobina.

Abstract

SOUZA, V. H. O. Evaluation of the Effects of Transcranial Magnetic Stimulation Coil Orientation on Motor Evoked Potentials of *Abductor Pollicis Brevis* by High Density Electromyography. 2014. 80 p. Thesis (M.Sc. – Postgraduate Program in Physics Applied to Medicine and Biology) – Faculty of Philosophy, Sciences and Literature of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Ribeirão Preto - SP, 2014.

Transcranial magnetic stimulation (TMS) pulses with different coil orientations causes changes in amplitudes and latencies of motor evoked potentials (MEP) in muscles of the hand. Nonetheless, the properties of MEP are also affected by the systems of detection, e.g. placement and size of acquisition electrodes; and by the target muscle anatomy, e.g. architecture of fat and muscles tissues. In this study, we assessed the effect of TMS coil orientation on MEP spatial distribution, peak-to-peak amplitude, latency, conduction velocity of muscle fiber and median frequency, from the *abductor pollicis brevis* (APB) muscle. A grid of electrodes (13 lines and 5 columns) was used to detect the surface electromyography (sEMG) signals from the APB at eight different TMS coil orientations in respect to the midsagittal line, connecting the *inion* and *nasium*. Two distinct approaches were adopted to compare the amplitude according to the coil orientation: first, we calculated the mean amplitude of MEP in the electrodes of the matrix over an active region of the muscle. Second, we extracted the amplitude of MEP in a single differential signal from two groups of matrix electrodes simulating a conventional sEMG bipolar configuration, commonly used in TMS experiments. In both cases, the maximum MEP amplitudes were induced at coil orientations of 45° and 90°, confirming the past findings in literature. However, we could not identify significant differences in latency, median frequency and conduction velocity of MEP according to different stimulus orientation. Maps of spatial distribution showed a localized muscle activity at the distal portion of the APB muscle for all the coil orientations, indicating that conventional bipolar sEMG electrodes may not be rightly placed over the active portion of the muscle recruited by TMS. Finally, we considered that a neuronavigation system could facilitate the localization of brain internal structures to apply TMS stimulus and improve the accuracy of coil handling and positioning over the stimulation point. Thereafter, we developed a computational tool to the InVesalius Navigator, to track the TMS coil position and orientation in respect to the subjects' midsagittal line to be used in future experiments.

Key-words: 1. Transcranial magnetic stimulation. 2. High density surface electromyography. 3. Neuronavigation. 4. Motor evoked potentials. 5. Coil orientation.

Lista de Figuras

- Figura 1 – Representação dos pontos de referência utilizados para o cálculo da orientação da bobina em relação à linha sagital média do sujeito no InVesalius Navigator.33
- Figura 2 – Orientações da bobina de EMT sobre o *hot-spot* e localização da matriz de EMGs para aquisição dos PEM. (A) Representação das orientações da bobina de EMT sobre a cabeça do sujeito em relação à linha sagital média. A seta indica a orientação da corrente fluindo na bobina. (B) Esquema do posicionamento da matriz de eletrodos sobre o músculo ACP. A coluna central da matriz de eletrodos foi alinhada ao tubérculo do escafoide e à base da falange proximal do polegar. As áreas destacadas em verde (1 e 2), indicam os eletrodos cujos sinais de EMGs foram utilizados para simular um sistema em configuração bipolar clássica de dois eletrodos de dimensão 1 x 9,6 x 1,5 mm e distância intereletrodos de 4,8 mm.41
- Figura 3 – PEM adquiridos por EMGs na orientação de 45° da bobina de EMT sobre o hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. (A) Representação espacial e temporal dos PEM adquiridos para cada eletrodo na matriz de EMGs (B) Mapa de cores das amplitudes dos PEM. Interpolação por um fator de 8 para visualização. (C) Cluster de eletrodos na região distal da matriz de EMGs, representando região com maior amplitude dos PEM.43
- Figura 4 – Esquemas dos eletrodos utilizados para cálculo da latência e velocidade de condução dos PEM. (A) Extraímos a latência média dos PEM nos eletrodos da linha 5 e 9, delimitados pela região em verde, da matriz. (B) A velocidade de condução foi calculada com base da propagação dos PEM nos eletrodos na coluna central da matriz, delimitados pelas regiões em verde.45
- Figura 5 – Tela do InVesalius Navigator durante navegação. A seta azul aponta para o ângulo entre o eixo longitudinal da bobina e linha sagital média da cabeça do sujeito.49
- Figura 6 – Aplicação do método ICP sobre as reconstruções tridimensionais das IRM. A superfície rosa é o objeto na posição original, a superfície verde é a cabeça após aplicação de rotações sucessivas e a malha triangular vermelha representa a superfície original após transformação baseada no método ICP.50
- Figura 7 – Interface de aplicação do refinamento de correção por ICP no InVesalius Navigator. A superfícies fonte está em azul, a superfície alvo em verde e a superfície transformada em rosa. Não há a sobreposição esperada entre a cabeça rosa e a superfície alvo.51
- Figura 8 – Interface gráfica inicial do software MEPHunter. Selecionando as opções MEPHunter HD SC ou MEPHunter HD MC o usuário tem disponível as funções desenvolvidas para processamento do sinal de HDsEMG.52
- Figura 9 – Interface gráfica do MEPHunter HD. A tela possui 61 gráficos para visualização dos PEM de cada eletrodo da matriz de EMGs em uma dada orientação da bobina de EMT. O painel inferior contém os botões, caixas de seleção e caixas de texto para acesso às funções de processamento.53

- Figura 10 – Interface gráfica *MAPVisualization* com (A) representação espacial e temporal dos PEM, (B) mapa de amplitude, (C) gráfico dos clusters de eletrodos e (D) mapa de frequência mediana dos PEM. 54
- Figura 11 – Janela *MEPDetect Angles* que permite a manipulação dos marcadores de pico e dos instantes de início e fim dos PEM. O botão *Outlier* substitui o PEM pela média dos PEM nos oito primeiros eletrodos vizinhos. Esta ferramenta é útil para correção de eletrodos que exibem sinais ruidosos, supostamente por mau contato na pele..... 54
- Figura 12 – Janela *MEPAmplitudes* criada pelo MEPHunter HD MC, contendo os mapas de amplitude pico a pico e RMS, nas oito orientações de aplicação da EMT. É possível visualizar a distribuição espacial da amplitude dos PEM. 55
- Figura 13 – Janela *MEPClusters* criada pelo MEPHunter HD MC com a representação dos clusters de eletrodos em todas as orientações de aplicação da EMT e do conjunto união dos eletrodos presentes nos clusters. Esta visualização permite identificar os eletrodos da matriz que adquiriram PEM de maior amplitude..... 56
- Figura 14 – Janela *MEPLines* criada pelo MEPHunter HD MC para visualização espacial e temporal dos PEM dispostos de acordo com a posição do eletrodo na matriz, nas oito orientações de aplicação da EMT. 56
- Figura 15 – PEM obtidos a partir dos eletrodos simulados e aplicação de EMT no hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. As orientações de 45° e 90° resultaram em PEM com maior amplitude que nas demais. 57
- Figura 16 – Mapas de amplitude dos PEM em cada orientação de aplicação de EMT. Interpolação por um fator de 8 para visualização. As orientações de 45° e 90° apresentam maior amplitude e maior região de ativação muscular em relação às demais. A porção distal do músculo ACP é recrutada com maior intensidade. (A) Mapas do hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. (B) Mapas da média normalizada de todos os sujeitos estimulados. 58
- Figura 17 – Resultado da amplitude média de todos os sujeitos em função da orientação da bobina de EMT nos (A) eletrodos simulados e nos (B) clusters de eletrodos. O (*) indica que a amplitude detectada em 45° e 90° é significativamente maior ($P < 0,05$) que as amplitudes obtidas para orientação da bobina de EMT em 0°, 135°, 180°, 225°, 270° e 315°. Não há diferença significativa entre as amplitudes obtidas para EMT em 45° e 90°. Os resultados da comparação são os mesmos para as duas abordagens de análise da amplitude..... 59
- Figura 18 – Resultado da comparação múltipla da amplitude entre as orientações de posicionamento da bobina de EMT. As orientações que não compartilham uma letra são significativamente diferentes ($P < 0,05$). A amplitude em 45° e 90° é significativamente maior que a amplitude média em 0°, 135°, 180°, 225°, 270° e 135°. Não há diferença entre a amplitude obtida para 45° e 90°. Estes fatos são observados tanto para (A) amplitude dos PEM adquiridos pelos eletrodos simulados em configuração bipolar quanto para (B) amplitude média nos clusters de eletrodos..... 61
- Figura 19 – Mapas de frequência mediana dos PEM em função da orientação da bobina de EMT de um sujeito representativo. Os maiores valores estão concentrados na linha da

matriz abaixo da zona de inervação (linha 8) do músculo ACP, enquanto as menores frequências estão na região entre a zona de inervação e o tendão.....	63
Figura 20 – Resultado da comparação múltipla do tamanho relativo dos clusters em função das orientações da bobina de EMT. Orientações que compartilham a mesma letra não são significativamente diferentes.....	64
Figura 21 – Amplitudes médias normalizadas dos PEM para os (A) eletrodos simulados e os (B) clusters de eletrodos. A bobina orientada em 45° e 90°, em qualquer dos dois hemisférios gerou PEM com amplitudes máximas. O hemisfério simulado não influencia na relação entre a orientação e as amplitudes dos PEM.....	80

Lista de Siglas

ACP	Abdutor curto do polegar
EMT	Estimulação magnética transcraniana
EMGs	Eletromiografia de superfície
HDsEMG	Eletromiografia de superfície de alta densidade (<i>High density surface electromyography</i>)
ICP	Iterative closest point
IRM	Imagens por ressonância magnética
M1	Córtex motor primário
MEPHunter HD MC	MEPHunter HD Multiple Conditions
MEPHunter HD SC	MEPHunter HD Single Condition
PEM	Potenciais evocados motores
RMS	Raiz quadrática média (<i>Root mean square</i>)

Sumário

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE SIGLAS.....	17
1. PREFÁCIO	21
2. INTRODUÇÃO	23
2.1 Estimulação Magnética Transcraniana	23
2.2 Eletromiografia.....	24
2.3 Neuronavegação	25
2.4 Efeito da Orientação da Bobina nos PEM	26
3. OBJETIVOS E HIPÓTESE	29
3.1 Objetivo Geral	29
3.2 Objetivos Específicos	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais	31
4.1.1 InVesalius Navigator	31
4.1.2 MEPHunter HD	34
4.2 Aplicação de EMT em Voluntários	39
4.2.1 Descrição do Estudo	39
4.2.2 População do Estudo	39
4.2.3 Desenho Experimental.....	39
4.2.4 Equipamentos Utilizados.....	42
4.2.5 Análise dos Dados	42
4.2.6 Análise Estatística	47
5. RESULTADOS	49
5.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais	49
5.1.1 InVesalius Navigator	49
5.1.2 MEPHunter HD	51
5.2 Aplicação de EMT em Voluntários	57

6. DISCUSSÃO.....	65
6.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais	65
6.1.1 InVesalius Navigator.....	65
6.1.2 MEPHunter HD.....	66
6.2 Aplicação de EMT em Voluntários	66
7. CONCLUSÃO.....	71
REFERÊNCIAS.....	73
APÊNDICE A.....	79

1. Prefácio

Esta dissertação é resultado da execução de um projeto de mestrado dedicado ao desenvolvimento de ferramentas computacionais e à compreensão de aspectos metodológicos no uso da estimulação magnética transcraniana (EMT), comumente conhecida pela sigla TMS (do termo em inglês: *Transcranial Magnetic Stimulation*).

As primeiras aplicações modernas da EMT para estimulação cortical de seres humanos foram relatadas por Barker *et al.* (Barker *et al.*, 1985). Desde então, vários estudos têm sido conduzidos na tentativa de compreender os aspectos fisiológicos da interação entre as grandezas físicas e as estruturas cerebrais envolvidas.

Investigações metodológicas vêm demonstrando que existem dependências entre o posicionamento da bobina de estimulação e a resposta elétrica obtida (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992; Guggisberg *et al.*, 2001; Conforto *et al.*, 2004; Balslev *et al.*, 2007; Pell *et al.*, 2011), que tem influencia significativa nos resultados clínicos da técnica.

Os potenciais evocados motores são adquiridos por sistemas convencionais de pares de eletrodos na maioria dos experimentos de EMT. Estes sistemas adquirem a média do sinal gerado por um volume muscular, e por isso nem sempre expressam o padrão de ativação global do músculo (Masuda *et al.*, 1985; Merletti *et al.*, 2010a). Sabendo ainda que, grupos bem definidos de neurônios motores podem controlar regiões musculares discretas, é possível que em diferentes orientações da bobina de EMT regiões corticais distintas estejam sendo estimuladas, e os respectivos potenciais evocados poderão ser identificados localmente num volume muscular (Merletti *et al.*, 2010a).

Utilizamos, portanto, uma matriz bidimensional de eletromiografia de superfície para verificar como as propriedades dos potenciais evocados sobre os músculos da eminência tenar variam conforme a orientação da bobina de estimulação.

A aplicação de EMT sobre o córtex motor primário estimula diferentes grupamentos musculares responsáveis por um determinado movimento. Neste estudo, recrutamos o movimento de abdução do polegar, e por isso, posicionamos os eletrodos de aquisição sobre o músculo abdutor curto do polegar. Espera-se que assim, os potenciais evocados motores sejam predominantemente originados deste músculo, ao qual é definido como objeto de avaliação.

Analizamos a amplitude pico a pico, a velocidade de condução da fibra muscular e a frequência mediana do espectro de potência dos potenciais evocados motores. A fim de melhorar a fluência da leitura, estas expressões estão referidas no texto somente por amplitude, velocidade de condução e frequência mediana, respectivamente.

2. Introdução

2.1 Estimulação Magnética Transcraniana

A EMT é uma técnica não invasiva de estimulação cerebral, em que pulsos magnéticos intensos e de curta duração são gerados por uma bobina posicionada sobre a cabeça do sujeito. Os pulsos magnéticos induzem campos elétricos no tecido cerebral e são capazes de criar potenciais de ação nos grupamentos de neurônios da superfície cortical. Quando aplicada sobre o córtex motor primário (M1), o potencial de ação induzido pode se propagar pelo trato corticoespinhal atingindo o músculo alvo ao qual a região cerebral está conectada, resultando em contrações das fibras musculares.

A atividade elétrica muscular pode ser detectada por sistemas de eletromiografia. O sinal gerado pela contração das fibras musculares por EMT adquiridas por estes sistemas é denominado potencial evocado motor (PEM). As informações mais comumente extraídas do PEM são amplitude e latência. A amplitude pico-a-pico é utilizada para representar a intensidade do sinal, sendo definida como a diferença entre os valores máximo e mínimo do PEM. A latência é o intervalo de tempo entre a aplicação do pulso de EMT e o início do PEM. Essas duas características são importantes por conterem informações das estruturas corticais, da integridade do trato corticoespinhal e das fibras musculares recrutadas (Kaneko *et al.*, 1996; Kobayashi & Pascual-Leone, 2003; Di Lazzaro *et al.*, 2004).

As aplicações de EMT são inúmeras e abrangem estudos do mapeamento do córtex motor (Levy *et al.*, 1991; Wassermann *et al.*, 1992; Romero *et al.*, 2011), da excitabilidade cortical e corticoespinhal (Kaneko *et al.*, 1996; Kobayashi & Pascual-Leone, 2003; Pell *et al.*, 2011), da plasticidade cortical (Butler & Wolf, 2007) e de tratamentos de doenças neurofisiológicas (George *et al.*, 2000; Rossi *et al.*, 2009).

2.2 Eletromiografia

A eletromiografia é uma técnica utilizada para detectar potenciais de ação de unidades motoras individuais ou de um volume muscular global. A unidade motora é o conjunto de fibras musculares inervadas por um neurônio motor proveniente da coluna vertebral. A detecção pode ser feita com a utilização de agulhas ou pequenos fios introduzidos no músculo-alvo, ou posicionando eletrodos não invasivos na superfície da pele sobre o músculo a ser estudado, método denominado eletromiografia de superfície (EMGs).

Existem variadas configurações de eletrodos de EMGs para detecção dos potenciais de ação. A configuração básica, denominada monopolar, consiste na medida da voltagem por um eletrodo sobre a pele e outro eletrodo de referência distante do volume de detecção. As outras configurações derivam de combinações lineares desta primeira. A mais simples e utilizada é a diferencial simples, ou bipolar, que detecta a diferença do potencial em dois eletrodos posicionados a uma distância fixa, denominada distância intereletrodos, sobre o volume de interesse.

Os sistemas de EMGs de pares de eletrodos detectam, dependendo do arranjo, sinais gerados em um volume da ordem de centímetros cúbicos das camadas mais superficiais (Masuda *et al.*, 1985; Merletti *et al.*, 2010a). Sendo assim, o que é medido envolve a somatória dos potenciais elétricos provenientes de diferentes unidades motoras. A maioria dos experimentos de aplicação da EMT sobre o córtex motor utiliza estes sistemas convencionais de EMGs, monopulares ou bipolares, para detecção dos PEM (Pell *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, a EMGs evoluiu consideravelmente com o aparecimento de eletrodos organizados em matrizes lineares e bidimensionais, cuja conformação é denominada de eletromiografia de superfície de alta densidade (HDsEMG, do inglês: *high density surface electromyography*) (Merletti *et al.*, 2010a; Merletti *et al.*, 2010b). A miniaturização dos eletrodos e principalmente o desenvolvimento de filtros espaciais (Reucher *et al.*, 1987a;

Reucher *et al.*, 1987b), estão permitindo a identificação da atividade de uma única unidade motora, para assim mapear o potencial elétrico muscular na superfície da pele com alta resolução espacial (Disselhorst-Klug *et al.*, 1999; Merletti *et al.*, 2010a).

A avaliação de uma única unidade motora permite a análise dos padrões de excitação neuronal e da determinação da distribuição do espalhamento da excitação (Basmajian & De Luca, 1985). Juntamente com a velocidade de condução da fibra muscular (Stalberg, 1966; Zwarts & Stegeman, 2003) e frequência mediana do espectro de potência (Farina, 2008; von Tscharnner & Nigg, 2008), é possível obter um conjunto de propriedades importantes para se avaliar a resposta de um músculo ao estímulo gerado pela EMT. Estas propriedades, por sua vez, devem ser complementares à observação da amplitude dos PEM ao se avaliar a relação entre a orientação da bobina e a atividade muscular.

2.3 Neuronavegação

A neuronavegação é um método de visualização e localização computacional de instrumentos médicos em relação às estruturas e partes do cérebro humano, a partir de imagens por ressonância magnética nuclear (IRM) ou tomografia computadorizada. Os sistemas de navegação virtual têm contribuído para os avanços nos procedimentos neurocirúrgicos, facilitando a localização de estruturas intracranianas (Grunert *et al.*, 2003).

As aplicações dos neuronavegadores, não se restringem às neurocirurgias. Estes sistemas têm sido frequentemente utilizados em experimentos de EMT. Estudos sugerem que o posicionamento navegado da bobina diminui a variabilidade na resposta da EMT causada pelo uso de diferentes estimuladores (Danner *et al.*, 2008) e, principalmente, pela variação da anatomia de cada sujeito (Herwig *et al.*, 2001a; Herwig *et al.*, 2001b; Danner *et al.*, 2008). Os neuronavegadores também são utilizados em estudos de mapeamento do córtex motor

(Boroojerdi *et al.*, 1999) e de avaliação da influência de parâmetros geométricos da EMT na resposta motora (Stokes *et al.*, 2007; Cukic *et al.*, 2009; Bashir *et al.*, 2013).

Neste contexto, um software gratuito de neuronavegação para aplicações em EMT, o InVesalius Navigator, vem sendo desenvolvido desde 2008 pelo Laboratório de Biomagnetismo da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, em parceria com o Departamento de Tecnologias Tridimensionais do Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer, na cidade de Campinas (Souza *et al.*, 2011; Peres, 2012). No entanto, o sistema carece de ferramentas que possibilitem verificar com precisão o posicionamento da bobina sobre a cabeça do sujeito, e que tem sido importante para avaliações metodológicas em EMT, e.g. o efeito da orientação da bobina de EMT nos PEM (Bashir *et al.*, 2013).

2.4 Efeito da Orientação da Bobina nos PEM

O efeito da orientação da bobina de EMT sobre M1 nas características dos PEM nos músculos da mão tem sido extensamente estudado ao longo dos últimos anos (Pell *et al.*, 2011). A bobina de EMT orientada na direção medial-lateral tende a gerar PEM com latências ligeiramente menores que quando orientada na direção posterior-anterior (Werhahn *et al.*, 1994; Wilson *et al.*, 1996; Sakai *et al.*, 1997). Os PEM são gerados com máxima amplitude para a bobina orientada no sentido medial-anterior, com o campo elétrico induzido aproximadamente perpendicular ao sulco central (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992; Pascual-Leone *et al.*, 1994; Balslev *et al.*, 2007; Bashir *et al.*, 2013). No entanto, em todos estes experimentos, a atividade elétrica muscular foi adquirida por sistemas convencionais de EMGs em configuração monopolar ou bipolar, o que limita a observação de como os fatores geométricos, e.g. localização dos eletrodos, e anatômicos, e.g. arquitetura do tecido muscular, afetam os PEM para diferentes orientações da bobina.

Aproveitando a evolução das técnicas de HDsEMG, é possível mapear com alta resolução espacial a distribuição dos PEM sobre o músculo abdutor curto do polegar (ACP) e assim, com precisão verificar o efeito da orientação de posicionamento da bobina sobre as características dos potenciais evocados. Esta condição justifica repensar os estudos já realizados (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992; Pascual-Leone *et al.*, 1994; Balslev *et al.*, 2007; Bashir *et al.*, 2013) e que são tomados como referência na maioria dos trabalhos de EMT.

3. Objetivos e Hipótese

3.1 Objetivo Geral

Apresentamos a hipótese de que além da amplitude e latência avaliados nos estudos anteriores (Brasil-Neto et al., 1992; Mills et al., 1992; Bashir et al., 2013); a distribuição espacial, velocidade de condução e frequência mediana dos PEM também variam de acordo com a orientação da bobina de EMT. Esta dependência está associada à premissa de que em função da orientação da bobina sobre a cabeça do sujeito, grupos distintos de neurônios motores poderiam ser estimulados, e consequentemente, diferentes grupos de unidades motores com propriedades variadas são recrutados.

O presente estudo teve como objetivo quantificar e qualificar a dependência da amplitude dos PEM sobre o músculo ACP, em diferentes orientações da bobina de EMT. Buscamos também, adquirir características pouco estudadas dos PEM pela EMT, como a distribuição espacial da amplitude, a velocidade de condução e a frequência mediana do espectro de potência, que na maioria dos trabalhos não são considerados e podem conter informações valiosas acerca das propriedades das unidades motoras recrutadas (Merletti et al., 2003; Drost et al., 2006).

Durante a execução deste projeto, identificamos a necessidade de incorporar a ferramenta de cálculo da orientação da bobina em relação à cabeça do sujeito ao Invesalius Navigator, para que o programa possa ser utilizado em experimentos futuros com EMT.

3.2 Objetivos Específicos

i) Avaliar as características dos PEM do músculo ACP para diferentes orientações da bobina, em seus aspectos de amplitude, latência, distribuição espacial, velocidade de condução e frequência mediana;

ii) Desenvolver as ferramentas computacionais necessárias para processamento e análise do sinal de HDsEMG;

iii) Desenvolver as ferramentas computacionais necessárias para as medidas de orientação da bobina de estimulação e aprimoramento do InVesalius Navigator.

4. Material e Métodos

A presente dissertação é composta por uma vertente de aplicação de EMT em seres humanos e por uma vertente de desenvolvimento de ferramentas computacionais. A primeira vertente é dada pela avaliação das características dos PEM em função da orientação da EMT aplicada em diferentes orientações da bobina sobre M1. A segunda vertente surgiu em decorrência da primeira, envolvendo o desenvolvimento do software MEPHunter HD para análise e processamento do sinal de HDsEMG adquirido no experimento de EMT, e também a incorporação de ferramentas ao InVesalius Navigator para cálculo da orientação da bobina em relação à cabeça do sujeito e para o refinamento de corregristo por sobreposição de superfície, para futura utilização em experimentos com EMT.

4.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais

4.1.1 InVesalius Navigator

As ferramentas desenvolvidas para o InVesalius Navigator foram escritas em linguagem Python 2.7 em conjunto com as bibliotecas NumPy 1.5, wxPython 2.8 e VTK 5.10 (Kitware, Inc., Nova Iorque, Estados Unidos da América). Acrescentamos duas interfaces gráficas para usuários do software, a primeira contém os procedimentos de cálculo da orientação da bobina em tempo real de navegação e a segunda, o refinamento do corregristo por sobreposição de superfície.

O ângulo de orientação calculado é formado entre a reta que passa pelo eixo longitudinal da bobina e a reta que passa pelo eixo sagital médio da cabeça (Brasil-Neto *et al.*, 1992). O sensor do rastreador espacial adquire as coordenadas de dois pontos na bobina de estimulação: um na posição central entre os enrolamentos e outro na parte posterior próximo

ao punho de sustentação, formando a reta no eixo longitudinal da bobina. Utiliza-se o mesmo sensor para adquirir as coordenadas de dois pontos anatômicos na cabeça do indivíduo, uma no násio e a outra no ínio, formando uma linha sagital média, i.e. eixo anteroposterior da cabeça (Figura 1). O ângulo é calculado por um produto escalar entre os vetores direção destas retas, em tempo real da navegação.

A segunda ferramenta é o refinamento do correregistro por sobreposição de superfícies. Em neuronavegação, define-se um espaço de coordenadas real (cabeça do sujeito) e um espaço de coordenadas virtual (IRM). O espaço real é mapeado utilizando um rastreador espacial e o espaço virtual, mapeado pelo sistema de coordenadas das IRM. Matrizes de mudanças de base são utilizadas para associar a coordenada de um ponto no espaço real ao espaço virtual (Peres, 2012). O processo de associação dos espaços é denominado correregistro.

O procedimento de correregistro mais simples envolve a marcação de três pontos anatômicos nas imagens digitais e no sujeito (Grunert *et al.*, 2003). Este método é prático e de fácil execução, mas não fornece uma precisão milimétrica e está sujeito a erros causados pela movimentação da cabeça e deslocamento dos sensores de referência. O método baseado na sobreposição de duas superfícies permite um correregistro mais preciso entre os espaços de coordenadas (Grunert *et al.*, 2003), mas a eficiência e precisão dependem de um ajuste inicial entre os dois sistemas. Sendo assim, o correregistro por pontos fiduciais pode ser utilizado para estabelecer um ajuste inicial entre os objetos e o correregistro por sobreposição de superfície pode ser utilizado como ferramenta de ajuste fino, garantindo maior precisão e qualidade no ajuste.

Neste estudo, o ajuste foi calculado com base no algoritmo *Iterative Closest Point* (ICP). A classe de funções *vtkIterativeClosestPointTransform* da biblioteca VTK, é uma implementação do algoritmo ICP. O método calcula o conjunto de transformações geométricas rígidas (rotação e translação) necessárias para melhor sobreposição de uma

superfície fonte em uma superfície alvo. A matriz numérica correspondente a esse conjunto de transformações é exportada pela classe *vtkIterativeClosestPointTransform*, que é então multiplicada à matriz mudança de bases, obtida pelo corregristo por pontos fiduciais.

Figura 1 – Representação dos pontos de referência utilizados para o cálculo da orientação da bobina em relação à linha sagital média do sujeito no InVesalius Navigator.

Elaboramos dois experimentos para testar o algoritmo de sobreposição de superfícies. O primeiro teste consistiu em criar três superfícies tridimensionais idênticas da cabeça de um sujeito a partir de suas IRM. Aplicamos à primeira superfície, uma rotação de 30° em cada um de seus eixos, e a definimos como superfície alvo. Em seguida, utilizamos o algoritmo ICP para calcular e aplicar a matriz transformação em que a superfície fonte melhor seja sobreposta na superfície alvo.

No segundo teste, aplicamos o método ICP para sobreposição da superfície criada por IRM da cabeça de um sujeito em uma nuvem de pontos. Em um experimento realizado

Material e Métodos

anteriormente em nosso laboratório, após o corregristo por pontos fiduciais, executamos a neuronavegação e com o rastreador espacial adquirimos uma série de pontos sobre a superfície da cabeça do sujeito (Peres, 2012). A partir desta nuvem de pontos criamos a superfície alvo. Utilizamos esta superfície em conjunto com a reconstrução volumétrica das IRM do sujeito (superfície fonte) para obter a matriz transformação do método ICP. Aplicamos a transformação na superfície da IRM, e obtivemos uma superfície final.

Os métodos para quantificar a precisão e acurácia do cálculo do ângulo de orientação da bobina de EMT ainda não foram estabelecidos. Os resultados dos testes do método ICP foram inspecionados visualmente. Futuramente, quantificaremos a qualidade do corregristo por sobreposição de superfície pela distância euclidiana média entre os pontos das superfícies fonte e alvo.

4.1.2 MEPHunter HD

O MEPHunter HD foi escrito em linguagem MATLAB versão 7.8 R2009a (Math-Works – Natick, EUA) e é uma derivação do MEPHunter, desenvolvido em nosso laboratório para processamento de sinais de EMGs (Peres, 2012). A versão HD (do inglês *High Density*, alta densidade), criada em função deste projeto, contém ferramentas para processamento e visualização do sinal de HDsEMG exportado pelo software OT Biolab (OT Bioelettronica – Turim, Itália). O programa foi arquitetado para leitura dos sinais adquiridos com a matriz de 61 eletrodos utilizada em nosso experimento de aplicação de EMT.

Criamos duas modalidades distintas de processamento que se adequam à extração das informações desejadas pelo operador. O primeiro modelo, denominado MEPHunter HD Single Condition (SC), permite o processamento dos sinais de EMGs obtidos na aplicação de EMT em uma única orientação da bobina. O segundo modelo, MEPHunter HD Multiple Conditions (MC) permite o processamento simultâneo dos sinais de sEMG adquiridos pela

aplicação da EMT nas oito orientações da bobina. A interface para manipulação do sinal de EMGs é a mesma para as duas modalidades, sendo que o MEPHunter HD SC e o MEPHunter HD MC se distinguem apenas nas rotinas executadas pelos botões de interação com o usuários.

A interface principal distribui os gráficos dos PEM em 5 linhas e 13 colunas, para reproduzir a matriz de eletrodos utilizada no experimento de aplicação de EMT. Os gráficos dos PEM são interativos e permitem que o sinal em cada eletrodo da matriz seja inspecionado e corrigido de eventuais erros associados ao software. Na janela *MEPDetect Angles*, que abre quando o usuário clica em um dos gráfico, o botão *Outlier* permite que sinal de EMGs de eletrodos com ruído possa ser interpolado, i.e. substituído pelo sinal médio calculado entre os sinais dos oito eletrodos primeiros vizinhos.

A seção inferior é dividida em quatro painéis de acordo com as funcionalidades dos botões, *Calculation*, *Channels*, *Panel* e *Save*.

O painel *Calculation* contém os botões e caixas de texto necessários para processar o sinal de EMGs. O botão *Trigger* permite identificar no sinal bruto o instante de tempo em que o pulso de EMT foi disparado, e aplicar um filtro *Butterworth* de segunda ordem com frequências de corte definidas nas caixas de texto HPF e LPF. O botão *MEPs* seleciona o sinal em um intervalo de tempo definido nas caixas de texto *Start* e *End* em relação aos pontos definidos pelo *Trigger*, calcula a média dos dez PEM obtidos pela EMT repetida sobre a mesma orientação e identifica os picos de máximo e mínimo dos PEM. O botão *Maps* abre a interface *MapVisualization*. O botão *Sim MEP* abre a interface *MEPDetect Simulated Bipolar*.

O botão *Threshold* remove as marcações de máximo e mínimo dos PEM com amplitude menor que os limiares definidos nas caixas de texto abaixo do botão.

O painel *Channels* permite alternar a visualização entre as múltiplas condições (válido somente para o MEPHunter HD MC). O painel *Panel* contém as caixas de seleção para

visualização dos itens nos gráficos, como por exemplo, os marcadores de máximo e mínimo, o PEM médio, os múltiplos PEM pelos pulsos repetidos de EMT e os limiares definidos pelo botão *Threshold*. O painel *Save* contém os botões para armazenamento dos dados processados, exportação e leitura de dados salvos, respectivamente *Save*, *Export* e *Load*.

O MEPHunter HD permite, pelo painel *Save*, que o usuário armazene os dados processados e os valores calculados em uma tabela formato Microsoft Excel ou em um arquivo extensão do MATLAB.

As duas modalidades possuem um algoritmo de segmentação de imagens de EMGs (Vieira *et al.*, 2010). O algoritmo identifica um grupo de eletrodos posicionados sobre a região do músculo de maior ativação. A partir da imagem bidimensional de amplitude (Figura 3-B) são criados clusters de eletrodos contendo PEM de amplitudes similares. A segmentação adota um limiar padrão, mas que pode ser alterado pelo usuário, de 70% (definido pela maior precisão do método de segmentação) da máxima amplitude do mapa. Este limiar define que os eletrodos com PEM de amplitudes menores que o dado valor, serão excluídos do cluster. A amplitude média dos PEM pertencentes ao cluster é armazenada para análise.

O software também calcula as coordenadas do centro de gravidade dos clusters, ponderadas pela amplitude v_{ij} em cada eletrodo localizado na coluna i e na linha j do mapa em relação à amplitude V total do mapa. A coordenada da coluna é calcula pela Equação 1, a coordenada da linha pela Equação 2 e amplitude total V , pela Equação 3.

$$\bar{c} = \left(\frac{1}{V}\right) \sum_{j=1}^{13} \left[c_j \sum_{i=1}^5 v_{ij} \right] \quad (4.1)$$

$$\bar{l} = \left(\frac{1}{V}\right) \sum_{i=1}^5 \left[l_i \sum_{j=1}^{13} v_{ij} \right] \quad (4.2)$$

$$V = \sum_{i=1}^5 \left[\sum_{j=1}^{13} v_{ij} \right] \quad (4.3)$$

A amplitude pico a pico dos potenciais é calculada pela diferença entre os valores máximo e mínimo do PEM. Também é calculada pelo software, a frequência mediana do espectro de densidade de potência de cada PEM usando a função *PWELCH*, e a amplitude raiz quadrática média (RMS, do inglês: *root mean square*).

MEPHunter HD SC

A versão MEPHunter HD SC foi desenvolvida para análise independente do sinal adquirido em cada orientação da bobina de estimulação.

Esta modalidade do MEPHunter HD conta com o cálculo da velocidade de condução associado à propagação dos PEM na fibra muscular. A velocidade de condução da fibra muscular é estimada por um algoritmo de análise da máxima verossimilhança no domínio da frequência dos potenciais de EMGs (Farina *et al.*, 2001). A média da velocidade de condução é calculada com base nos eletrodos selecionados pelo usuário em um gráfico da matriz de EMGs contendo os PEM. Preferencialmente, devem ser assinalados os eletrodos alinhados com a direção das fibras do músculo observado.

Ao clicar no botão Maps abre-se a janela *MAPVisualization*. A interface é utilizada para visualizar o gráfico temporal e espacial dos PEM diferenciais, identificar a linha da matriz de EMGs correspondente à zona de inervação, definida como o ponto de inversão da propagação dos PEM (caixa de texto IZ Row), calcular a velocidade de condução (botão Cond Velo Diff CH), calcular os mapas de cores para as amplitudes pico a pico e raiz quadrática média (botão Amplitude Image) com escala de cores definida pelos valores escritos nas caixas de texto

abaixo do botão. É possível também calcular e identificar os clusters de eletrodos (botão *Cluster Threshold*) pelo método citado acima, e calcular o mapa de cores da frequência mediana dos PEM.

O botão *Sim MEP* exibe ao usuário a janela *MEPDetect Simulated Bipolar*. Esta janela contém o sinal temporal do PEM extraído do sinal diferencial dos eletrodos simulados 1 e 2, composto pela soma dos sinais dos eletrodos nas linhas 6 e 8 da matriz de EMGs, respectivamente. A janela possui botões que permitem a seleção manual (botão *Select Peaks*) ou exclusão da marcação (botão *None*) dos picos do PEM, caso o procedimento automático esteja incorreto. Marca-se também, os instantes de início e fim do PEM (botão *Latency*).

MEPHunter HD MC

O MEPHunter HD MC possui como diferencial em relação ao MEPHunter HD SC, as interfaces que exibem os gráficos de PEM, os mapas de amplitude e os clusters de eletrodos, simultaneamente nas múltiplas condições em que foram adquiridos. No contexto deste estudo, as condições são definidas pelas oito orientações de aplicação de EMT.

O painel *Channels* permite alternar a visualização dos PEM nos gráficos, entre as condições de estimulação, iniciando em 0° e finalizando em 315° de orientação da bobina. O usuário pode percorrer cada orientação e interagir individualmente com os gráficos.

O botão *Maps* apresenta três janelas distintas, a *MAPLines*, a *MAPAmplitudes* e a *MAPClusters*, contendo respectivamente os PEM, os mapas de amplitude e os clusters de eletrodos; obtidos para cada orientação de aplicação da EMT. As janelas *MAPLines* e *MAPAmplitudes* possibilitam ainda a definição da linha da matriz correspondente à zona de inervação do músculo em estudo.

4.2 Aplicação de EMT em Voluntários

4.2.1 Descrição do Estudo

Este é um estudo transversal em que os experimentos de aplicação de EMT foram realizados no laboratório de Neurobiologia do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro e as etapas de processamento e análise dos dados foram realizadas no Departamento de Física da Faculdade de Filosofia de Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. O procedimento experimental foi aprovado pelo comitê de ética das instituições responsáveis e todos os sujeitos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes do experimento. O processo possui Certificado de Apresentação para Apreciação Ética número 09697912.6.0000.5407 e parecer número 210.643.

4.2.2 População do Estudo

Participaram do experimento 13 voluntários adultos, assintomáticos para patologias neurológicas, psiquiátricas e enxaqueca recorrente; e livres de medicação no período de aplicação de EMT (três mulheres e dez homens; idade média de $30,85 \pm 7,61$ anos; intervalo de 23 a 48 anos). Nenhum dos voluntários deveria apresentar implantes metálicos ou dispositivos eletrônicos na cabeça, de acordo com as orientações de segurança para o uso da técnica (Rossi *et al.*, 2009).

4.2.3 Desenho Experimental

O experimento foi conduzido com o sujeito posicionado confortavelmente em uma cadeira reclinável com apoio para o pescoço, braços e mãos. Posicionamos a matriz de EMGs sobre o ventre do músculo ACP, alinhando a coluna central de eletrodos à origem do músculo

no tubérculo do escafoíde e ao ponto de inserção na base da falange próxima do polegar (Figura 2-B), conforme orientações da Sociedade Internacional de Eletrofisiologia e Cinesiologia (SENIAM, 1997). O eletrodo de referência foi colocado sobre o punho ipsilateral à matriz de aquisição. A superfície da pele foi higienizada com álcool e umidificada com água para reduzir a impedância de contato dos eletrodos.

A bobina de EMT foi posicionada tangencialmente sobre o *hot-spot* do músculo ACP em M1, definido como a posição sobre o escalpo para evocar PEM com máxima amplitude no músculo alvo (Wassermann *et al.*, 1992; Saisanen *et al.*, 2008). O *hot-spot* é único para cada indivíduo (Gugino *et al.*, 2001), e foi assinalado em uma touca de tecido, com marcação de grade de 1 x 1 cm. Após identificarmos o *hot-spot*, encontramos o limiar motor do músculo ACP de cada sujeito com a bobina orientada em 90° em relação à linha sagital média, definida pelo segmento de reta que conecta o ínio ao násio, e corrente na bobina fluindo no sentido lateral-medial (Sakai *et al.*, 1997). O limiar motor é a intensidade do estímulo de EMT capaz de evocar no mínimo cinco PEM com amplitude superior a 50 μ V em pelo menos dez tentativas (Kammer *et al.*, 2001; Conforto *et al.*, 2004). Os PEM utilizados para localização do *hot-spot* e do limiar motor foram adquiridos pelo sinal diferencial simples da coluna central da matriz de eletrodos (Figura 2-B), em que pelo menos um par de eletrodos deveria evidenciar PEM que satisfizessem as condições definidas para busca do *hot-spot* e do limiar motor.

A intensidade do estimulador foi ajustada para 20% acima do limiar motor do ACP em repouso. Aplicamos os pulsos de EMT em oito orientações, como definidas em estudos anteriores (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Bashir *et al.*, 2013), com a bobina sobre o *hot spot*, iniciando em 0° e corrente na bobina fluindo no sentido posterior-anterior (Figura 2-A). As orientações foram divididas com um espaçamento angular de 45°. A fim de evitar qualquer habituação por parte do voluntário (Balslev *et al.*, 2007), determinamos a ordem das

Material e Métodos

orientações de estimulação a partir de um sorteio pseudoaleatório. Em cada orientação aplicamos dez pulsos simples de EMT.

O procedimento foi repetido para o músculo ACP da mão esquerda, com a EMT aplicada sobre o hemisfério contralateral. Desta forma, cada sujeito recebeu no mínimo dez pulsos simples de EMT em cada uma das oito orientações nos dois hemisférios cerebrais, totalizando 160 estimulações em uma sessão de aproximadamente três horas e trinta minutos.

Figura 2 – Orientações da bobina de EMT sobre o *hot-spot* e localização da matriz de EMGs para aquisição dos PEM. (A) Representação das orientações da bobina de EMT sobre a cabeça do sujeito em relação à linha sagital média. A seta indica a orientação da corrente fluindo na bobina. (B) Esquema do posicionamento da matriz de eletrodos sobre o músculo ACP. A coluna central da matriz de eletrodos foi alinhada ao tubérculo do escafoide e à base da falange proximal do polegar. As áreas destacadas em verde (1 e 2), indicam os eletrodos cujos sinais de EMGs foram utilizados para simular um sistema em configuração bipolar clássica de dois eletrodos de dimensão 1 x 9,6 x 1,5 mm e distância intereletrodos de 4,8 mm.

4.2.4 Equipamentos Utilizados

A EMT foi aplicada com pulsos bifásicos gerados por um estimulador MagPro R30 (MagVenture, Faru, Dinamarca) conectado a uma bobina refrigerada em forma de 8 (modelo MCF-B65) com 75 mm de diâmetro em cada lado.

A atividade elétrica do músculo ACP foi adquirida com uma matriz bidimensional (13 linhas e 5 colunas) de EMGs com 61 eletrodos (pinos de 1 mm de diâmetro cada e distância intereletrodos de 2,4 mm) revestidos de prata e em derivação monopolar. Os sinais foram amplificados com um ganho de 500 e filtrados por um filtro passa-banda de 10 a 500 Hz, utilizando um amplificador para EMGs de alta densidade (EMG-USB2 amplifier, OT Bioelettronica, Turim, Itália) e o software de aquisição OT Biolab (OT Bioelettronica, Turim, Itália). A frequência de amostragem por canal, a resolução e a faixa dinâmica do conversor A/D foram 2048 Hz, 12 bits e ± 5 V, respectivamente.

4.2.5 Análise dos Dados

Os sinais adquiridos foram processados utilizando o software MEPHunter HD escrito em linguagem MATLAB versão 7.8 R2009a (Math-Works, Natick, Estados Unidos da América). Todos os sinais foram digitalmente filtrados com um filtro *Butterworth* de segunda ordem (25-400 Hz), para redução do artefato gerado pelo pulso de EMT. Foi calculado o sinal diferencial simples entre os eletrodos de uma mesma coluna. Extraímos os PEM do sinal de cada eletrodo da matriz de EMGs entre 15 e 60 ms após os pulsos de *trigger* referentes ao instante de disparo do pulso de EMT.

Inspecionamos visualmente o sinal em cada eletrodo da matriz, para correção de eventuais erros associados ao MEPHunter HD e de ruídos detectados por eletrodos com mau contato com a pele. O sinal de EMGs de eletrodos com mau contato é identificado sem ambiguidade por apresentar morfologia e amplitude que o distingue dos seus vizinhos

próximos, e foi substituído pelo sinal médio calculado entre os sinais dos oito eletrodos primeiros vizinhos.

Figura 3 – PEM adquiridos por EMGs na orientação de 45° da bobina de EMT sobre o hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. (A) Representação espacial e temporal dos PEM adquiridos para cada eletrodo na matriz de EMGs (B) Mapa de cores das amplitudes dos PEM. Interpolação por um fator de 8 para visualização. (C) Cluster de eletrodos na região distal da matriz de EMGs, representando região com maior amplitude dos PEM.

A amplitude pico a pico de todos os PEM foi calculada e sua variação em função da orientação da bobina de EMT foi analisada por duas abordagens.

A primeira abordagem corresponde à seleção de um grupo de eletrodos posicionados sobre a região do músculo de maior ativação. Os eletrodos são identificados por um algoritmo de segmentação de imagens de EMGs (Vieira *et al.*, 2010). A partir da imagem bidimensional de amplitudes (Figura 3-B) são criados clusters de eletrodos contendo PEM de amplitudes similares. A porção distal do mapa, acima da zona de inervação, definida como o ponto de inversão da propagação dos potenciais, foi selecionada; a máxima amplitude pico a pico nos eletrodos foi identificada e um limiar de 70% deste valor, que resulta em maior precisão do método de segmentação, foi aplicado para seleção do cluster de maior atividade dessa região (Figura 3-C). A amplitude pico a pico média dos PEM neste cluster de máxima ativação foi avaliada em função da orientação da bobina de EMT.

Material e Métodos

A amplitude também foi extraída do PEM de dois eletrodos simulados em configuração bipolar, definindo a segunda abordagem. O PEM em experimentos de EMT é comumente adquirido por sistemas convencionais de EMGs nesta configuração. A matriz de EMGs foi utilizada para simular um destes sistemas de acordo com as recomendações SENIAM para posicionamento e definição do tamanho dos eletrodos (SENIAM, 1997).

Dois conjuntos de eletrodos da matriz de EMGs foram selecionados para simulação de dois eletrodos em barra com dimensões 1 x 9,6 x 1,5 mm cada e distância intereletrodos de 4,8 mm, posicionados sobre o ventre do músculo ACP. O eletrodo simulado 1 contém o sinal de EMGs resultante da soma dos sinais dos eletrodos na sexta linha da matriz. O eletrodo simulado 2 por sua vez, possui o sinal da soma dos eletrodos na oitava linha (Figura 2-B). O PEM simulado é então extraído do sinal diferencial simples de EMGs entre o eletrodo simulado 1 e o eletrodo simulado 2, como em uma configuração bipolar. Além do efeito da orientação no grau de ativação do ACP, a análise por meio deste método permite verificar como os eletrodos de sistemas convencionais de EMGs estão posicionados em relação às unidades motoras recrutadas por EMT.

A amplitude, nas duas abordagens, foi normalizada para cada hemisfério de cada sujeito em função da máxima amplitude dentre as orientações da bobina de EMT. Dessa forma, cada hemisfério estimulado de cada sujeito possui uma orientação com amplitude máxima igual a 1 e as demais orientações com amplitudes normalizadas em relação a esta.

Figura 4 – Esquemas dos eletrodos utilizados para cálculo da latência e velocidade de condução dos PEM. (A) Extraímos a latência média dos PEM nos eletrodos da linha 5 e 9, delimitados pela região em verde, da matriz. (B) A velocidade de condução foi calculada com base da propagação dos PEM nos eletrodos na coluna central da matriz, delimitados pelas regiões em verde.

Além da amplitude, o efeito da orientação da bobina de EMT no recrutamento do músculo ACP foi avaliado pela distribuição espacial, frequência mediana, velocidade de condução e latência dos PEM.

A distribuição espacial compreende dois itens, a localização e o tamanho da região que apresentaram máxima amplitude na matriz de EMGs. A Figura 3-B representa de forma geral como a amplitude está distribuída em relação ao músculo ACP, e foi utilizada para localizar qual a porção foi recrutada com maior intensidade em cada orientação da bobina de EMT. O tamanho da região, por sua vez, foi representado pelo número de eletrodos presentes no cluster resultante da segmentação da imagem de EMGs (Figura 3-C). O número de eletrodos, assim como a amplitude, foi normalizado para cada sujeito e cada hemisfério separadamente em relação ao número de eletrodos no conjunto união de todos os eletrodos presentes em clusters nas oito orientações.

A frequência mediana foi calculada para todos os PEM na matriz de eletrodos e analisada por duas abordagens. Calculamos o espectro de densidade de potência de cada PEM

usando a função PWELCH do software MATLAB. A frequência mediana desse espectro foi analisada em função da orientação da bobina de EMT pelas mesmas abordagens adotadas na análise da amplitude, o valor médio no cluster de eletrodo e o valor extraído do sinal de dois eletrodos simulados em configuração bipolar.

O cálculo da velocidade de condução está associado à propagação dos PEM na fibra muscular. A velocidade de condução foi estimada por um algoritmo de análise da máxima verossimilhança no domínio da frequência dos potenciais de EMGs (Farina *et al.*, 2001). A média da velocidade de condução de dois conjuntos de eletrodos na coluna central, por estarem alinhados com a direção da fibra do músculo ACP, foi utilizada para análise dos resultados. Os eletrodos nas bordas da matriz e sobre a zona de inervação foram excluídos, para minimização dos efeitos de terminação das fibras e da inversão de fase dos PEM, respectivamente (Merletti *et al.*, 2003). O gráfico da Figura 3-A foi utilizado para marcação da zona de inervação e a Figura 4-B ilustra os eletrodos selecionados da matriz, regiões destacadas em verde, para cálculo da velocidade de condução.

Por fim, a latência foi calculada com referência em dois conjuntos de eletrodos. Utilizando o software MEPHunter HD, marcamos manualmente a latência dos PEM nos eletrodos das linhas 5 e 9 da matriz (Figura 4-A). A localização dos conjuntos foi escolhida para que os PEM estivessem simetricamente distantes da zona de inervação, minimizando os efeitos de inversão de fase e de propagação dos potenciais (Farina *et al.*, 2001; Merletti *et al.*, 2003). O valor médio das latências extraídas dos PEM nos eletrodos selecionados foi armazenado para análise.

Os PEM foram obtidos para aplicação de EMT no hemisfério cerebral esquerdo e matriz de eletrodos sobre a mão direita, e aplicação de EMT sobre o hemisfério direito e aquisição de EMGs sobre a mão esquerda. No entanto, todas as propriedades foram extraídas e analisadas

desconsiderando o hemisfério estimulado. A variação da amplitude pico a pico em função do hemisfério estimulado e da orientação da bobina de EMT é discutida no Anexo A.

4.2.6 Análise Estatística

Os resultados foram analisados no software Minitab 16 (Minitab Inc., Pensilvânia, EUA). As propriedades dos PEM foram divididas em oito grupos de acordo com a orientação de estimulação.

Aplicamos a análise de variância simples (*one-way* ANOVA) para verificar a diferença entre as amplitudes, as frequências medianas e as latências em cada orientação. Testamos a normalidade dos resíduos resultantes da ANOVA com o método de Kolmogorov-Smirnov ($P > 0,05$). A análise do tamanho dos clusters e da velocidade de condução em função da orientação de estimulação foi feita pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, por apresentarem $P < 0,05$ no teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov. Utilizamos o método de Tukey ($P < 0,05$) para comparação múltipla das grandezas entre as orientações.

Nas situações em que os PEM não puderam ser claramente identificados, as amostras foram removidas. Do total de 208 valores abrangendo estimulação no hemisfério esquerdo e direito para os 13 sujeitos, foram excluídas 11 valores de amplitude, 43 valores de frequência mediana, 53 valores de latência, 50 valores de velocidade de condução e 6 valores de tamanho dos clusters.

5. Resultados

5.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais

5.1.1 InVesalius Navigator

Incorporamos ao InVesalius Navigator a ferramenta para monitoramento do ângulo entre a bobina e a linha sagital do sujeito, como definido nos estudos anteriores (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992; Bashir *et al.*, 2013). A Figura 5 ilustra a tela do InVesalius Navigator durante o processo de navegação com rastreamento da orientação da bobina, em que o ângulo está indicado pela seta azul.

Figura 5 – Tela do InVesalius Navigator durante navegação. A seta azul aponta para o ângulo entre o eixo longitudinal da bobina e linha sagital média da cabeça do sujeito.

A Figura 6 ilustra o resultado do primeiro teste realizado para verificar a funcionalidade do método ICP. A malha triangular vermelha pertence à superfície fonte após aplicação da transformação geométrica resultante do método ICP. A cabeça em verde é a superfície alvo e a cabeça em rosa, a superfície fonte. As superfícies estão perfeitamente sobrepostas, e por

isso, para visualização foi necessário alterar a representação da cabeça após transformações para malha de triângulos.

Figura 6 – Aplicação do método ICP sobre as reconstruções tridimensionais das IRM. A superfície rosa é o objeto na posição original, a superfície verde é a cabeça após aplicação de rotações sucessivas e a malha triangular vermelha representa a superfície original após transformação baseada no método ICP.

Criamos uma interface no InVesalius Navigator para aplicação do refinamento do corregristo por ICP (Figura 7). A interface permite importar a superfície alvo (criada a partir da nuvem de pontos), definir os parâmetros do método ICP, aplicar manualmente a rotação e a translação da reconstrução da superfície da cabeça do sujeito e por fim calcular e aplicar a transformação de sobreposição entre as superfícies.

Nesta interface, executamos o segundo teste. A cabeça em azul, a superfície verde e a cabeça rosa são respectivamente, a superfície fonte, a superfície alvo e a superfície transformada após aplicação do método ICP. A cabeça transformada está visivelmente distante da superfície alvo, resultado do cálculo equivocado do método ICP.

Resultados

Figura 7 – Interface de aplicação do refinamento de correção por ICP no InVesalius Navigator. A superfícies fonte está em azul, a superfície alvo em verde e a superfície transformada em rosa. Não há a sobreposição esperada entre a cabeça rosa e a superfície alvo.

5.1.2 MEPHunter HD

O software MEPHunter HD foi desenvolvido e utilizado durante este projeto para processamento do sinal de EMGs adquirido no experimento de aplicação de EMT em diferentes orientações da bobina. Foi possível identificar os PEM, calcular os mapas de amplitude e frequência mediana, calcular os clusters de eletrodos, simular os eletrodos em configuração bipolar e remover os artefatos presentes no sinal.

As versões SC e MC estão agrupadas por uma interface inicial (Figura 8). Selecionando uma das opções denominadas MEPHunter HD SC ou MEPHunter HD MC, uma nova interface é exibida (Figura 9) para processamento do sinal de EMGs exportado pelo software OT Biolab.

Em nosso experimento, utilizamos a modalidade MEPHunter HD SC para calcular separadamente a latência e a velocidade de condução dos PEM em cada orientação da bobina de EMT de cada hemisfério cerebral de cada sujeito. As demais funções desenvolvidas foram aprimoradas e integradas ao MEPHunter HD MC para análise das oito orientações de

Resultados

aplicação de EMT simultaneamente, o que aumentou a eficiência do programa em relação à análise individual.

Figura 8 – Interface gráfica inicial do software MEPHunter. Selecionando as opções MEPHunter HD SC ou MEPHunter HD MC o usuário tem disponível as funções desenvolvidas para processamento do sinal de HDsEMG.

A interface gráfica *MAPVisualization* (Figura 10) pertencente ao MEPHunter HD SC, foi utilizada para o cálculo da velocidade de condução (Figura 10-A). É possível ainda visualizar o mapa bidimensional de amplitude dos PEM (Figura 10-B), adquirir as propriedades do cluster de eletrodos (Figura 10-C) e visualizar o mapa de frequência mediana (Figura 10-D).

A Figura 11 ilustra a janela *MEPDetect Angles*, utilizada para marcação da latência dos PEM e para correção de sinais EMGs que apresentassem ruídos, pelo botão *Outlier*.

Resultados

Figura 9 – Interface gráfica do MEPHunter HD. A tela possui 61 gráficos para visualização dos PEM de cada eletrodo da matriz de EMGs em uma dada orientação da bobina de EMT. O painel inferior contém os botões, caixas de seleção e caixas de texto para acesso às funções de processamento.

Resultados

Figura 10 – Interface gráfica *MAPVisualization* com (A) representação espacial e temporal dos PEM, (B) mapa de amplitude, (C) gráfico dos clusters de eletrodos e (D) mapa de frequência mediana dos PEM.

Figura 11 – Janela *MEPDetect Angles* que permite a manipulação dos marcadores de pico e dos instantes de início e fim dos PEM. O botão *Outlier* substitui o PEM pela média dos PEM nos oito primeiros eletrodos vizinhos. Esta ferramenta é útil para correção de eletrodos que exibem sinais ruidosos, supostamente por mau contato na pele.

As janelas exibidas pelo *MEPHunter MC*, quando o usuário clica no botão *Maps*, exibem as informações para as oito orientações da bobina de EMT. A janela *MAPAmplitude* (Figura 12) possui os mapas de amplitude pico a pico e amplitude RMS. Os mapas de cores

Resultados

forneem uma informação qualitativa a respeito da distribuição e da amplitude dos PEM em função da orientação. Por fim, a janela *MAPClusters* (Figura 13) exibe os clusters de eletrodos que representam a região de maior ativação na matriz, e o respectivo centro de gravidade. A amplitude pico a pico média dos clusters de eletrodos foi utilizada para comparação entre as orientações da bobina e para análise estatística dos resultados do experimento de aplicação de EMT em sujeitos. A janela *MAPLines* (Figura 14) exibe os PEM dispostos verticalmente. Esta configuração facilita a identificação da linha da matriz correspondente à zona de inervação e permite verificar como os PEM variam em função da orientação da bobina.

Figura 12 – Janela *MEPAmplitudes* criada pelo MEPHunter HD MC, contendo os mapas de amplitude pico a pico e RMS, nas oito orientações de aplicação da EMT. É possível visualizar a distribuição espacial da amplitude dos PEM.

Resultados

Figura 13 – Janela *MEPClusters* criada pelo MEPHunter HD MC com a representação dos clusters de eletrodos em todas as orientações de aplicação da EMT e do conjunto união dos eletrodos presentes nos clusters. Esta visualização permite identificar os eletrodos da matriz que adquiriram PEM de maior amplitude.

Figura 14 – Janela *MEPLines* criada pelo MEPHunter HD MC para visualização espacial e temporal dos PEM dispostos de acordo com a posição do eletrodo na matriz, nas oito orientações de aplicação da EMT.

Resultados

5.2 Aplicação de EMT em Voluntários

A Figura 15 ilustra os PEM nos eletrodos simulados para cada orientação da bobina de EMT de um sujeito representativo. A amplitude dos PEM para as orientações da bobina de estimulação em 45° e 90° foi significativamente maior que para as demais orientações ($P < 0,05$).

Figura 15 – PEM obtidos a partir dos eletrodos simulados e aplicação de EMT no hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. As orientações de 45° e 90° resultaram em PEM com maior amplitude que nas demais.

Os mapas de amplitude em todas as orientações de estimulação estão apresentados na Figura 16. Os PEM com máxima amplitude foram detectados em 45° e 90°. A amplitude é reduzida a praticamente zero sobre a zona de inervação, linha 7 da matriz. É possível também, observar uma maior área de ativação da matriz para os estímulos aplicados nas orientações de 45° e 90°. A concentração de PEM com maior amplitude na região distal da matriz é observada tanto para os mapas de um sujeito representativo (Figura 16-A), quanto para os mapas médios de todos os sujeitos (Figura 16-B).

A amplitude média de todos os sujeitos apresentou variações significativas em função da orientação da bobina de EMT ($P < 0,0001$; one-way ANOVA). A amplitude é máxima para bobina orientada em 45° e 90°, e significativamente maior que a amplitude detectada nas orientações 0°, 135°, 180°, 225°, 270° e 315°. Não há diferença significativa entre a

Resultados

amplitude do PEM adquirido para EMT aplicada em 45° e 90°. As mínimas amplitudes foram obtidas para PEM gerados pela bobina orientada em 135° e 315°. Os resultados da comparação entre 45° e as demais orientações foram os mesmos tanto para os eletrodos simulados (Figura 17-A) quanto para os clusters de eletrodos (Figura 17-B).

Figura 16 – Mapas de amplitude dos PEM em cada orientação de aplicação de EMT. Interpolação por um fator de 8 para visualização. As orientações de 45° e 90° apresentam maior amplitude e maior região de ativação muscular em relação às demais. A porção distal do músculo ACP é recrutada com maior intensidade. (A) Mapas do hemisfério esquerdo de um sujeito representativo. (B) Mapas da média normalizada de todos os sujeitos estimulados.

Resultados

Figura 17 – Resultado da amplitude média de todos os sujeitos em função da orientação da bobina de EMT nos (A) eletrodos simulados e nos (B) clusters de eletrodos. O (*) indica que a amplitude detectada em 45° e 90° é significativamente maior ($P < 0,05$) que as amplitudes obtidas para orientação da bobina de EMT em 0°, 135°, 180°, 225°, 270° e 315°. Não há diferença significativa entre as amplitudes obtidas para EMT em 45° e 90°. Os resultados da comparação são os mesmos para as duas abordagens de análise da amplitude.

Resultados

Além da análise comparativa da amplitude dos PEM na orientação de 45° em relação às demais, verificamos também a diferença da amplitude entre todas as orientações ($P < 0,05$). As orientações antiparalelas possuem comportamentos similares em relação às suas orientações adjacentes, isto é, a amplitude para 45° é maior que as amplitudes em 0° e 90° , assim como em 225° é maior que as amplitudes em 180° e 270° . A amplitude dos PEM em 135° é menor que nas orientações adjacentes, como também ocorre para sua orientação antiparalela, 315° . O mesmo é observado nos pares 0° - 180° e 90° - 270° .

Os eletrodos simulados apresentaram diferença entre as amplitudes obtidas em 0° e 135° , bem como entre 135° e 225° (Figura 18-A). Os clusters de eletrodos também apresentaram diferenças entre as amplitudes em 0° e 315° , e entre 225° e 315° (Figura 18-B).

Figura 18 – Resultado da comparação múltipla da amplitude entre as orientações de posicionamento da bobina de EMT. As orientações que não compartilham uma letra são significativamente diferentes ($P < 0,05$). A amplitude em 45° e 90° é significativamente maior que a amplitude média em 0°, 135°, 180°, 225°, 270° e 315°. Não há diferença entre a amplitude obtida para 45° e 90°. Estes fatos são observados tanto para (A) amplitude dos PEM adquiridos pelos eletrodos simulados em configuração bipolar quanto para (B) amplitude média nos clusters de eletrodos.

Resultados

A Tabela 1 contém o valor médio de todos os sujeitos e o desvio padrão da latência, velocidade de condução, frequência mediana no cluster de eletrodos e frequência mediana no eletrodo simulado, dos PEM obtidos em cada orientação da bobina de EMT.

Tabela 1 – Resultados médio de todos os sujeitos da frequência mediana dos PEM nos clusters de eletrodos e nos eletrodos simulados, latência e velocidade de condução dos PEM, em função da orientação da bobina de EMT.

Orientação (°)	Frequência Mediana no Cluster (Hz) ± Desvio Padrão	Frequência Mediana do PEM Simulado (Hz) ± Desvio Padrão	Latência (ms) ± Desvio Padrão	Velocidade de Condução (m/s) ± Desvio Padrão
0	97,57 ± 18,41	77,73 ± 31,16	23,0 ± 1,0	2,766 ± 0,947
45	97,27 ± 12,35	75,92 ± 26,28	22,9 ± 1,7	3,150 ± 1,294
90	96,48 ± 15,14	70,67 ± 27,23	22,9 ± 1,5	2,892 ± 0,844
135	89,49 ± 17,22	77,73 ± 27,81	23,4 ± 1,7	3,112 ± 1,589
180	97,87 ± 14,59	79,42 ± 22,60	23,3 ± 1,5	2,925 ± 0,860
225	94,74 ± 13,91	82,57 ± 24,59	23,5 ± 1,3	2,860 ± 0,776
270	95,10 ± 13,99	73,03 ± 18,15	23,3 ± 1,3	2,981 ± 0,822
315	90,91 ± 15,52	81,65 ± 29,78	22,9 ± 1,7	2,905 ± 1,222

A latência e a velocidade de condução não apresentaram variações significativas em função da orientação da bobina de EMT, respectivamente ($P = 0,825$; teste de Kruskal-Wallis) e ($P = 0,680$; one-way ANOVA).

A frequência mediana não apresentou dependência significativa com a orientação da bobina de EMT nos clusters de eletrodos ($P = 0,826$; one-way ANOVA) e nos eletrodos simulados ($P = 0,637$; one-way ANOVA). A Figura 19 exibe os mapas de frequência mediana em função da orientação da bobina de EMT. A região da matriz de EMGs sobre a porção do músculo com maiores amplitudes possui valores de frequência mediana entre 70 e 100 Hz, enquanto logo abaixo da zona de inervação (linha 8) a frequência mediana é máxima, de 130 a 190 Hz.

Resultados

Figura 19 – Mapas de frequência mediana dos PEM em função da orientação da bobina de EMT de um sujeito representativo. Os maiores valores estão concentrados na linha da matriz abaixo da zona de inervação (linha 8) do músculo ACP, enquanto as menores frequências estão na região entre a zona de inervação e o tendão.

O tamanho dos clusters de eletrodos variou significativamente em função da orientação de aplicação da EMT ($P < 0,0001$; teste de Kruskal-Wallis). O tamanho do cluster em 90° é maior do que em 135° , 180° , 270° e 315° . O tamanho em 0° e em 45° é significativamente maior que em 315° (Figura 20). O elevado desvio padrão dos valores restringiu melhores discriminações da dependência do tamanho do cluster com a orientação de aplicação da EMT.

Resultados

Figura 20 – Resultado da comparação múltipla do tamanho relativo dos clusters em função das orientações da bobina de EMT. Orientações que compartilham a mesma letra não são significativamente diferentes.

6. Discussão

6.1 Desenvolvimento de Ferramentas Computacionais

6.1.1 InVesalius Navigator

O rastreamento da orientação da bobina de EMT em relação às estruturas corticais garante aplicações de EMT mais eficientes (Bashir *et al.*, 2013). Nosso método de cálculo da orientação da bobina em tempo real de navegação funcionou adequadamente e poderá ser utilizado nos próximos experimentos com EMT. Ainda é necessário monitorar outros dois ângulos de rotação da bobina, a fim de garantir pelos seis possíveis graus de liberdade (três de translação e três de rotação), que a bobina seja mantida sobre a posição e orientação desejadas em todas as aplicações de EMT.

O refinamento do corregristo por sobreposição de superfície contribui para neuronavegação com precisão milimétrica (Herwig *et al.*, 2001b; Grunert *et al.*, 2003). O método ICP escolhido funcionou adequadamente no primeiro teste, em que as três superfícies eram idênticas. No entanto, a nuvem de pontos, i.e. superfície alvo, possui diferenças morfológicas correspondentes à reconstrução obtida pelas IRM. Esta desigualdade reduz a precisão do método ICP e eleva sua complexidade. Por isso, ainda não obtivemos resultados satisfatórios com dados experimentais. Alguns parâmetros ainda devem ser calibrados para obtermos um corregristo ótimo, como o número de amostras para o processamento e a máxima distância entre pontos para cálculo do ajuste.

A interface e a rotina básica para aplicação do método ICP já foram incorporados ao InVesalius Navigator, assim como a ferramenta de monitoramento do ângulo da bobina de EMT. Os parâmetros do corregristo por sobreposição de superfícies devem ser mais bem definidos e experimentos de calibração devem ser conduzidos para estimar a precisão do

processo. A conclusão destas etapas permitirá que o InVesalius Navigator possa ser utilizado em nossos futuros experimentos de EMT, e também permitirá que seja distribuído para os grupos de pesquisa aos quais colaboramos e aos usuários que se interessarem.

6.1.2 MEPHunter HD

O MEPHunter HD permitiu extrair os PEM do sinal de EMGs do músculo ACP, e as grandezas necessárias para avaliar sua dependência com a orientação da bobina de EMT. Não foram encontrados softwares similares que pudessem extrair todas as informações desejadas para este estudo. Por isso, seu desenvolvimento foi essencial para execução deste projeto.

O MEPHunter HD possibilitou padronizar o processamento e análise dos dados de EMGs em nosso laboratório, e continuará sendo aprimorado e utilizado em nossos futuros experimentos. Assim como o InVesalius Navigator, o MEPHunter HD deverá ser distribuído livremente para os usuários que se interessarem.

6.2 Aplicação de EMT em Voluntários

A EMT aplicada tangencialmente sobre M1 induz campos e correntes elétricas paralelos à superfície cortical, estimulando preferencialmente os neurônios alinhados nesta direção (Day *et al.*, 1989; Roth & Basser, 1990; Mills *et al.*, 1992). A literatura corrente aponta para variações na latência (Werhahn *et al.*, 1994; Wilson *et al.*, 1996; Sakai *et al.*, 1997) e na amplitude dos PEM dos músculos da mão, em função da orientação da bobina (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992; Pascual-Leone *et al.*, 1994; Balslev *et al.*, 2007). Recentemente, Bashir *et al* (2013) utilizaram um sistema de neuronavegação e EMT, e concluíram que campos elétricos induzidos pela bobina de EMT orientados aproximadamente perpendiculares ao sulco central evocam PEM com máxima amplitude no músculo ACP.

Estas observações têm sido explicadas por argumentos da anatomia e fisiologia cortical, e pela interação dos campos elétricos induzidos com os neurônios motores (Pell *et al.*, 2011; Bashir *et al.*, 2013). Não foram encontrados experimentos direcionados a observação dos fatores relacionados à arquitetura da musculatura evocada e aos sistemas de EMGs, para detecção dos PEM.

Inicialmente, propusemos que em diferentes orientações da bobina de EMT grupos distintos de neurônios motores estariam sendo estimulados, e por isso, regiões musculares diferentes poderiam ser evocadas. A latência, velocidade de condução, frequência mediana nos clusters de eletrodos e nos eletrodos simulados não variaram em função do ângulo de estimulação, e por isso eliminam esta hipótese.

A relação entre a frequência mediana e o recrutamento motor é controversa (Farina, 2008; von Tscharnier & Nigg, 2008). Recentemente, Rodriguez-Falces *et al.* (Rodriguez-Falces *et al.*, 2013) concluíram que a frequência mediana do espectro de potência não possui dependência com a profundidade da fibra, e associá-la com tipos específicos de unidades motoras não é uma abordagem válida. Corroborando estes achados, nenhum deslocamento do espectro de frequência foi observado para diferentes orientações de aplicação da EMT, refutando nossa hipótese inicial.

A velocidade de condução por sua vez, é influenciada pela frequência de disparos dos potenciais e pelo calibre das fibras musculares recrutadas (Stalberg, 1966; Andreassen & Arendtnielsen, 1987; Zwarts & Stegeman, 2003). Como não observamos variações significativas na velocidade de condução, sugerimos que os tipos de unidades motoras recrutadas no músculo ACP não estão associados à orientação de aplicação do estímulo de EMT.

Estudos anteriores identificaram que a latência dos PEM para correntes induzidas na orientação posterior-anterior é aproximadamente 2 ms maior que na orientação lateral- medial

Discussão

(Werhahn *et al.*, 1994; Sakai *et al.*, 1997). Em nosso experimento não encontramos tais alterações, assim como Bashir *et al.* (2013) e Brasil-Neto *et al.* (1992). A elevada intensidade do estímulo magnético, 120% do limiar motor, pode ser um fator que contribuiu para não detectarmos variações significativas da latência (Di Lazzaro *et al.*, 2004; Bashir *et al.*, 2013). Além disso, o desvio padrão de nossas medidas é da ordem da diferença relatada na literatura, fator limitante da significância do teste.

Encontramos uma dependência significativa entre o tamanho do cluster de eletrodos e a orientação da bobina de estimulação. A bobina orientada em 45° e 90° tende a recrutar um grupo maior de unidades motoras distribuídas espacialmente no músculo ACP. Este resultado sugere que nestas orientações, a corrente induzida em M1 estimula populações de neurônios motores conectadas a regiões musculares discretas e distribuídas em uma maior área do músculo ACP (Pascual-Leone *et al.*, 1994).

Identificamos amplitudes de PEM significativamente maiores em 45° e 90° para orientação da bobina em relação à linha sagital média, como consta na literatura (Brasil-Neto *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1992). Fortalecendo as sugestões de Bashir *et al.* (2013) e Balslev *et al.* (2007), indicamos que a orientação ótima da bobina para estimulação do músculo ACP compreende um intervalo de 45° a 90° em relação à linha sagital média.

Os resultados obtidos pela amplitude nos clusters de eletrodos e nos eletrodos simulados em função da orientação da bobina de EMT foram os mesmo. A amplitude dos PEM em função da orientação da bobina não foi afetada pela localização e tamanho dos eletrodos simulados, consequência da anatomia fusiforme das fibras musculares e tamanho reduzido do músculo APB (Gupta & Michelsen-Jost, 2012). Além disso, os PEM estão distribuídos com máxima amplitude por toda a região compreendida entre a zona de inervação e a porção distal da matriz de eletrodos. Esta observação justifica que potenciais musculares representativos

Discussão

são detectados por eletrodos em arranjos convencionais e são suficientes para avaliar o efeito da orientação da bobina de EMT nos PEM, em termos de amplitude.

No entanto, vale destacar que os resultados obtidos neste experimento podem não ser necessariamente reprodutíveis em músculos que apresentam arquiteturas diferentes e múltiplos compartimentos (Vieira *et al.*, 2011), o que não esgota a investigação a respeito da orientação ótima da bobina de TMS em outros músculos do corpo humano.

7. Conclusão

A partir do desenvolvimento das ferramentas de medida da orientação da bobina e refinamento do correto registro por sobreposição de superfícies, nos atentamos à importância dos sistemas de neuronavegação para auxiliar o investigador nas aplicações de EMT, identificando com precisão a orientação relativa da bobina às estruturas cerebrais a serem estimuladas. Os experimentos futuros deverão utilizar posicionamento navegado.

Vimos que as matrizes de eletrodos de EMGs podem ser ferramentas úteis para investigação dos efeitos da EMT sobre M1, permitindo avaliar os PEM em toda a extensão do músculo.

A amplitude dos PEM no músculo ACP é máxima entre 45° e 90° de orientação da bobina de EMT. Neste estudo, o uso de eletrodos em arranjos convencionais detectou PEM representativos em função da orientação da bobina, verificados por EMGs adquirida com eletrodos em matrizes bidimensionais. No entanto, o efeito da orientação da bobina em outros músculos com diferentes arquiteturas e extensões ainda não foram esclarecidas, e possivelmente a utilização de matrizes de eletrodos podem ajudar a elucidar estas questões.

Referências

- Andreassen S & Arendtnielsen L. (1987). Muscle-fiber conduction-velocity in motor units of the human anterior tibial muscle - A new size principle parameter. *Journal of Physiology-London* **391**, 561-571.
- Balslev D, Braet W, McAllister C & Miall RC. (2007). Inter-individual variability in optimal current direction for transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. *Journal of neuroscience methods* **162**, 309-313.
- Barker AT, Jalinous R & Freeston IL. (1985). Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* **1**, 1106-1107.
- Bashir S, Perez JM, Horvath JC & Pascual-Leone A. (2013). Differentiation of Motor Cortical Representation of Hand Muscles by Navigated Mapping of Optimal TMS Current Directions in Healthy Subjects. *Journal of Clinical Neurophysiology* **30**, 390-395.
- Basmajian JV & De Luca CJ. (1985). *Muscles alive: their functions revealed by electromyography*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Boroogerdi B, Foltys H, Krings T, Spetzger U, Thron a & Töpper R. (1999). Localization of the motor hand area using transcranial magnetic stimulation and functional magnetic resonance imaging. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* **110**, 699-704.
- Brasil-Neto JP, Cohen LG, Panizza M, Nilsson J, Roth BJ & Hallett M. (1992). Optimal focal transcranial magnetic activation of the human motor cortex: effects of coil orientation, shape of the induced current pulse, and stimulus intensity. *Journal of Clinical Neurophysiology* **9**, 132-136.
- Butler AJ & Wolf SL. (2007). Putting the brain on the map: Use of transcranial magnetic stimulation to assess and induce cortical plasticity of upper-extremity movement. *Physical Therapy* **87**, 719-736.
- Conforto AB, Z'Graggen WJ, Kohl AS, Rösler KM & Kaelin-Lang A. (2004). Impact of coil position and electrophysiological monitoring on determination of motor thresholds to transcranial magnetic stimulation. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* **115**, 812-819.
- Cukic M, Kalauzi a, Ilic T, Miskovic M & Ljubisavljevic M. (2009). The influence of coil-skull distance on transcranial magnetic stimulation motor-evoked responses. *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung Expérimentation cérébrale* **192**, 53-60.
- Danner N, Julkunen P, Kononen M, Saisanen L, Nurkkala J & Karhu J. (2008). Navigated transcranial magnetic stimulation and computed electric field strength reduce

- stimulator-dependent differences in the motor threshold. *Journal of Neuroscience Methods* **174**, 116-122.
- Day BL, Dressler D, Denoordhout AM, Marsden CD, Nakashima K, Rothwell JC & Thompson PD. (1989). Electric and magnetic stimulation of human motor cortex - surface EMG and single motor unit responses. *Journal of Physiology-London* **412**, 449-473.
- Di Lazzaro V, Oliviero A, Pilato F, Saturno E, Dileone M, Mazzone P, Insola A, Tonali PA & Rothwell JC. (2004). The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clinical Neurophysiology* **115**, 255-266.
- Disselhorst-Klug C, Rau G, Schmeer a & Silny J. (1999). Non-invasive detection of the single motor unit action potential by averaging the spatial potential distribution triggered on a spatially filtered motor unit action potential. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology* **9**, 67-72.
- Drost G, Stegeman DF, van Engelen BGM & Zwarts MJ. (2006). Clinical applications of high-density surface EMG: a systematic review. *Journal of electromyography and kinesiology : official journal of the International Society of Electrophysiological Kinesiology* **16**, 586-602.
- Farina D. (2008). Last Word on Point: Counterpoint: Spectral properties of the surface EMG can characterize/do not provide information about motor unit recruitment strategies and muscle fiber type. *Journal of Applied Physiology* **105**, 1683-1683.
- Farina D, Muhammad W, Fortunato E, Meste O, Merletti R & Rix H. (2001). Estimation of single motor unit conduction velocity from surface electromyogram signals detected with linear electrode arrays. *Medical & Biological Engineering & Computing* **39**, 225-236.
- George MS, Nahas Z, Molloy M, Speer AM, Oliver NC, Li X-B, Arana GW, Risch SC & Ballenger JC. (2000). A controlled trial of daily left prefrontal cortex TMS for treating depression. *Biological Psychiatry* **48**, 962-970.
- Grunert P, Darabi K, Espinosa J & Filippi R. (2003). Computer-aided navigation in neurosurgery. *Neurosurgical Review* **26**, 73-99.
- Guggisberg AG, Dubach P, Hess CW, Wuthrich CC & Mathis J. (2001). Motor evoked potentials from masseter muscle induced by transcranial magnetic stimulation of the pyramidal tract: the importance of coil orientation. *Clinical Neurophysiology* **112**, 2312-2319.
- Gugino LD, Romero JR, Aglio L, Titone D, Ramirez M, Pascual-Leone a, Grimson E, Weisenfeld N, Kikinis R & Shenton ME. (2001). Transcranial magnetic stimulation coregistered with MRI: a comparison of a guided versus blind stimulation technique and its effect on evoked compound muscle action potentials. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* **112**, 1781-1792.

- Gupta S & Michelsen-Jost H. (2012). Anatomy and Function of the Thenar Muscles. *Hand Clinics* **28**, 1-+.
- Herwig U, Padberg F, Unger J, Spitzer M & Schönfeldt-Lecuona C. (2001a). Transcranial magnetic stimulation in therapy studies: examination of the reliability of “standard” coil positioning by neuronavigation. *Biological Psychiatry* **50**, 58-61.
- Herwig U, Schönfeldt-Lecuona C, Wunderlich AP, von Tiesenhausen C, Thielscher A, Walter H & Spitzer M. (2001b). The navigation of transcranial magnetic stimulation. *Psychiatry Research: Neuroimaging* **108**, 123-131.
- Kammer T, Beck S, Thielscher A, Laubis-Herrmann U & Topka H. (2001). Motor thresholds in humans: a transcranial magnetic stimulation study comparing different pulse waveforms, current directions and stimulator types. *Clinical Neurophysiology* **112**, 250-258.
- Kaneko K, Kawai S, Fuchigami Y, Morita H & Ofuji a. (1996). The effect of current direction induced by transcranial magnetic stimulation on the corticospinal excitability in human brain. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* **101**, 478-482.
- Kobayashi M & Pascual-Leone A. (2003). Transcranial magnetic stimulation in neurology. *The Lancet Neurology* **2**, 145-156.
- Levy WJ, Amassian VE, Schmid UD & Jungreis C. (1991). Mapping of motor cortex gyral sites noninvasively by transcranial magnetic stimulation in normal subjects and patients. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 51-75.
- Masuda T, Miyano H & Sadoyama T. (1985). A surface electrode array for detecting action potential trains of single motor units. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **60**, 435-443.
- Merletti R, Avenaggiato M, Botter A, Holobar A, Marateb H & Vieira TMM. (2010a). Advances in surface EMG: Recent progress in detection and processing techniques. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* **38**, 305-345.
- Merletti R, Botter A, Cescon C, Minetto MA & Vieira TMM. (2010b). Advances in surface EMG: Recent progress in clinical research applications. *Critical Reviews in Biomedical Engineering* **38**, 347-379.
- Merletti R, Farina D & Gazzoni M. (2003). The linear electrode array: a useful tool with many applications. *Journal of Electromyography and Kinesiology* **13**, 37-47.
- Mills KR, Boniface SJ & Schubert M. (1992). Magnetic brain-stimulation with a double coil - the importance of coil orientation. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **85**, 17-21.
- Pascual-Leone A, Cohen LG, Brasil-Neto JP & Hallett M. (1994). Noninvasive differentiation of motor cortical representation of hand muscles by mapping of optimal current directions. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **93**, 42-48.

Referências

- Pell GS, Roth Y & Zangen A. (2011). Modulation of cortical excitability induced by repetitive transcranial magnetic stimulation: influence of timing and geometrical parameters and underlying mechanisms. *Progress in neurobiology* **93**, 59-98.
- Peres ASC. (2012). Desenvolvimento de protocolos de neuronavegação para estudos de estimulação magnética transcraniana e suas aplicações em voluntários controle e pacientes com acidente vascular cerebral. In *Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirao Preto*, pp. 174. University of Sao Paulo, Ribeirao Preto.
- Reucher H, Rau G & Silny J. (1987a). Spatial-filtering of noninvasive multielectrode EMG: Part I - Introduction to measuring technique and applications. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* **34**, 98-105.
- Reucher H, Silny J & Rau G. (1987b). Spatial filtering of noninvasive multielectrode EMG: Part II - Filtering performance in theory and modeling. *Ieee Transactions on Biomedical Engineering* **34**, 106-113.
- Rodriguez-Falces J, Negro F, Gonzalez-Izal M & Farina D. (2013). Spatial distribution of surface action potentials generated by individual motor units in the human biceps brachii muscle. *Journal of Electromyography and Kinesiology* **23**, 766-777.
- Romero JR, Ramirez DM, Aglio LS & Gugino LD. (2011). Brain mapping using transcranial magnetic stimulation. *Neurosurgery clinics of North America* **22**, 141-152, vii.
- Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A & Safety TMSCG. (2009). Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clinical Neurophysiology* **120**, 2008-2039.
- Roth BJ & Basser PJ. (1990). A model of the stimulation of a nerve fiber by electromagnetic induction. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on* **37**, 588-597.
- Saisanen L, Pirinen E, Teitti S, Kononen M, Julkunen P, Maatta S & Karhu J. (2008). Factors influencing cortical silent period: Optimized stimulus location, intensity and muscle contraction. *Journal of Neuroscience Methods* **169**, 231-238.
- Sakai K, Ugawa Y, Terao Y, Hanajima R, Furubayashi T & Kanazawa I. (1997). Preferential activation of different I waves by transcranial magnetic stimulation with a figure-of-eight-shaped coil. *Experimental Brain Research* **113**, 24-32.
- SENIAM TP. (1997). *The State of the Art on Sensors And Sensors Placement Procedures for Surface ElectroMyoGraphy: A proposal for sensor placement procedures.*, vol. 5. Roessingh Research and Development, Enschede, the Netherlands.
- Souza VHO, Rodrigues EM, Peres ASC, Amorim PHJ, Moraes TF, Martins TA-CP, Silva JVL & Baffa-Filho O. (2011). Neuronavigation software for transcranial magnetic stimulation. *Brazilian Journal of Medical Physics - Proceedings of the 18th International Conference on Medical Physics* **5**, 83-83.

- Stalberg E. (1966). Propagation velocity in human muscle fibers *in situ*. *Acta Physiologica Scandinavica* **S 70**, 7-&.
- Stokes MG, Chambers CD, Gould IC, English T, McNaught E, McDonald O & Mattingley JB. (2007). Distance-adjusted motor threshold for transcranial magnetic stimulation. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* **118**, 1617-1625.
- Vieira TMM, Loram ID, Muceli S, Merletti R & Farina D. (2011). Postural activation of the human medial gastrocnemius muscle: are the muscle units spatially localised? *Journal of Physiology-London* **589**, 431-443.
- Vieira TMM, Merletti R & Mesin L. (2010). Automatic segmentation of surface EMG images: Improving the estimation of neuromuscular activity. *Journal of Biomechanics* **43**, 2149-2158.
- von Tscherner V & Nigg BM. (2008). Last Word on Point: Counterpoint: Spectral properties of the surface EMG can characterize/do not provide information about motor unit recruitment strategies and muscle fiber type. *Journal of Applied Physiology* **105**, 1682-1682.
- Wassermann EM, McShane LM, Hallett M & Cohen LG. (1992). Noninvasive mapping of muscle representations in human motor cortex. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **85**, 1-8.
- Werhahn KJ, Fong JKY, Meyer BU, Priori A, Rothwell JC, Day BL & Thompson PD. (1994). The effect of magnetic coil orientation on the latency of surface EMG and single motor unit responses in the first dorsal interosseous muscle. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **93**, 138-146.
- Wilson SA, Day BL, Thickbroom GW & Mastaglia FL. (1996). Spatial differences in the sites of direct and indirect activation of corticospinal neurones by magnetic stimulation. *Electromyography and Motor Control-Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* **101**, 255-261.
- Zwarts MJ & Stegeman DF. (2003). Multichannel surface EMG: Basic aspects and clinical utility. *Muscle & Nerve* **28**, 1-17.

Apêndice A

Este anexo é dedicado à análise da amplitude dos PEM obtidos em função da orientação da bobina de EMT e em função do hemisfério estimulado. Apesar de não ser objeto central deste estudo, possui observações relevantes para a metodologia de estudo da EMT.

A Figura 21 ilustra as amplitudes obtidas para os clusters de eletrodos e para os eletrodos simulados resultantes da estimulação no hemisfério esquerdo e direito. O comportamento da amplitude dos PEM em função da orientação é similar em ambos os lados. Amplitudes máximas foram obtidas para 45° e 90° e mínimas em 135° e 315°.

Assim como Bashir *et al.* (2013), não observamos influência do hemisfério estimulado na relação entre amplitudes dos PEM e a orientação da bobina de EMT. Observa-se que há uma tendência de as amplitudes no hemisfério esquerdo serem ligeiramente maiores que no hemisfério direito, mas resultados significativos não foram encontrados.

Em decorrência dessas observações, decidimos por desconsiderar o hemisfério estimulado na comparação das propriedades dos PEM em função da orientação da bobina de EMT.

Figura 21 – Amplitudes médias normalizadas dos PEM para os (A) eletrodos simulados e os (B) clusters de eletrodos. A bobina orientada em 45° e 90°, em qualquer dos dois hemisférios gerou PEM com amplitudes máximas. O hemisfério simulado não influencia na relação entre a orientação e as amplitudes dos PEM.