



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

**Instrumentação e Padronização da Avaliação de Respostas Motoras  
Evocadas nos Músculos do Diafragma e Língua por Estimulação  
Magnética Transcraniana Associada a Ultrassom**

**Projeto de Iniciação Científica submetido para avaliação:**

**EDITAL N°4/2022**

**SÃO BERNARDO DO CAMPO**

**2022**

## RESUMO

**Introdução.** A estimulação magnética transcraniana (EMT) é capaz de promover ativação fásica de grupos neuronais no córtex cerebral e consequentemente de vias motoras descendentes. Esta ativação gerando sinais conhecidos como potenciais evocados motores (PEM) e que comumente são registrados por eletromiografia de superfície (sEMG). Entretanto, esta técnica de registro não é eficiente para a obtenção de potenciais evocados em certos músculos devido às características anatômicas deles e há interesse em investigar outras técnicas de avaliação. Uma das alternativas que se mostrou promissora é a técnica de ultrassom muscular (mUS) no monitoramento de músculos como a língua e o diafragma. Entretanto, a padronização desta técnica é raramente descrita na literatura científica.

**Justificativa.** A técnica de EMT-US pode ser útil na avaliação e diagnóstico de uma série de doenças em que o acometimento principal se dá em músculos profundos, de difícil monitoramento com EMG. **Objetivo.** Avaliar e padronizar a técnica de obtenção de PEM derivados de EMT-US em indivíduos saudáveis. **Métodos.** Será realizada uma estimulação magnética transcraniana em 10 participantes saudáveis e o registro de PEM e ainda ultrassonografia na língua e no diafragma com o músculo abdutor curto do polegar como controle.

**Palavras-chave do projeto:** estimulação magnética transcraniana, esclerose lateral amiotrófica, eletromiografia de superfície, ultrassom muscular

**Área de conhecimento do projeto:** Neurociências

## 1. INTRODUÇÃO

A estimulação magnética transcraniana (EMT) é um método de neuromodulação não invasiva, usado amplamente para investigação da fisiologia cortical <sup>[1]</sup>. A EMT utiliza de estímulos magnéticos excitatórios ou inibitórios, tais estímulos podem agir de tal modo a estimular a contração da musculatura alvo. Durante a estimulação são medidos o tempo e magnitude das contrações musculares com auxílio de técnicas de eletromiografia de superfície. Com esta técnica obtém-se o limiar de resposta do córtex motor, que mede a excitabilidade cortical. A instrumentação da EMT é geralmente feita com o uso de eletrodos de superfície, o que dificulta a investigação da excitabilidade cortical de músculos profundos, como, por exemplo, a língua e o músculo diafragma.

O monitoramento da excitabilidade da língua e do diafragma são de grande importância para investigação da esclerose lateral amiotrófica, Tal doença acomete a região bulbar primordialmente em 20-30% dos casos, e pode acometer tardiamente aqueles que possuem sintomas iniciais em outros locais <sup>[2]</sup>.

O acometimento da região bulbar é uma característica da esclerose lateral amiotrófica, que gera um quadro progressivo de fraqueza muscular devido à morte de neurônios motores superiores e inferiores <sup>[3]</sup>. A esclerose lateral amiotrófica é uma das doenças neurodegenerativas que mais acomete idosos e adultos <sup>[4]</sup>, possuindo um quadro clínico irreversível. A fraqueza muscular acomete os músculos respiratórios, bulbares, apendiculares e axiais, ocasionando perda da capacidade ventilatória, disfonia, disfagia, tetraparesia, dependência de equipamentos para suporte de vida e de cuidadores para as atividades de vida diária <sup>[5,6]</sup>.

No caso da esclerose lateral amiotrófica, as musculaturas bulbares responsáveis por suporte à vida dos pacientes sofrem os efeitos da doença. A fraqueza muscular de tais músculos é difícil de ser monitorada antes do aparecimento de sintomas. Dessa forma, o uso de ultrassom muscular (mUS) pode viabilizar o processo de investigação de tais musculaturas mais profundas, ou de difícil acesso, em comparação à técnica de eletromiografia de superfície.

O monitoramento da musculatura bulbar antes do aparecimento dos sintomas da esclerose lateral amiotrófica é crucial para que seja possível identificar a predisposição à doença e atuar de maneira a reduzir a progressão da mesma, obtendo-se assim, um aumento na sobrevida do paciente.

## **2. OBJETIVO**

Este projeto tem como propósito replicar a técnica utilizada em um estudo pioneiro publicado em 2021 <sup>[2]</sup>. Neste estudo avaliou a atividade muscular da língua, tibial anterior, bíceps e da primeira dorsal interóssea da mão, associando o EMT e US em indivíduos saudáveis. No presente projeto utilizaremos o músculo abductor curto do polegar como controle, a língua e diafragma associando o EMT e o ultrassom em busca de resultados similares. Especificamente, o objetivo deste projeto é instrumentalizar e padronizar a técnica da avaliação de respostas motoras evocadas por estimulação magnética transcraniana associada ao ultrassom para o diafragma e a língua.

## **3. JUSTIFICATIVA:**

A avaliação precoce de músculos profundos possibilita a realização de intervenções que reduzem a progressão da esclerose lateral amiotrófica. Os pacientes que apresentam sintomas bulbares possuem menor chance de sobrevivência <sup>[4]</sup>. Contudo, há escassez na literatura de métodos de avaliação a não ser por sintomas clínicos. Os estudos demonstram que associado ao aparecimento dos sintomas, ocorre a morte expressiva de neurônios responsáveis pela inervação dessas áreas <sup>[4]</sup>. Sendo assim, diante da padronização e instrumentação da EMT com a ultrassonografia há possibilidade de avaliar os pacientes de forma precoce e realizar tratamentos adequados.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

Este projeto será submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do ABC (UFABC) e somente será iniciado após sua aprovação. Ele será realizado nas dependências da UFABC, campus de São Bernardo do Campo e no Laboratório de Pesquisa da Fisioterapia, localizado no prédio dos ambulatórios do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

### **4.1 Participantes**

Serão incluídos 10 adultos saudáveis, destros e de ambos sexos. Os participantes não serão incluídos no estudo se foram diagnosticados com trauma físico recente, como uma fratura, obesos ou com patologia nos músculos a serem estudados, possuam biomateriais implantados no cérebro ou no crânio e que estejam em uso regular de substâncias que possam modificar a atividade do sistema nervoso. Nenhum participante pode ter contra indicações ao EMT e ao ultrassom, tais informações serão obtidas através de um questionário a ser elaborado.

#### **4.2 Estimulação magnética transcraniana**

O equipamento utilizado será um MagPro R30 (MagVenture, Dinamarca), possui potencial de 20k pulsos únicos em uma sessão, taxa de repetição máxima podendo variar entre 30 e 80 pulsos por segundo e possui onda na forma bifásica. A bobina Cool-B70 (MagVenture) possui formato de borboleta ou figura de oito com resfriamento ativo. Para garantir o seu melhor posicionamento será utilizado um neuronavegador.

A bobina será disposta sobre o córtex motor primário (M1), tangencial ao escalpo, 45° da linha sagital mediana, aproximadamente perpendicular ao sulco central e a corrente em direção pósterio-anterior. O alvo da estimulação "Hotspot" será determinado ao variar a da bobina e intensidade de estimulação sobre a área representada pelo homúnculo motor, marcando os locais correspondentes de maior saída de potenciais evocados motores (PEM): do músculo abdutor curto do polegar (ACP), da língua e do diafragma .

Os voluntários estarão sentados e sujeitos a 100 pulsos únicos de EMT, sendo 10 blocos com 10 pulsos únicos EMT em intervalos de 10% entre 10%-100% a maior saída estimuladora, em cima do ponto ótimo para estimulação, comumente chamado de "*hotspot*", correspondente para o ACP, a língua e o diafragma. Em prol de diminuir a antecipação do pulso, a intensidade do estímulo será aleatória e o intervalo será ajustado aleatoriamente no intervalo de 3-4 segundos entre cada pulso EMT.

O limiar motor em repouso (LM) no hemisfério não dominante será estabelecido. Em prol de seguir as diretrizes internacionais, um LM individual será definido como a saída do estimulador no qual pelo menos 5 de 10 tentativas consecutivas devem produzir uma amplitude PEM de pelo menos 50µV.

### **4.3 ULTRASSONOGRAFIA**

Os registros do ultrassom serão adquiridos utilizando a Logiq F8 Ultrasound Machine (GE) sistema de imagens de ultrassom. As imagens serão capturadas por segurar o transdutor do ultrassom em paralelo às fibras musculares do ACP e por baixo do queixo, numa orientação de um corte transversal, para a imagem da língua. Para o diafragma o transdutor ficará entre o quinto e sexto intervalo intercostal unilateralmente.

O transdutor do dispositivo possui uma taxa de imagem de 60 fps em média e o alcance da frequência escolhido é de 7 MHz para melhor análise dos músculos esqueléticos.

O sistema será configurado no modo harmônicas ligadas e foco. A profundidade de foco será definida diferentemente para cada músculo para se buscar as imagens mais otimizadas. Será utilizado o gel de eletrodos Spectra 360 (Parker Laboratories Inc., Fairfield - NJ, USA).

### **4.4 Eletromiografia de superfície**

A sEMG será monitorado com eletrodos de superfície (WhiteSensor 40713, Ambu®, Denmark). Os eletrodos estarão dispostos bilateralmente no ACP. Para registro na língua, o eletrodo será posicionado ao longo do sulco medial da língua, e o eletrodo de referência será disposto no medial posterior, aproximadamente no freio da língua. É necessário revisar a literatura com maior profundidade para definir a posição dos eletrodos no caso dos registros no diafragma. Os eletrodos serão conectados a um sistema amplificador (D360, Digitimer Ltd, Welwyn Darden City, Hertfordshire, UK) e será utilizado o software SIGNAL (Version 7, Cambridge Electronic Design Ltd, Cambridge, UK) para registro do fluxo de dados.

### **4.5 Análise dos dados**

Os picos de PEM serão obtidos pelo sEMG, usando o Python(3.10.5) na IDE PyCharm Community (Build 221.5921.27, JetBrains) e analisados offline, com R (Versão 4.2.0) no RStudio (Versão 2022.02.03-492, RStudio, Inc., Boston, MA, USA). As PEMs individuais e em grupo serão calculadas com suas respectivas frequências e serão representados em um gráfico relacionando PEM por intensidade de estímulo com uma linha destacada que será a média do grupo, para cada músculo em estudo.

As análises computacionais das imagens do mUS serão utilizadas para quantificar os espasmos evocados pelo EMT. Para o ACP (músculo controle) será utilizado uma abordagem baseado no rastreamento de recursos Lucas-Kanade<sup>[7]</sup> será utilizada para capturar os deslocamentos evocados pelo EMT, como descritos em outro lugar<sup>[8,9]</sup>. Em suma, isso envolve colocar um espaço uniformemente dividido em uma grade de 80x100 de recursos por cima da imagem. Uma busca iterativa será utilizada para identificar a posição de cada recurso na imagem e a sua subsequente, obtendo-se assim o movimento total calculado de todos os recursos entre as duas, obtendo valores de deslocação.

O processo será repetido para todas as imagens gravadas em sequência. Os valores de descolamento total resultantes serão suavizados (filtro lowpass butterworth, corte de 5Hz) e os picos maior que o limiar (média do sinal + 0,25x SD) serão identificados. O tempo de cada pico, identificado a partir dos marcadores de tempo [10].

Os movimentos subjacentes relacionados à respiração e a deglutição serão capturados nas sequências de imagens da língua. Isso pode causar um deslocamento no resultado de rastreamento dos recursos, que por sua vez influenciaria a medição da magnitude das contrações musculares evocadas. Portanto, para a língua, uma nova abordagem será utilizada.[11] Essa abordagem assume que o valor de intensidade de cada pixel dificilmente varia quando o músculo está em repouso, porém quando há uma contração evocada, é feito uma variação transitória na intensidade do pixel local na área da imagem que ocorreu a contração muscular. O valor da intensidade de cada pixel nas primeiras 500 imagens é utilizado para a construção de um modelo de mistura Gaussiana.[12]

Para o diafragma uma adaptação é necessária. O pulso do EMT deverá ser dado no final de cada respiração, logo teremos menos pulsos para serem analisados, tendo assim um número menor de imagens finais.

Três distribuições serão utilizadas. As distribuições serão ponderadas com base na proporção da sequência de imagens no qual suas intensidades ocorrem. As intensidades da distribuição mais ponderada ocorre quando o músculo está em repouso, enquanto isso a intensidade em distribuições menos ponderadas ocorre quando há uma contração evocada.

O modelo de mistura será utilizado para categorizar os pixels em todas imagens subsequentes (>500) tanto no plano de fundo como no primeiro plano. O modelo se atualizará para se

adaptar a qualquer mudança repetitiva na intensidade do valor do pixel (ex., padrões de respiração).

As imagens gravadas durante uma contração evocada deverão conter densos aglomerados de pixels no primeiro plano localizados na área onde ocorreu o deslocamento do tecido muscular. Componentes conectivos serão utilizados para analisar a densidade de cada pixel do primeiro plano para cada imagem e os pixels mais esparsamente distribuídos do primeiro plano (resultantes de ruído) serão descartados.<sup>[13]</sup>

O resultado final deverá ser, portanto, um sinal 1D do número de objetos no primeiro plano em cada frame, com maior número de objetos em primeiro plano indicando um grande deslocamento do tecido muscular. As correlações de Pearson determinarão a relação entre sEMG e mUS.

## **ESPERADOS ESPERADOS**

Espera-se reproduzir os resultados relatados no estudo de 2021 <sup>[2]</sup>, ou seja, que a avaliação por mUS seja eficaz na avaliação das RME de tal modo a termos uma solução alternativa para sEMG, que apresenta obstáculos para monitorar musculaturas de difícil acesso como a língua e o diafragma.

## **VIABILIDADE DE EXECUÇÃO**

O laboratório especificado possui todos os equipamentos necessários e conhecimento de sua utilização. A equipe envolve alguns docentes e alunos de pós-graduação, garantindo a boa orientação ao bolsista e execução do projeto de pesquisa.

## **CRONOGRAMA**

Atividade	Período (meses)			
	1-3	4-6	7-10	9-12
Revisão de literatura	X			
Montagem e configuração dos equipamentos	X	X		
Aprendizagem de uso dos equipamentos e protocolos		X		
Execução dos experimentos			X	
Análise dos dados				X



Preparo do relatório final e da apresentação para Simpósio de IC				X
--	--	--	--	---

## 6. REFERÊNCIAS

1. Boggio, P. et al. Estimulação magnética transcraniana na neuropsicologia: novos horizontes em pesquisa sobre o cérebro. *Brazilian Journal of Psychiatry*; doi:<https://doi.org/10.1590/S1516-44462006000100010> (2006).
2. KACZMARCZYK, I.; RAWJI, V.; ROTHWELL, J.; HODSON-TOLE, E.; SHARMA, N. et al. Comparison between surface electrodes and ultrasound monitoring to measure TMS evoked muscle contraction. *Wiley Online Library* (2021).
3. BRUNET, A.; STUART-LOPEZ, G.; BURG, T.; SCEKIC-ZAHIROVIC, J. *et al.* Cortical Circuit Dysfunction as a Potential Driver of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurosci*, 14, p. 363 (2020).
4. Protocolo clínico para o tratamento do paciente com esclerose lateral amiotrófica/doença do neurônio motor: guia terapêutico / organização Cristina Salvioni, Adriana Leico Oda, São José dos Campos, SP : Associação Brasileira de Esclerose Lateral Amiotrófica (ABrEla) : Pulso Editorial (2021).
5. Hardiman, O. et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers* vol. 3 17071 (2017).
6. Brown, R. H. & Al-Chalabi, A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 377, 162–172 (2017).
7. Lucas, B. D. & Kanade, T. An iterative image registration technique with an application to stereo vision. In *Proceedings DARPA Image Understanding Workshop*: 121-130 (1981).
8. Darby, J., Hodson-Tole, E. F., Costen, N. & Loram, I. D. Automated regional analysis of B-mode ultrasound images of skeletal muscle movement. *J Appl Physiol* 112, 313–327 (2012).
9. Harding, P. J., Loram, I. D., Combes, N. & Hodson-Tole, E. F. Ultrasound-based detection of fasciculations in healthy and diseased muscles. *IEEE Trans Biomed Eng* 63, 512–518 (2016).

10. Miguez, D., Hodson-Tole, E. F., Loram, I. & Harding, P. J. A technical note on variable inter-frame interval as a cause of non-physiological experimental artefacts in ultrasound. *R Soc Open Sci* 4, 170245 (2017).
11. Bibbings, K., Harding, P. J., Loram, I. D., Combes, N. & Hodson-Tole, E. F. Foreground detection analysis of ultrasound image sequences identifies markers of motor neurone disease across diagnostically relevant skeletal muscles. *Ultrasound Med Biol* 45,1164–1175 (2019).
12. KaewTraKulPong, P. & Bowden, R. An improved adaptive background mixture model for real-time tracking with shadow detection. in *Video-Based Surveillance Systems* (eds. Remagnino, P., Jones, G. A., Paragios, N. & Regazzoni, C. S.) 135–144, Springer US, (2002).
13. Stauffer, C. & Grimson, W. E. L. Adaptive background mixture models for real-time tracking. in *Proceedings. 1999 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* (Cat. NoPR00149); 246-252 (IEEE Comput. Soc, 1999). doi:<https://doi.org/10.1109/CVPR.1999.784637>.