

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA E
INFORMÁTICA INDUSTRIAL

HELLEN MATHEI DELLA JUSTINA

**INTERAÇÃO ENTRE AS ÁREAS FUNCIONAIS DO SISTEMA
VISUAL E DO SISTEMA VESTIBULAR - ESTUDO COM RMF E EGV**

TESE

CURITIBA

2014

HELLEN MATHEI DELLA JUSTINA

**INTERAÇÃO ENTRE AS ÁREAS FUNCIONAIS DO SISTEMA
VISUAL E DO SISTEMA VESTIBULAR - ESTUDO COM RMF E EGV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências” – Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Humberto Remigio Gamba

Coorientador: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior

CURITIBA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

J96i Justina, Hellen Mathei Della
2014 Interação entre as áreas funcionais do sistema visual
e do sistema vestibular : estudo com RMF e EGV / Hellen
Mathei Della Justina.-- 2014.
122 f.: il.; 30 cm

Texto em português, com resumo em inglês
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal
do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Elétrica e Informática Industrial, Curitiba, 2014
Bibliografia: f.103-112

1. Vias visuais. 2. Vestíbulos (Ouvidos). 3. Equilíbrio
(Fisiologia). 4. Imagem por ressonância magnética.
5. Cérebro - Fisiologia. 6. Métodos de simulação.
7. Engenharia biomédica. 8. Engenharia elétrica -
Teses. I. Gamba, Humberto Remígio. II. Amaro Júnior,
Edson. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica
e Informática Industrial. IV. Título.

CDD 22 -- 621.3

Biblioteca Central da UTFPR, Câmpus Curitiba

Título da Tese Nº. 96

“Estudo da interação cerebral entre as áreas funcionais dos sistemas visual e vestibular”

por

Hellen Mathei Della Justina

Orientador: Prof. Dr. Humberto Remigio Gamba

Esta tese foi apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de DOUTOR EM CIÊNCIAS – Área de Concentração: Engenharia Biomédica, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial – CPGEI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, às 14h do dia 21 de fevereiro de 2014. O trabalho foi aprovado pela Banca Examinadora, composta pelos doutores:

Prof. Dr. Edson Amaro Jr.
(Presidente – USP-FM)

Prof. Dr. Roberto José Maria Covalan
(Unicamp)

Prof. Dr. Miguel Antonio Sovierzoski
(UTFPR-PPGEB)

Prof.^a Dr.^a Elisangela Ferretti Manffra
(PUCPR)

Prof.^a Dr.^a Mauren Abreu de Souza
(PNPD-CPGEI)

Visto da Coordenação:

Prof. Ricardo Lüders, Dr.
(Coordenador do CPGEI)

Dedico este trabalho ao meus amores, Lincoln e Sofia. Esse por ser meu grande companheiro e por durante todos estes anos me incentivar e contribuir para que este projeto fosse concluído, e esta por dar um significado completamente novo a minha vida e por me fazer querer ser uma pessoa melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, Prof. Humberto Remigio Gamba, por topar esta empreitada comigo.

Agradeço ao Prof. Edson Amaro Jr. por apoiar e acreditar no meu projeto. Agradeço pela parceria criada e por todo o auxílio que obtive, principalmente durante os meses em que estive em São Paulo frequentando o LIM 44.

Agradeço aos professores Dráulio Barros de Araújo e Albrecht Zwick pela ajuda no desenvolvimento e na construção das primeiras versões do Estimulador Galvânico Vestibular.

Agradeço aos colegas e amigos Anderson Marcelo Winkler e Tiago Arruda Sanchez pelas inúmeras discussões, pelas sugestões, pelo companheirismo e pelo incentivo.

Agradeço aos amigos e colegas do LABIEM, Gustavo, Luiz, Gazzoni, Diogo, Giselle, Arnaldo, Rambo, Paulo, Felipe, Leonardo, Ricardo e Welton pela parceria. Um agradecimento especial ao Tiago Manczak por sua enorme dedicação para o desenvolvimento do projeto do Estimulador Galvânico Vestibular.

Agradeço a todos os amigos e colegas do LIM 44 pela calorosa recepção e total apoio durante todo o meu período em SP. Em especial à Mariana, à Katerina, à Joana, ao Khallil, à Paula, ao Carlão, ao Arthur, ao Gilson e ao Cesário por suas especiais contribuições para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos amigos Carmen Caroline Raser e Leandro Karan pelos períodos de estudos nos primeiros anos e pela amizade.

A todas as pessoas que participaram voluntariamente neste projeto.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de doutorado concedida para o desenvolvimento deste projeto.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo apoio financeiro durante o meu estágio no InRad, São Paulo.

Agradeço aos meus familiares, meus pais Neide e Joadelívio e meus irmãos, Marcus e Scheila, pelo apoio, auxílio e incentivo constantes.

E, por fim, as duas maiores paixões da minha vida: a minha filha Sofia, a qual começou a ser formada durante este processo e que me ajudou a manter a calma e a tranquila nesses últimos anos e, ao meu marido Lincoln, agradeço o seu apoio, dedicação, compreensão e incentivo durante toda a nossa convivência. Amo vocês!

“A ciência não pode resolver o mistério final da natureza. E isto porque, em última análise, somos parte do mistério que tentamos resolver” Max Planck.

RESUMO

DELLA-JUSTINA, HM. INTERAÇÃO ENTRE AS ÁREAS FUNCIONAIS DO SISTEMA VISUAL E DO SISTEMA VESTIBULAR - ESTUDO COM RMf E EGV. 124 f. Tese – Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

O equilíbrio estático corporal é comandado por três sistemas sensoriais: o sistema vestibular, responsável pelas informações sobre a posição e os movimentos da cabeça; o sistema visual, que informa a posição espacial dos objetos em relação ao nosso corpo; e o sistema proprioceptivo, que controla a postura e a movimentação corporal. Estes três sistemas devem funcionar sempre em sintonia, caso contrário, o indivíduo apresentará problemas de equilíbrio. Dessa forma, é importante caracterizar as regiões corticais, bem como suas interações, envolvidas neste processo. Para isto, é necessário a utilização de técnicas de neuroimagem funcional, sendo a ressonância magnética funcional (RMf) uma das técnicas mais utilizadas neste campo nos dias de hoje. Entretanto, uma grande parte dos experimentos de RMf requer o uso de aparelhos eletrônicos para produzir estimulações somatosensoriais no corpo humano, onde a principal dificuldade é o seu ambiente hostil aos circuitos eletrônicos. A estimulação galvânica vestibular é um dos métodos mais utilizados para estimular o sistema vestibular. Esta consiste em fornecer uma corrente de baixa amplitude diretamente nas aferências vestibulares, a qual atua no disparo dos neurônios vestibulares primários atingindo principalmente as aferências otolíticas e as fibras dos canais semicirculares. O objetivo deste trabalho é analisar e avaliar as áreas cerebrais envolvidas com as estimulações visual e galvânica vestibular e suas interações, utilizando a técnica de RMf e um estimulador galvânico vestibular. Para tanto, como primeira etapa desta pesquisa, validou-se *in vivo* um estimulador galvânico vestibular. O estimulador elétrico não interferiu de forma significativa na qualidade das imagens de ressonância magnética e pode ser utilizado com segurança nos experimentos de RMf. Testes foram realizados para determinar um eletrodo suficientemente confortável para o voluntário durante a estimulação galvânica vestibular e que não causasse artefato nas imagens. Após estas etapas concluídas, 24 voluntários foram selecionados para realizarem três tarefas: uma puramente visual (um tabuleiro de xadrez piscante no centro da tela), uma puramente vestibular (pela aplicação da estimulação galvânica vestibular) e uma simultânea, com a apresentação em conjunto dos estímulos visual e vestibular. A estimulação puramente visual mostrou ativação dos córtices visual primário e associativo, enquanto que a estimulação puramente vestibular levou a ativação das principais áreas envolvidas com a função multimodal do sistema vestibular, como o córtex parietoinsular vestibular, o lóbulo parietal inferior, o giro temporal superior, o giro pré-central e o cerebelo. A estimulação simultânea dos sistemas visual e vestibular resultou na ativação dos giros frontal médio e inferior. Além do padrão de interação visual-vestibular inibitório recíproco ter sido mais evidente durante a condição simultânea, observou-se que as regiões frontais (córtex dorsomedial pré-frontal e giro frontal superior) estão envolvidas com o processamento da função executiva quando existem informações conflitantes dos sistemas visual e vestibular.

Palavras-chave: Sistema visual, sistema vestibular, RMf, áreas de interação cerebral

ABSTRACT

DELLA-JUSTINA, HM. INTERACTION BETWEEN FUNCTIONAL AREAS OF THE VISUAL SYSTEM AND THE VESTIBULAR SYSTEM - STUDY WITH fMRI AND GVS. 124 f. Tese – Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

The static body equilibrium is controlled by three sensory systems: the vestibular system, responsible for informing the position and the movements of the head; the visual system, which informs the spatial objects position relative to the body; and the proprioceptive system, which controls posture and body movements. These three systems must always work in harmony, otherwise the individual will present balance problems. Thus, it is important to characterize the cortical regions, as well as their interactions, involved in this process. For this it is necessary to use functional neuroimaging techniques, the functional magnetic resonance imaging (fMRI) is one of the most used techniques in this field nowadays. However, a large fMRI experiments require the use of electronic devices for producing somatosensory stimulation in the human body, where the main difficulty is its hostile environment for electronic circuits. The galvanic vestibular stimulation is one of the most used methods to stimulate the vestibular system. This stimulation consist of applying a low current amplitude directly on vestibular afferents, which acts firing the primary vestibular neurons, affecting the otolithic afferents and the semicircular canals fibers. The objective of this work is to evaluate and analyze the brain areas involved with visual and galvanic vestibular stimulations and their interactions using fMRI. Therefore, as a first step of this research, a galvanic vestibular stimulator was validated *in vivo*. The electrical stimulator did not interfere in a significance way on magnetic resonance images quality and could be safely used in fMRI experiments. Tests were performed to select an electrode sufficiently comfortable for the volunteer during the galvanic vestibular stimulation and that do not cause artifacts in the images. After completed these steps, 24 subjects were selected to perform three tasks: a purely visual (a flashing checkerboard in the center of the screen), a purely vestibular (with application of galvanic vestibular stimulation) and a simultaneous, presenting the visual and vestibular stimuli together. The purely visual stimulation showed activation of the primary and associative visual cortices, while the purely vestibular stimulation led to activation of areas involved in multimodal function of the vestibular system, such as the parieto-insular vestibular cortex, the inferior parietal lobe, the superior temporal gyrus, the precentral gyrus and the cerebellum. The simultaneous stimulation of visual and vestibular systems resulted in activation of the middle and inferior frontal gyri. In addition to the reciprocal inhibitory visual-vestibular interaction pattern had been more evident during the simultaneous condition, it was observed that frontal regions (dorsomedial prefrontal cortex and superior frontal gyrus) are involved with the executive function processing when there is conflicting information of visual and vestibular systems.

Keywords: Visual system, vestibular system, fMRI, brain interaction areas

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	– Estruturas anatômicas do ouvido. Representação do Ouvido Externo, Médio e Interno. Figura adaptada.	26
FIGURA 2	– Representação dos canais semicirculares, da crista e das células ciliadas. Figura adaptada.	27
FIGURA 3	– Representação dos planos formados pelos canais anterior direito e posterior esquerdo e canais anterior esquerdo e posterior direito. Figura adaptada. .	28
FIGURA 4	– Resposta dos canais semicirculares à um movimento de rotação da cabeça para a esquerda. Os quinocílios de cada crista dos canais semicirculares horizontais estão todos orientados em direção ao utrículo (conjunto de setas pequenas). As setas azuis representam os movimentos passivos do líquido endolinfático no sentido contrário ao movimento da cabeça. No lado esquerdo o líquido se move em direção à ampola e no lado direito, afastando-se dela. Figura adaptada.	29
FIGURA 5	– Membrana basal dos órgãos otolíticos. Figura adaptada.	31
FIGURA 6	– Orientação das células ciliadas nas máculas utricular e sacular. Figura adaptada.	32
FIGURA 7	– Resposta da mácula utricular à inclinação da cabeça. Quando a cabeça está na posição normal (A), as fibras aferentes possuem potenciais de disparo equivalentes nos dois lados da estríola (linhas vermelha e verde). Quando há inclinação da cabeça para a esquerda (B) ou para a direita (C), as células ciliadas e suas inervações são excitadas ou inibidas, dependendo da sua posição em relação a estríola; o peso do otólito causa a deflexão dos estereocílios. As células ciliadas na porção mais inclinada da estríola aumentam o potencial de disparo, e aquelas na porção menos inclinada diminuem o potencial de disparo.	33
FIGURA 8	– Fibras vestibulares e suas vias ascendentes e descendentes. 1 – Os axônios sensoriais dos gânglios vestibulares passam pelo nervo vestibular para o núcleo vestibular, este também recebe informações de várias outras fontes, como a propriocepção das pernas. 2 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para o cerebelo, o qual influencia a musculatura postural. 3 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para os núcleos motores (oculomotor, troclear e abducente), os quais controlam os músculos dos olhos. 4 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para o núcleo ventral posterior do tálamo. 5 – Os neurônios do tálamo projetam vias para a área do córtex vestibular. Figura adaptada.	34
FIGURA 9	– Modelo fisiológico para a resposta dos canais semicirculares (a) e dos utrículos (b) durante a estimulação galvânica vestibular. (a) Resposta dos canais semicirculares. (b) Somatório dos componentes laterais dos sistemas utriculares. a – canal anterior; h – canal horizontal; p – canal posterior; u – utrículo; q – quinocílio; e – estereocílio; i+ – corrente anodal; i- – corrente catodal; D – direito; E – esquerdo; S_R – Somatório resultante. Figura	

	adaptada.	37
FIGURA 10	– Diagrama simplificado de uma sequência de pulso. TE, tempo ao eco; TR, tempo de repetição; G_x, G_y, G_z , gradientes de codificação de frequência, de codificação de fase e de seleção de fatia, respectivamente. Figura adaptada.	42
FIGURA 11	– Formação da imagem. Figura adaptada.	43
FIGURA 12	– Sinal típico de um conjunto de pixels para um paradigma em bloco.	47
FIGURA 13	– Representação do modelo linear geral para a estimativa dos mapas estatísticos em exames de RMf. Figura adaptada.	54
FIGURA 14	– Possíveis apresentações de exames de RMf. (a) Mapas estatísticos originários de um paradigma visual em um voluntário assintomático. (b) Superposição dos mapas estatísticos à respectiva imagem EPI de um paradigma visual. (c) Superposição dos resultados referentes ao paradigma visual a um plano axial de uma imagem ponderada em T1.	57
FIGURA 15	– Diagrama das etapas de pré e pós-processamento das imagens de RMf. Figura adaptada.	57
FIGURA 16	– Mapas de probabilidades citoarquitetônicas do córtex humano. V1-córtex visual primário; BA45 – área de Brodmann 45; áreas 44 e 45 – áreas de Broca 44 e 45; área 4 – área motora primária; área 6 – área pré-motora; áreas 3a+b, 1 e 2 – córtex somatosensorial; PFt, PFop, PF, PFm, PGa, PGp – área parietal posterior inferior; OP 1-4 – áreas parietais operculares; 7mes – área parietal superior; TE 1-3 – áreas auditivas; V1, V2 e V5/MT – áreas visuais.	59
FIGURA 17	– Diagrama em blocos do estimulador galvânico vestibular desenvolvido. Figura adaptada.	61
FIGURA 18	– Ilustração do programa desenvolvido para o controle do Estimulador Galvânico Vestibular.	63
FIGURA 19	– Primeira (a) e segunda (b) versão do estimulador galvânico vestibular. (a) A primeira versão do EGV (junho de 2008) foi construída em um bastidor de plástico. (b) A segunda versão (abril de 2009) foi construída em uma caixa de alumínio com espessura de 1,2 mm, a qual promoveu o isolamento magnético dos sinais provenientes do escâner de RM.	64
FIGURA 20	– Terceira versão do EGV. (a) O painel frontal indica a entrada para o carregamento das baterias (-12 V e +12 V), a conexão da fibra óptica e o interruptor <i>on/off</i> . (b) O painel traseiro indica o estado do circuito de segurança (<i>set</i> - aciona o circuito; <i>reset</i> - reinicia o circuito; <i>safety</i> - se a luz estiver acessa o circuito está ativado), o estado das baterias (<i>on/off</i> - se a luz acender a bateria está descarregada, 9 V e 12 V - indica qual bateria deve ser carregada), a conexão dos eletrodos e a amplitude de corrente (de 5 mA a -5 mA, em incrementos de 1 mA) que está sendo aplicada ao voluntário. (c) Unidade <i>Gerador de sinal</i> , a ligação com o computador é feita pela porta <i>USB</i> . (d) O cabo utilizado para ligar o estimulador ao voluntário, o botão de segurança que é colocado na mão direita do voluntário e os eletrodos circulares de silicone. Figura modificada.	65
FIGURA 21	– Eletrodos utilizados para verificar a possibilidade de serem utilizados nos exames de RM. (a) Eletrodo adesivo comercial (25 cm ²), marca Valutrode. (b) Eletrodo circular de silicone fabricado manualmente (\cong 9 cm ²).	66
FIGURA 22	– Arranjo experimental para verificar a compatibilidade do EGV com o equipamento de RM. (a) Posicionamento dos eletrodos no <i>phantom</i> . (b) Dispo-	

	sição do estimulador galvânico vestibular dentro da sala de RM.	68
FIGURA 23	– Protocolos empregados para a determinação do paradigma. (a) Contínuo. (b) Intercalado. (c) Puramente visual. (d) Puramente vestibular. (e) Visual e vestibular simultaneamente. REP – repouso, VIS – visual, VES – vestibular, VIS + VES – visual e vestibular juntos.	71
FIGURA 24	– Sistema de <i>Eye tracking</i> utilizado para a coleta dos dados do movimento ocular. (a) Posicionamento do sistema de <i>Eye tracking</i> na bobina de crânio do equipamento de RM. (b) Imagem da pupila gerada pelo sistema de <i>Eye tracking</i>	72
FIGURA 25	– Interface do software ViewPoint. É possível monitorar o movimento ocular durante toda a coleta, além de controlar os parâmetros luminosos e a imagem da pupila pelas janelas do programa.	73
FIGURA 26	– Imagens geradas com a fixação de eletrodos adesivos (a) e de silicone (b) sob cada processo mastóide. (a) O círculo em vermelho demonstra o artefato de susceptibilidade magnética ocasionado pela presença dos eletrodos adesivos (Figura 21a). (b) Não foi observado nenhum tipo de artefato nas imagens de ressonância magnética quando utilizados os eletrodos de silicone (Figura 21b).	77
FIGURA 27	– Alteração na imagem de RM devido a aderência dos eletrodos no <i>phantom</i> . (a) Imagem gerada sem a presença dos eletrodos. (b) Imagem gerada com a presença dos eletrodos.	78
FIGURA 28	– Média dos movimentos oculares registrado em 21 voluntários. O período em que houveram maior e menor quantidade de movimentos oculares foi durante as condições repouso e visual, respectivamente.	79
FIGURA 29	– Áreas que apresentaram uma RBP para a tarefa puramente visual. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas do córtex visual primário e associativo ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 44,45 – Área de Brodmann 44 e 45; Cereb – Cerebelo; GA – Giro angular; Hip – Hipocampo; hOC3v(V3v) – Giro lingual; hOC4v(V4) – Giro fusiforme; IPC(PF) – Lobo parietal inferior; SPL(7PC) – Lobo parietal inferior.	81
FIGURA 30	– Áreas com RBP para a tarefa puramente vestibular. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas sensitivas e motoras, no córtex parietoinsular vestibular, no lobo parietal inferior e no córtex do cíngulo ($p < 0,05$, FDR). 6 – Área de Brodmann 6; 44 – Área de Brodmann 44; 45 – Área de Brodmann 45; Cereb – Cerebelo; GFI – Giro frontal inferior; hOC5v(V5) – Giro temporal médio; Íns – Córtex insular; IPC(PFcm) – Giro supramarginal; IPC(PFm) – Lobo parietal inferior; Put – Putâmen.	84
FIGURA 31	– Áreas com RBP para a tarefa visual juntamente com a vestibular. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas envolvidas com a tarefa visual, córtex visual primário e associativo, e com a tarefa vestibular, áreas sensitivas e motoras, córtex parietoinsular vestibular, lóbulo parietal inferior, córtex do cíngulo, cerebelo, putâmen e núcleo caudado ($p < 0,05$, FDR). 6 – Área de Brodmann 6; 17/18 – Área de Brodmann 17/18; 44 – Área de Brodmann 44; 45 – Área de Brodmann 45; CA – Cíngulo anterior; GFI – Giro frontal inferior; GMS – Giro medial superior; GTI – Giro temporal inferior; Hip – Hipocampo;	

	hOC4v(V4) – Giro fusiforme; hOC5v(V5) – Giro temporal médio; Íns – Córtex insular; IPC(PFm) – Lobo parietal inferior; Put – Putâmen.	85
FIGURA 32	– Áreas que apresentaram RBN durante a tarefa visual. Foram representadas as principais áreas desativadas pelo grupo, as quais são: o giro calcarino, o giro lingual, o cúneos, o giro occipital médio e o pré-cúneos ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 18 – Área de Brodmann 18; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos.	87
FIGURA 33	– Não houveram áreas com RBN durante a tarefa vestibular ($p < 0,001$, FDR).	88
FIGURA 34	– Áreas que apresentaram RBN durante a tarefa visual juntamente com a vestibular. Foram representadas as principais áreas desativadas pelo grupo, as quais são: o giro calcarino, o giro lingual, o cúneos, o pré-cúneos, o lobo parietal superior, o cerebelo e o giro pós-central ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 18 – Área de Brodmann 18; Cereb – Cerebelo; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos.	89
FIGURA 35	– Resultado da análise da mudança percentual do sinal (MPS) nas principais regiões com RBP em três diferentes contrastes. (a) Hemisfério direito. (b) Hemisfério esquerdo. GL – Giro lingual; GF – Giro fusiforme; GOM – Giro occipital médio; GOI – Giro occipital inferior; GTS – Giro temporal superior; GMS – Giro medial superior; CI – Córtex insular; LPI – Lóbulo parietal inferior; GFM – Giro frontal médio; GFI – Giro frontal inferior; GPrC – Giro pré-central.	90
FIGURA 36	– Resultado da análise da mudança percentual do sinal (MPS) nas principais regiões com RBN em dois diferentes contrastes. (a) Hemisfério direito. (b) Hemisfério esquerdo. GC – Giro calcarino; GL – Giro lingual; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos; GOM – Giro occipital médio; LPS – Lobo parietal superior; Cb – Cerebelo; GPosC – Giro pós-central.	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– Valores da relação sinal ruído para as imagens de RM durante os testes de compatibilidade entre o EGV e o sistema de RM. Estão apresentados os valores de três sessões nas quatro condições de teste.	78
TABELA 2	– Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: VIS - REP). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de <i>voxels</i> corresponde a quantidade de <i>voxels</i> considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.	80
TABELA 3	– Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa puramente vestibular (contraste: VES - REP). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de <i>voxels</i> corresponde a quantidade de <i>voxels</i> considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.	82
TABELA 4	– Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa visual vestibular (contraste: DUPLA - REP). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de <i>voxels</i> corresponde a quantidade de <i>voxels</i> considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.	83
TABELA 5	– Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBN na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: REP - VIS). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de <i>voxels</i> corresponde a quantidade de <i>voxels</i> considerados com RBN, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.	86
TABELA 6	– Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBN na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: REP - DUPLA). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de <i>voxels</i> corresponde a quantidade de <i>voxels</i> considerados com RBN, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.	86

LISTA DE SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de Variância (<i>Analysis of Variance</i>)
BOLD	Dependente do Nível de Oxigenação Sanguínea (<i>Blood Oxygen Level-Dependent</i>)
CBF	Fluxo Sanguíneo Cerebral (<i>Cerebral Blood Flow</i>)
CBV	Volume Sanguíneo Cerebral (<i>Cerebral Blood Volume</i>)
CEDAV	Centro Diagnóstico Água Verde
CMRO2	Taxa Metabólica de Oxigênio Cerebral (<i>Cerebral Metabolic Rate of Oxygen</i>)
DAPI	Diagnóstico Avançado por Imagem
dHb	Hemoglobina Deoxigenada
DUPLA	Tarefas Visual e Vestibular Simultaneamente
EGV	Estimulador Galvânico Vestibular
EPI	Imagem Ecoplanar (<i>Echo-Planar Image</i>)
FA	Ângulo de giro (<i>Flip Angle</i>)
FDR	Taxa de Falsas Descobertas (<i>False Discovery Rate</i>)
FID	Decaimento de Indução Livre (<i>Free Induction Decay</i>)
FOV	Campo de Visão (<i>Field of View</i>)
FWHM	Parâmetro Largura à Meia Altura (<i>Full Width at Half Maximum</i>)
GE	<i>General Electric</i>
GLM	Modelo Linear Geral (<i>General Linear Model</i>)
Hb	Hemoglobina Oxigenada
MNI	Instituto Neurológico de Montreal (<i>Montreal Neurological Institute</i>)
MPS	Mudança Percentual do Sinal
MRI	Imagem por Ressonância Magnética (<i>Magnetic Resonance Imaging</i>)
MST	Temporal Superior Medial (<i>Medial Superior Temporal</i>)
PET	Tomografia por Emissão de Pósitron (<i>Positron Emission Tomography</i>)
PIVC	Córtex Parietoinsular Vestibular (<i>Parieto-Insular Vestibular Cortex</i>)
rCBF	Fluxo Sanguíneo Cerebral regional (<i>regional Cerebral Blood Flow</i>)
RBN	Resposta BOLD Negativa
RBP	Resposta BOLD Positiva
REP	Tarefa de Repouso
RF	Radiofrequência
RFT	Teoria dos Campos Aleatórios (<i>Random Field Theory</i>)
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética Funcional
TR	Tempo de Repetição
TE	Tempo ao Eco
VES	Tarefa Vestibular
VIS	Tarefa Visual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA	18
1.2	MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVA	21
1.3	OBJETIVOS	23
1.4	ESTRUTURA DA TESE	24
2	SISTEMA VESTIBULAR	25
2.1	ANATOMIA E FISIOLOGIA DO SISTEMA VESTIBULAR	25
2.1.1	Estruturas e fisiologia dos canais semicirculares	26
2.1.2	Estruturas e fisiologia do sistema otolítico	30
2.1.3	Caminho neural do sistema vestibular central	32
2.1.4	Descrição dos testes otoneurológicos	35
2.2	ESTIMULAÇÃO GALVÂNICA VESTIBULAR	36
3	IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA	39
3.1	MAGNETIZAÇÃO NUCLEAR	39
3.1.1	Processo de relaxação	40
3.2	PRINCÍPIO DE FORMAÇÃO DA IMAGEM	41
3.3	RMF COM CONTRASTE BOLD	43
3.4	MÉTODO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS	46
3.4.1	Paradigmas	47
3.5	PREPARANDO OS DADOS DE RMF PARA A ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
3.5.1	Correção do tempo por fatia	48
3.5.2	Correção de movimento	49
3.5.3	Filtro espacial	50
3.5.4	Filtro temporal	51
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS IMAGENS	52
3.6.1	Modelo linear geral (<i>General Linear Model</i> – GLM)	53
3.6.1.1	Estatística t e contraste	55
3.6.2	Apresentação dos mapas estatísticos	56
3.7	MAPAS DE PROBABILIDADE CITOARQUITETÔNICOS	58
4	MATERIAIS E MÉTODOS	60
4.1	DESCRIÇÃO DO ESTIMULADOR GALVÂNICO VESTIBULAR	60
4.1.1	Experimentos de RM em conjunto com o EGV	64
4.2	COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM	66
4.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL	68
4.3.1	Voluntários	68
4.3.2	Determinação do paradigma	70
4.3.3	Sistema de <i>Eye tracking</i>	71
4.3.3.1	Análise dos movimentos oculares	72
4.3.4	Aquisição e análise dos dados	73
5	RESULTADOS	76
5.1	EXPERIMENTOS DE RM EM CONJUNTO COM O EGV	76

5.2	COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM	76
5.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL	77
5.3.1	Movimento ocular	79
5.3.2	Resposta BOLD positiva – RBP	79
5.3.3	Resposta BOLD negativa – RBN	84
5.3.4	Análise da mudança percentual do sinal – MPS	87
5.3.4.1	Respostas positivas	87
5.3.4.2	Respostas negativas	89
6	DISCUSSÃO	92
6.1	EXPERIMENTOS DE RM EM CONJUNTO COM O EGV	92
6.2	COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM	93
6.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL	93
6.3.1	Áreas frontais	95
6.3.2	Áreas parietais	96
6.3.3	Áreas temporais	97
6.3.4	Áreas occipitais	98
6.3.5	Áreas do sistema límbico	99
6.3.6	Áreas subcorticais	99
7	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	102
7.1	CONCLUSÕES	102
7.2	TRABALHOS FUTUROS	103
	REFERÊNCIAS	105
	Anexo A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA	
	PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ	115
	Anexo B – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO	
	HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSI-	
	DADE DE SÃO PAULO	118
	Anexo C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS	
	EXPERIMENTOS DE RMF E <i>EYE TRACKING</i>	120

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

A Ressonância Magnética Funcional (RMf) é uma das técnicas mais utilizadas em neuroimagem funcional. Contudo, os estudos das áreas de ativação cerebral por meio da RMf são essencialmente trabalhos de pesquisa. Assim, estudos precisam ser realizados até que se consiga chegar a procedimentos clínicos que auxiliem o diagnóstico médico. Dentre os processos de interesse, cita-se o equilíbrio estático corporal, uma vez que esse é um requisito essencial para o desenvolvimento de outras capacidades e na vida diária do ser humano. As pesquisas referentes às áreas cerebrais do equilíbrio estático humano são importantes para a busca do entendimento dessa tarefa. Para manter o equilíbrio estático, os seres humanos contam com três sistemas sensoriais: o sistema vestibular, responsável pelas informações sobre a posição e os movimentos da cabeça; o sistema visual, que fornece a orientação espacial dos objetos em relação ao corpo; e o sistema proprioceptivo, envolvido na capacidade de sentir a posição das articulações e a movimentação muscular. Estes três sistemas devem funcionar sempre em sintonia, caso contrário, o indivíduo apresentará desequilíbrio.

A instabilidade corporal manifesta-se de diversas formas, dependendo do órgão afetado. Os sintomas mais comuns de doenças relacionadas ao sistema vestibular são a tontura e a vertigem. A tontura é a ilusão de movimento do próprio indivíduo ou do ambiente que o circunda. Quando a tontura adquire caráter rotatório é denominada vertigem. A vertigem está entre os dez sintomas mais citados pelos neurologistas em emergências (MOULIN et al., 2003 apud NEUHAUSER, 2007) e em consultórios médicos (SCHAPPERT; NELSON, 1999 apud NEUHAUSER, 2007). O paciente com tontura relata dificuldade de concentração mental, perda de memória e fadiga. Os aspectos negativos descritos pelo paciente com tontura, associados à limitação e ao desconforto, causam conflito, embaraço social e também medo da incapacidade física ou de uma doença grave.

As vertigens foram relatadas em 20-30 % dos adultos em estudos populacionais baseados em questionário (YARDLEY et al., 1998). Um outro estudo verificou que 7,4 % dos

indivíduos avaliados (n = 4869) com idade entre 18 e 79 anos apresentaram algum episódio relevante de vertigem durante a vida. Estudos anteriores confirmam a preponderância feminina entre os indivíduos com vertigem e mostraram que a vertigem é três vezes mais frequente em idosos (pessoas com idade igual ou superior a 60 anos) quando comparada a pessoas jovens (NEUHAUSER et al., 2006 apud NEUHAUSER, 2007).

No estudo epidemiológico, descrito acima, realizado na Alemanha, a vertigem vestibular está presente em 29 % dos casos de tontura/vertigem vistos por um médico (70 % dos pacientes com tontura/vertigem consultam um médico). O estudo também mostrou que a vertigem é recorrente na vasta maioria dos casos (88 %) e causa danos em 80 % dos indivíduos afetados (isto é, resultou em uma interrupção das atividades diárias, de licença médica ou consulta médica). A vertigem também pode ser associada a problemas de saúde mental, o que não necessariamente está correlacionado com perdas em testes de neuro-otologia (BEST et al., 2006). Além disso, um outro estudo indica que pacientes com tontura crônica e hipótese diagnóstica de síndrome vestibular periférica apresentam prejuízo na qualidade de vida, em relação aos aspectos físicos, funcionais e emocionais (GANANÇA et al., 2004).

O estudo do sistema vestibular é realizado através de vários tipos de provas, as quais, em geral, incluem a avaliação conjunta do sistema oculomotor. Inicialmente, estudam-se os movimentos oculares espontâneos (encontrado no olhar de frente) e semi-espontâneos (nas posições cardinais do olhar), obtidos solicitando-se ao paciente que execute movimentos voluntários dos olhos. Depois, o rastreamento ocular, o nistagmo optocinético e o nistagmo induzido por estímulos rotatórios — essa prova utiliza uma cadeira rotatória com o intuito de estimular, simultaneamente, os dois labirintos — e calóricos, nessa estimula-se cada ouvido com água ou ar, em temperaturas que provoquem correntes de convecção na endolinfa, deslocando mecanicamente as cristas. A grande importância da prova calórica é a estimulação isolada de apenas um canal lateral de cada vez.

Uma outra maneira de excitar o sistema vestibular é através da estimulação galvânica vestibular. A estimulação galvânica vestibular consiste em fornecer uma corrente galvânica de pequena amplitude transcutaneamente nas aferências vestibulares que se encontram diretamente abaixo do processo mastóide. A condição mais comum para o estímulo galvânico vestibular consiste em posicionar um eletrodo atrás de uma orelha e um outro eletrodo atrás da outra orelha, essa é a chamada estimulação galvânica vestibular bipolar bilateral. O estímulo é criado por uma fonte de corrente, cujos parâmetros (amplitude, frequência e forma de onda gerada) são controlados pelo pesquisador. Comumente utiliza-se um sinal senoidal com frequência da ordem de 1 Hz e amplitude de aproximadamente 1 mA (FITZPATRICK; DAY, 2004). Esse tipo

de estimulação atua no disparo dos neurônios vestibulares primários atingindo principalmente as aferências otolíticas (WATSON et al., 1998) e as fibras dos canais semicirculares (SCHNEIDER et al., 2000). A estimulação elétrica afeta o potencial de membrana das células dos canais semicirculares da mesma maneira que a aceleração angular ipsilateral ou contralateral. Diferente dos estímulos naturais, a estimulação galvânica vestibular não possui a sensação de direção. Toda a população de aferências susceptíveis são afetadas devido ao alinhamento das células ciliadas que elas inervam. Apesar deste tipo de estimulação não ser empregada rotineiramente na avaliação de doenças que acometem o sistema vestibular ela é muito utilizada em pesquisa (WARDMAN et al., 2003; AW et al., 2006; MACDOUGALL et al., 2006; MOORE et al., 2006), pois fornece a possibilidade de estudar os vestibulos separadamente.

Alguns estudos foram realizados para buscar a relação de áreas encefálicas com o sistema vestibular, um desses estudos envolve a estimulação galvânica vestibular juntamente com a técnica de RMf. O primeiro trabalho a realizar esse estudo foi descrito por Lobel et al. (1998), o qual mostrou uma resposta BOLD (Dependente do Nível de Oxigenação Sanguínea, *Blood Oxygen Level-Dependent*) positiva na junção temporo-parietal, no sulco central e no sulco intraparietal, correspondendo as áreas envolvidas com o circuito multisensorial do sistema vestibular em macacos, além da ativação do lobo frontal e uma resposta BOLD negativa (RBN) da parte anterior desse lobo. Bense et al. (2001) utilizaram a estimulação galvânica vestibular e a estimulação galvânica cutânea a fim de diferenciar as funções vestibulares oculomotora da nociceptiva (estimulação de um nervo que provoca manifestação de dor). Eles encontraram uma resposta BOLD positiva (RBP) relacionada às funções multisensorial vestibulares e oculomotoras, além de um padrão inibitório para a interação visual-vestibular. Além desses trabalhos, Stephan et al. (2005) realizaram um estudo onde variaram a frequência da estimulação galvânica vestibular, as sensações vestibulares mais fortes foram relatadas durante as estimulações com 1 e 2 Hz de frequência. Outro trabalho que buscou obter informações do processamento cerebral do sistema vestibular combinando as técnicas de estimulação galvânica vestibular e a RMf foi o descrito por Smith et al. (2012). Neste estudo eles relatam que o sistema vestibular fornece aferência à duas áreas corticais, a área temporal superior medial humana (*human Medial Superior Temporal – hMST*) e a área visual do sulco do cíngulo (*Cingulate Sulcus Visual – CSV*), as quais estão envolvidas no processamento de informações visual relacionadas ao auto-movimento.

Juntamente com as técnicas de neuroimagem, é aconselhável o uso de tecnologias e procedimentos adicionais, compatíveis com o equipamento de RMf, que oferecem medidas comportamentais mais precisas (DOWKER, 2006). Dessa forma, é recomendada uma tecnologia que possibilita o registro do movimento ocular em tempo real durante a execução da tarefa,

denominada *Eye tracking*. Esse equipamento de registro ocular é composto por uma câmera de alta resolução temporal e espacial, e é sensível a luz infravermelha. Uma fonte de luz infravermelha ilumina o olho cujas coordenadas são gravadas pela câmera e posteriormente analisadas para a reconstrução do movimento do olho. Para que não ocorra uma interferência com o equipamento de RMf, somente as partes que registram as imagens infravermelhas estão localizadas dentro do escâner levando a imagem via fibra ótica até a câmera situada fora da sala de registro (KANOWSKI et al., 2007). Embora ainda pouco utilizado, o uso de registro ocular junto com RMf tem sido relatado na literatura em estudos relacionados com o sistema visual (KOYAMA et al., 2004; HALLER et al., 2008; NAGEL et al., 2006), com processos inibitórios (BROWN et al., 2008; ETTINGER et al., 2008) e com memória de trabalho (MEDENDORP et al., 2006). Esses estudos mostraram que a ativação cerebral durante o processamento visual reflete o aspecto comportamental do movimento ocular. Durante a visualização passiva de um objeto, são ativadas as células dos colículos superiores e dos córtices occipital, parietal e frontal. Essa ativação aumenta quando o processamento visual se torna ativo, como acontece durante uma determinada tarefa, na qual o sujeito é solicitado a fixar o olhar no ponto central de uma cruz (FISCHER et al., 1997).

1.2 MOTIVAÇÃO E JUSTIFICATIVA

O estudo das áreas cerebrais envolvidos com o sistema vestibular é uma área de pesquisa aberta, dessa forma é importante o entendimento das funções vestibulares a nível cortical e subcortical. Uma maneira de avaliar as funções vestibulares encefálicas é através da RMf. A RMf tornou-se uma das principais técnicas de mapeamento das funções cerebrais, principalmente, por ser uma técnica não-invasiva e por sua grande resolução espacial (OGAWA et al., 1992; DISALLE et al., 1999). Embora ainda existam questões referentes aos métodos utilizados, os achados em psicologia, patologia e neurociência em geral são consistentes o bastante para incentivar o uso dessa técnica em estudos de processos cognitivos elevados, além das aplicações clínicas (entre as quais se destaca o mapeamento pré-cirúrgico) e estudos envolvendo os processos de reorganização cortical.

Tem se observado que, para o entendimento das funções cerebrais, a RBN, ou seja, o decréscimo da resposta BOLD em determinadas regiões cerebrais, pode ser tão importante quanto o aumento da resposta BOLD. No estudo de Bense et al. (2001), foi observado uma RBN bilateral no córtex visual (giro fusiforme, giro occipital inferior, BA 18/19) em resposta a estimulação galvânica vestibular. Em um estudo prévio, realizado com PET (Tomografia por Emissão de Pósitron, *Positron Emission Tomography*), foi descrita uma redução do fluxo

sanguíneo cerebral regional (*regional Cerebral Blood Flow – rCBF*) no córtex visual durante uma prova de irrigação calórica, além do aumento do rCBF no córtex parietoinsular vestibular (*Parieto-Insular Vestibular Cortex – PIVC*) (WENZEL et al., 1996). Além desses estudos, Brandt et al. (1998) demonstraram, com PET, um padrão de interação inibitório entre os sistemas visual e vestibular utilizando um estímulo que induzia a percepção de auto-rotação. Eles observaram que durante o aumento do rCBF nas áreas parietal e occipital havia um decréscimo simultâneo do rCBF na insula posterior, bilateralmente. A teoria proposta por Brandt e Dieterich (1999) é que esse mecanismo de interação inibitório recíproco permite uma mudança do sistema sensorial dominante, dependendo do modo sensorial prevalente. Como consequência funcional, o córtex com uma menor resposta do rCBF protege o organismo de estímulos conflitantes, isto é, a diminuição do rCBF no córtex visual durante a estimulação vestibular suprime os movimentos visuais e o decréscimo do rCBF no córtex vestibular durante a estimulação do sistema visual (velocidade constante) diminui a sensibilidade do sistema vestibular para perceber a aceleração da cabeça (BRANDT et al., 1998). Outro estudo, envolvendo a estimulação optocinética e a RMf, mostrou áreas com RBN na região retroinsular, no giro temporal superior e no lobo parietal, essas regiões são conhecidas como a área visual temporal de Sylvian ou área visual posterior de Sylvian. O decréscimo da resposta BOLD na área PIVC foi induzido pelos movimentos optocinéticos dos olhos. Assim, a área PIVC em humanos pode gerar um aumento da resposta BOLD durante os estímulo vestibular e um decréscimo da resposta BOLD durante os estímulos optocinéticos de baixo e alto campo visual (DIETERICH et al., 2003b). Kleinschmidt et al. (2002) também mostraram uma RBP no córtex visual acompanhada por uma RBN na região PIVC durante um estudo de percepção de movimento e RMf.

Estudos anteriores realizaram a combinação de estímulos visual e vestibular, Deutschländer et al. (2002) conduziram um estudo com PET utilizando estimulações unimodal visual (estimulação por movimento visual de baixo campo), unimodal vestibular (estimulação por irrigação calórica) e bimodal (estímulos calórico e de movimento visual simultaneamente). A estimulação vestibular demonstrou um decréscimo do rCBF em áreas do córtex visual e um aumento do rCBF nas áreas vestibulares temporoparietal, incluindo a ínsula posterior e as regiões retroinsulares, o giro do cíngulo anterior, o giro frontal médio e o córtex parietal inferior. A estimulação visual foi associada a um aumento bilateral do rCBF nas áreas do córtex visual occipital, na área sensível ao movimento (MT/V5) e nos giros médio temporal e médio occipital; uma diminuição do rCBF foi encontrado no córtex parietoinsular vestibular, nos giros superior e médio temporal, no lóbulo parietal inferior, no giro frontal médio e no giro do cíngulo anterior. A estimulação simultânea demonstrou aumento do rCBF nos dois sistemas sensoriais mas com menor significância estatística, o aumento do rCBF no lóbulo parietal inferior e no giro

frontal médio não foi relatado durante a estimulação simultânea. Fink et al. (2003) conduziram um estudo de RMf envolvendo uma tarefa visuoespacial e a estimulação vestibular. Os autores manipularam a referência espacial pela estimulação galvânica vestibular e observaram que os córtices parietal posterior direito e prémotor ventral direto são responsáveis pela interação entre os mecanismos neurais que realizam o julgamento da referência visuoespacial e da estimulação vestibular. A estimulação vestibular mostrou aumento da atividade neural na ínsula posterior e no giro temporal superior, incluindo o córtex parietoinsular vestibular. Os julgamentos da bissecção da linha resultaram em um aumento da atividade neural bilateral no córtex extriado, no córtex parietooccipital e no córtex parietal posterior, nos córtices frontal prémotor, dorsolateral e ventrolateral direitos e no cerebelo esquerdo. Esses resultados indicam uma interação entre o sistema de atenção visuoespacial e o sistema do processamento vestibular.

Como os estudos que envolvem a estimulação galvânica vestibular em humanos com a técnica de RMf concentram-se apenas em dois grupos de pesquisas: o primeiro, comandado por Thomas Brandt em Munique, na Alemanha (DEUTSCHLÄNDER et al., 2002; FINK et al., 2003) e, o segundo, por Andrew T. Smith em Egham, na Inglaterra (SMITH et al., 2012), é importante que se desenvolvam novos estudos para complementar o trabalho destes pesquisadores. Além do mais, nos estudos de Deutschländer et al. (2002) e Fink et al. (2003) a estimulação bimodal foi realizada pela aplicação de um estímulo visual que, de alguma forma, exerce influência no sistema vestibular. Nenhum desses trabalhos inclui a estimulação simultânea de um estímulo vestibular e um estímulo estático visual (sem movimento) em experimentos de RMf.

1.3 OBJETIVOS

O objetivo desta pesquisa é avaliar e delimitar as áreas cerebrais com resposta BOLD positiva e negativa a partir de estimulações independentes e conjuntas dos sistemas visual e vestibular durante experimentos de RMf.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Validar o uso de um estimulador galvânico vestibular (MANCZAK, 2012) *in vivo*;
- Desenvolver e avaliar eletrodos compatíveis com o equipamento de ressonância magnética para aplicação da estimulação galvânica vestibular;
- Desenvolver um protocolo experimental para as estimulações visual e galvânica vestibular, utilizando o equipamento de *Eye tracking* e o Estimulador Galvânico Vestibular (EGV);

- Determinar as regiões com resposta BOLD positiva e negativa pelos mapas de probabilidade citoarquitetônico; e
- Avaliar a interação entre as áreas cerebrais dos sistemas visual e vestibular pela análise da mudança percentual do sinal das regiões com resposta BOLD positiva e negativa.

1.4 ESTRUTURA DA TESE

Esta tese está dividida em sete capítulos. Os Capítulos 2 e 3 apresentam a fundamentação teórica na qual este trabalho foi baseado. O Capítulo 2 visa facilitar a compreensão do sistema vestibular incluindo, portanto, a anatomia e fisiologia do sistema vestibular, além da descrição dos principais exames para avaliação otoneurológica e de um modelo fisiológico para a estimulação galvânica vestibular. O Capítulo 3 descreve os princípios da imagem funcional por ressonância magnética, o qual compreende os princípios da formação de imagem, além de tratar dos aspectos teóricos do contraste BOLD e também dos processos envolvidos no pré e pós-processamento de imagem. Os quatro últimos capítulos (Capítulos 4, 5, 6 e 7) foram destinados à descrição dos materiais e métodos experimentais empregados, aos resultados obtidos com esta pesquisa, a discussão destes resultados e, por fim, as principais contribuições deste estudo referente as áreas de interação cerebral envolvidas com a estimulação conflitante dos sistemas visual e vestibular e, os trabalhos futuros que poderão ser realizados.

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética local para pesquisa em seres humanos. Os anexos A, B e C apresentam a carta de aprovação do comitê de ética em pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, respectivamente.

2 SISTEMA VESTIBULAR

Neste capítulo são apresentados a anatomia e fisiologia do sistema vestibular, os caminhos neurais do sistema vestibular central, a descrição dos principais exames para avaliação otoneurológica e um modelo teórico que explica a fisiologia envolvida com a estimulação galvânica vestibular.

2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO SISTEMA VESTIBULAR

A Figura 1 ilustra as divisões do ouvido e suas estruturas anatômicas. O sistema vestibular fica localizado no ouvido interno. Esse é responsável por um sentido que, em geral, as pessoas só percebem a sua existência e importância quando o seu funcionamento está alterado. O sistema vestibular possui sensores de movimento da cabeça, sendo um dos órgãos responsáveis por: 1) manter a estabilidade do objeto de atenção visual na região da fóvea (área central da retina onde há melhor acuidade visual) e 2) pelo controle postural durante a locomoção. Os sinais elétricos que representam os movimentos rotacionais e translacionais da cabeça, como a inclinação da cabeça relativa à gravidade, são produzidos nos órgãos vestibulares. Os sinais elétricos produzidos pelo sistema vestibular são utilizados em quatro tarefas: 1) para auxiliar no controle do equilíbrio por meio da geração de reflexos posturais que mantêm a cabeça ereta; 2) para manter os olhos direcionados para um objeto visual desejado; 3) para facilitar a orientação espacial pela sinalização da direção da gravidade e mantendo os limites de alterações de pequenas distâncias da posição; e 4) para preparar para o reflexo de “luta ou fuga” numa emergência. Quando os sensores vestibulares estão funcionando normalmente, esses promovem uma excelente representação dos movimentos da cabeça nas três dimensões (MINOR, 1998).

O sistema vestibular é dividido em periférico e central. O sistema vestibular periférico é composto pelos órgãos otolíticos, os quais são responsáveis pelo equilíbrio estático, fornecendo a noção exata da posição do corpo e da cabeça com respeito ao espaço ao redor, e pelos canais semicirculares, os quais detectam acelerações angulares. O sistema vestibular central é composto pelos núcleos vestibulares, localizados no soalho do IV ventrículo (HUNGRIA,



Figura 1: Estruturas anômicas do ouvido. Representação do Ouvido Externo, Médio e Interno. Figura adaptada.

Fonte: (KNOX AUDIOLOGY LTD., 2014).

1991).

2.1.1 ESTRUTURAS E FISILOGIA DOS CANAIS SEMICIRCULARES

Há três canais semicirculares de cada lado do crânio: o horizontal (ou lateral), o anterior e o posterior (Figura 2). Em uma das extremidades de cada canal semicircular está uma dilatação, a ampola. Nessa encontram-se as células receptoras ciliadas. Essas, juntamente com as células de sustentação, formam a crista (Figura 2). Como estrutura acessória, há a cúpula gelatinosa, que faz saliência na endolinfa, e enche o interior da ampola. Como o peso específico da cúpula gelatinosa é igual ao da endolinfa, ela não se desloca durante a aceleração linear. Como a cúpula preenche a ampola, a endolinfa não flui ao redor dela (Figura 2).

Em cada lado, os canais posteriores apontam para o nariz e os dois canais anteriores apontam em direção oposta, de modo a formarem pares contralaterais: os canais anterior direito e o posterior esquerdo e os canais anterior esquerdo e posterior direito, conforme ilustra a Figura 3. O canal horizontal, na realidade, não ocupa o plano horizontal quando a cabeça está em posição vertical, pois apresenta, em relação ao plano horizontal, um ângulo de 30° aberto anteriormente. Em cada ouvido interno, os três canais encontram-se em planos perpendiculares entre si e são preenchidos pela endolinfa.

As células ciliadas estão presentes tanto nos canais semicirculares como nos órgãos

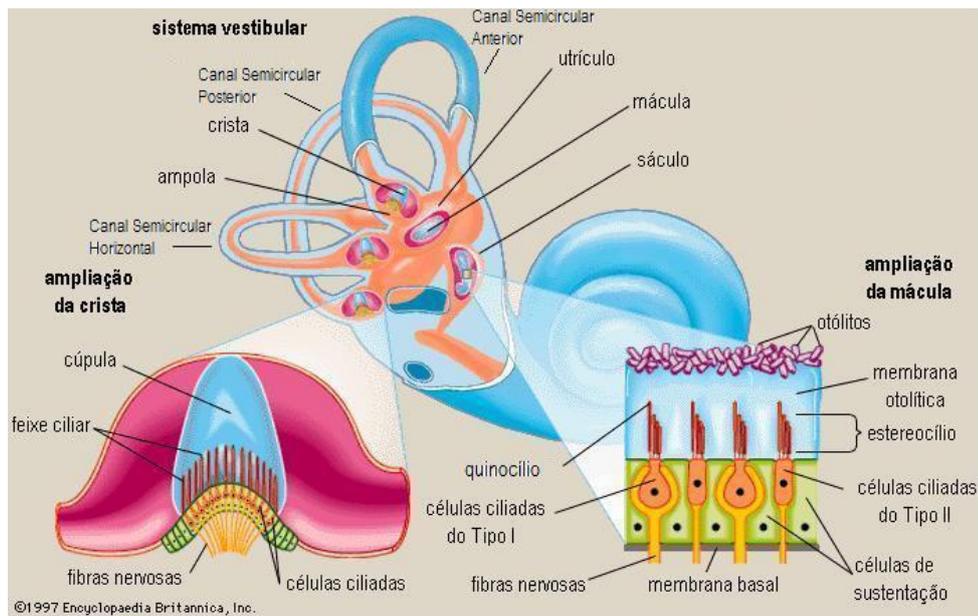


Figura 2: Representação dos canais semicirculares, da crista e das células ciliadas. Figura adaptada.

Fonte: (ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA, 1997).

otolíticos, são as estruturas capazes de transformar o estímulo mecânico (aceleração) em sinal neural. Essas células sensoriais apresentam dois tipos de cílios: os quincílios, em número de um para cada célula, sendo maior e situado lateralmente, e os estereocílios, mais finos, curtos e numerosos, localizados em uma extremidade do quincílio. Os estereocílios e quincílios das células da crista estão mergulhados na cúpula gelatinosa. O potencial de membrana da célula ciliada depende da inclinação destes cílios, da seguinte maneira: inclinação dos cílios na direção do quincílio leva a uma despolarização da membrana e na direção contrária à hiperpolarização (Figura 4). Esse movimento do estereocílio na direção do quincílio nos órgãos vestibulares abre mecanicamente os canais transdutores localizados na ponta do estereocílio, despolarizando as células ciliadas e causando a liberação dos neurotransmissores excitatórios até as fibras do nervo vestibular.

As células ciliadas possuem, em cada órgão vestibular, orientação específica. No canal semicircular horizontal estas células ciliadas estão organizadas de tal forma que todos os quincílios estão no sentido do utrículo, e nos canais semicirculares anterior e posterior estão dispostas de maneira inversa, com os quincílios no sentido oposto ao utrículo, o que em ambos os casos forma um eixo de despolarização.

Além disso, a cabeça possui um par de labirintos, um de cada lado, e os canais atuam em pares. A rotação da cabeça no plano horizontal estimula ambos os canais laterais, um numa

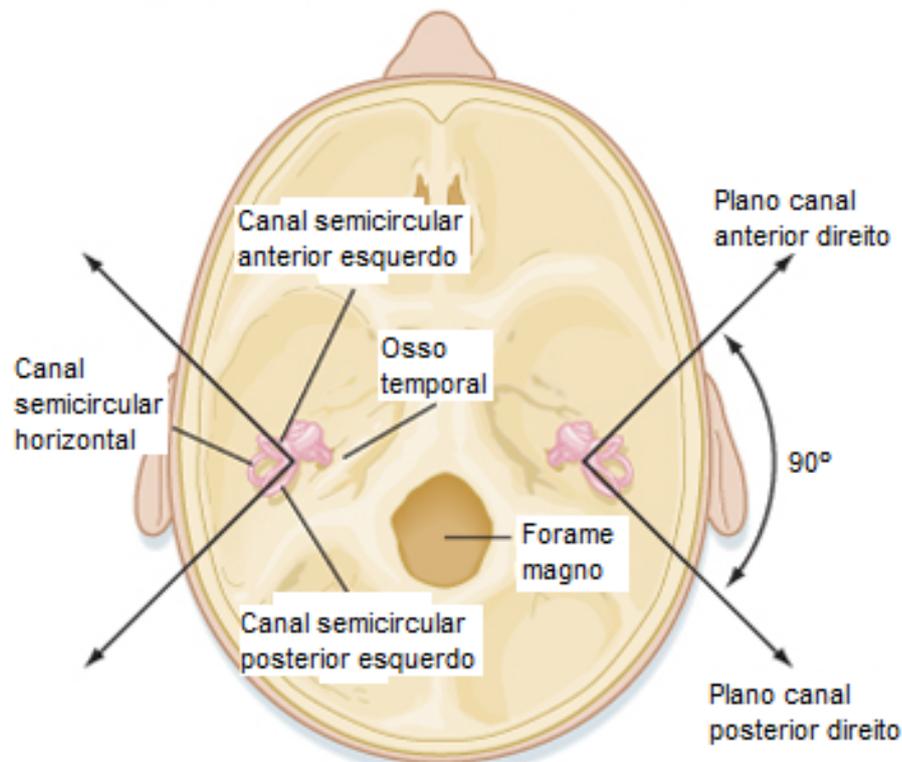


Figura 3: Representação dos planos formados pelos canais anterior direito e posterior esquerdo e canais anterior esquerdo e posterior direito. Figura adaptada.

Fonte: (THE ONLINE MEDICAL LIBRARY FOR STUDENTS, 2008).

direção positiva e o outro numa direção negativa (isto é, excitando um conjunto de células ciliadas e o nervo vestibular de um lado e inibindo os do outro lado). Em razão da orientação dos canais verticais, a estimulação do canal anterior de um lado estimula o canal posterior do outro lado. Por essa razão, a inclinação da cabeça para cima ou para baixo à esquerda estimula o par de canais anterior esquerdo posterior direito e a inclinação para cima ou para baixo à direita estimula o par de canais anterior direito e posterior esquerdo.

Durante um movimento rotatório, a endolinfa adquire velocidade idêntica à do ducto semicircular (movimento uniforme). Com a parada do movimento, e pelo princípio da inércia, a endolinfa continua a deslocar-se no mesmo sentido do movimento giratório, até se deter. A corrente endolinfática desloca a cúpula e os cílios da crista ampular, produzindo as sensações subjetivas e objetivas da rotação (STEINHAUSEN, 1933 apud HUNGRIA, 1991). Quando a cabeça é submetida a uma aceleração angular no plano horizontal, por exemplo, quando rodamos a cabeça ou a inclinamos para frente e para trás, existe o deslocamento da endolinfa, afetando a cúpula. O deslocamento da endolinfa é oposto ao da rotação da cabeça, constituindo uma corrente de endolinfa em direção à ampola (ampulípetas), no canal horizontal do lado da

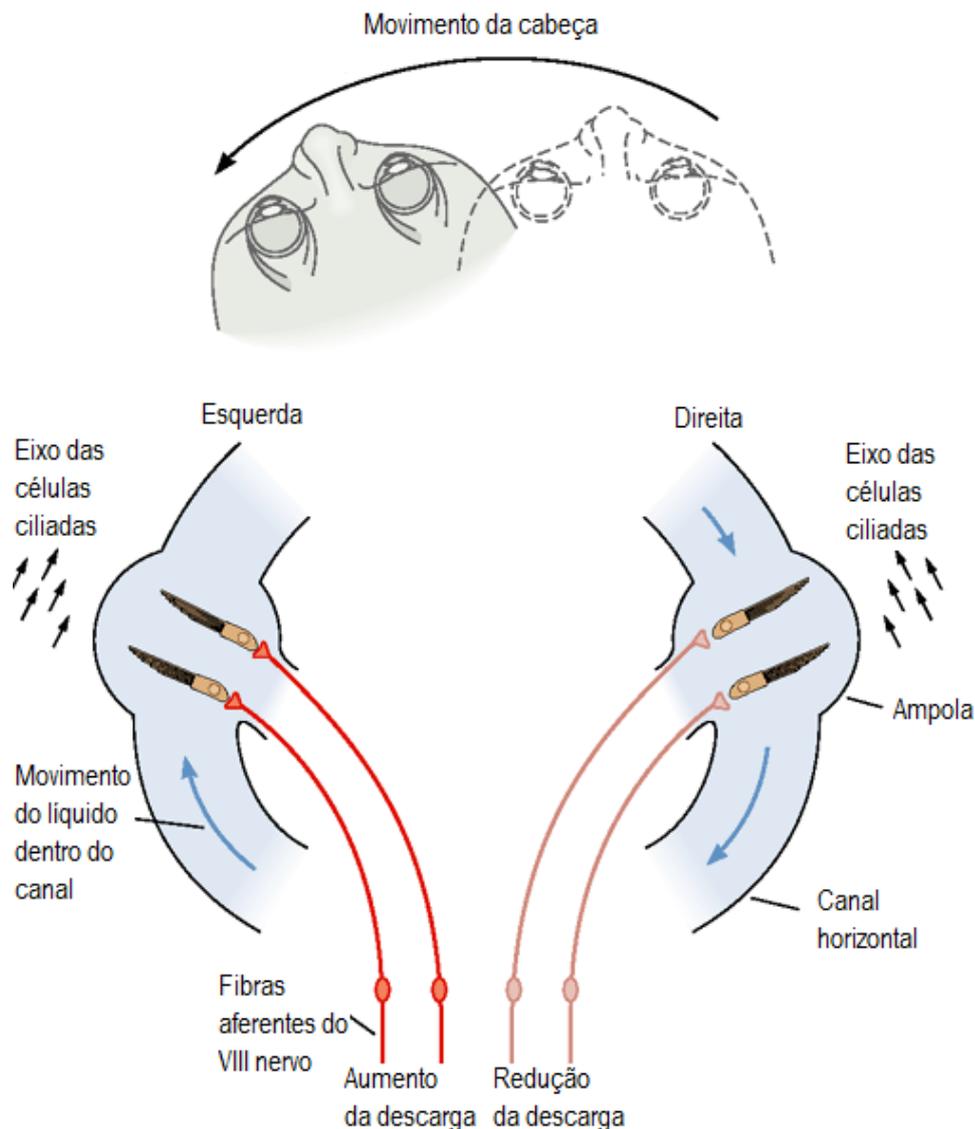


Figura 4: Resposta dos canais semicirculares à um movimento de rotação da cabeça para a esquerda. Os quinocílios de cada crista dos canais semicirculares horizontais estão todos orientados em direção ao utrículo (conjunto de setas pequenas). As setas azuis representam os movimentos passivos do líquido endolinfático no sentido contrário ao movimento da cabeça. No lado esquerdo o líquido se move em direção à ampola e no lado direito, afastando-se dela. Figura adaptada.

Fonte: (KANDEL et al., 2000).

rotação. Já no canal oposto, a endolinfa se deslocará em direção oposta à ampola (corrente ampulífuga) (Figura 4).

Quando, por exemplo, a cabeça é girada para a esquerda, a corrente ampulípeta será no canal horizontal esquerdo, e esta determinará um deslocamento da cúpula em direção ao utrículo. Isso acarretará um deslocamento dos estereocílios em direção ao quinocílio, esse padrão de inclinação dos cílios da crista ampular direita por forças tangenciais provocará alterações

da permeabilidade da membrana das células sensoriais e diminuirá o potencial negativo da membrana pela entrada na célula de íons positivos. Ocorrendo, conseqüentemente, uma despolarização, que leva ao aparecimento de um potencial de ação, acarretando em uma estimulação positiva. A frequência de descarga de repouso que existia nos neurônios aumenta devido a essa estimulação e o sistema nervoso central é informado de que a cabeça girou para o lado esquerdo (Figura 4).

Como do lado direito a corrente foi ampulífuga, a cúpula inclina-se em direção oposta ao utrículo e os quinocílios deslocam-se em direção aos estereocílios. Isso acarreta uma estimulação negativa ineficaz, determinando uma hiperpolarização nas células receptoras e uma frequência de descarga menor do que a de repouso nos neurônios vestibulares. O sistema nervoso central, quando a cabeça gira para a esquerda, recebe frequência de descarga maior dos receptores vestibulares deste lado e menor do lado oposto, interpretando que realmente a cabeça girou para a esquerda.

Quando o movimento é mantido, a velocidade da endolinfa é a mesma que a das estruturas dos canais, não havendo estimulação. Ao cessar o movimento para a esquerda, aparecerá uma corrente ampulípeta do lado direito com estimulação positiva desse lado. Do lado esquerdo, a corrente será ampulífuga, havendo estimulação negativa.

Como foi exposto, os canais semicirculares detectam a rotação quando a cabeça começa a girar numa direção ou quando a rotação cessa. Assim, a perda de funções desses receptores leva a um desequilíbrio relacionado à movimentação rápida da cabeça. Essas características de funcionamento conferem uma função preditiva dos canais, uma vez que eles podem determinar o início do movimento de rotação da cabeça de uma pessoa, comunicando ao sistema nervoso central que a pessoa estará desequilibrada dentro em pouco, levando à necessidade de correção. A predição de desequilíbrio permite que o sistema nervoso faça ajustes adequados das diferentes partes do corpo na tentativa de manter o equilíbrio (COSTA et al., 1994).

2.1.2 ESTRUTURAS E FISILOGIA DO SISTEMA OTOLÍTICO

Até agora foi apresentado como o sistema responde a diferenças na aceleração. Contudo, existe outro sistema responsável pelo processamento das informações de inclinação, esse sistema é conhecido como sistema otolítico, e é composto por dois órgãos, o utrículo e o sáculo. O sáculo responde mais à aceleração vertical, como o estímulo de uma subida de elevador, e o utrículo responde mais à aceleração horizontal, como o movimento para a frente de um carro. Cada um desses órgãos é formado por uma membrana basal que sustenta as células ciliadas,

sobre as células sensoriais há uma estrutura acessória de aspecto gelatinoso em que estão mergulhados os cílios das células sensitivas (Figura 5). A massa gelatinosa contém muitos cristais de carbonato de cálcio, de pequenas dimensões, formando a membrana otolítica. Esses cristais, mais densos do que o material gelatinoso, são chamados otólitos.

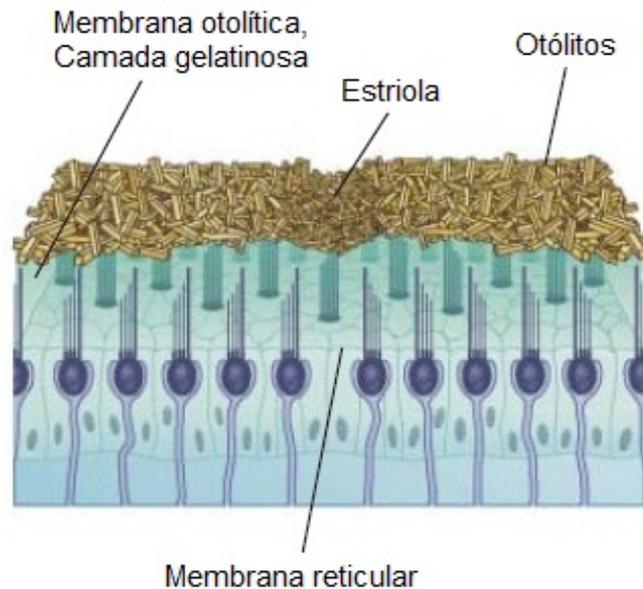


Figura 5: Membrana basal dos órgãos otolíticos. Figura adaptada.

Fonte: (MEDICINA NET, 2012).

O conjunto das células ciliadas e células de sustentação, que constituem a estrutura receptora, é chamado mácula. Existe a mácula sacular com sua membrana otolítica no sáculo, e a mácula utricular com sua membrana otolítica no utrículo. A linha curva que atravessa a mácula é denominada estríola (Figura 6). Quando o corpo humano encontra-se ereto, a mácula sacular apresenta-se na posição vertical e a utricular na horizontal (COSTA et al., 1994).

Quando a cabeça está em posição vertical, a mácula utricular está em repouso, não havendo estimulação efetiva, pois os cílios estarão verticalizados, sem forças tangenciais atuando sobre eles. Quando há inclinação da cabeça ocorre uma descarga de impulsos, espontânea, nos axônios que se ligam às células sensitivas. Na mácula sacular, devido à sua posição verticalizada, ocorrerá uma estimulação efetiva porque os otólitos atraídos pela força gravitacional provocam o deslocamento das membranas otolíticas em relação ao epitélio sensorial da mácula. Assim, os estereocílios deslocam-se em relação aos quinocílios devido às forças tangenciais a que são submetidos. Essa inclinação dos cílios altera a permeabilidade da membrana da célula sensorial, provocando fluxo de íons positivos para o interior da célula, diminuição do potencial

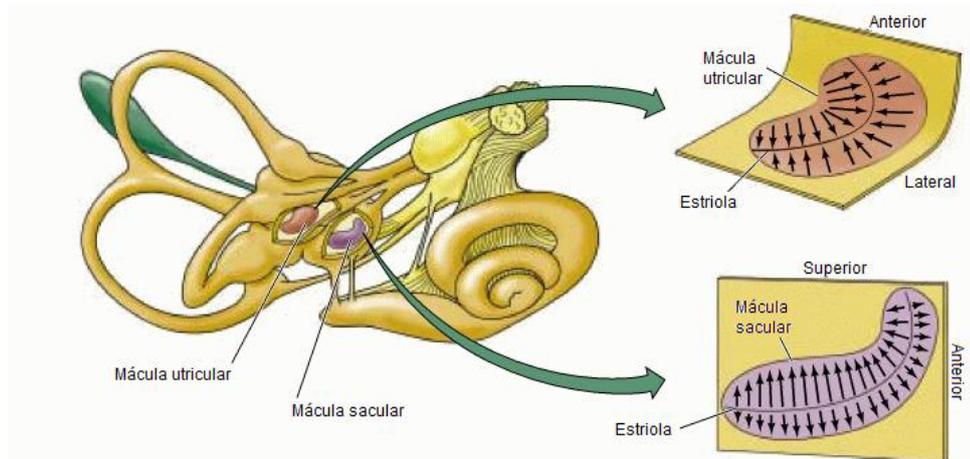


Figura 6: Orientação das células ciliadas nas máculas utricular e sacular. Figura adaptada.

Fonte: (PURVES et al., 2007).

da membrana negativo e, conseqüente, despolarização, com formação de um potencial de ação. Sua amplitude dependerá da intensidade do estímulo: quanto maior o seu valor, maior será a frequência de descarga de impulsos nos axônios das células nervosas da mácula (Figura 7).

Como as células sensoriais são agrupadas de modos diferentes, com seus cílios em posições opostas na mácula, conforme a posição da cabeça, existirão células estimuladas positivamente (deslocamento dos estereocílios em direção ao quinocílio) e células estimuladas negativamente (deslocamento do quinocílio em direção ao estereocílio). No primeiro caso, a frequência de descarga de impulsos nos axônios será maior do que a frequência de repouso e, no segundo caso, a frequência será menor do que a de repouso. Quando a cabeça forma um ângulo com a vertical, haverá um deslocamento dos órgãos otolíticos, e devido à força da gravidade, haverá forças tangenciais atuando em diferentes máculas e diferentes áreas receptoras em cada mácula (Figura 7). Desse modo, todas as posições da cabeça podem ser captadas pelos axônios das máculas, que enviam essas informações a várias localizações cerebrais. Tais informações provocam movimentos reflexos que permitem a adaptação das posições do tronco e dos membros em relação à posição da cabeça, mantendo assim, o equilíbrio (COSTA et al., 1994).

2.1.3 CAMINHO NEURAL DO SISTEMA VESTIBULAR CENTRAL

Dos pólos inferiores das células sensoriais partem fibras nervosas que vão formar o nervo vestibular, o qual é formado pelos nervos vestibulares superior e inferior. As fibras nervosas provenientes das ampolas lateral e anterior, e do utrículo reúnem-se para formar o nervo vestibular superior. As fibras do canal posterior e do sáculo formam o nervo vestibular inferior.

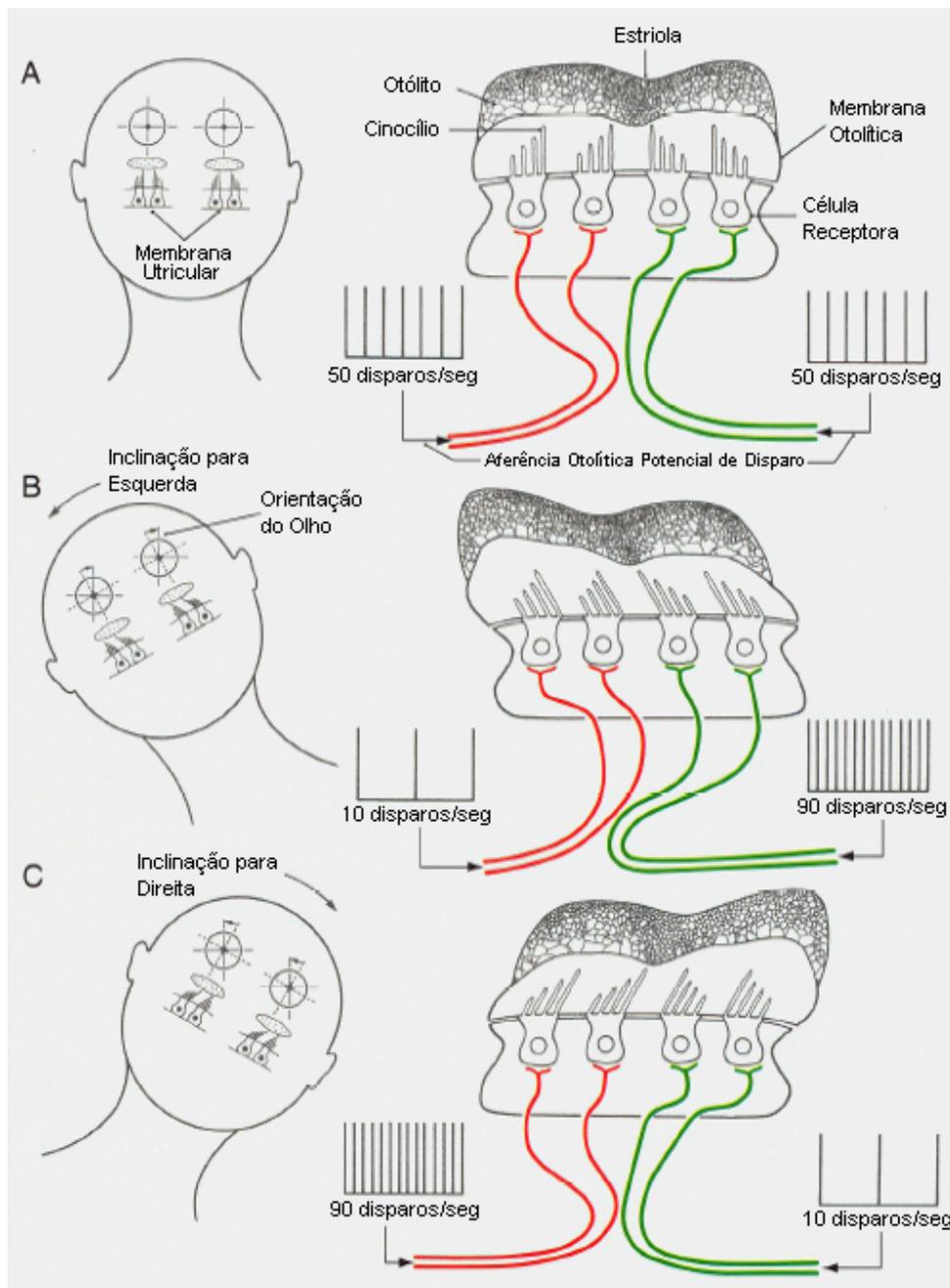


Figura 7: Resposta da mácula utricular à inclinação da cabeça. Quando a cabeça está na posição normal (A), as fibras aferentes possuem potenciais de disparo equivalentes nos dois lados da estriola (linhas vermelha e verde). Quando há inclinação da cabeça para a esquerda (B) ou para a direita (C), as células ciliadas e suas inervações são excitadas ou inibidas, dependendo da sua posição em relação a estriola; o peso do otólito causa a deflexão dos estereocílios. As células ciliadas na porção mais inclinada da estriola aumentam o potencial de disparo, e aquelas na porção menos inclinada diminuem o potencial de disparo.

Fonte: (DELLA-JUSTINA, 2005).

A maioria das fibras dos nervos vestibulares dirigem-se aos núcleos vestibulares, localizados no soalho do IV ventrículo. Algumas se dirigem diretamente ao cerebelo. Os núcleos

enviam fibras ascendentes, tanto diretas como cruzadas, ao cerebelo, à formação reticular da região do bulbo-protuberancial, aos núcleos oculomotores e as fibras descendentes para a medula (Figura 8). Em ordem de importância, a função dos canais semicirculares consiste em enviar informações sobre os movimentos da cabeça: 1) aos olhos; 2) aos centros motores do pescoço; 3) aos centros motores do corpo em geral (HUNGRIA, 1991).

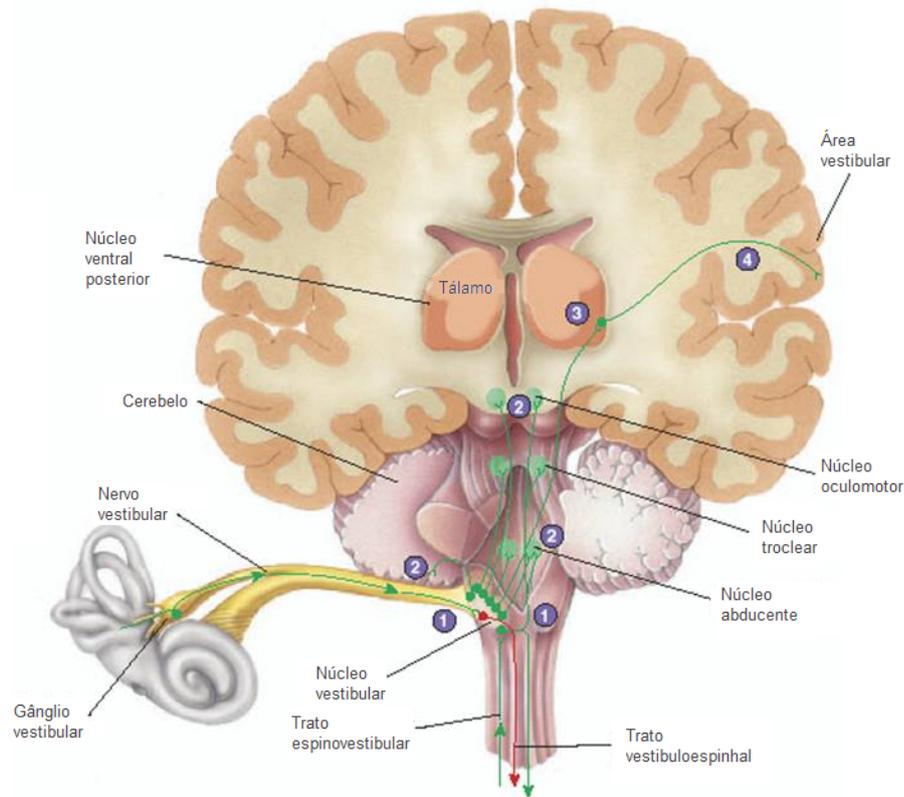


Figura 8: Fibras vestibulares e suas vias ascendentes e descendentes. 1 – Os axônios sensoriais dos gânglios vestibulares passam pelo nervo vestibular para o núcleo vestibular, este também recebe informações de várias outras fontes, como a propriocepção das pernas. 2 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para o cerebelo, o qual influencia a musculatura postural. 3 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para os núcleos motores (oculomotor, troclear e abducente), os quais controlam os músculos dos olhos. 4 – Os neurônios vestibulares enviam axônios para o núcleo ventral posterior do tálamo. 5 – Os neurônios do tálamo projetam vias para a área do córtex vestibular. Figura adaptada.

Fonte: (QUIZLET, 2014).

O sistema vestibular comunica-se com os órgãos por meio das ramificações vestibulares no VIII nervo craniano que chega ao cérebro e ao cerebelo. Essas estruturas coordenam muitos dos processos necessários para avaliar a posição e articular o movimento da cabeça. Os nervos vestibulares originam-se de uma população de neurônios, os quais residem no gânglio vestibular ou de Scarpa. Essas células enervam os canais semicirculares e os órgãos otolíticos, enquanto os processos centrais projetando-se, pela porção vestibular do VIII nervo craniano,

para os núcleos vestibulares. Os núcleos vestibulares são centros importantes de integração, recebendo impulsos dos núcleos vestibulares do lado oposto, como do cerebelo, do sistema visual e do somatosensorial.

Investigações utilizando técnicas de imagem em primatas (BERTHOZ, 1996) indicam que o sistema vestibular cortical apresenta diferentes regiões envolvidas, como, por exemplo, a região pré-motora do córtex frontal (área 6v, área do córtex do cíngulo), áreas parietais (área 2v, área 7), áreas temporais (VPS, *Visual Posterior Sylvian*, e MST, *Medial Superior Temporal*) e uma região central, a PIVC, constituindo parte da insula granular e da região retroinsular próxima ao córtex auditivo. Foi sugerido por Guldin e Grüsser (1998), que essas diferentes áreas processam as informações que possuem ligação com o movimento da cabeça em relação ao espaço e aos movimentos da cabeça em relação a outras partes do corpo. Além disso, essas áreas realimentariam informações mono-sinápticas para os núcleos vestibulares no tronco encefálico. Portanto, o sistema vestibular cortical deve ser capaz de possuir uma influência direta nos reflexos vestibulares, o que indica que o sistema vestibular cortical é fortemente envolvido com a percepção espacial, e, também, na atualização da representação interna da posição do corpo em relação ao espaço externo e no estabelecimento da memória espacial (BERTHOZ et al., 1995). Brandt et al. (1994) indicaram que pacientes com lesões nessa região possuem danos significativos da percepção subjetiva vertical.

2.1.4 DESCRIÇÃO DOS TESTES OTONEUROLÓGICOS

O estudo do sistema vestibular é realizado por meio de vários tipos de provas, as quais, em geral, incluem a avaliação conjunta do sistema oculomotor. Inicialmente, estudam-se os movimentos oculares espontâneos (encontrado no olhar de frente) e semi-espontâneos (nas posições cardinais do olhar), obtidos solicitando-se ao paciente que execute movimentos voluntários dos olhos. Depois, o rastreo ocular, o nistagmo optocinético e o nistagmo induzido por estímulos rotatórios — essa prova utiliza uma cadeira rotatória com o intuito de estimular, simultaneamente, os dois labirintos — e calóricos, nessa estimula-se cada ouvido com água ou ar, em temperaturas que provoquem correntes de convecção na endolinfa, deslocando mecanicamente as cristas. A grande importância da prova calórica é a estimulação isolada de apenas um canal lateral de cada vez.

A maioria dos otoneurologistas utiliza a eletroneistagmografia para o registro elétrico dos movimentos do olho durante os estudos da função labiríntica, permitindo diagnósticos mais precisos. Além disso, tem-se realizado pesquisas com a vectoeletronistagmografia, um método de registro com três canais que permite a detecção de nistagmos de direção oblíqua, sensibili-

zando ainda mais os recursos diagnósticos (HUNGRIA, 1991).

Uma outra maneira de estimular o sistema vestibular é pela estimulação galvânica vestibular. Apesar desta técnica não ser empregada rotineiramente na avaliação de doenças que acometem o sistema vestibular ela é muito utilizada em pesquisa, pois fornece a possibilidade de estudar os vestíbulo separadamente.

2.2 ESTIMULAÇÃO GALVÂNICA VESTIBULAR

A estimulação galvânica vestibular consiste em fornecer uma corrente galvânica de pequena amplitude transcutaneamente nas aferências vestibulares que se encontram diretamente abaixo do osso mastóide. A condição mais comum para o estímulo galvânico vestibular consiste em posicionar um eletrodo no processo mastóide atrás de uma orelha e outro eletrodo atrás da outra orelha, essa é a chamada estimulação galvânica vestibular bipolar bilateral. O estímulo é criado por uma fonte de corrente, cujos parâmetros (amplitude, frequência e forma de onda gerada) são controlados pelo pesquisador. Comumente utiliza-se uma onda senoidal com intensidade de aproximadamente 1 mA e frequência da ordem de 1 Hz (FITZPATRICK; DAY, 2004).

Diferente dos estímulos naturais, a estimulação galvânica vestibular não possui a informação de direção. Toda a população de aferências susceptíveis são afetadas devido ao alinhamento das células ciliadas que elas inervam. Os pesquisadores Fitzpatrick e Day (2004) propõem uma explicação teórica para a sensação provocada pela passagem de uma corrente elétrica na região dos processos mastóides. A Figura 9 mostra um modelo fisiológico para a resposta dos canais semicirculares e dos utrículos durante a estimulação galvânica vestibular. Na figura 9a, uma única célula representa a orientação das células na crista, com o quinocílio desenhado como a linha mais fina em uma das extremidades do conjunto de estereocílios. Como a crista se move com a cabeça, a cúpula e os estereocílios são defletidos pela força de reação inercial da endolinfa. A deflexão na mesma direção do quinocílio (como mostrado pelo labirinto esquerdo) despolariza as fibras aferentes e aumenta a taxa de disparo. As flechas mostram os estímulos de rotação naturais que produziriam essa resposta excitatória. Quando os estereocílios estão defletidos na direção contrária ao quinocílio (mostrado pelo labirinto direito), a hiperpolarização reduz a taxa de disparo.

A estimulação galvânica vestibular aumentará a taxa de disparo de todas as aferências susceptíveis, independente de suas direções específicas. Assim, para o canal horizontal, isso significará um movimento natural no plano *yaw* (nariz movendo-se para o lado ipsilateral –

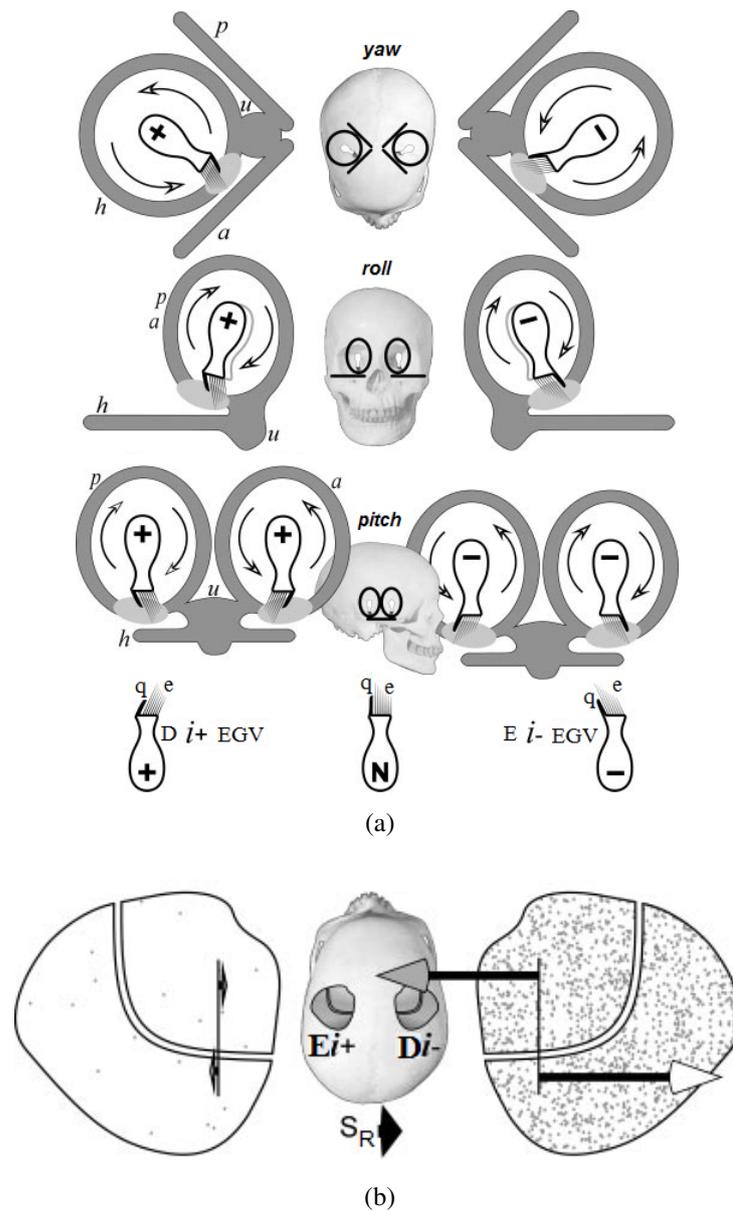


Figura 9: Modelo fisiológico para a resposta dos canais semicirculares (a) e dos utrículos (b) durante a estimulação galvânica vestibular. (a) Resposta dos canais semicirculares. (b) Somatório dos componentes laterais dos sistemas utrículos. a – canal anterior; h – canal horizontal; p – canal posterior; u – utrículo; q – quinocílio; e – estereocílio; i+ – corrente anodal; i- – corrente catodal; D – direito; E – esquerdo; S_R – Somatório resultante. Figura adaptada.

Fonte: (FITZPATRICK; DAY, 2004).

canal horizontal esquerdo). O mesmo aumento na taxa de disparo nas aferências dos canais anterior e posterior, irá significar um movimento no plano *roll* ipsilateral (ouvido movendo-se para baixo). Como esses canais estão alinhados a 45° com o eixo sagital do crânio, o canal anterior também indicará movimento no plano *pitch* (nariz movendo-se para baixo), e o canal posterior um movimento contrário (nariz movendo-se para cima – esquerda do plano *pitch*). Esses sinais opostos não possuem um equivalente natural, e devem se cancelar porque são

iguais em intensidade e opostos em direção. Assim, considerando os três canais, o padrão de descarga aferente evocado pela estimulação galvânica vestibular irá proporcionar uma sensação de rotação com componentes nos planos *yaw* e *roll* relativas ao plano do aparato vestibular. Por sua vez, a hiperpolarização das aferências nervosas, diminuirá a taxa de disparo de todas as aferências susceptíveis, independentemente de suas direções específicas. Isso significa que em cada processo mastóide as estimulações produzirão, no sistema vestibular, sinais nervosos que trarão a sensação de rotação em direções opostas.

Ainda, segundo Fitzpatrick e Day (2004), a estimulação galvânica vestibular aumenta a taxa de disparo nas aferências utriculares que inervam os dois lados da estríola. O desequilíbrio no alinhamento das células ciliadas leva a uma resposta que normalmente indicaria uma aceleração na mesma direção. Na mácula contralateral, a estimulação galvânica vestibular produzirá um desequilíbrio muito menor, o que normalmente indicaria uma aceleração para o mesmo lado (Figura 9b). Somando os sinais, de ambos os lados, isso indicaria uma pequena aceleração. Assim, a estimulação galvânica vestibular bilateral bipolar produzirá um padrão de descarga utricular consistente com um estímulo natural de aceleração linear ou de inclinação da cabeça. Como a estríola do sáculo está aproximadamente situada ao longo do centro da mácula, isso fará com que os sinais evocados pela estimulação galvânica vestibular em cada lado da estríola se cancelem.

Neste capítulo foram abordados conceitos teóricos relacionados com os processos anatômicos e fisiológicos do sistema vestibular, além da apresentação dos principais exames que avaliam o funcionamento do aparato vestibular. Apresentou-se, também, um modelo teórico para a resposta fisiológica em decorrência da aplicação da estimulação galvânica vestibular nos canais semicirculares e no sistema otolítico. No próximo capítulo são apresentadas os princípios da formação da imagem de ressonância magnética funcional, as etapas de pré e pós-processamento destas imagens e a forma de visualização dos exames de RMf.

3 IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Neste capítulo são apresentados os principais conceitos teóricos relacionados com a formação da imagem por ressonância magnética, com os princípios do contraste endócrino responsável pela formação dos exames de ressonância magnética funcional, com os métodos de aquisição das imagens de RMf, com as etapas de pré e pós-processamento destas imagens e, também, da apresentação final dos exames de RMf.

3.1 MAGNETIZAÇÃO NUCLEAR

As imagens por ressonância magnética nuclear exploram as diferenças de algumas propriedades da magnetização criada por um campo magnético estático intenso. Para uma melhor descrição desse fenômeno devemos introduzir alguns conceitos básicos.

Toda a matéria é composta por átomos, os quais contém três tipos de partículas, os prótons, os nêutrons e os elétrons. Os prótons e nêutrons compõem o núcleo. Entretanto, diferentes átomos possuem diferentes composições nucleares. O núcleo de hidrogênio, o mais abundante no corpo humano, contém apenas um próton (número atômico e massa igual a 1).

As leis do eletromagnetismo afirmam que um campo magnético é criado quando uma partícula carregada se move. O núcleo de hidrogênio possui um elétron com carga negativa que efetua uma rotação, em torno do próton, causando um campo magnético induzido, como um pequeno magneto. Esse magneto é representado pelo momento magnético μ . Os prótons e nêutrons também possuem um momento magnético μ . Desse modo, átomos com prótons ou nêutrons desemparelhados apresentarão uma propriedade de possuir um momento magnético nuclear diferente de zero.

Na ausência de um campo magnético aplicado, os momentos magnéticos têm uma orientação ao acaso. Já, quando os núcleos estão na presença de um campo magnético, estes alinham-se ao campo e precessionam em torno da direção do campo. A frequência de precessão é dada pela chamada equação de Larmor,

$$f = \frac{\gamma B_0}{2\pi}, \quad (1)$$

em que f é a frequência de precessão (em Hz), γ é uma constante chamada de razão giromagnética e B_0 é o campo magnético estático.

A excitação desse sistema, ou ressonância, é proporcionada por um pulso de RF (radiofrequência), na frequência de Larmor do átomo em questão, quando alguns spins no estado de mais baixa energia absorvem essa energia e transitam para um estado de maior energia. Como a excitação destrói o equilíbrio térmico, imediatamente após o pulso de RF, o excesso de spins no nível mais alto de energia retorna gradualmente ao seu estado de equilíbrio emitindo energia na mesma frequência da onda de rádio, que pode ser detectada por uma bobina. A tensão induzida na bobina receptora de RF tem característica de um cosseno amortecido e é conhecido como Decaimento de Indução Livre (*Free Induction Decay – FID*).

O primeiro sinal de ressonância foi medido em 1946 por dois grupos trabalhando independentemente, (BLOCH, 1946), em Stanford, e (PURCELL et al., 1946), em Harvard. Eles foram capazes de medir o sinal de ressonância de uma amostra de água e de parafina, respectivamente.

3.1.1 PROCESSO DE RELAXAÇÃO

Vimos que após a excitação do sistema, ele tende a retornar para o estado de mais baixa energia. Esse processo de relaxação é um dos responsáveis pela formação de uma imagem por ressonância. O processo pelo qual extraímos a informação espacial para produzir uma imagem e o processo que gera o contraste entre as estruturas da imagem, isto é, a diferença entre tecidos é diretamente dependente da densidade de spin, dos chamados tempos de relaxação T1 e T2, e outros parâmetros físicos do tecido, como a difusão, perfusão ou fluxo.

A densidade de prótons é determinada pelo número de spins que contribuem para a magnetização transversal, componente da magnetização perpendicular ao campo magnético estático. Em tecidos biológicos, isso corresponde basicamente à concentração de água e gordura. O tempo de relaxação T1 (longitudinal) é referente à reconstrução da magnetização longitudinal z (ao longo da direção B_0). Esse retorno ocorre devido ao movimento Browniano das moléculas vizinhas, o qual gera flutuações do campo magnético. Quanto mais próxima a flutuação está da frequência de Larmor, mais rápida é a relaxação. As diferenças entre os valores da relaxação T1 dos tecidos provocam o contraste em imagens ponderadas em T1. Já os valores de T2, também chamado de tempo de relaxação transversal ou spin-spin, reflete a defasagem dos spins do

plano xy , isso é causado pela alteração do campo local, a qual induz uma alteração na frequência de precessão. Tal variação aleatória do campo altera a frequência de precessão dos prótons, resultando numa perda de coerência de fase e conseqüentemente da magnetização transversal.

Na realidade, um outro processo também contribui para a diminuição de T2: a inhomogeneidade do campo estático. Esse fato leva à necessidade de definirmos o tempo de relaxação T2*, que reflete as variações devido aos dois processos independentes: inhomogeneidade de campo e flutuações locais devido à vizinhança.

3.2 PRINCÍPIO DE FORMAÇÃO DA IMAGEM

Para criar uma imagem a partir de um processo físico, como, por exemplo, a Imagem por Ressonância Magnética (*Magnetic Resonance Imaging – MRI*), devemos criar uma codificação da informação espacial desse processo. Lauterbur (1973) mostrou que projeções de um objeto podem ser geradas e as imagens podem ser reconstruídas, como em tomografia computadorizada por Raios-X, pela superposição de gradiente de campo linear sobre o campo estático principal. Aqui, o termo gradiente designa a alteração dinâmica do campo magnético ao longo de uma dimensão particular (por exemplo, $G_x = \frac{\partial B_z}{\partial x}$). Assim, se aplicarmos gradientes de campo magnético nas três direções, a equação de Larmor torna-se:

$$\omega = \gamma(B_0 + G_x x + G_y y + G_z z), \quad (2)$$

O gradiente determina uma extensão das frequências de Larmor, e essas frequências podem promover informação exata da posição.

Existem alguns elementos básicos nas sequências de MRI para a codificação da informação espacial, isto é, gradientes para a seleção da fatia (G_z), para a codificação da frequência (leitura) (G_x) e para a codificação de fase (G_y).

Para uma melhor compreensão de como é adquirida uma imagem, a Figura 10 mostra um diagrama típico da sequência de pulso do tipo spin eco.

A sequência de pulsos é composta por três fases distintas: (i) a preparação da magnetização transversal, (ii) a coleta real dos dados, e (iii) recuperação suficiente da magnetização longitudinal antes da próxima repetição começar. Na primeira fase, o gradiente de seleção de fatia (G_z) é aplicado durante um pulso de RF de 90°. O gradiente de codificação de fase (G_y) é aplicado logo após o término do pulso de RF. Quando o gradiente é desligado, todos os spins retornam para uma condição de frequência uniforme, e a informação espacial é preservada ape-

nas na forma de seus ângulos de fase, os quais permanecem diferentes de acordo com suas localizações ao longo do eixo y (por isso a direção de codificação de fase). Para a recuperação da informação de fase individual, é necessário que os gradientes de codificação de fase tenham diferentes amplitudes durante cada repetição. Um segundo pulso de RF (180°) combinado com um segundo gradiente de seleção de fatia inverte a fase da magnetização transversal e, então, produz um eco de spin após o tempo $TE/2$. Finalmente, um terceiro gradiente (G_x) é utilizado para criar a dependência na posição da frequência durante a coleta do eco de spin.

Para uma imagem com $N_x N_y$ pixels, os pontos N_x são amostrados com o mesmo gradiente de leitura G_x , enquanto que na codificação da fase o gradiente G_y é aumentado com o tempo. Em cada etapa de leitura, o sinal coletado consiste da mesma frequência diferindo apenas na fase. Os dados adquiridos da matriz $N_x N_y$, são usualmente denominados espaço-k (Figura 11c), com:

$$k_{x,y,z} = \gamma \int G_{x,y,z} dt, \quad (3)$$

representando a imagem no domínio do espaço recíproco (JEZZARD; CLARE, 2001).

Para entendermos melhor como se dá essa nova representação, vejamos a Figura 11. A Figura 11a mostra um pulso de RF típico utilizado para excitar os spins nucleares e transferir a macromagnetização para o plano transversal. Na Figura 11b observamos as componentes

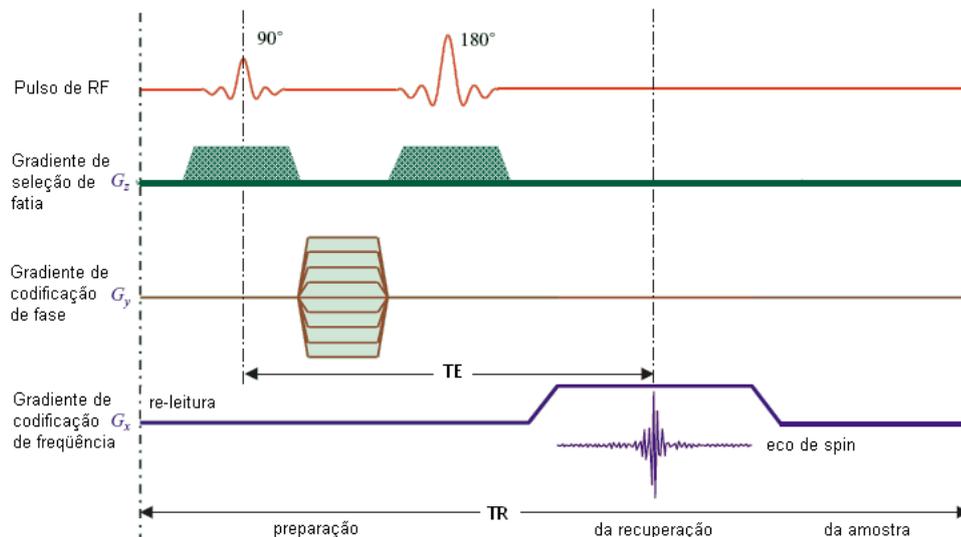


Figura 10: Diagrama simplificado de uma sequência de pulso. TE, tempo ao eco; TR, tempo de repetição; G_x , G_y , G_z , gradientes de codificação de frequência, de codificação de fase e de seleção de fatia, respectivamente. Figura adaptada.

Fonte: (LOGOTHETIS, 2002).

real e imaginária do sinal de ressonância. Na Figura 11c mostramos a sequência de pulsos representada no espaço-k em um experimento de eco de spin. Cada linha é um eco com a mesma composição de frequência, mas com diferentes codificações de fase. Linhas superiores e inferiores possuem o maior gradiente de codificação de fase e por isso, maior defasagem (sinal mais fraco). O maior eco está no centro do espaço-k, onde não ocorre codificação de fase. Na Figura 11d observamos a transformada de Fourier ao longo da direção de leitura. Finalmente, na Figura 11e vemos a transformada de Fourier ao longo da direção da codificação de fase, resultando na imagem final.

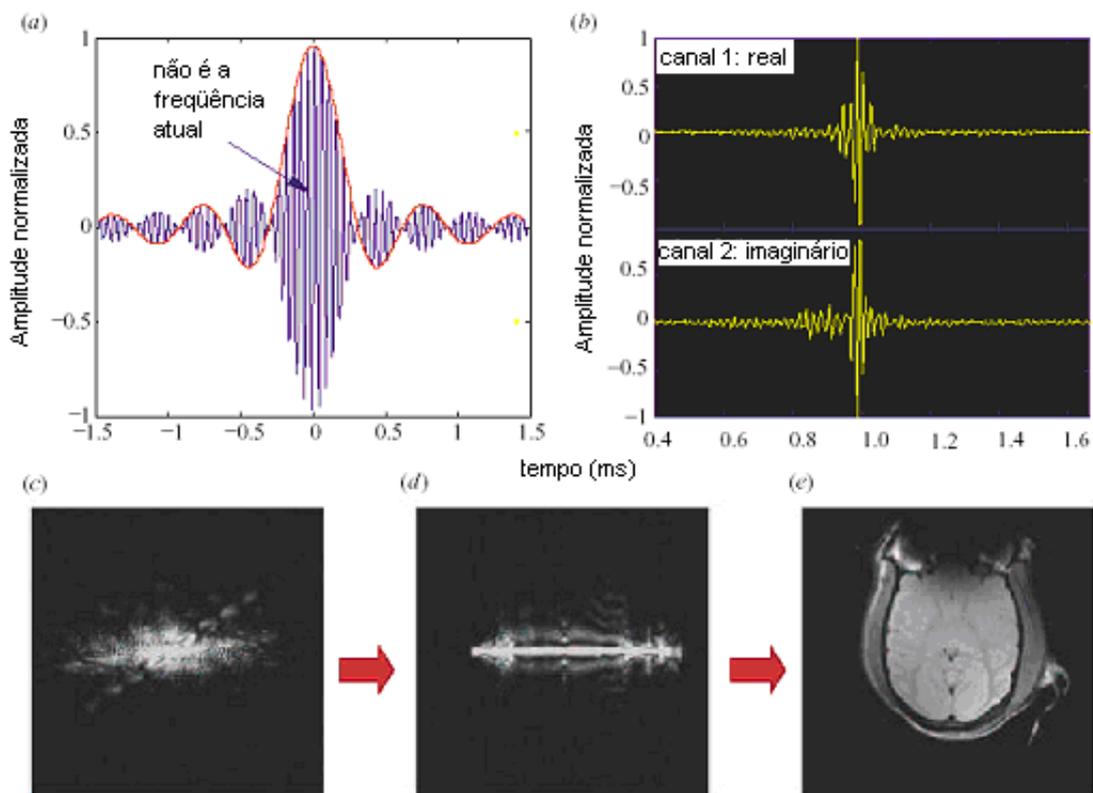


Figura 11: Formação da imagem. Figura adaptada.

Fonte: (LOGOTHETIS, 2002).

3.3 RMF COM CONTRASTE BOLD

Linus Pauling, em 1936, mostrou que a propriedade magnética da molécula de hemoglobina dependia da sua ligação com o oxigênio. A hemoglobina oxigenada (Hb) é diamagnética, isto é, não possui elétrons desemparelhados e seu momento magnético é zero. Já, a hemoglobina deoxigenada (dHb) é paramagnética. Ela possui dois elétrons desemparelhados e um momento magnético diferente de zero. Mas, foram Thulborn e colegas que mostraram que

a natureza paramagnética da dHb influenciava no sinal de ressonância magnética (RM). Nesse trabalho, Thulborn e colaboradores mostraram que havia pouca diferença entre os valores da relaxação transversal para a Hb e a dHb, a baixos campos (i. e., campos menores que 1,0 T) mas, a fortes campos magnéticos (i. e., campos maiores que 1,5 T) esses valores diferenciavam significativamente (THULBORN et al., 1982 apud HUETTEL et al., 2004).

Baseado em relatos prévios de que a desoxigenação decresce o valor de $T2^*$ no sangue, Ogawa et al. (1990a) supuseram que a manipulação da proporção de oxigênio no sangue deveria afetar a visibilidade dos vasos sanguíneos em imagens ponderadas em $T2^*$. Eles testaram essa hipótese com experiência em roedores anestesiados, utilizando um tomógrafo de alto campo (7 T e 8,4 T), manipulando a proporção de oxigênio que o animal respirava. Quando os roedores estavam respirando 100% de oxigênio ou 100% de monóxido de carbono, imagens por seqüência do tipo gradiente-eco dos cérebros dos roedores mostraram diferenças estruturais, mas poucos vasos sanguíneos. Mas quando os roedores respiravam normalmente (21% de oxigênio), as imagens mostraram um caráter bem diferente. Linhas finas escuras tornaram-se visíveis no córtex cerebral. Se a concentração de oxigênio fosse reduzida a 0%, as linhas tornavam-se ainda mais proeminentes. Ogawa e colaboradores concluíram que essas linhas finas representavam o efeito da susceptibilidade magnética causada pela presença da dHb paramagnética nos vasos sanguíneos, os quais causam distorções locais do campo em imagens por seqüência do tipo gradiente-eco.

Ogawa e colaboradores consideraram que esse relato, o qual viria a ser chamado de contraste BOLD, poderia possibilitar a medida de mudanças na atividade cerebral. Eles supuseram, então, dois possíveis mecanismos para o contraste BOLD: mudanças no metabolismo do oxigênio ou mudanças no fluxo sanguíneo. No primeiro mecanismo, a atividade neural causaria aumento da demanda metabólica e, então, aumento do consumo de oxigênio. Isso aumentaria a quantidade de dHb, dando um contraste do fluxo sanguíneo. No segundo mecanismo, o aumento da demanda metabólica decresceria a quantidade de dHb.

Em seu próximo experimento *in vivo*, Ogawa et al. (1990b) manipularam a indução de gases em ratos anestesiados enquanto mediam o contraste BOLD em alto campo. Para verificar que o contraste BOLD resultava, ao menos em parte, da demanda metabólica do oxigênio, eles compararam níveis altos e baixos de anestesia. O contraste BOLD foi muito maior a níveis de baixa anestesia comparado a níveis de alta anestesia. Esses resultados indicaram que a demanda metabólica para o oxigênio era pré-requisito para o contraste BOLD.

Resumindo, o contraste BOLD depende da quantidade de dHb presente na região cerebral, o que por sua vez depende do balanço entre o consumo e o fornecimento de oxigênio.

Entretanto, parece razoável que o aumento da atividade neural resulte num aumento do consumo de oxigênio e então um maior decréscimo do sinal de RM, como Ogawa e coautores originalmente propuseram. No entanto, quando nós medimos um aumento da atividade neural nós encontramos um aumento de sinal de RM.

As observações de (FOX et al., 1988 apud HUETTEL et al., 2004) explicam esse paradoxo. A disparidade entre a utilização do oxigênio e a demanda de oxigênio significa que mais oxigênio é fornecido para uma região cerebral do que é consumido. O contraste BOLD que acompanha a atividade neural ocorre não porque a Hb aumenta o sinal de RM, mas porque ela substitui a dHb que tem diminuído a intensidade do sinal de RM.

Os primeiros estudos com o contraste BOLD em RMf foram relatados em 1992 por três grupos distintos. Primeiramente, Kwong e colaboradores utilizaram uma sequência do tipo gradiente-eco EPI (Imagem Eco-Planar – *Echo-Planar Image*) para estudar a atividade do córtex visual (KWONG et al., 1992). Posteriormente, Ogawa e colaboradores publicaram um estudo similar, no qual avaliaram a mudança do sinal da RMf numa sequência gradiente-eco quando era apresentado um estímulo visual de longa duração (OGAWA et al., 1992). O terceiro trabalho publicado em 1992 foi por Bandettini e colegas, no qual relatam atividade significativa no córtex motor primário através da utilização de uma tarefa motora (BANDETTINI et al., 1992).

Observa-se na literatura que a resposta BOLD negativa (RBN), ou comumente chamado de “desativação”, de determinadas regiões cerebrais podem ser tão importantes quanto a ativação para o entendimento das funções cerebrais. A primeira evidência disso apareceu em estudos de PET (SHULMAN et al., 1997a). A RBN é determinada calculando a mudança negativa da resposta BOLD (ALLISON et al., 2000). A resposta BOLD é dependente de uma interação complexa entre o Fluxo Sanguíneo Cerebral (*Cerebral Blood Flow – CBF*), o Volume Sanguíneo Cerebral (*Cerebral Blood Volume – CBV*) e a Taxa Metabólica de Oxigênio Cerebral (*Cerebral Metabolic Rate of Oxygen – CMRO2*) (OGAWA et al., 1990a), as quais estão todas relacionadas à atividade neuronal. A relação da resposta BOLD positiva (RBP) com o aumento da atividade neuronal já foi demonstrado (LOGOTHETIS et al., 2001; SMITH et al., 2002) e é acompanhado por alterações hemodinâmicas como o aumento do Fluxo Sanguíneo Cerebral (*Cerebral Blood Flow – CBF*) e do Volume Sanguíneo Cerebral (*Cerebral Blood Volume – CBV*) (HUETTEL et al., 2004). No entanto, a RBN é bem menos compreendida (SHULMAN et al., 2007). Os estudos detalhados sobre sua origem são esparsos e as suas explicações são controversas. Até agora a RBN pode estar relacionada com um fenômeno chamado de “roubo vascular” (HAREL et al., 2002) ou com a diminuição da atividade neuronal

(GUSNARD; RAICHLE, 2001; SHMUEL et al., 2002; STEFANOVIC et al., 2004; SHMUEL et al., 2006; DEVOR et al., 2007).

Harel et al. (2002) mediram a resposta BOLD em gatos durante uma estimulação visual. O trabalho indica que a RBN reflete uma diminuição do CBF sendo, segundo os autores, provavelmente induzido pela redistribuição do fluxo sanguíneo das áreas menos exigentes de CBF para as mais exigentes. Shmuel et al. (2002) realizaram as medidas das respostas BOLD no córtex occipital humano pela estimulação parcial do campo visual. Neste estudo eles demonstraram que a RBN é causada pela redução no CBF e está associada a uma diminuição da CMRO₂. Isto, segundo os autores, suporta a contribuição da RBN como um componente significativo da diminuição da atividade neuronal e, possivelmente, um componente das alterações hemodinâmicas independente das alterações locais na atividade neuronal. Shmuel et al. (2006) utilizaram a RMf e o registro eletrofisiológico simultaneamente em macacos anestesiados para analisar as regiões estimuladas de seu córtex visual. A RBN demonstrou associação à diminuição dos potenciais de campo locais e à atividade de multiunidade. Os achados indicaram que um componente significativo da RBN se origina no decréscimo da atividade neuronal. Pasley et al. (2007), indicam que a resposta negativa é um índice funcionalmente significativo no córtex visual humano, sendo que o maior componente da resposta negativa é devido a uma redução da atividade neural e não a um efeito artificial de fluxo sanguíneo como o roubo vascular. Existe, ainda, uma indicação de que a resposta BOLD negativa também está relacionada à diminuição da atividade neuronal no córtex motor humano (STEFANOVIC et al., 2004) e no córtex somatosensorial primário de ratos (DEVOR et al., 2007).

3.4 MÉTODO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

Atualmente, um exame típico de RMf é dividido, basicamente, em duas partes. Em um primeiro momento, são adquiridas as imagens EPI (Imagem Ecoplanar, *Echo-Planar Image*) que resultam nas localizações funcionais para uma região cerebral específica. Em seguida, um segundo conjunto de imagens é obtido. Nessa série, o paciente/voluntário deve permanecer imóvel. As imagens têm por objetivo servir de substrato para a representação dos resultados estatísticos, uma vez que apresentam uma boa resolução anatômica, com voxels de, pelo menos, 1,5 mm³ (ARAÚJO, 2002).

3.4.1 PARADIGMAS

Os paradigmas em RMf correspondem a uma série de tarefas apresentadas ou a serem apresentadas aos indivíduos a fim de se observar áreas de atividade cerebral. O seu planejamento é fundamental para a obtenção de bons resultados, que reflitam a atividade de regiões específicas de interesse, devendo engajar uma circuitaria neuronal bastante restrita.

Os paradigmas são desenhados a partir de estímulos, enquadrados em três grupos, que determinam a maneira de pós-processamento das imagens: 1) paradigmas em bloco, alternam períodos de atividade (*'ON'*) com períodos de repouso (*'OFF'*), 2) paradigmas contínuos ou paramétricos em que os estímulos são apresentados continuamente, em geral de forma aleatória, e 3) paradigmas evento-relacionado em que os estímulos são apresentados por um curto período e são intercalados com longos períodos de repouso. Aqui, descreve-se com mais detalhes apenas o paradigma em bloco, que é utilizado neste trabalho.

No paradigma em bloco, o sinal adquirido durante uma condição de bloco é comparada a outro bloco envolvendo diferentes condições de tarefas. Para efeito de ilustração, imagine um protocolo de imagens funcionais projetado para o isolamento e mapeamento da atividade cerebral associada ao movimento voluntário dos dedos das mãos. Enquanto as imagens funcionais estão sendo adquiridas, um paradigma experimental em bloco é aplicado, de acordo com a Figura 12. Nela observamos um diagrama de tempo demonstrando a ocorrência de um paradigma de dois estados. Em um primeiro instante, o voluntário/paciente encontra-se na condição ativa, na qual ocorre a movimentação dos dedos. Esses períodos são intercalados por condições de repouso, onde não há movimentação dos dedos. O processo é repetido até que um número suficiente de imagens seja obtido. Na Figura 12, ilustramos a situação em que sete períodos de inatividade são intercalados com oito períodos de movimento dos dedos.

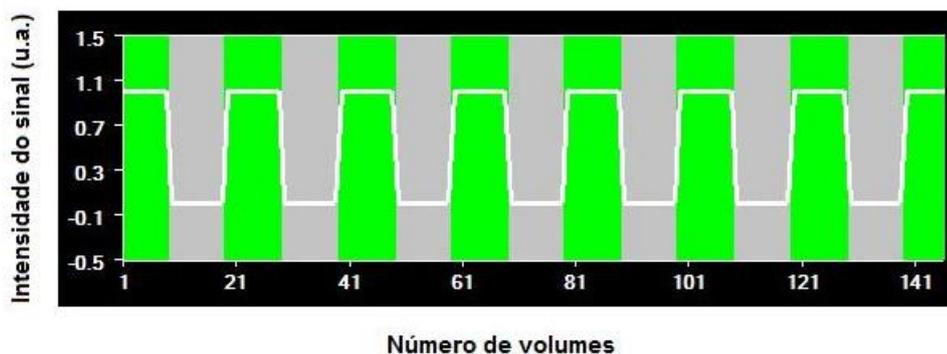


Figura 12: Sinal típico de um conjunto de pixels para um paradigma em bloco.

Fonte: Elaborada pela autora.

Como resultado, voxels da imagem presentes em regiões corticais ativas são seguidos de alterações no contraste da imagem. Como esses estados de atividade são intercalados com estados de repouso, o sinal proveniente dessa região forma um padrão topográfico semelhante ao da Figura 12.

Mesmo se tratando de um processo simples, paradigmas dessa natureza são largamente utilizados no mapeamento de diversas áreas funcionais, tanto por PET quanto por RMf. Além de áreas primárias, esses processos também têm sido utilizados na caracterização de regiões responsáveis por processos cognitivos elevados, como memória e linguagem.

3.5 PREPARANDO OS DADOS DE RMF PARA A ANÁLISE ESTATÍSTICA

O mecanismo de contraste BOLD, aliado a técnicas de aquisição rápida, permite a visualização direta de um grande número de processos cerebrais. Infelizmente, as alterações no contraste das imagens não são grandes, o que impossibilita uma inspeção visual direta, tornando necessária a utilização de algoritmos computacionais para a identificação dessas áreas. As alterações de contraste dependem da intensidade do campo estático aplicado, mas, em uma situação mais habitual de campos da ordem de 1,5 T, as variações de contraste podem chegar a 3-4% (WEISSKOFF; KIIHNE, 1992). Os paradigmas em bloco foram o primeiro alvo para o desenvolvimento de análises estatísticas de RMf (FRISTON et al., 1994). Entretanto, antes de analisar as séries temporais por ferramentas estatísticas, é importante que elas passem por algumas etapas de pré-processamento, para auxiliar na eliminação de alguns artefatos conhecidos.

O propósito do pré-processamento é remover vários tipos de artefatos nos dados, e condicionar os dados, para maximizar a sensibilidade de análises estatísticas posteriores, e também, em algumas situações, aumentar a validade estatística. As últimas análises estatísticas são geralmente vistas como a parte mais importante da análise de RMf. No entanto, sem as etapas de pré-processamento, a análise estatística é, na melhor das hipóteses, grandemente reduzida, e na pior, inválida (SMITH, 2001). Aqui descreve-se uma série de procedimentos computacionais utilizados no pré-processamento das séries temporais. Dentre elas podemos citar: a correção temporal entre fatias, a correção de movimento e a aplicação de filtros espaciais e temporais.

3.5.1 CORREÇÃO DO TEMPO POR FATIA

Conforme dissemos anteriormente, os exames de RMf são coletados de modo a fazer várias imagens de uma região cerebral em instantes de tempo distintos. Cada uma dessas aquisições é formada por um conjunto de fatias, conhecido como volume. Por sua vez, as fatias

que compõem os volumes são adquiridas em instantes ligeiramente defasados no tempo. Desse modo, para facilitar a análise estatística, devemos corrigir as séries temporais tornando-as alinhadas, ou seja, em fase. Para corrigir esses erros, algumas análises experimentais modificam a resposta hemodinâmica preditora, assim cada fatia é comparada a uma função da resposta hemodinâmica com tempos ligeiramente diferentes. A correção entre os tempos das fatias mais utilizada é a interpolação temporal. Essa utiliza a informação dos pontos temporais vizinhos para estimar a amplitude do sinal de RM. É importante salientar que o método de interpolação pode perfeitamente recuperar as informações perdidas entre as fatias (SMITH, 2001).

3.5.2 CORREÇÃO DE MOVIMENTO

Pequenos movimentos da cabeça, numa escala menor que 1 mm, são uma das maiores fontes de erro na análise dos dados de RMf se não identificadas ou corrigidas corretamente. Uma condição para uma análise bem-sucedida é a necessidade dos pixels permanecerem espacialmente invariantes ao longo de toda a aquisição das imagens. Qualquer tipo de movimento viola esse princípio, daí a necessidade de evitá-lo a qualquer custo.

Podemos classificar os artefatos de movimento em intrínsecos e extrínsecos. O primeiro é decorrente de flutuações internas provenientes do movimento dos tecidos intracranianos. Sendo bem mais difíceis de detectar e de corrigir, eles levam a um aumento na variação do sinal de RM. Além disso, processos fisiológicos como respiração e batimento cardíaco afetam as imagens resultantes. Além de provocarem o movimento dos tecidos, esses ritmos fisiológicos fazem aparecer uma inomogeneidade de campo.

O segundo tipo de movimento, o extrínseco, é mais facilmente detectável e de mais fácil controle (FRISTON et al., 1996). Ele é decorrente das alterações nos sinais de RM que resultam do movimento involuntário da cabeça do indivíduo. Vimos que as alterações de contraste devido à resposta hemodinâmica são de aproximadamente 3%. Ademais, grande parte das análises estatísticas busca por diferenças no contraste entre os dois estados experimentais: repouso e atividade. Esse artefato resulta em padrões de atividade falsos: regiões que anteriormente apresentavam baixo contraste passam a padrões de brilho mais intenso. Ele é especialmente visível em regiões de alto contraste espacial, como o conjunto de pixels que definem uma região de fronteira na imagem.

Para restringir o nível de contaminação nesses exames, é aconselhável planejar experiências que minimizem o movimento do indivíduo, e ter a certeza de que ele esteja confortavelmente acomodado no interior do tomógrafo. Contudo, métodos de correção posteriores também existem (WOODS et al., 1992).

O processo de correção começa com uma estimativa da extensão do movimento da cabeça. A fim de simplificar os cálculos e trazer o processo a níveis aceitáveis, a suposição é geralmente feita considerando o movimento da cabeça como um processo de corpo rígido, isto é, que a cabeça muda sua posição e orientação, mas não se submete a mudanças de forma.

O problema de estimar o movimento da cabeça pode ser formulado em termos da computação da transformação da imagem (os acertos da translação em x, y e z e rotações ao redor dos eixos x, y e z) que irão combinar a imagem num ponto temporal para o mesmo modelo ou alvo da imagem. O modelo de referência é comumente escolhido como o primeiro volume da imagem nas séries temporais de RMf (FRISTON et al., 1996).

As correções de movimento serão aplicadas da seguinte forma: as matrizes de rotação e de translação, R^{\rightarrow} e T^{\rightarrow} serão definidas com respeito ao volume de referência, de modo que:

$$x^{\rightarrow(2)} = R^{\rightarrow} x^{\rightarrow(1)} + T^{\rightarrow}, \quad (4)$$

em que $x^{\rightarrow(1)}$ e $x^{\rightarrow(2)}$ são as posições dos vetores dos voxels antes e depois das transformações de rotação e translação. Essa operação é realizada até que a soma dos quadrados da diferença entre pixels de duas imagens subsequentes seja minimizada, dessa forma os elementos das matrizes R^{\rightarrow} e T^{\rightarrow} são determinados pelo método de Mínimos Quadrados. Fazendo com que o volume a ser corrigido esteja ajustado ao volume de referência.

3.5.3 FILTRO ESPACIAL

O pré-processamento da RMf pode passar ainda pela aplicação de um filtro espacial sobre cada volume. Embora controverso, uma vez que sua aplicação leva a uma perda na resolução espacial da imagem, a possibilidade de obter uma maior confiabilidade estatística acaba por fazer com que esses métodos sejam comumente utilizados. Há duas razões para a aplicação do filtro espacial como uma etapa de pré-processamento. Primeiro, ele pode causar o aumento da relação sinal ruído dos dados. A medida da relação sinal ruído estabelece quão grande é o sinal de interesse comparado ao nível de ruído. O sinal de interesse, nesse caso, é a mudança na intensidade da imagem a qual estabelece os resultados da aplicação de um estímulo. O ruído é a variação aleatória inevitável, na intensidade da imagem, o qual está presente mesmo quando nenhum estímulo é aplicado. Segundo, etapas estatísticas procedentes certamente podem requerer que as imagens funcionais sejam espacialmente suavizadas.

O ponto principal da filtragem espacial nos dados de RMf é reduzir o nível de ruído enquanto mantém o sinal subjacente. Como o filtro é efetivamente uma média local, o valor do

‘ruído’ na vizinhança tenderá a se cancelar. A fim de que o sinal subjacente não seja reduzido junto com o ruído, é necessário que o tamanho da máscara do filtro não seja maior do que o tamanho da região ativada.

Os filtros geralmente utilizados são do tipo Gaussiano, em que é realizada a convolução das imagens EPIs com funções do tipo:

$$f(x, y, z) = \exp \left\{ - \left[\frac{x^2}{2s_x^2} + \frac{y^2}{2s_y^2} + \frac{z^2}{2s_z^2} \right] \right\}, \quad (5)$$

em que x , y e z correspondem às posições geométricas das coordenadas nas imagens, e s_x , s_y e s_z são os desvios padrão da função, definida pelo usuário. As características do filtro são bem definidas pelo Parâmetro Largura a Meia Altura (*Full Width at Half Maximum – FWHM*), que determina a forma de atuação do filtro sobre a imagem. Não existe uma forma direta de determinação dos melhores parâmetros dos filtros a serem utilizados nas análises, uma vez que uma melhoria da relação sinal-ruído implica na redução da resolução espacial, mas é comum utilizar uma largura entre 3 a 10 mm FWHM para imagens de RMf (SMITH, 2001).

3.5.4 FILTRO TEMPORAL

O ponto principal da filtragem temporal é remover componentes indesejáveis da série temporal sem, é claro, perder informações do sinal de interesse. Por exemplo, se uma estimulação é aplicada durante 30 s, seguida por 30 s de repouso, e esse padrão é repetido várias vezes, o sinal de interesse será próximo a uma onda quadrada de período 60 s. O filtro temporal buscará remover as componentes na série temporal que variam mais lentamente do que o sinal de período 60 s (filtro passa altas) e também remover componentes que variam mais rapidamente (filtro passa baixas) (SMITH, 2001).

A filtragem temporal, ao invés de trabalhar com cada volume separadamente, como o filtro espacial, trabalha com cada série temporal de voxels separadamente. Devido à maioria das bases de análises estatísticas operarem diretamente nas séries temporais dos voxels, de regra, a realização dessa etapa é realizada após todos os estágios de pré-processamento descritos nas subseções 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3.

O filtro passa altas remove as componentes lentas dos sinais, muitas vezes indesejáveis, i.e., aqueles que possuem frequência abaixo de um determinado valor. Tais perturbações podem ser provenientes de efeitos fisiológicos, como batimento cardíaco e respiração, ou devido flutuações associadas ao escaner de ressonância magnética. Se os sinais de baixas frequências não estão relacionados ao estímulo, será, então, lucrativo removê-los. Isso irá resultar em um

melhor ajuste do modelo derivado da estimulação dos dados e maior significância de ativação. É importante, contudo, que o filtro passa altas não corrompa o sinal relacionado ao estímulo.

O filtro passa baixas reduz ruídos de altas frequências das séries temporais dos voxels. Como no caso do filtro passa altas, é importante escolher um filtro que remova os ruídos sem corromper os sinais subjacentes relacionados ao estímulo.

Em geral, o filtro passa baixas se resume em uma convolução da série temporal com uma função gaussiana. Contudo, ao invés da variável da função Gaussiana ser espacial, ela é temporal. Devido à utilização comum do filtro Gaussiano estreito, que realiza um borramento pequeno, no fundo a operação de convolução com a série nada mais é do que substituir cada ponto temporal da série pelo seu valor original mais uma pequena fração da vizinhança.

Uma dificuldade que pode aparecer quando se aplica o filtro passa baixas está relacionada aos experimentos que envolvam paradigmas de evento-relacionados, os quais geralmente contêm componentes de altas frequências. Por exemplo, uma estimulação breve pode conter picos estreitos na série temporal resultante. O filtro passa baixas pode suprimir esses sinais, reduzindo portanto a confiabilidade das análises estatísticas (SMITH, 2001).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DAS IMAGENS

Após a etapa de pré-processamento, são realizadas análises estatísticas para determinar quais voxels são estatisticamente significativos, indicando uma alta probabilidade de estarem respondendo à estimulação específica. As informações de interesse clínico são obtidas através de pequenas diferenças entre as imagens que refletem dois estados cerebrais distintos: de atividade e de repouso (OGAWA et al., 1998). Tais diferenças só são discerníveis a partir de métodos estatísticos como, por exemplo, a correlação entre todos os voxels da série temporal e um modelo da resposta hemodinâmica. Outros métodos, mais complexos, podem ser efetivamente elaborados, possibilitando a inferência de características interessantes dos exames de RMf, os quais compreendem o modelo geral linear (FRISTON et al., 1995) ou a análise de componentes independentes, além da Teoria dos Campos Aleatórios (*Random Field Theory – RFT*) e a Taxa de Falsas Descobertas (*False Discovery Rate – FDR*).

A maioria dos testes estatísticos utilizados em RMf possui três pontos em comum. Primeiro, eles expressam a significância como a probabilidade do resultado ocorrer sobre a hipótese nula (no caso da técnica de RMf, a hipótese nula é o caso em que a diferença entre as condições não possuem efeito nos dados de RMf) e utilizam mapas coloridos para expressar essa probabilidade. Segundo, os voxels cujo nível de probabilidade está abaixo de um limiar,

conhecido como valor alfa, são marcados como significativos, enquanto os voxels cuja probabilidade está acima do limiar estatístico é marcado como não significativo. O valor alfa controla a probabilidade do erro do Tipo I. Em termos da análise de RMf o erro do Tipo I significa que um voxel é marcado como ativo quando na verdade não é (i.e., falso positivo). Terceiro, as aproximações são geralmente conservadoras, no qual enfatizam excluir voxels ativos, resultando no erro do Tipo II, ou seja, um voxel é marcado como sendo não ativo quando, na verdade, ele é ativo (i.e., falso negativo). A RFT pode ser considerada atualmente o método padrão para controle de Erro por Família de Testes (*Familywise Error Rate – FWE*), apesar de sua complexidade e suposições restritivas. Por outro lado se alguns falsos positivos puderem ser aceitos na imagem, procedimentos que controlam a FDR, como o de Benjamini e Hochberg (BENJAMINI; HOCHBERG, 1995), pode gerar resultados mais liberais, com suposições mínimas, para maiores detalhes sugere-se (WINKLER, 2007). A seguir apresenta-se de forma resumida e objetiva o princípio de processamento da técnica de RMf que permite discernir as regiões ativas das não ativas em um experimento de RMf.

3.6.1 MODELO LINEAR GERAL (*GENERAL LINEAR MODEL – GLM*)

O modelo linear utiliza a sessão experimental como uma única série temporal, e a compara a uma série temporal preditora composta por várias respostas hemodinâmicas individuais (SMITH, 2001). A equação para o modelo é dada por:

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n + \varepsilon, \quad (6)$$

A ideia básica de um modelo linear é que o dado observado (y) é igual à combinação de pesos de vários fatores modelos (x_i) (o fator modelo representa componentes hipotéticas dos dados), mais um termo de erro (ε). Os parâmetros de peso (b_i) indicam quanto cada fator contribui para os dados absolutos. O termo b_0 reflete a contribuição de todos os fatores que são tomados como constantes durante o experimento como, por exemplo, os valores brutos de T2* gravados em um voxel particular na ausência da ativação BOLD. Resolvendo a equação do modelo linear, possuímos apenas uma quantidade conhecida, os dados experimentais. Tendo os dados experimentais e uma série específica dos fatores modelo, podemos, então, calcular qual combinação de pesos serve para minimizar o termo de erro. O termo de erro mínimo, após resolver o modelo linear, é conhecido como erro residual. Quando há apenas uma variável dependente, a equação 6 é conhecida como um modelo de regressão múltipla univariada. Contudo, a mesma equação pode ser estendida para incluir um grande número de variáveis dependentes, como os vários pontos temporais de um estudo RMf, por meio do modelo linear geral (*General Linear*

Model – GLM).

Para exemplificar, a Figura 13 mostra um diagrama representando a equação 6 no caso de um exame de RMf. A variável y é representada no lado esquerdo do diagrama e corresponde a série temporal medida para um único voxel. O tempo é indicado de cima para baixo, ou seja, a primeira linha é o valor medido no tempo 1 (y_1), a segunda linha é o valor medido no tempo 2 (y_2) e assim por diante. A série temporal do voxel é “explicada” pelos termos do lado direito. A primeira coluna do lado direito corresponde ao primeiro parâmetro de peso, b_0 . A série temporal do preditor x_0 possui o valor 1 para cada ponto temporal, sendo assim chamada de “constante”. A última coluna contém os valores dos erros, os quais também são chamados de erro residual, erro preditor ou ruído.

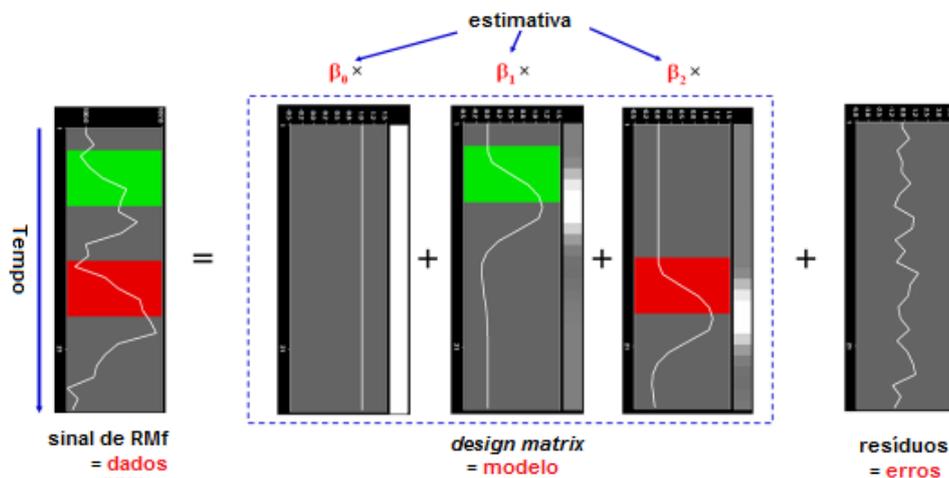


Figura 13: Representação do modelo linear geral para a estimativa dos mapas estatísticos em exames de RMf. Figura adaptada.

Fonte: (GOEBEL, 2013).

Dessa forma, os valores dos parâmetros de peso (β) e o termo de erro (ε) são calculados independentemente para todos os voxels. Os voxels são organizados ao longo de uma dimensão para tornar o cálculo mais simples. A *design matrix*, a qual especifica o modelo linear geral a ser estimado, consiste de X fatores modelos ou preditores. A *design matrix* contém n linhas, de tal forma que cada célula indica a amplitude de um fator modelo para um dado voxel. Finalmente, o termo de erro é um vetor com n linhas. A *design matrix* pode ser expressada como forma matricial:

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_{11} & \dots & x_{1V} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n1} & \dots & x_{nV} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_V \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{pmatrix}, \quad (7)$$

ou na notação matricial:

$$Y = X\beta + \varepsilon, \quad (8)$$

Após estabelecer o modelo linear geral para um dado experimento, são calculadas as combinações dos pesos, quando multiplicados pela *design matrix*, que dará o menor termo de erro. O valor b_0 representa o nível de sinal da condição controle. Os outros preditores do lado direito modelam as séries temporais esperadas em diferentes condições. O peso do beta de um preditor quantifica a contribuição da sua série temporal para explicar a série temporal do voxel. Todos os valores betas juntos caracterizam a “preferência” do voxel para uma ou mais condições experimentais. A última coluna da direita, o erro residual, quantifica o desvio da série temporal do voxel medido com relação a série temporal preditiva. Para entender esse processo, considere um experimento simples onde um voluntário fecha a sua mão a cada 20 s enquanto os dados de RMf são adquiridos com um TR (tempo de repetição) de 1 s ao longo de 60 pontos temporais. Podemos supor que os valores ativos deveriam mostrar três respostas hemodinâmicas distintas, uma para cada fechada de mão. Assim, entramos com essa hipótese como uma única coluna na *design matrix*. O GLM avalia o quanto essa série temporal hipotética contribui para os dados reais. Como os dados de RMf consistem de vários pontos temporais, o erro residual para um dado voxel deve ser combinado através de todos os pontos temporais em um único valor.

A equação para combinar vários erros em uma estatística resumida é conhecida como função custo. No GLM, o padrão de uma função custo é a determinação do erro por mínimos quadrados, ou a soma de todos os quadrados residuais. Para testar a significância do fator modelo para um dado voxel, a amplitude do parâmetro associado é dividido pelo erro residual. A significância é baseada em quão bem os dados experimentais ajustam uma resposta hemodinâmica preditiva.

3.6.1.1 ESTATÍSTICA T E CONTRASTE

Depois de determinados os parâmetros de peso β , é necessário saber o quão bom foi o ajuste do GLM. Deve-se, então, testar se um modelo específico explica significativamente a variância na série temporal do voxel, isto é feito determinando uma hipótese nula. No caso dos exames de RMf, a hipótese nula é de que não existe relação entre os preditores e os dados dos voxels, ou seja, o valor β não será significativamente diferente de zero. Para determinarmos isto é realizado uma estatística t, onde esta é calculada pela seguinte equação:

$$\text{Valor-t} = \frac{\beta}{DP_{\beta}}, \quad (9)$$

onde, DP é o desvio padrão do parâmetro de peso β .

Assim é possível fazer a comparação entre as diferentes condições determinando os chamados contrastes. Os contrastes são combinações lineares dos valores dos β s que correspondem a hipótese nula que será testada. Para testar, por exemplo, se a ativação em uma única condição deriva significativamente da condição de controle, a hipótese nula seria $H_0: \beta_1 = 0$. Para testar se a ativação na condição 1 é significativamente diferente da ativação na condição 2, a hipótese nula deve declarar que os valores β s das duas condições não diferem, $H_0: \beta_1 = \beta_2$ ou $H_0: (+1)\beta_1 + (-1)\beta_2 = 0$. Para testar se as condições 1 e 2 diferem da condição 3, o seguinte contraste deve ser especificado: $H_0: (\beta_1 + \beta_2) / 2 = \beta_3$ ou $H_0: (+1)\beta_1 + (+1)\beta_2 + (-2)\beta_3 = 0$. Os valores usados para multiplicar os respectivos valores β s são geralmente escritos como um vetor contraste c . No último exemplo, o vetor contraste deve ser escrito como $c = [+1 + 1 - 2]$ (GOEBEL, 2013). Dessa forma, haverá um valor β para cada voxel do cérebro e um valor-t que indica a sua significância estatística.

3.6.2 APRESENTAÇÃO DOS MAPAS ESTATÍSTICOS

Os resultados estatísticos fornecidos pelas diferentes técnicas de análise dos sinais de RMf devem ser visualizados de alguma forma. Usualmente, cada pixel que compõe a imagem recebe uma cor que varia de acordo com a sua significância estatística, formando um mapa de cores. Dentre os padrões mais adotados, seguindo a coloração do arco-íris, pixels cuja significância estatística é elevada recebem uma coloração mais próxima ao vermelho, enquanto que aqueles de significância estatística desprezível têm coloração azulada. Um exemplo típico de um exame funcional de regiões primárias visual é apresentado na Figura 14. Nela pode-se observar uma espécie de aglomerado de pontos avermelhados, indicando uma alta probabilidade de ser aquela a região ativa pelo paradigma visual.

Em um segundo momento, esses mapas devem ser apresentados em superposição a imagens que tragam informações anatômicas das estruturas funcionais envolvidas naquele processo cerebral específico. A primeira possibilidade é atribuir uma coloração específica, na própria imagem que gerou os mapas estatísticos (por exemplo, EPI), pintando regiões da imagem que apresentem significância superior a um certo limiar. Na Figura 14b, apresentamos um desses exemplos. O mapa gerado em um paradigma visual, o mesmo apresentado na Figura 14a, é superposto a sua respectiva imagem EPI. Note que apenas regiões mais significativas são apresentadas.

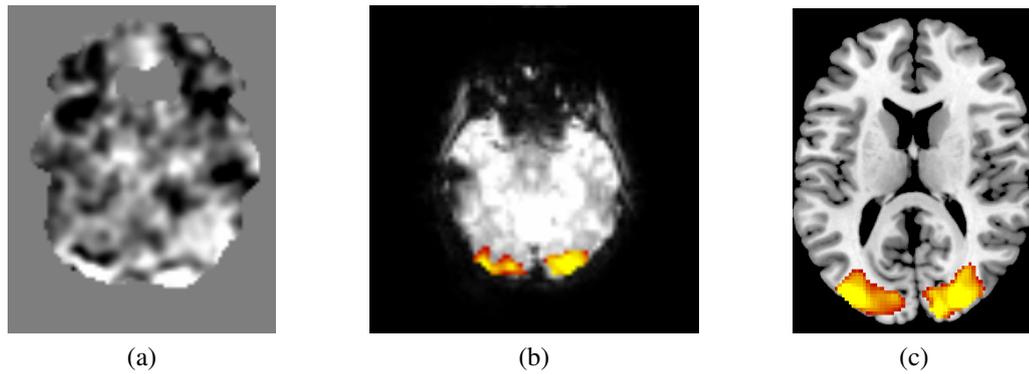


Figura 14: Possíveis apresentações de exames de RMf. (a) Mapas estatísticos originários de um paradigma visual em um voluntário assintomático. (b) Superposição dos mapas estatísticos à respectiva imagem EPI de um paradigma visual. (c) Superposição dos resultados referentes ao paradigma visual a um plano axial de uma imagem ponderada em T1.

Fonte: Elaborada pela autora.

As imagens EPIs tem uma resolução espacial baixa. Por outro lado, é interessante que os resultados sejam mostrados sobre imagens anatômicas de boa resolução, como as ponderadas em T1. Nesse caso, uma transformação de coordenadas é realizada, encontrando-se os pontos cerebrais ativos nos mapas estatísticos, e superpondo-os às imagens anatômicas. Um exemplo desse procedimento é observado na Figura 14c.

A Figura 15 apresenta, de uma maneira geral, as etapas de pré e pós-processamento das imagens de RMf descritas acima.

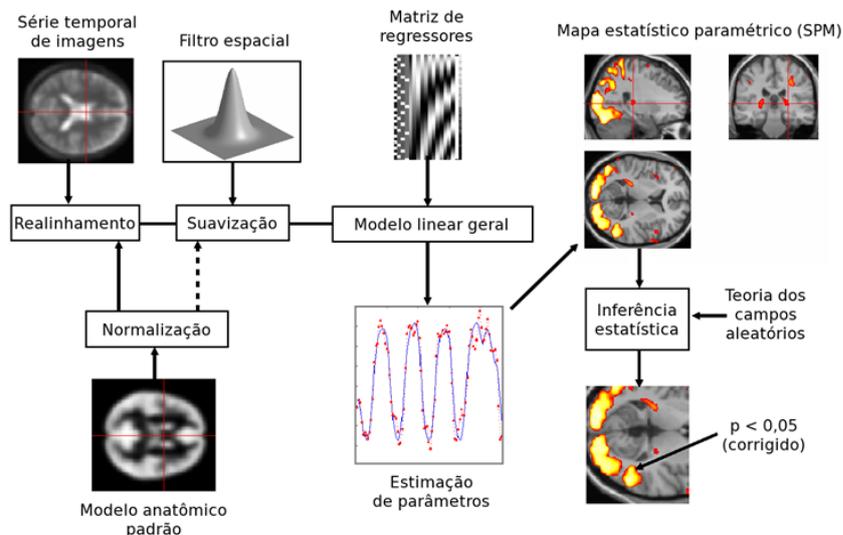


Figura 15: Diagrama das etapas de pré e pós-processamento das imagens de RMf. Figura adaptada.

Fonte: (FRISTON, 2003).

3.7 MAPAS DE PROBABILIDADE CITOARQUITETÔNICOS

A subdivisão citoarquitetônica do córtex cerebral, por números ou nomes, é chamada de mapa citoarquitetônico. Esta é baseada nas estruturas celulares variantes (tamanho e forma das células) e na organização em camadas (espessura das camadas e densidade celular em diferentes camadas) para definir as regiões funcionais do córtex (KANDEL et al., 2000).

Os mapas de probabilidade, são mapas que mostram a probabilidade de uma determinada característica. Este pode ser usado para mostrar com que frequência, em porcentagem, uma determinada estrutura anatômica é encontrada num local específico de uma população de indivíduos. Dessa forma, os mapas de probabilidade citoarquitetônicos são definidos a partir de uma grande amostra de cérebros, os quais foram nomeados utilizando critérios citoarquitetônicos, em vários grupos de pessoas. Estes mapas exibem a probabilidade estatística que um determinado voxel contenha uma determinada unidade citoarquitetônica, por exemplo, uma área cortical ou um núcleo subcortical.

Os mapas de probabilidades citoarquitetônica tem sido utilizados para a interpretação anatômica das imagens funcionais de RM. Isto permite a visualização da variabilidade citoarquitetônica entre os sujeitos e a definição quantitativa da presença e da extensão dos limites citoarquitetônicos e das áreas corticais em todos os voxels do cérebro de referência.

A Figura 16a mostra os mapas de probabilidade do córtex visual primário (V1) à esquerda e, à direita, a parte rostral (Área de Brodmann 45 (BA45)) da área da fala de Broca. x e y se referem à localização espacial das coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute*). A escala de cores indica a probabilidade de uma certa área estar presente em um determinado voxel. A Figura 16b mostra os mapas de probabilidade máximos, no qual foi atribuído a cada voxel uma dada região cortical com a mais alta probabilidade. As áreas corticais incluem as áreas 44 e 45 (área de Broca), as áreas motora primária (4) e pré-motora (6), o córtex somato-sensorial (áreas 3a, 3b, 1 e 2), a área parietal posterior inferior (PFt, PFop, PF, PFm, PGa, PGp), as áreas parietais operculares (OP 1-4), a área parietal superior (7mes), as áreas auditivas (TE 1-3) e as áreas visuais (V1, V2 e V5/MT).

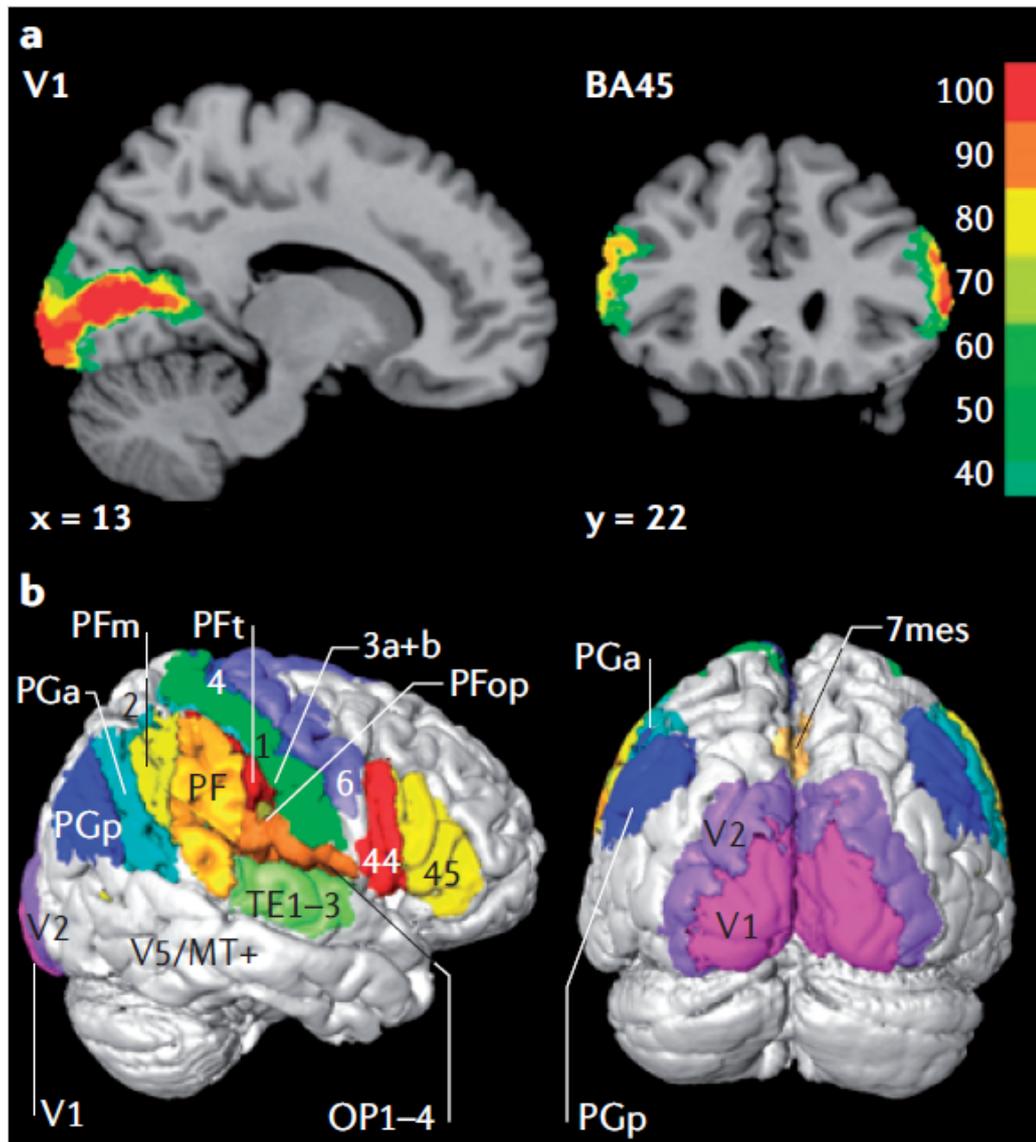


Figura 16: Mapas de probabilidades citoarquitêtonicas do córtex humano. V1-córtex visual primário; BA45 – área de Brodmann 45; áreas 44 e 45 – áreas de Broca 44 e 45; área 4 – área motora primária; área 6 – área pré-motora; áreas 3a+b, 1 e 2 – córtex somatosensorial; PFT, PFop, PF, PFM, PGa, PGp – área parietal posterior inferior; OP 1-4 – áreas parietais operculares; 7mes – área parietal superior; TE 1-3 – áreas auditivas; V1, V2 e V5/MT – áreas visuais.

Fonte: (TOGA et al., 2006).

Neste capítulo apresentou-se os principais conceitos de formação das imagens de ressonância magnética funcional, do pré e pós-processamento e do modo de visualização destas imagens. No capítulo seguinte são apresentados os métodos utilizados para a realização deste trabalho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentadas a descrição e a validação do estimulador galvânico vestibular, os primeiros testes para a validação do EGV foram iniciados na Clínica Diagnóstico Avançado por Imagem (DAPI) e na Clínica de Diagnóstico Água Verde (CEDAV), ambas na cidade de Curitiba e, posteriormente, foram colhidos os dados para o controle de qualidade das imagens de RM no Departamento de Radiologia dos Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), na cidade de São Paulo. O capítulo ainda apresenta os testes realizados para a determinação dos paradigmas empregados nos experimentos de RMf, o sistema de *Eye Tracking* utilizado em conjunto com a RMf e a forma de análise destes dados. Mostra-se, também, os parâmetros e processos utilizados para a aquisição e análise dos dados de RMf, os exames de RMf com voluntários assintomáticos foram coletados no HCFMUSP.

Foram encaminhados dois projetos de pesquisa aos comitês de ética em pesquisa. O primeiro foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, cidade de Curitiba e, o segundo, pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, cidade de São Paulo. Estes encontram-se nos anexos A e B, respectivamente.

4.1 DESCRIÇÃO DO ESTIMULADOR GALVÂNICO VESTIBULAR

A primeira etapa deste trabalho consistiu em estabelecer os parâmetros e definir as especificações técnicas para o projeto do estimulador galvânico vestibular (EGV). Ao longo do desenvolvimento deste projeto vários testes foram realizados até que fosse possível obter uma versão funcional passível de ser avaliada em um equipamento de RM. A descrição detalhada do sistema eletrônico não faz parte do escopo deste trabalho e está disponível em (OLIVEIRA; MANCZAK, 2009; MANCZAK et al., 2010; MANCZAK, 2012). A Figura 17 apresenta um diagrama em blocos dos principais componentes do EGV.

Conforme ilustra a Figura 17, o sistema de estimulação está dividido em três unidades

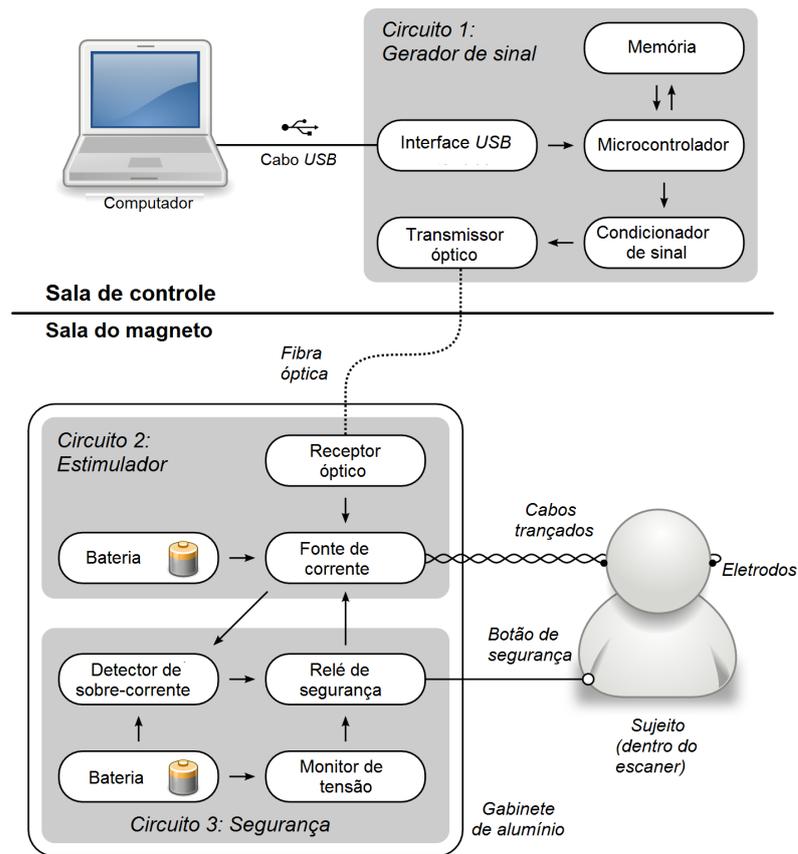


Figura 17: Diagrama em blocos do estimulador galvânico vestibular desenvolvido. Figura adaptada.

Fonte: (DELLA-JUSTINA et al., 2014).

funcionais. A primeira, *Circuito 1: Gerador de sinal*, é responsável por incluir os dados fornecidos pelo usuário e condicioná-los para a transmissão até a segunda unidade. Nessa etapa é possível ajustar a forma de onda (quadrada, senoidal ou triangular), a amplitude do sinal e a frequência do estímulo, esses são indicados em um programa desenvolvido especificamente para esse fim.

A segunda unidade, *Circuito 2: Estimulador*, é a fonte de corrente elétrica propriamente dita. Nela a corrente elétrica gerada é modulada de acordo com o sinal enviado pelo gerador de sinal. Os circuitos eletrônicos da fonte de corrente foram projetados com circuitos analógicos (os circuitos digitais podem gerar interferência na aquisição das imagens e o campo magnético do equipamento de RM pode interferir no funcionamento destes circuitos) e alimentação com um par de baterias de 12 V seladas e recarregáveis.

A terceira unidade, *Circuito 3: Segurança*, contida no gabinete de alumínio, tem a finalidade de proteção. A corrente elétrica do estímulo do EGV é continuamente monitorada e é automaticamente desligada se exceder 5 mA.

O voluntário também pode desligar a corrente por um interruptor (botão de segurança), o qual é montado em uma caixa plástica e coberto com uma tampa esférica de náilon. O botão é mantido pressionado pelo peso da mão do indivíduo. Dessa forma não há interferência com a tarefa a ser executada durante o experimento de RMf (os voluntários não precisam aplicar força ou prestar atenção nisso) e, se alguma dor for percebida, o reflexo de tirar a mão irá parar o circuito. Portanto, se a mão for removida, o botão é desativado e os fios torcidos são curto circuitados evitando que a corrente elétrica atinja o voluntário. Para eliminar os picos de RF induzidos pelo sistema de ressonância magnética na fiação que conecta o voluntário à fonte de corrente, filtros de RF foram instalados a cada 10 cm ao longo da fiação. A frequência de corte dos filtros é da ordem de 1 MHz, bem abaixo da frequência de precessão para sistemas de 1,5 T ($\cong 64$ Mz) e 3,0 T ($\cong 128$ Mz). O circuito de segurança é completamente separado do circuito principal, alimentado por baterias independentes, e possui um monitor para indicar o seu nível de carga. Finalmente, uma barra de *LEDs* permite ao pesquisador monitorar visualmente a amplitude de corrente que está sendo aplicada ao voluntário durante o experimento.

O programa desenvolvido utiliza uma comunicação *USB* para programar o comportamento do sinal gerado, este fornece uma interface intuitiva entre o usuário e o sistema EGV. Quatro funções são permitidas: o ajuste da corrente máxima que pode ser aplicada ao voluntário, valor esse que depende da sua sensibilidade; a seleção do tipo de sincronização entre o sistema de RM e o EGV; a informação do tempo real de duração de cada bloco de estimulação; e a especificação da forma de onda desejada pelo pesquisador (Figura 18).

A etapa de sincronização é fundamental para se obter resultados válidos em experimentos de RMf assim, isso pode ser feito por um *trigger* externo. Além disso, o tempo real de duração de cada bloco de estimulação foi incluído no aplicativo desenvolvido em ambiente Windows, dessa forma o pesquisador pode comparar o tempo esperado com o tempo obtido no sistema de RMf.

O programa possui dois grupos principais que permitem as especificações da forma de onda. O primeiro permite a abertura de um arquivo criado por outro programa, onde o usuário pode desenhar a forma de onda desejada ponto por ponto. O segundo permite que o usuário utilize um dos padrões de forma de onda previamente gravados no sistema de memória do estimulador. Selecionando a segunda escolha o usuário pode indicar as características de cada bloco de estimulação. Assim, cada bloco de estimulação pode ter uma das quatro formas de onda: seno, quadrada, triangular ou dente-de-serra.

Adicionalmente, quando o *trigger* externo não está selecionado, a configuração do tempo TON (período de estimulação) é permitida e o usuário poderá selecionar uma quinta

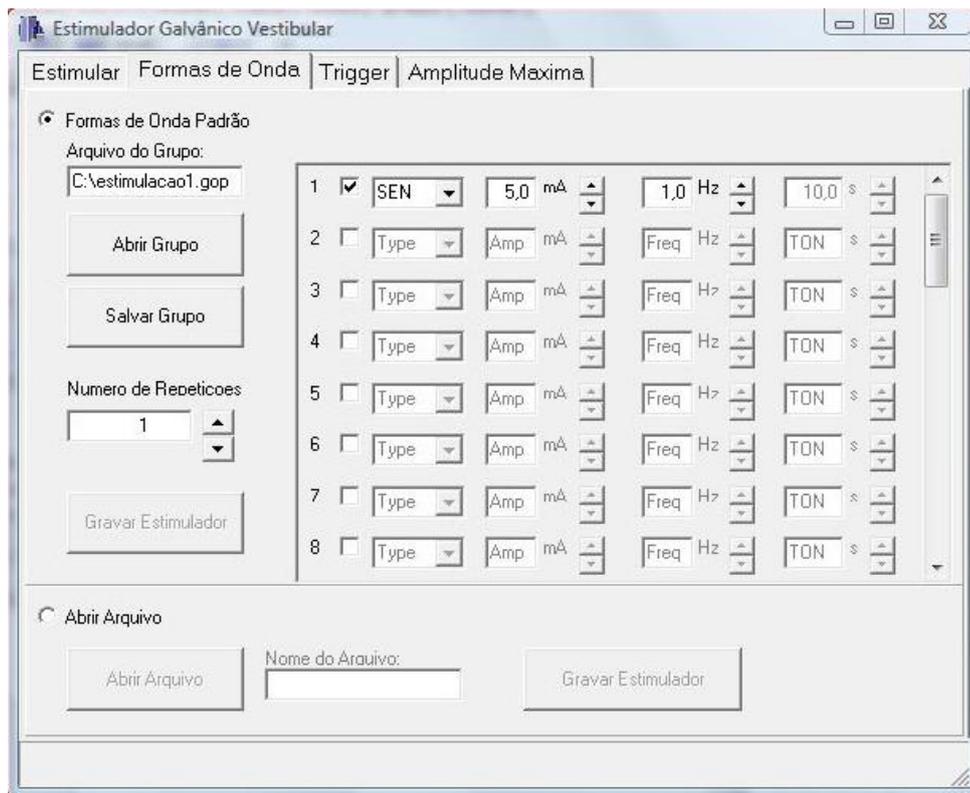


Figura 18: Ilustração do programa desenvolvido para o controle do Estimulador Galvânico Vestibular.

Fonte: (MANCZAK, 2012).

forma de onda, chamada “ZERO”. Então, o pesquisador poderá concatenar períodos de estimulação com períodos de repouso. A duração de cada período é configurada no campo TON, o qual varia entre 0,1 e 60 segundos.

Como o espectro de frequência suportado pelo sistema vestibular é composto principalmente por baixas frequências, o programa permite uma variação da frequência fundamental do sinal entre 0,1 e 10 Hz.

O programa ainda permite a seleção da amplitude máxima de corrente entre 0,1 e 5 mA (a máxima corrente permitida pelo circuito de segurança), geralmente é utilizada uma amplitude de aproximadamente 1 mA para a estimulação do sistema vestibular (FITZPATRICK; DAY, 2004). Quando o usuário altera o valor da corrente máxima, o valor da corrente em cada bloco de estimulação é automaticamente atualizado. Finalmente, o programa permite selecionar o número de repetições de um grupo de blocos previamente definido e salvar a sua configuração.

A Figura 19 mostra as fotos da primeira e da segunda versão do EGV. A primeira versão (Figura 19a) foi feita alojando os circuitos em um bastidor de plástico. Entretanto, não foi possível utilizá-la dentro da sala do magneto, pois quando a corrente de estimulação foi

ligada foi observado que o circuito de segurança acionou, impedindo que o estímulo atingisse o voluntário. Dessa forma, foi realizada uma blindagem do estimulador para a segunda versão (Figura 19b). Os circuitos foram acondicionadas dentro de uma caixa de alumínio anodizada, com 1,2 mm de espessura. Esta promoveu o isolamento magnético dos sinais provenientes da máquina de RM. Todos os circuitos deste módulo são exclusivamente analógicos, os quais evitam variações abruptas de tensão que poderiam interferir com o equipamento de RM.



Figura 19: Primeira (a) e segunda (b) versão do estimulador galvânico vestibular. (a) A primeira versão do EGV (junho de 2008) foi construída em um bastidor de plástico. (b) A segunda versão (abril de 2009) foi construída em uma caixa de alumínio com espessura de 1,2 mm, a qual promoveu o isolamento magnético dos sinais provenientes do escâner de RM.

Fonte: Elaborada pela autora.

As fotos da terceira versão do EGV estão apresentadas na Figura 20, esta foi a versão utilizada nos experimentos de RMf. A diferença entre as versão dois e três do EGV é a espessura da caixa externa de alumínio onde, na terceira versão, a caixa de alumínio possibilita uma maior vedação dos circuitos internos do equipamento. Isto foi implementado para que as emissões de RF gerados pelos circuitos não interferissem na qualidade das imagens geradas pelo equipamento de RM. Os painéis frontal e traseiro estão apresentados nas Figuras 20a e 20b, respectivamente. A unidade *Gerador de sinal* está ilustrada na Figura 20c. O botão de segurança, o qual é colocado sob o abdômen do voluntário, e o cabo utilizado para conectar o EGV ao voluntário são apresentados na Figura 20d.

4.1.1 EXPERIMENTOS DE RM EM CONJUNTO COM O EGV

Os testes referentes a validação do EGV como um estimulador neurovestibular foram iniciados na Clínica DAPI (utilizando a primeira versão do EGV) e, posteriormente, os experimentos foram realizados no CEDAV (utilizando a segunda versão do EGV), ambos localizados na cidade de Curitiba, em um sistema da GE de 1,5 T. Todas as imagens foram adquiridas com

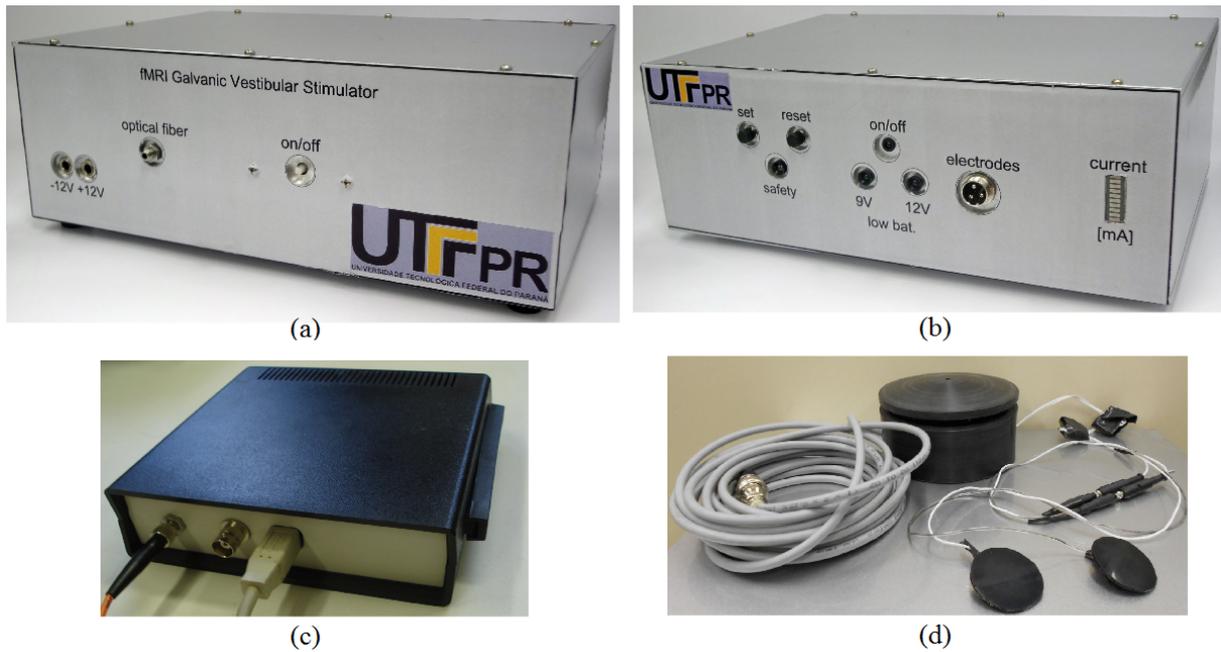


Figura 20: Terceira versão do EGV. (a) O painel frontal indica a entrada para o carregamento das baterias (-12 V e +12 V), a conexão da fibra óptica e o interruptor *on/off*. (b) O painel traseiro indica o estado do circuito de segurança (*set* - aciona o circuito; *reset* - reinicia o circuito; *safety* - se a luz estiver acessa o circuito está ativado), o estado das baterias (*on/off* - se a luz acender a bateria está descarregada, 9 V e 12 V - indica qual bateria deve ser carregada), a conexão dos eletrodos e a amplitude de corrente (de 5 mA a -5 mA, em incrementos de 1 mA) que está sendo aplicada ao voluntário. (c) Unidade *Gerador de sinal*, a ligação com o computador é feita pela porta *USB*. (d) O cabo utilizado para ligar o estimulador ao voluntário, o botão de segurança que é colocado na mão direita do voluntário e os eletrodos circulares de silicone. Figura modificada.

Fonte: (DELLA-JUSTINA et al., 2014).

uma bobina de cabeça. As imagens EPI foram utilizadas para adquirir 200 volumes, sendo constituídos por 21 fatias (espessura da fatia = 4 mm; TR/TE = 2500 ms/50 ms; FA = 90°; matriz 64×64, FOV = 192 mm). Para a aquisição das imagens de alta resolução anatômica foi utilizada uma sequência 3D GRE, a qual gerou 176 volumes e uma matriz de 256×256, com 1 mm³.

Primeiramente avaliamos o sincronismo entre o EGV e o sistema de RMf. Para isso um *phantom*, para simular a cabeça do voluntário, foi posicionado dentro do equipamento de RM; o EGV foi colocado na sala do magneto; os tempos de estimulação (TON = 20 s) e os tempos de repouso (TOFF = 30 s) foram configurados; foi iniciada a sequência para o exame de RMf; esperou-se a sequência EPI carregar e foram disparados, manualmente e simultaneamente, o dispositivo eletrônico e o início de aquisição das imagens.

Um segundo teste foi realizado para selecionar o tipo dos eletrodos que não causariam artefato na imagem. Além disso, buscou-se avaliar qualquer sensação de dor ou aquecimento,

relatada pelo próprio voluntário, no local de aderência dos eletrodos. Em ambos os experimentos, um par de eletrodos adesivos e um par de eletrodos de silicone foram utilizados. Por uma questão de segurança, o primeiro experimento foi realizado no pé, e não foi utilizada corrente de estimulação, apenas aderimos os eletrodos à pele e conectamos os fios que conduziriam o sinal. Em seguida, verificamos, também, se havia algum tipo de ruído induzido devido a interferência do EGV com o equipamento de RM pela inspeção visual das imagens.

Foram avaliados experimentalmente dois tipos de eletrodos para verificar quais causariam artefato nas imagens de RM. Primeiramente, utilizou-se um par de eletrodos adesivos comercial (25 cm^2 , marca Valutrode) (Figura 21a) e, em seguida, um par de eletrodos, manufaturado no Laboratório de Imagem e Instrumentação Eletrônica, com borracha condutiva de silicone (HTM Eletrônica Ltda) (Figura 21b).



Figura 21: Eletrodos utilizados para verificar a possibilidade de serem utilizados nos exames de RM. (a) Eletrodo adesivo comercial (25 cm^2), marca Valutrode. (b) Eletrodo circular de silicone fabricado manualmente ($\cong 9\text{ cm}^2$).

Fonte: (DELLA-JUSTINA et al., 2014).

4.2 COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM

Com a introdução de um estimulador elétrico no ambiente do equipamento de ressonância magnética pode haver uma mudança no sinal proveniente do escaner de ressonância. Essa alteração deve ser a mínima possível ou, ainda, deve se manter constante ao longo dos experimentos. Dessa forma, é necessário um controle da qualidade das imagens para os experimentos de RMf antes do início da coleta de dados. Assim, foram avaliadas a relação sinal ruído (SNR – *Signal-to-Noise-Ratio*) e a relação sinal ruído de flutuação (SFNR – *Signal-to-Fluctuation-Noise-Ratio*) das imagens de ressonância magnética (VELASCO, 2009). A dife-

rença entre estes dois parâmetros está no sinal utilizado como ruído. Para a SNR é utilizada a média temporal do desvio padrão espacial do plano de fundo da imagem e, para a SFRN, é utilizada a média espacial do desvio padrão temporal.

Com o intuito de averiguar se o aparelho desenvolvido não causaria interferência na qualidade das imagens foram realizadas aquisições das imagens de RM em conjunto com o EGV (utilizando a terceira versão do EGV). Os experimentos foram realizados no Departamento de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo, em um equipamento Philips, modelo Intera Achieva, de 3,0 T. Todas as imagens foram adquiridas com um *phantom* da GE (MSDS #8365823, modelo 2152220, diâmetro de 18 cm) próprio para aquisição das imagens de controle de qualidade, este foi posicionado dentro da bobina de cabeça. Dois eletrodos de silicone (Figura 20b) foram fixados na superfície do *phantom*, em direções diametralmente opostas, como seria em um experimento real (Figura 22a). Uma vez que a parede do *phantom* não é feita de material condutivo os eletrodos foram conectados entre si por um fio de carbono, com 1 mm de diâmetro e impedância de 340Ω , na superfície do *phantom*.

As imagens foram adquiridas em quatro condições diferentes: (a) Controle – estimulador fora da sala de ressonância; (b) EGV desligado – estimulador posicionado dentro da sala de ressonância, porém desligado; (c) EGV ligado sem corrente – estimulador ligado, entretanto não houve passagem de corrente entre os eletrodos, a chave de segurança não foi pressionada; (d) EGV ligado com corrente – manteve-se o estimulador ligado e houve passagem de corrente entre os eletrodos, a chave de segurança foi mantida pressionada. Uma corrente senoidal de 1 Hz e 5 mA foi aplicada nos testes experimentais. O EGV foi posicionado no final do macaço do equipamento de ressonância (correspondendo a região dos pés do voluntário). Em cada teste dois tipos de imagens foram adquiridas: funcionais (sequência axial EPI, TR/TE = 2000/30 ms, FA = 90° , FOV de 288×288 mm, matriz de 80×80 voxels, tamanho do voxel de 3 mm isotrópico, 41 fatias, intervalo entre as fatias de 0,5 mm, 200 volumes, fator de aceleração = 2,0.) e anatômica (axial 3D Fast Field Echo, TR/TE = 7000/3,2 ms, TI = 900 ms, FA = 8° , FOV = $240 \times 240 \times 180$, matriz de 240×240 , tamanho do voxel de 1 mm isotrópico, sem intervalo entre as fatias, 180 volumes). Foi utilizado um paradigma em bloco, com tempos de estímulo e repouso de 20 s e 30 s, respectivamente. Durante os testes de compatibilidade do EGV com o equipamento de RM, a chave de segurança e os fios de conexão foram mantidos aproximadamente na mesma posição em que seria colocados durante os experimentos de RMf (Figura 22b).

Foram realizadas cinco sessões no total, com intervalo de um mês entre elas. Isto foi realizado para verificar a repetibilidade dos resultados, dessa forma a montagem e execução das

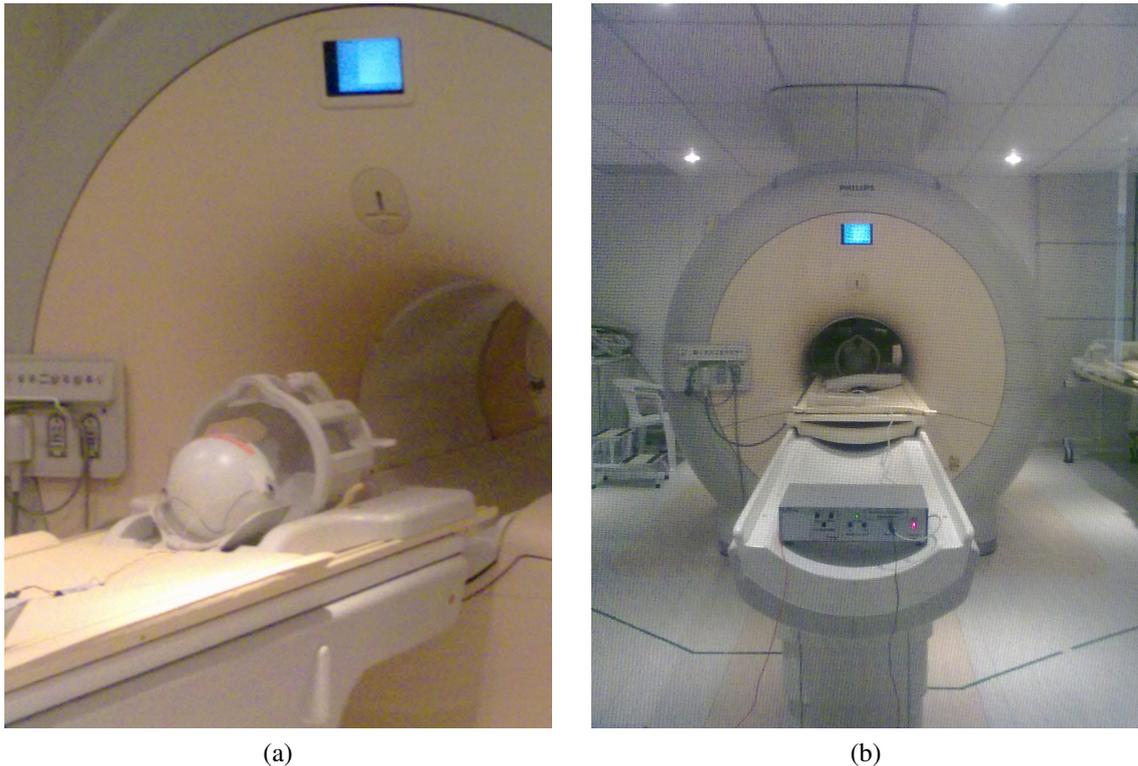


Figura 22: Arranjo experimental para verificar a compatibilidade do EGV com o equipamento de RM. (a) Posicionamento dos eletrodos no *phantom*. (b) Disposição do estimulador galvânico vestibular dentro da sala de RM.

Fonte: Elaborada pela autora.

quatro condições manteve-se igual ao longo de todos os experimentos. Somente em um dos testes as quatro condições foram repetidas por três vezes seguidas.

Inicialmente, as imagens de RM geradas foram inspecionadas visualmente e, em seguida, foram realizadas as medidas quantitativas da qualidade das imagens. Essas foram analisadas no programa EPI Stability Analysis Versão 1.4, todos os parâmetros calculados seguiram os descritos por Friedman and Glover (FRIEDMAN; GLOVER, 2006). As medidas foram obtidas pela delimitação de uma Região de Interesse (*Region of Interest – ROI*) com raio de 21 mm na região central da imagem da fatia central.

4.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

4.3.1 VOLUNTÁRIOS

Os critérios de inclusão foram:

- Voluntários saudáveis.

- Idade entre 20 e 29 anos.
- Nível de educação formal: superior incompleto.

Os critérios de exclusão foram:

- Foi realizada entrevista com os participantes para levantamento de histórico médico. Os participantes com comorbidades psiquiátricas, neurológicas, evasão escolar, histórico de consumo de drogas e medicamentos que pudessem afetar a motricidade ou problemas de visão foram excluídos.
- Foi utilizado questionário SRQ20 para exclusão de históricos psiquiátricos maiores e entrevista estruturada para principais afecções neurológicas.
- Voluntários que possuam histórico de distúrbio coclear.
- Voluntários que possuam histórico de distúrbio vestibular.
- Voluntários com presença de alterações sistêmicas que possam contribuir para patologias vestibulares, como diabetes, hipertensão arterial etc.
- Voluntários com presença de qualquer outro critério que possa acometer o sistema vestibular.

Os voluntários foram selecionados em conjunto com uma psicóloga. Inicialmente foi realizada uma entrevista para a pré-seleção dos participantes, em seguida foi realizada a avaliação neuropsicológica a fim de selecionar os participantes que atendessem os critérios de inclusão e exclusão. A avaliação ocorreu em uma sessão de trinta minutos. Após a averiguação dos critérios, os participantes selecionados foram então orientados com mais detalhes a respeito deste estudo e a data do treino e do experimento foi agendada.

No dia do experimento, o participante foi acompanhado desde a recepção até a sala de exame por um membro da equipe especialmente treinado para criar e manter a relação de vínculo interpessoal breve durante o procedimento. Esta necessidade se fez para que o nível de estresse da equipe e principalmente dos participantes se mantivessem estáveis ao longo do experimento. Cada etapa foi explicada pela mesma pessoa que acompanhou o participante durante o tempo de permanência no setor.

Dessa forma, foram selecionados 24 adultos sadios com idade média de $26,84 \pm 3,74$ (13 homens, 11 mulheres), sendo todos destros. Todos os participantes selecionados não apresentaram histórico de distúrbio psiquiátrico, neurológico, vestibular, coclear, evasão escolar,

histórico de consumo de drogas e medicamentos que pudessem afetar a motricidade ou problemas de visão. O presente projeto foi devidamente aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPEsq - HCFMUSP) (Anexo B) e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo C).

4.3.2 DETERMINAÇÃO DO PARADIGMA

Como o objetivo era realizar as estimulações visual e vestibular simultaneamente durante os exames de RMf estabeleceu-se uma tarefa visual. A tarefa visual consistiu na apresentação de uma tela preta no período de repouso e, em seguida, na apresentação de um quadrado xadrez ($7,30^\circ \times 7,30^\circ$; um quadrado 3×3) piscante (com período de 62 ms) com uma cruz vermelha ($0,37^\circ \times 0,37^\circ$) no centro da tela. Este estímulo é convencionalmente utilizado como uma tarefa estática visual (FOX; RAICHLE, 1985; SINGH et al., 2003). Durante a tarefa o voluntário deveria manter a fixação ocular no centro da tela. O estímulo visual foi desenvolvido em um programa específico para geração de estímulos empregados em exames de RMf (E-Prime 1.1, *Psychology Software Tools, Inc.*, EUA).

Em seguida, foram realizados alguns testes com o EGV com a finalidade de determinar o paradigma que seria empregado durante todos os experimentos com voluntários. Primeiramente realizou-se o teste com as diferentes condições: uma tarefa puramente visual (VIS), uma tarefa puramente vestibular (VES), a apresentação simultânea da tarefa visual juntamente com a vestibular (DUPLA) e uma tarefa de repouso (REP). Durante a condição VIS o sujeito realizou a tarefa visual descrita acima. Na condição VES foi aplicada uma corrente (o limiar de corrente foi selecionado individualmente, conforme a adaptação de cada voluntário), sinal senoidal com frequência de um 1,0 Hz (valores geralmente utilizados na estimulação elétrica do sistema vestibular (FITZPATRICK; DAY, 2004)). Na condição DUPLA os estímulos visual e vestibular foram apresentados simultaneamente para o voluntário. Na condição REP o sujeito se manteve em repouso e foi instruído a fixar o olhar no centro de uma tela preta. A Figura 23 representa as primeiras sequências dos cinco protocolos empregados, cada condição de tarefa foi repetida quatro vezes, sempre iniciando e terminando com a condição de repouso.

Como não foi observado uma mudança significativa nos resultados entre os cinco protocolos optou-se por utilizar as sequências Contínua (com apresentação aleatória das três diferentes condições de estímulo), Puramente Visual, Puramente Vestibular e Visual Vestibular nos exames de RMf em voluntários.

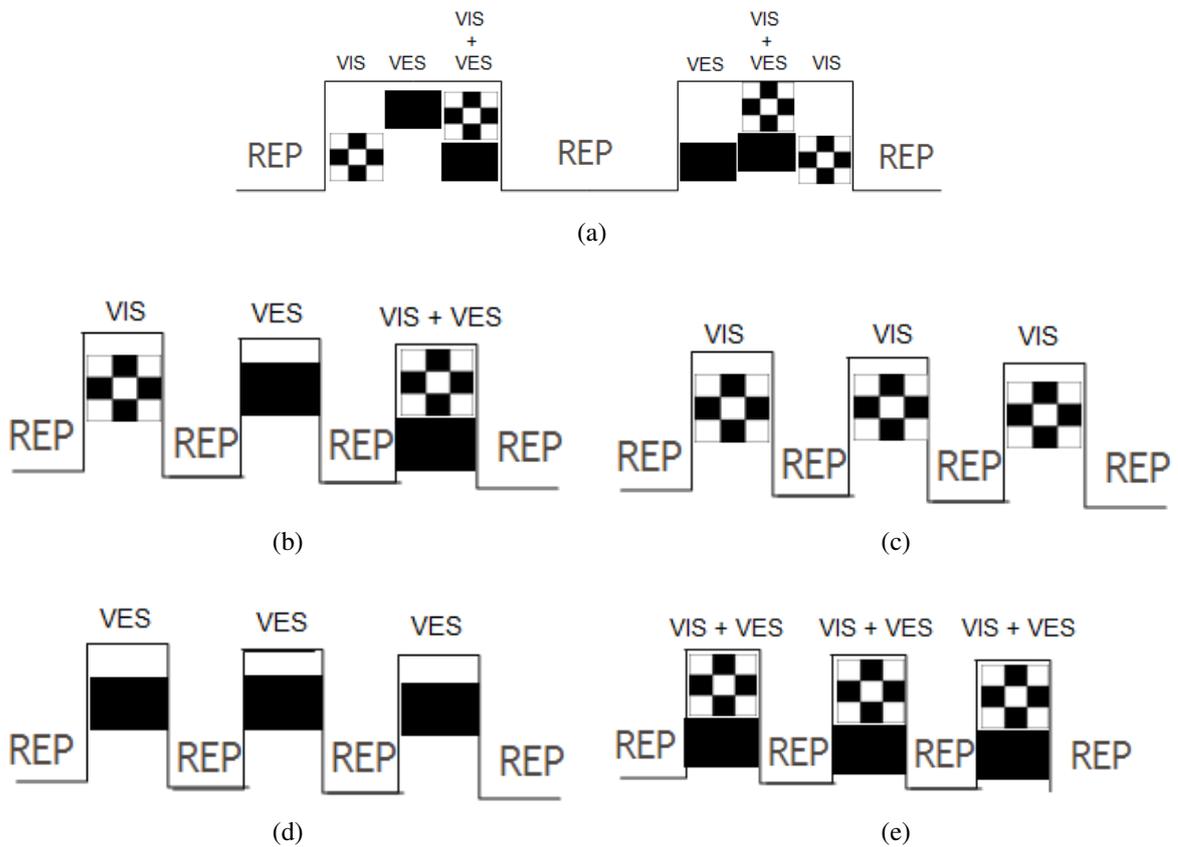


Figura 23: Protocolos empregados para a determinação do paradigma. (a) Contínuo. (b) Inter-calado. (c) Puramente visual. (d) Puramente vestibular. (e) Visual e vestibular simultaneamente. REP – repouso, VIS – visual, VES – vestibular, VIS + VES – visual e vestibular juntos.

Fonte: Elaborada pela autora.

4.3.3 SISTEMA DE *EYE TRACKING*

A coleta dos dados do movimento ocular foi realizada com um sistema de *Eye tracking* (HCET01, *Mag Design & Engineering*), o qual foi adaptado para o uso em RMf. A microcâmera foi posicionada na bobina de crânio a uma distância de 3 a 5 cm de um dos olhos do voluntário (Figura 24a). A iluminação com *LEDs* permite a aquisição de imagens da pupila dilatada (*dark pupil*) (Figura 24b). Um cabo blindado leva o sinal da câmera até um computador, localizado fora da sala de RM, onde as imagens são processadas. Foi utilizada uma resolução de 320×240 pixels, uma frequência de 60 Hz e uma resolução espacial do registro ocular de 1 grau para a coleta dos dados do movimento ocular.

A coleta dos dados foi realizada em um computador, localizado ao lado da sala da RM. Um segundo computador, localizado na sala de controle, projetou a imagem através da janela blindada para uma tela de acrílico localizada dentro da sala de RM, o programa E-Prime 1.1 foi utilizado para a apresentação dos procedimentos. Uma conexão *Ethernet*, com IP exclu-

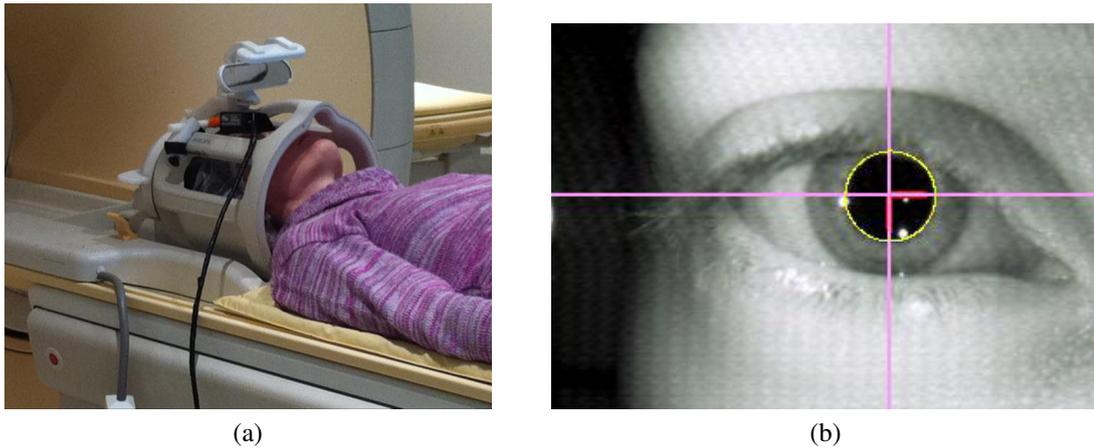


Figura 24: Sistema de *Eye tracking* utilizado para a coleta dos dados do movimento ocular. (a) Posicionamento do sistema de *Eye tracking* na bobina de crânio do equipamento de RM. (b) Imagem da pupila gerada pelo sistema de *Eye tracking*.

Fonte: (LUKASOVA, 2012).

sivo, entre os computadores foi utilizada para possibilitar a sincronia entre a apresentação dos estímulos e a aquisição dos dados do movimento ocular.

Foi realizada a calibração com 16 pontos além da especificação dos parâmetros luminosos da pupila antes de cada coleta. A Figura 25 mostra a interface do software ViewPoint (versão 5, Arrington Research, EUA), utilizado para o processamento das imagens da pupila. O software ViewPoint detecta o contorno da pupila e posiciona um círculo em sua volta. A fim de diminuir a quantidade dos dados processados pelo software, uma área de interesse foi delimitada traçando um quadrado em volta da pupila. Durante toda a coleta, foi monitorada a posição da pupila e, caso fosse necessário, a função *slip correction* (reposicionamento da grade de calibração) era executada durante as tarefas de fixação. Além dessa propriedade, o ajuste do círculo pupilar e a execução da tarefa pelo voluntário também foram monitorados. Estes dados foram armazenados em um arquivo em formato ASCII.

4.3.3.1 ANÁLISE DOS MOVIMENTOS OCULARES

Os dados foram pré-processados por rotinas escritas nas linguagens de programação Python e R (a programação foi realizada por um estatístico colaborador do projeto). A primeira fase do pré-processamento consistiu em identificar as piscadas existentes em todos os registros. A piscada do olho é um movimento rápido, com duração menor que 80 ms, durante o qual ocorre a oclusão da pupila pela pálpebra do olho que resulta na perda da referência do formato pupilar. Durante a piscada do olho, o software ViewPoint registra um aumento progressivo nos valores posicionais nos eixos X e Y seguido pela perda de registro. Esse padrão pode ser

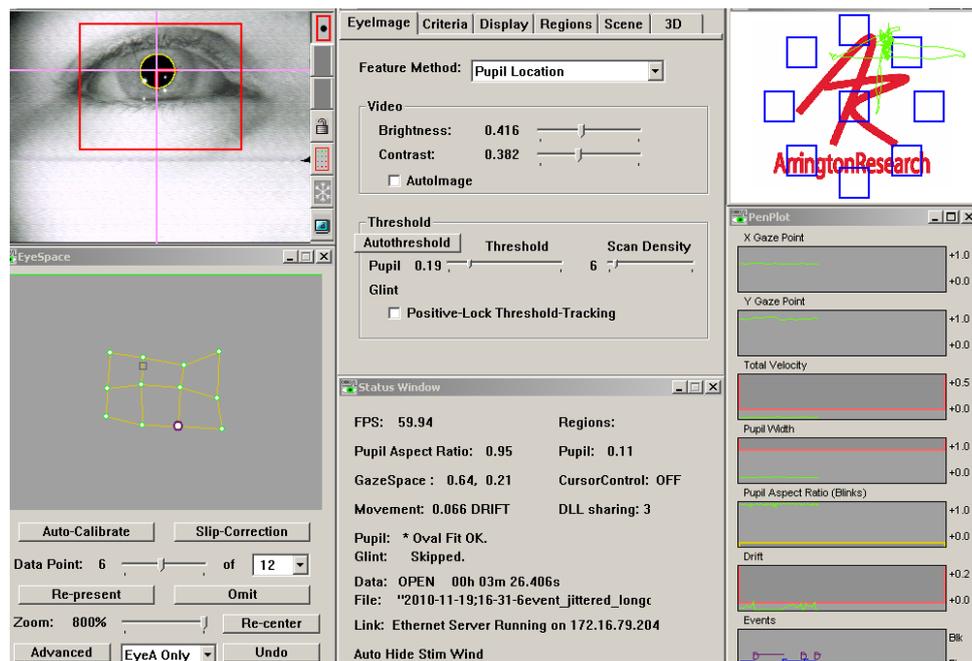


Figura 25: Interface do software ViewPoint. É possível monitorar o movimento ocular durante toda a coleta, além de controlar os parâmetros luminosos e a imagem da pupila pelas janelas do programa.

Fonte: (LUKASOVA, 2012).

facilmente identificado uma vez que o ViewPoint define o espaço visual (onde os estímulos são projetados), como um quadrado nos eixos X e Y com valor mínimo igual a 0 e o máximo igual a 1. Assim, qualquer registro acima de 1 sinaliza a saída da pupila do espaço visual e, portanto, é classificado com 'Não Existente'. Na segunda fase de pré-processamento, utilizou-se a técnica conhecida como *Tukey's smoother* para suavizar pequenas irregularidades do registro mantendo o formato geral da curva. O movimento ocular no eixo X, em cada instante de tempo n , ocorre quando a diferença entre a posição ocular no instante n e a posição no instante $n-1$ é maior que o limiar fixado de 0,03, este limiar representa o deslocamento de 1° no campo visual do participante, para mais detalhes consultar (LUKASOVA, 2012).

4.3.4 AQUISIÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Os participantes realizaram as mesmas tarefas no mesmo dia do exame de RMf fora do scanner para que estes ficassem familiarizados com as sequências de estímulo.

Durante o posicionamento dos voluntários no equipamento de RMf a cabeça dos participantes foi imobilizada com o auxílio de suportes fixos acolchoados e fitas adesivas na fronte e no queixo para manter a posição relativa e o controle do próprio participante, sem aumen-

tar a restrição e o desconforto. Dessa maneira minimizou-se o deslocamento do voluntário, frequentemente presente em estudos com tarefas motoras (WENGER et al., 2004).

Após a imobilização dos participantes, foi realizada a calibração do equipamento de *Eye tracking* para a resolução máxima de 12 pontos. As seguintes sequências foram executadas pelos voluntários: Puramente Visual, Puramente Vestibular, Visual Vestibular e Contínua. Durante a execução das tarefas, a luminosidade da sala foi mantida estável com quatro luminárias de teto de 32 W cada. Os movimentos oculares dos voluntários foram gravados durante a aquisição dos dados de RMf e analisados posteriormente.

Em todos os experimentos de RMf, o estimulador estava conectado aos eletrodos através de fios de cobre de aproximadamente sete metros. Durante a condição VES foi aplicada uma corrente elétrica de frequência 1 Hz e forma de onda senoidal. A amplitude da corrente foi ajustada manualmente, de acordo com a adaptação de cada voluntário (média $1,50 \pm 0,75$ mA). Para a determinação da amplitude de corrente individual, a corrente galvânica senoidal foi lentamente aumentada de 0 mA até que o voluntário tivesse uma percepção clara do movimento do corpo e, então, continuou-se aumentando a amplitude de corrente até que uma sensação desconfortável ou dolorida fosse percebida pelo sujeito. Neste ponto, a intensidade do estímulo foi diminuída até o nível em que o voluntário fosse capaz de perceber o balanço sem o desconforto da dor.

Os dados de RMf foram coletados considerando-se um paradigma com desenho de apresentação em bloco, o procedimento de desenho em bloco possibilita maior poder estatístico (LIU et al., 2001). Cada condição da tarefa foi apresentada ao voluntário por um período de 21 segundos. As sequências não foram empregadas na mesma ordem para todos os voluntários, isto foi realizado para que não houvesse influência na análise final dos resultados.

A avaliação por RMf dos participantes foi realizada utilizando os parâmetros já testados na instituição, os quais foram caracterizados pela sequência T2 eco planar EPI-BOLD para o cérebro inteiro. As aquisições sensíveis ao efeito BOLD foram assim realizadas: EPI GRE T2 - BOLD: TR = 3000 ms, TE = 30 ms, FA = 90°, 41 fatias com espessura de 3 mm (aquisições isotrópicas), 0,5 mm de intervalo entre as fatias, FOV = 200 mm e matriz 80×80, desprezando os primeiros 5 TRs, referentes ao decaimento do sinal. Foram adquiridos 63 volumes para as sequências Puramente Visual, Puramente Vestibular e Visual Vestibular e 119 volumes para a sequência Contínua, totalizando um período de 40 minutos de exame. Para a superposição sobre imagens de alta resolução, foram utilizados 156 cortes sagitais, cobrindo ambos os hemisférios cerebrais, em sequências do tipo gradiente eco, 3D T1 Fast Field Echo (TR/TE = 7000/3,2 ms, TI = 900 ms, FA = 8°, FOV = 240×240×180, matriz de 240×240,

espessura de 1 mm (aquisição isotrópica), sem intervalo entre as fatias).

As imagens adquiridas foram pré-processadas para correção de artefatos de movimento e aplicação de filtros espaciais e temporais. Em seguida foram aplicados algoritmos baseados no Método Linear Geral, para a análise das séries temporais. As análises foram inicialmente realizadas com o programa FSL (*FMRIB Software Library*, disponibilizado pela University of Oxford, Oxford, UK)¹ e, posteriormente, com o programa SPM8 (*Statistical Parametric Mapping*, disponibilizado pela University College of London, London, UK)². O conjunto de exames dos voluntários foi transformado em um mapa normalizado. Uma das formas mais utilizadas é o Atlas MNI do Instituto Neurológico de Montreal (*Montreal Neurological Institute*), que pressupõe a existência de um padrão espacial único, com a finalidade de mapear o cérebro de todo indivíduo dentro de uma estrutura cerebral normalizada. Em seguida utilizou-se a ferramenta *SPM Anatomy toolbox*³ versão 1.8, implementada no programa SPM8, para determinação da nomenclatura das regiões anatômicas pelos mapas de probabilidade citoarquitetônicos (EICKHOFF et al., 2005, 2006a, 2007).

Após a definição das principais áreas de RBP e RBN foi calculada a mudança percentual do sinal (MPS) no voxel mais ativo das principais áreas, os detalhes da análise estão descritos em (EICKHOFF et al., 2005). Como pretendia-se observar qual era a MPS entre as três condições, foi calculada a variação da MPS entre as condições DUPLA, VIS e VES, usando a seguinte equação:

$$MPS_{\text{Variação}} = MPS_{\text{DUPLA}} - MPS_{\text{VIS}} - MPS_{\text{VES}} \quad (10)$$

Este capítulo descreveu os métodos empregados para a realização deste trabalho. No próximo capítulo são apresentados os principais resultados obtidos nesta pesquisa.

¹<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>

²<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>

³<http://www2.fz-juelich.de/inm/index.php?index=194>

5 RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes aos experimentos *in vivo* para a validação do estimulador galvânico vestibular, aos dados do registro ocular e as respostas BOLD positiva e negativa identificadas durante os exames de RMf.

5.1 EXPERIMENTOS DE RM EM CONJUNTO COM O EGV

Nos experimentos iniciais para avaliação dos eletrodos, realizados no DAPI, as imagens geradas com os eletrodos adesivos (Figura 21a), fixado sob cada processo mastóide, apresentaram artefato de susceptibilidade magnética (Figura 26a). Enquanto que a imagens adquirida com os eletrodos de silicone (Figura 21b) não apresentaram artefato nas imagens de RM (Figura 26b). Foi observado apenas um pouco de vermelhidão na região onde foram fixados os eletrodos, provavelmente devido ao aquecimento dos eletrodos durante a aplicação do estímulo elétrico. O voluntário descreveu que sentiu a sensação de balanço característica da estimulação vestibular. Entretanto foi relatado que havia uma vibração, movimentação mecânica, dos eletrodos.

Nos experimentos para a validação do EGV, realizados no CEDAV, o sincronismo entre a estimulação galvânica vestibular e os pulsos do equipamento de RM foi realizado ajustando os parâmetros do EGV e disparando manualmente a sequência funcional simultaneamente com o início da estimulação.

5.2 COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM

Das cinco sessões realizadas foram utilizados os dados de três sessões para análise final. Isto ocorreu devido uma atualização do software que foi utilizado para realizar o processamento das imagens. A Tabela 1 apresenta os resultados dos experimentos de compatibilidade entre o EGV e o equipamento de RM. Os resultados demonstram que a introdução do EGV na sala do mangeto causa uma queda na relação sinal ruído de 5 %, quando este esta desligado, e



Figura 26: Imagens geradas com a fixação de eletrodos adesivos (a) e de silicone (b) sob cada processo mastóide. (a) O círculo em vermelho demonstra o artefato de susceptibilidade magnética ocasionado pela presença dos eletrodos adesivos (Figura 21a). (b) Não foi observado nenhum tipo de artefato nas imagens de ressonância magnética quando utilizados os eletrodos de silicone (Figura 21b).

de 9,2 % quando está ligado, porém sem corrente. Por outro lado, quando há corrente passando pelos eletrodos há uma queda menor nos valores para SNR e SFRN, quando comparados com a condição sem estimulador, de 8,3 % e 2,9 %, respectivamente. Desta forma, é possível perceber uma interferência do EGV no funcionamento do escaner de MR. Entretanto, supõe-se que tal interferência se deve a presença dos eletrodos fixados no *phantom* (Figura 27), que apesar de não ser contituído de um material ferromagnético é um material condutor elétrico e, dessa forma, pode causar distorções nos sinais gerados pelas imagens de RM. Além disso, a própria caixa de alumínio do EGV também pode causar distorção do campo magnético do escaner de MR. Em média, há uma diminuição na relação sinal ruído (9,10 %) e não há uma grande variabilidade na relação da flutuação sinal ruído (3,63 %) quando comparado a condição controle. Além disso, a segunda sessão de testes apresentou valores mais próximos aos da condição de controle indicando, assim, que não houve um declínio na eficiência do EGV apesar de movimentos regulares e de processos de conexão-reconexão dos cabos durante os testes realizados fora do sistema de RM.

5.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Dos 24 voluntários que participaram deste estudo, 21 foram incluídos nas análises. Isto foi devido a presença de artefatos de movimentação da cabeça em três voluntários. Os dados

Tabela 1: Valores da relação sinal ruído para as imagens de RM durante os testes de compatibilidade entre o EGV e o sistema de RM. Estão apresentados os valores de três sessões nas quatro condições de teste.

Sessão	Condição	SNR	SFNR	<i>Drift</i> (%)
1	Controle	249,80	231,10	-0,61
	EGV desligado	252,30	220,85	-0,16
	EGV ligado sem corrente	249,17	219,70	-0,29
	EGV ligado com corrente	227,07	222,70	-0,18
2	Controle	240,90	228,40	-0,94
	EGV desligado	233,50	224,90	0,41
	EGV ligado sem corrente	227,20	219,30	0,37
	EGV ligado com corrente	236,90	222,60	0,04
3	Controle	260,30	224,70	-0,95
	EGV desligado	214,10	226,70	-0,59
	EGV ligado sem corrente	178,40	209,10	-0,72
	EGV ligado com corrente	215,30	212,10	-0,62

SNR – Relação sinal ruído; SFNR – Relação da flutuação sinal ruído; *Drift* – Flutuação do sinal.

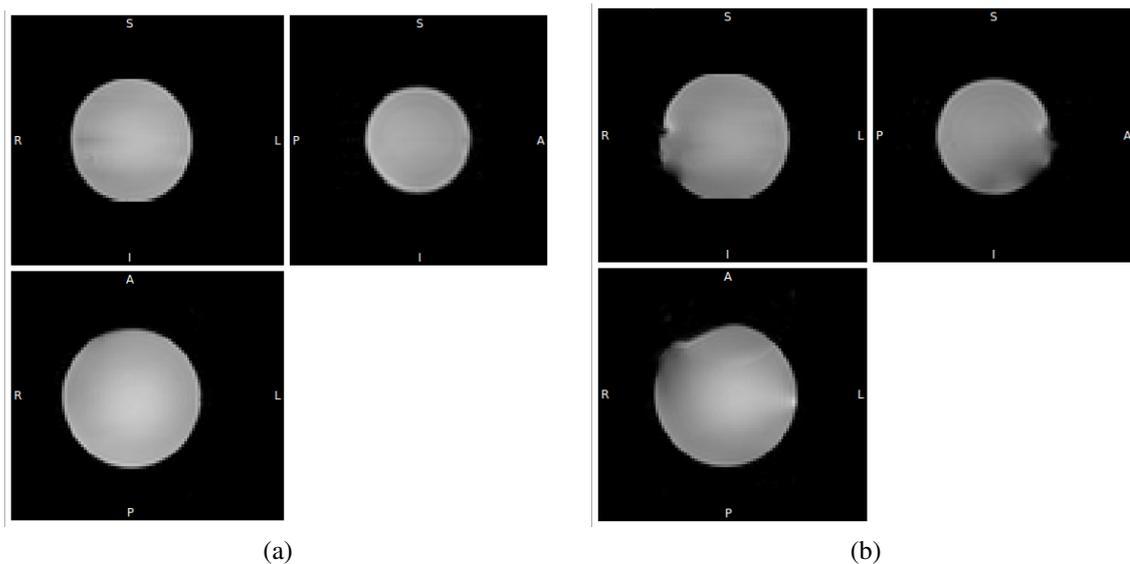


Figura 27: Alteração na imagem de RM devido a aderência dos eletrodos no *phantom*. (a) Imagem gerada sem a presença dos eletrodos. (b) Imagem gerada com a presença dos eletrodos.

referentes as condições Puramente Visual, Puramente Vestibular e Visual Vestibular não foram apresentadas pois não demonstraram uma variação significativa em relação aos resultados da Condição Contínua. Entretanto, estes foram importantes para assegurar que os resultados referentes ao protocolo de estimulação contínua fossem validos. Dessa forma, todos os resultados descritos são referentes a Condição Contínua.

5.3.1 MOVIMENTO OCULAR

Os valores médios do número dos movimentos oculares realizados em cada condição estão representados na Figura 28. Esta indica que a condição em que mais houveram movimentos oculares foi durante a condição REP (média = 25,22), sendo o máximo de 78 movimentos registrado pelo voluntário 7. A condição VIS foi a que apresentou o menor número de movimento dos olhos (média = 5,24), sendo registrada como sendo zero em oito voluntários. As condições VES e DUPLA apresentaram, em média um valor de 15,73 e 6,42 movimentos oculares, respectivamente.

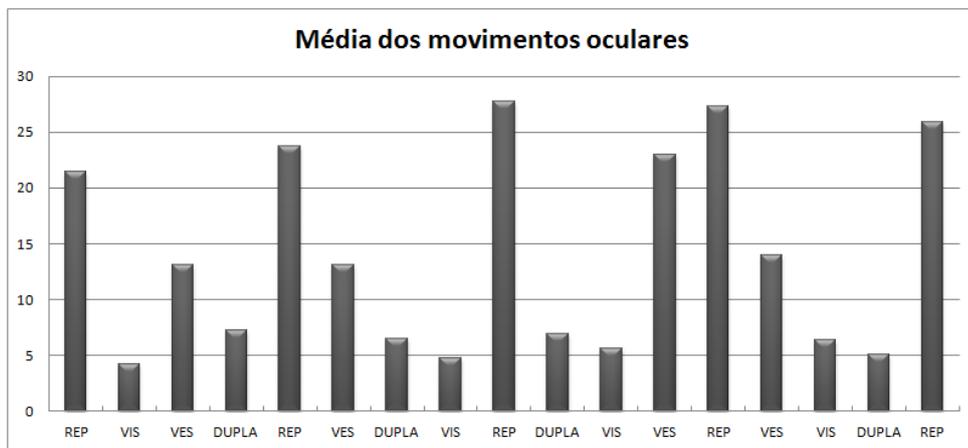


Figura 28: Média dos movimentos oculares registrado em 21 voluntários. O período em que houveram maior e menor quantidade de movimentos oculares foi durante as condições repouso e visual, respectivamente.

5.3.2 RESPOSTA BOLD POSITIVA – RBP

Os resultados da média dos mapas estatísticos para os 21 voluntários durante a estimulação do sistema visual (contraste: VIS - REP) estão apresentados na Tabela 2 e na Figura 29. As regiões que mostram uma RBP foram: o giro lingual, o giro fusiforme, os giros occipital superior, médio e inferior, os giros frontal médio e inferior, o giro temporal inferior, o hipotálamo, a amígdala, o giro pré-central, o lóbulo paracentral, o giro supramarginal, o córtex insular, o lóbulo parietal superior e inferior, o giro cingulado anterior, o córtex do cíngulo médio, o cerebelo, o putâmen e o tálamo.

As áreas com RBP (média dos mapas estatísticos para os 21 voluntários) durante a estimulação vestibular (contraste: VES - REP) estão indicadas na Tabela 3 e na Figura 30, são elas: o giro lingual, o giro fusiforme, os giros occipital superior e médio, o pré-cúneos, os giros frontal médio e inferior, os giros temporal superior e médio, o hipotálamo, o giro pré-central, a área motora suplementar, o sulco central, o giro medial superior (córtex pré-frontal

Tabela 2: Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: VIS - REP). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor-t representa o valor de significância estatística, o número de *voxels* corresponde a quantidade de *voxels* considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.

Região cerebral (identificação citoarquitetônica)	x	y	z	valor-t	número de <i>voxels</i>	MPC (%)
Córtex frontal						
D Giro Pré-Central (4a)	12	-30	70	3,28	198	50
E Giro Pré-Central (4p)	-44	-6	36	5,26	35	30
D Giro Frontal Inferior (44,45)	46	14	24	7,57	2078	20
E Giro Frontal Inferior (44,45)	-58	20	20	4,87	149	60
D Giro Frontal Médio	54	26	32	7,03	2078	
E Giro Frontal Médio	-44	50	0	4,73	28	
Córtex parietal						
D Lobo Parietal Inferior IPC(PF)	56	-38	50	4,97	1112	60
E Lobo Parietal Inferior (SPL(7PC))	-40	-52	58	4,90	111	30
E Lobo Parietal Superior (SPL(7A))	-22	-64	50	4,40	125	30
D Lóbulo Paracentral (4a)	6	-38	64	4,33	198	80
E Lóbulo Paracentral (4a)	-6	-26	64	4,32	198	60
D Giro Angular	28	-62	44	4,44	1112	
D Giro Supramarginal	48	-38	34	3,73	1112	
Córtex temporal						
D Giro Temporal Inferior	44	-66	-4	6,98	1597	
Córtex occipital						
D Giro Lingual (hOC3v(V3v))	24	-82	-8	7,82	1597	70
D Giro Fusiforme (hOC4v(V4))	38	-60	-14	6,98	1597	10
E Giro Fusiforme (hOC4v(V4))	-36	-70	-14	7,82	1662	10
D Giro Occipital Superior (hIP1)	28	-66	34	4,14	1112	10
D Giro Occipital Médio	24	-90	6	9,11	1597	
E Giro Occipital Médio (17)	-22	-90	4	8,85	1662	10
D Giro Occipital Inferior (hOC4v(V4))	36	-74	-10	4,40	1597	50
E Giro Occipital Inferior	-48	-66	-12	6,51	1662	
Outras						
D Amígdala (Amyg(SF))	24	-2	-12	4,83	123	90
E Amígdala (Amyg(LB))	-26	-6	-12	6,41	232	80
D Córtex Insular (Ig2)	34	-18	6	3,57	123	70
E Córtex do Cíngulo Anterior	-2	-2	30	5,46	91	
D Córtex do Cíngulo Médio	2	-10	35	5,55	91	
D Hipocampo (Hipp(CA))	32	-12	-20	4,16	108	90
E Hipocampo (Th-Temporal)	-24	-32	-2	8,43	506	57
D Cerebelo	30	-46	-20	4,99	1597	
E Cerebelo (Lobule VIIa Crus I (Hem))	-34	-74	-24	4,85	1662	100
D Putâmen (Ig2)	34	-16	2	3,45	123	40
D Tálamo (Th-Temporal)	14	-32	2	5,39	354	54
E Tálamo (Th-Visual/Prefrontal)	-8	-30	0	6,03	506	8

MPC – Mapa de probabilidade citoarquitetônico; D – Direito; E – Esquerdo.

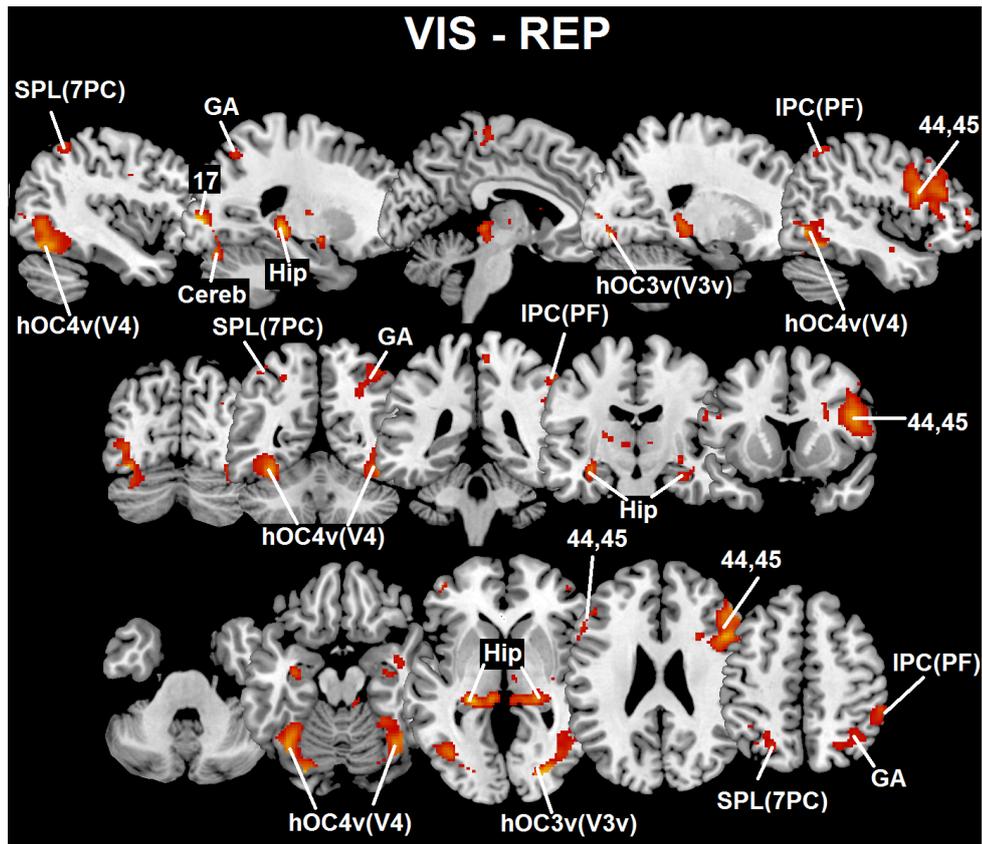


Figura 29: Áreas que apresentaram uma RBP para a tarefa puramente visual. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas do córtex visual primário e associativo ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 44,45 – Área de Brodmann 44 e 45; Cereb – Cerebelo; GA – Giro angular; Hip – Hipocampo; hOC3v(V3v) – Giro lingual; hOC4v(V4) – Giro fusiforme; IPC(PF) – Lobo parietal inferior; SPL(7PC) – Lobo parietal inferior.

dorsomedial), o giro supramarginal, o córtex insular, o lóbulo parietal inferior, o giro cingulado anterior, o córtex do cíngulo médio, o cerebelo, o putâmen, o tálamo e o núcleo caudado.

As áreas que apresentaram uma RBP (média dos mapas estatísticos para os 21 voluntários) durante a condição DUPLA (contraste: DUPLA - REP) são apresentadas na Tabela 4 e na Figura 31, são elas: o giro lingual, o giro fusiforme, os giros occipital superior e médio, os giros frontal superior, médio e inferior, os giros temporal superior e inferior, o hipotálamo, o giro pré-central, a área motora suplementar, o sulco central, o giro medial superior (córtex pré-frontal dorsomedial), o córtex insular, o lóbulo parietal inferior, o giro cingulado anterior, o córtex do cíngulo médio, o putâmen e o núcleo caudado.

As áreas pertencentes ao giro occipital inferior esquerdo e ao lóbulo paracentral e a amígdala bilaterais mostraram-se ativas somente durante a condição VIS (Tabela 2). Já as áreas compreendendo o pré-cúneos direito, o giro temporal médio bilateral, o sulco central direito, o giro supramarginal esquerdo e o cerebelo esquerdo apresentaram atividade somente

Tabela 3: Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa puramente vestibular (contraste: VES - REP). As coordenadas x, y e z estão representadas no sistema MNI, o valor-t representa o valor de significância estatística, o número de *voxels* corresponde a quantidade de *voxels* considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.

Região cerebral (identificação citoarquitetônica)	x	y	z	valor-t	número de <i>voxels</i>	MPC (%)
Córtex frontal						
D Giro Pré-Central (44)	44	8	42	5,18	1545	20
E Giro Pré-Central	-44	2	38	3,93	424	
D Giro Frontal Inferior (45)	44	24	14	5,71	1545	10
E Giro Frontal Inferior	-38	24	-2	5,01	348	
D Giro Frontal Médio	54	26	32	4,44	1545	
E Giro Frontal Médio (45)	-46	26	36	6,08	424	20
D Giro Medial Superior	2	34	56	4,34	186	
E Giro Medial Superior (6)	0	26	54	4,20	186	10
E Área Motora Suplementar (6)	-2	24	56	4,19	186	20
Córtex parietal						
D Lobo Parietal Inferior (IPC(PFm))	52	-46	50	4,87	141	90
E Lobo Parietal Inferior (hIP2)	-46	-46	46	4,48	216	40
D Pré-Cúneos	12	-68	42	4,15	127	
D Giro Supramarginal (IPC(PF))	52	-38	36	5,54	423	30
E Giro Supramarginal (IPC(PFcm))	-44	-36	26	5,28	464	50
D Opérculo Rolândico (IPC(PFcm))	54	-28	22	3,82	423	50
E Opérculo Rolândico (OP 1)	-38	-30	20	5,01	464	40
Córtex temporal						
D Giro Temporal Superior (IPC(PFcm))	54	-38	22	5,04	423	40
E Giro Temporal Superior (IPC(PFcm))	-44	-34	16	4,82	464	70
D Giro Temporal Médio (hOC5(V5))	46	-60	4	4,93	100	10
E Giro Temporal Médio (IPC(PGa))	-50	-48	18	3,65	14	20
Córtex occipital						
E Giro Lingual (hOC3v(V3v))	-12	-76	-8	3,80	26	70
E Giro Fusiforme	-40	-62	-14	4,12	48	10
D Giro Occipital Superior	24	-74	36	3,97	127	
E Giro Occipital Médio (hOC5(V5))	-42	-68	4	4,43	86	30
Outras						
D Córtex Insular	42	2	-14	4,98	199	
E Córtex Insular	-38	0	-6	3,47	18	
D Córtex do Cíngulo Anterior	10	40	24	3,72	11	
D Córtex do Cíngulo Médio	4	-8	32	4,46	220	
E Córtex do Cíngulo Médio	-6	-6	34	4,79	220	
D Hipocampo	34	-18	-8	4,20	23	
D Cerebelo (Lobule V)	20	-40	-20	3,67	10	77
E Cerebelo (Lobule VI(Hem))	-24	-62	-28	4,90	106	98
D Putâmen	28	0	0	4,22	357	
E Putâmen	-26	6	4	5,18	644	
D Tálamo (Th-Prefrontal)	10	-14	2	4,38	357	97
E Tálamo (Th-Prefrontal)	-12	-14	4	4,64	644	94
D Núcleo Caudado	14	-2	16	4,18	357	

MPC – Mapa de probabilidade citoarquitetônico; D – Direito; E – Esquerdo.

Tabela 4: Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBP na média do grupo durante a tarefa visual vestibular (contraste: DUPLA - REP). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor- t representa o valor de significância estatística, o número de *voxels* corresponde a quantidade de *voxels* considerados com RBP, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.

Região cerebral (identificação citoarquitetônica)	x	y	z	valor- t	número de <i>voxels</i>	MPC (%)
Córtex frontal						
D Giro Pré-Central (44)	44	8	36	4,08	108	20
E Giro Pré-Central (44)	-38	4	20	3,68	109	10
D Giro Frontal Superior	20	52	12	4,22	709	
E Giro Frontal Superior	-12	44	34	5,09	96	
D Giro Frontal Médio	40	30	42	6,43	709	
E Giro Frontal Médio (45)	-42	24	32	3,78	11	10
D Giro Frontal Inferior	52	28	33	5,22	709	
E Giro Frontal Inferior (45)	-44	24	-2	4,08	26	20
D Giro Medial Superior	12	38	44	3,94	131	
E Giro Medial Superior	-8	30	54	4,73	131	
D Área Motora Suplementar (6)	12	-22	50	4,54	110	20
E Área Motora Suplementar (6)	-4	24	56	4,02	131	30
Córtex parietal						
D Lobo Parietal Inferior (IPC(PFm))	48	-54	52	3,85	11	50
E Opérculo Rolândico (44)	-44	4	14	5,07	19	10
Córtex temporal						
E Giro Temporal Superior	-44	4	-10	4,85	87	
D Giro Temporal Inferior	44	-64	-4	5,41	799	
Córtex occipital						
D Giro Lingual (hOC3v(V3v))	24	-82	-8	8,23	799	70
D Giro Fusiforme (hOC4v(V4))	32	-80	-4	8,13	799	10
E Giro Fusiforme (hOC4v(V4))	-26	-86	-13	7,03	570	60
D Giro Occipital Médio (17/18)	24	-90	6	9,60	799	10
E Giro Occipital Médio (hOC5(V5))	-40	-68	2	5,12	570	20
D Giro Occipital Inferior (hOC4v(V4))	36	-74	-10	3,80	799	50
Outras						
D Córtex Insular	48	10	-10	4,39	86	
E Córtex Insular	-32	2	10	3,99	109	
D Córtex do Cíngulo Anterior	8	46	26	3,90	28	
E Córtex do Cíngulo Anterior	-8	44	12	3,84	19	
D Córtex do Cíngulo Médio	16	-18	42	4,51	110	
E Córtex do Cíngulo Médio (SPL(5Ci))	-12	-20	40	4,61	85	10
E Hipocampo (Th-Temporal)	-20	-34	0	6,00	77	56
D Putâmen	28	16	4	4,77	247	
E Putâmen (Th-Motor)	-26	-12	10	3,98	109	2
E Núcleo Caudado	-16	10	10	5,08	37	

MPC – Mapa de probabilidade citoarquitetônico; D – Direito; E – Esquerdo.

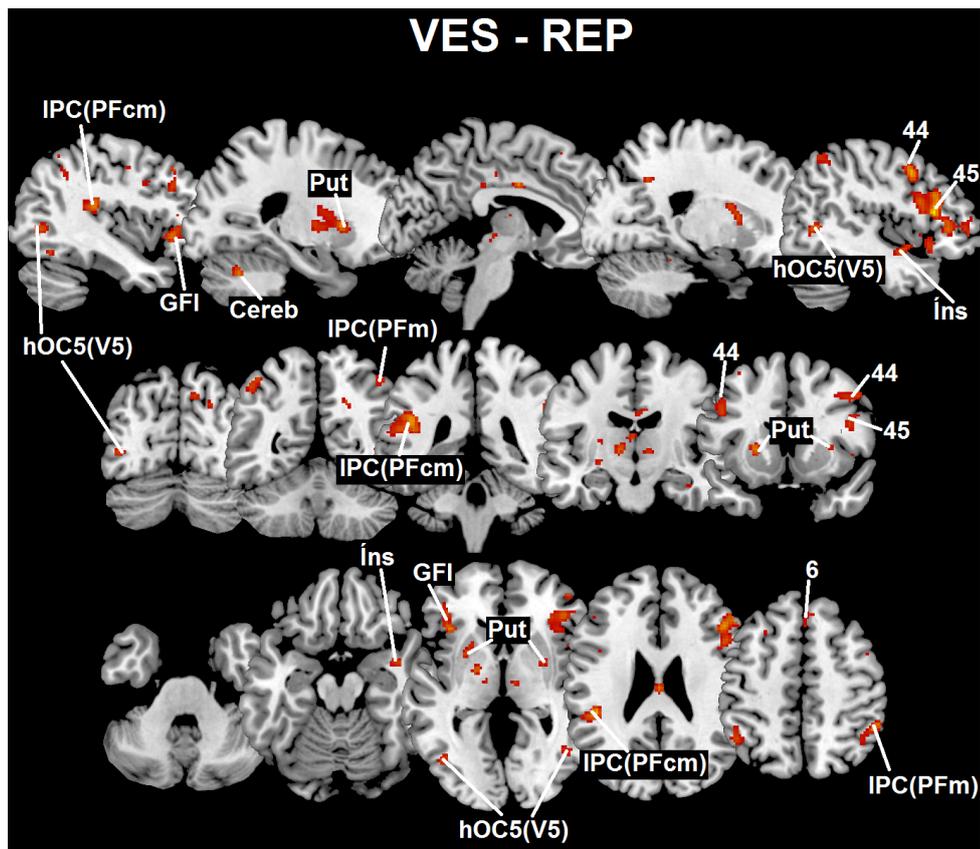


Figura 30: Áreas com RBP para a tarefa puramente vestibular. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas sensitivas e motoras, no córtex parietoinsular vestibular, no lobo parietal inferior e no córtex do cíngulo ($p < 0,05$, FDR). 6 – Área de Brodmann 6; 44 – Área de Brodmann 44; 45 – Área de Brodmann 45; Cereb – Cerebelo; GFI – Giro frontal inferior; hOC5v(V5) – Giro temporal médio; Íns – Córtex insular; IPC(PFcm) – Giro supramarginal; IPC(PFm) – Lobo parietal inferior; Put – Putâmen.

na condição VES (Tabela 3). O giro frontal superior esquerdo, a área motora suplementar direita e o núcleo caudado esquerdo apresentaram ativação apenas na condição DUPLA (Tabela 4). As regiões pertencentes ao cerebelo e ao tálamo apresentaram ativação nas condições VIS e VES (Tabelas 2, 3), entretanto não apresentaram ativação na condição simultânea. Já, as regiões compreendendo os giros frontal inferior e médio, o giro pré-central, o giro cingulado anterior e o córtex do cíngulo médio apresentaram ativação nas três condições (Tabelas 2, 3, 4).

5.3.3 RESPOSTA BOLD NEGATIVA – RBN

Os resultados contendo as regiões que apresentaram uma RBN (contraste: REP - VIS) para a média dos mapas estatísticos nos 21 voluntários durante a condição VIS estão apresentados na Tabela 5 e na Figura 32, estes mostram áreas no giro calcarino, no giro lingual, no cúneos, no giro occipital médio e no pré-cúneos.

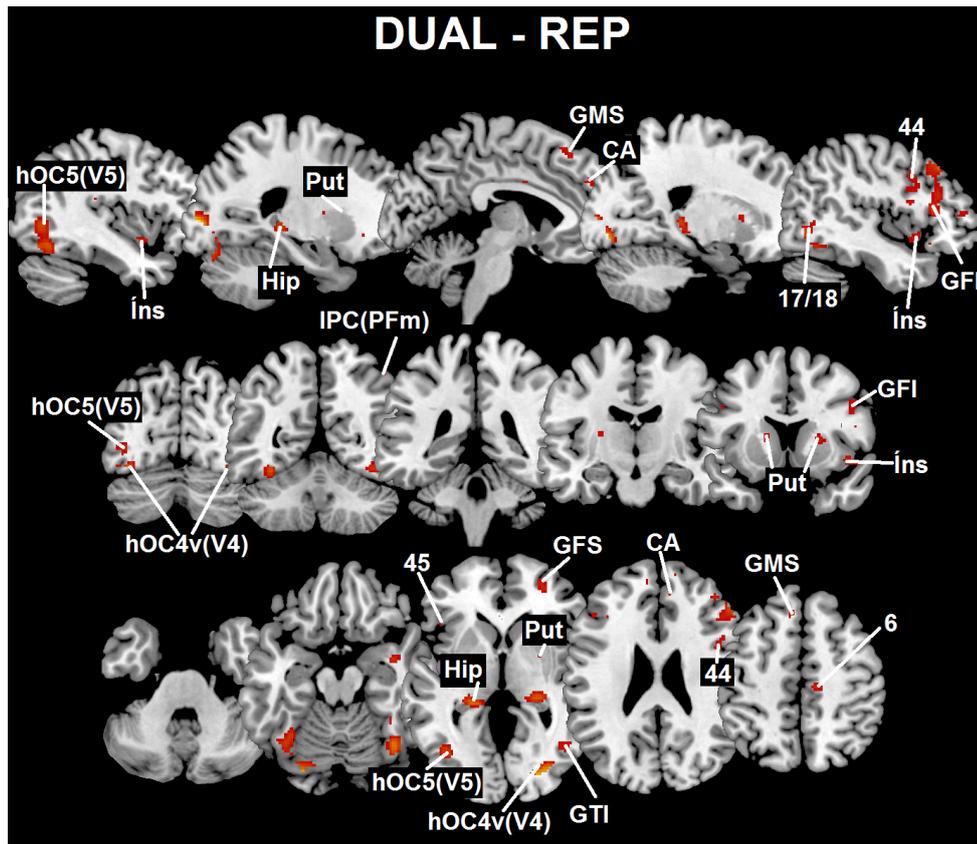


Figura 31: Áreas com RBP para a tarefa visual juntamente com a vestibular. Foram representadas as principais áreas ativadas pelo grupo, as quais indicam atividade em áreas envolvidas com a tarefa visual, córtex visual primário e associativo, e com a tarefa vestibular, áreas sensitivas e motoras, córtex parietoinsular vestibular, lóbulo parietal inferior, córtex do cíngulo, cerebelo, putâmen e núcleo caudado ($p < 0,05$, FDR). 6 – Área de Brodmann 6; 17/18 – Área de Brodmann 17/18; 44 – Área de Brodmann 44; 45 – Área de Brodmann 45; CA – Cíngulo anterior; GFI – Giro frontal inferior; GMS – Giro medial superior; GTI – Giro temporal inferior; Hip – Hipocampo; hOC4v(V4) – Giro fusiforme; hOC5v(V5) – Giro temporal médio; Íns – Córtex insular; IPC(PFm) – Lobo parietal inferior; Put – Putâmen.

A condição VES não mostrou áreas com RBN (contraste: REP - VES) na média dos mapas estatísticos para os 21 voluntários (Figura 33).

Os resultados contendo as regiões que apresentaram RBN (contraste: REP - DUPLA) durante a condição DUPLA para a média dos mapas estatísticos dos 21 voluntários estão apresentados na Tabela 6 e na Figura 34, estes mostram voxels com RBN no giro calcarino, no giro lingual, no cúneos, no pré-cúneos, no lobo parietal superior, no cerebelo e no giro pós-central.

Quatro regiões mostraram-se com uma RBN em comum nas condições VIS e DUPLA, as quais foram: o giro calcarino, o giro lingual, o cúneos e o pré-cúneos (Figuras 32, 34).

Tabela 5: Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBN na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: REP - VIS). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor-t representa o valor de significância estatística, o número de *voxels* corresponde a quantidade de *voxels* considerados com RBN, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.

Região cerebral (identificação citoarquitetônica)	x	y	z	valor-t	número de <i>voxels</i>	MPC (%)
Córtex parietal						
D Pré-cúneos	22	-44	8	5,67	150	
E Pré-cúneos	-14	-54	46	6,19	113	
Córtex occipital						
D Giro Calcarino (17)	26	-70	4	7,28	3878	40
E Giro Calcarino (17)	-10	-82	4	10,40	3878	80
D Giro Lingual (18)	10	-72	0	7,84	3878	60
E Giro Lingual (hOC4v(V4))	-12	-72	-6	9,00	3878	40
D Cúneos (18)	12	-82	20	7,68	3878	40
E Cúneos	-14	-76	26	5,98	3878	
D Giro Occipital Médio (IPC(PGp))	52	-70	26	4,19	39	80
E Giro Occipital Médio (IPC(PGp))	-38	-78	34	4,07	18	60

MPC – Mapa de probabilidade citoarquitetônico; D – Direito; E – Esquerdo.

Tabela 6: Identificação citoarquitetônica das regiões que apresentaram uma RBN na média do grupo durante a tarefa puramente visual (contraste: REP - DUPLA). As coordenadas x , y e z estão representadas no sistema MNI, o valor-t representa o valor de significância estatística, o número de *voxels* corresponde a quantidade de *voxels* considerados com RBN, o MPC representa a probabilidade da coordenada pertencer à região com identificação anatômica.

Região cerebral (identificação citoarquitetônica)	x	y	z	valor-t	número de <i>voxels</i>	MPC (%)
Córtex parietal						
D Pré-cúneos	24	-44	6	8,31	4158	
E Pré-cúneos (SPL(5M))	-14	-48	50	4,41	339	30
E Lobo Parietal Superior (SPL(5L))	-20	-50	66	3,96	339	50
D Giro Pós-Central (SPL(5L))	26	-46	66	4,04	22	20
Occipital						
D Giro Calcarino (17)	26	-70	4	7,83	4158	40
E Giro Calcarino (17)	-10	-82	4	6,79	4158	80
D Giro Lingual (18)	10	-72	-2	6,58	4158	70
E Giro Lingual (18)	-12	-78	0	7,11	4158	60
R Cúneos (18)	14	-82	20	6,61	4158	10
Outras						
E Cerebelo (Lobule VI(Hem))	-26	-54	-28	5,10	33	84

MPC – Mapa de probabilidade citoarquitetônico; D – Direito; E – Esquerdo.

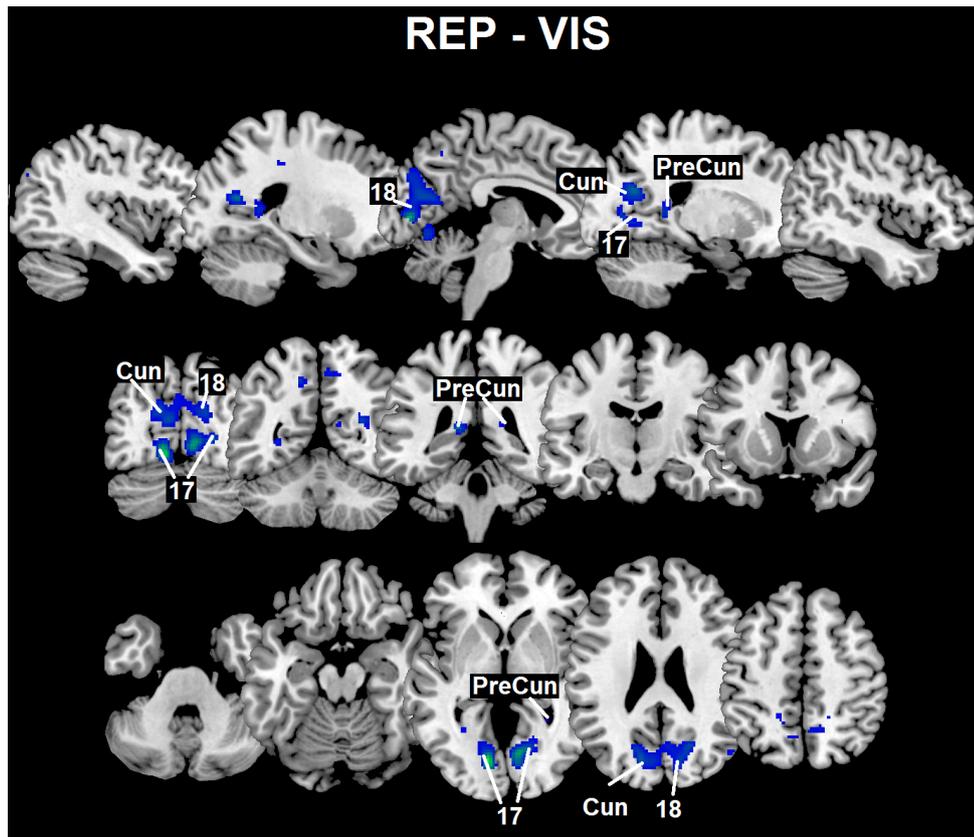


Figura 32: Áreas que apresentaram RBN durante a tarefa visual. Foram representadas as principais áreas desativadas pelo grupo, as quais são: o giro calcarino, o giro lingual, o cúneos, o giro occipital médio e o pré-cúneos ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 18 – Área de Brodmann 18; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos.

5.3.4 ANÁLISE DA MUDANÇA PERCENTUAL DO SINAL – MPS

A análise da mudança percentual do sinal foi realizada em onze regiões estatisticamente significantes para a RBP, são elas: os giros lingual e fusiforme, os giros occipital médio e inferior, o giro temporal superior, o giro medial superior, o córtex insular, o lóbulo parietal inferior, os giros frontal médio e inferior e o giro pré-central; e, em oito regiões estatisticamente significantes para a RBN, as quais foram: os giros calcarino e lingual, o cúneos, o pré-cúneos, o giro occipital médio, o lóbulo parietal superior, o cerebelo e o giro pós-central.

5.3.4.1 RESPOSTAS POSITIVAS

A Figura 35 mostra os resultados da variação na MPS para os três diferentes contrastes: VIS - REP, VES - REP e DUPLA - REP (equação 10). Das áreas envolvidas com a tarefa visual o giro lingual, o giro occipital médio e o giro occipital inferior direitos não mostraram alteração na MPS. As regiões do giro fusiforme bilateral e do giro occipital médio esquerdo

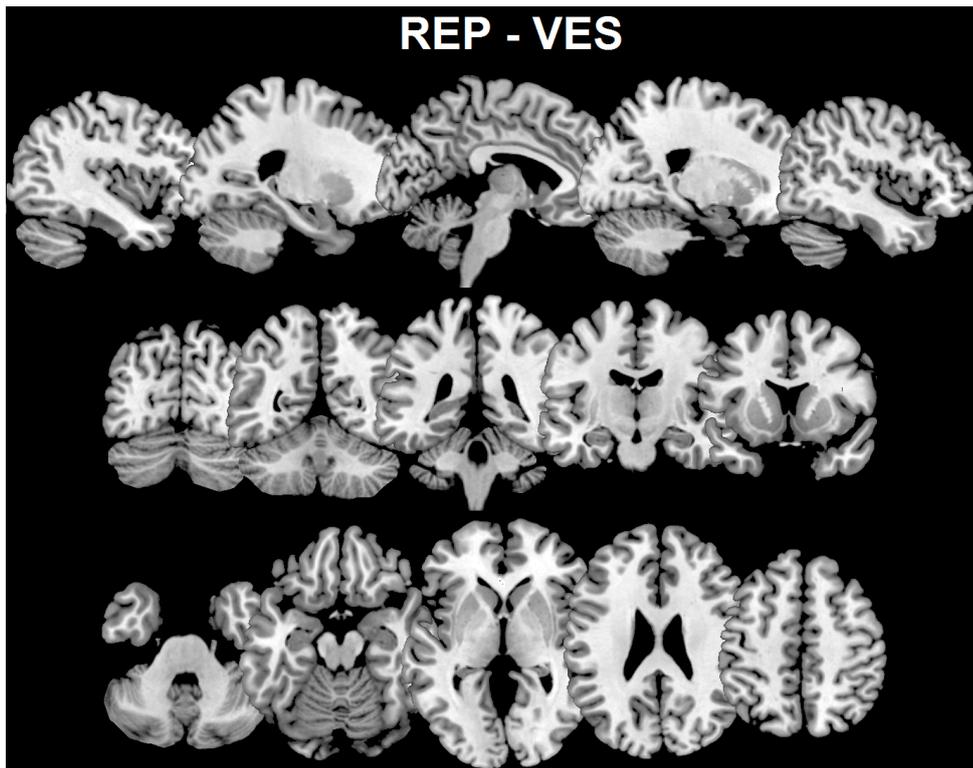


Figura 33: Não houveram áreas com RBN durante a tarefa vestibular ($p < 0,001$, FDR).

mostraram uma diminuição na MPS. Das regiões envolvidas puramente com a tarefa vestibular o giro temporal superior esquerdo, a insula bilateral e o lóbo parietal inferior esquerdo mostraram diminuição da MPS. Já o giro medial superior bilateral mostrou um aumento da MSP. Ao comparar a MPS entre os contrastes VIS - REP e DUPLA - REP observou-se uma diminuição na região do giro frontal médio bilateral, no giro frontal inferior bilateral e no giro pré-central esquerdo e um aumento no giro pré-central direito. Entre os contrastes VES - REP e DUPLA - REP, observou-se uma diminuição do sinal no giro frontal médio bilateral, nos giros frontal inferior e pré-central esquerdos e um aumento no giro frontal inferior direito.

As RBP durante o contraste DUPLA - REP foram menores e menos significativas comparadas aos contrastes VIS - REP e VES - REP (Tabelas 2, 3, 4). No cluster pertencente ao giro occipital médio, giro fusiforme e giro occipital inferior direitos o número de voxels diminuiu de 1597, no contraste VIS - REP, para 799, no contraste DUPLA - REP, o valor-t máximo aumentou de 9,11 para 9,60. O número de voxels com RBP na região do giro occipital médio e giro fusiforme esquerdos decresceu de 1662 para 570, o valor-t máximo decresceu de 8,85 para 7,03. O número de voxels com RBP decresceu de 2078, no contraste VIS - REP, para 1545, no contraste VES - REP, e para 709, no contraste DUPLA - REP, na região compreendendo os giros frontal inferior e médio direitos, o valor-t máximo reduziu de 7,57 para 5,71 e para 6,43, respectivamente. No cluster compreendendo o giro temporal superior esquerdos o número de

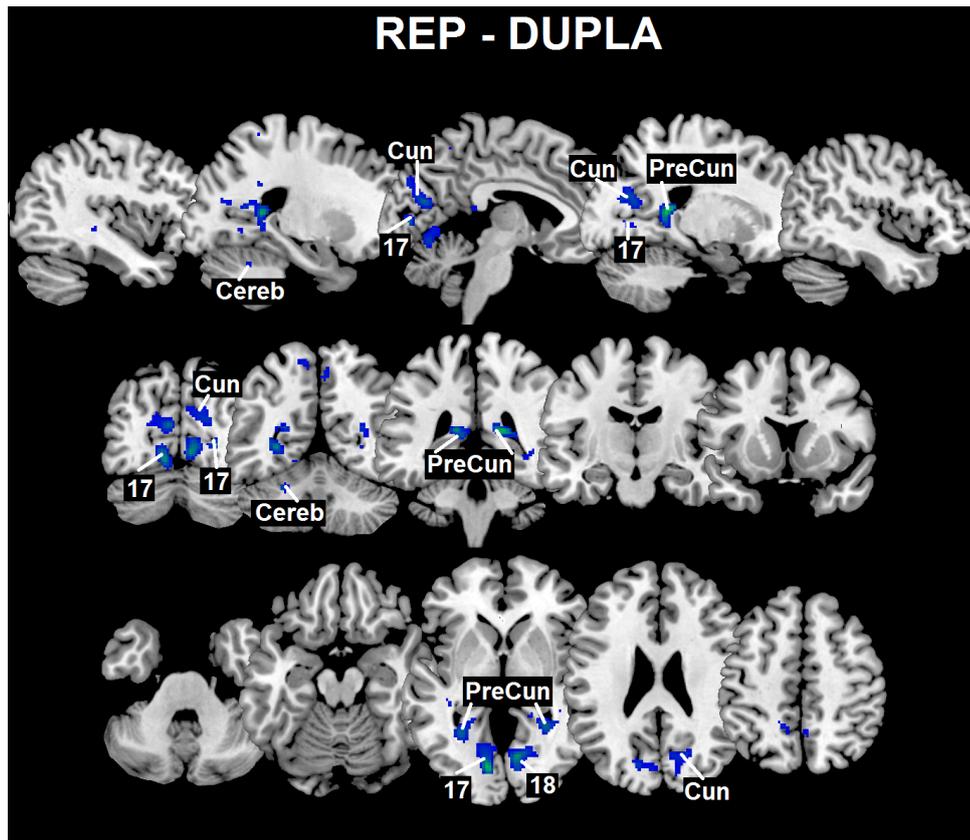


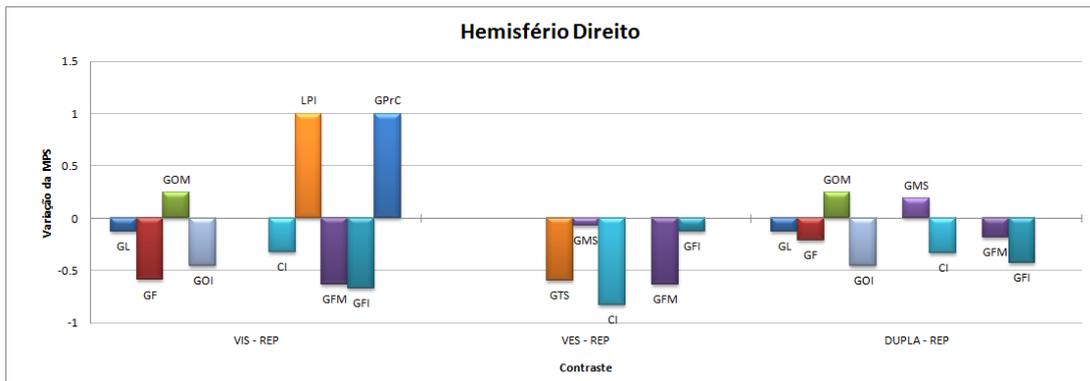
Figura 34: Áreas que apresentaram RBN durante a tarefa visual juntamente com a vestibular. Foram representadas as principais áreas desativadas pelo grupo, as quais são: o giro calcarino, o giro lingual, o cúneos, o pré-cúneos, o lobo parietal superior, o cerebelo e o giro pós-central ($p < 0,05$, FDR). 17 – Área de Brodmann 17; 18 – Área de Brodmann 18; Cereb – Cerebelo; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos.

voxels diminui de 464, no contraste VES - REP, para 87, no contraste DUPLA - REP, (valor-t máximo diminui de 5,28 para 4,85), na ínsula direita de 199 passou para 86 voxels (valor-t máximo passou de 4,98 para 4,39) e no giro superior médio e na área motora suplementar passou de 186 para 131 voxels (valor-t máximo aumentou de 4,34 para 4,73).

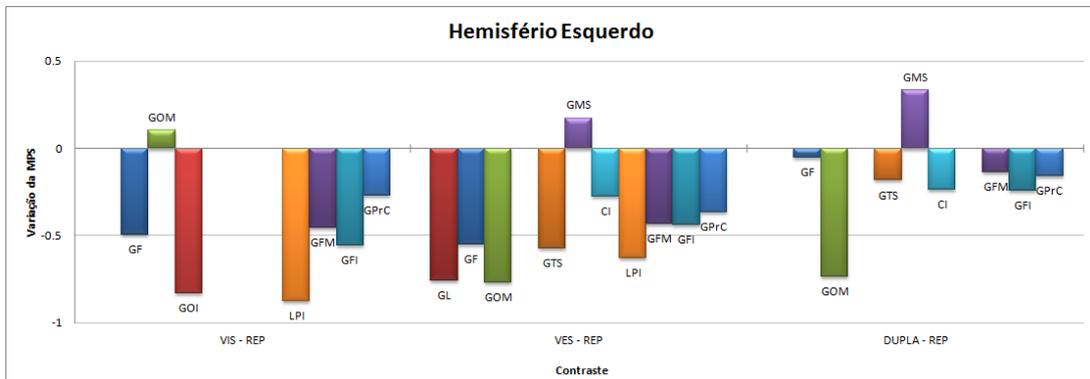
5.3.4.2 RESPOSTAS NEGATIVAS

A Figura 36 mostra os resultados da análise da MPS para as regiões com RBN nos contrastes REP - VIS e REP - DUPLA. Pode-se observar que houve um aumento na MPS para o contraste REP - DUPLA nas regiões compreendendo o giro lingual e o cúneos direitos e ao pré-cúneos bilateral; e uma diminuição no giro lingual esquerdo. O giro calcarino não mostrou alteração no valor da MPS durante os dois contrastes.

As respostas BOLD negativas apresentaram um número maior de voxels durante o contraste REP - DUPLA. O número de voxels aumentou de 3878, no contraste REP - VIS, para



(a)

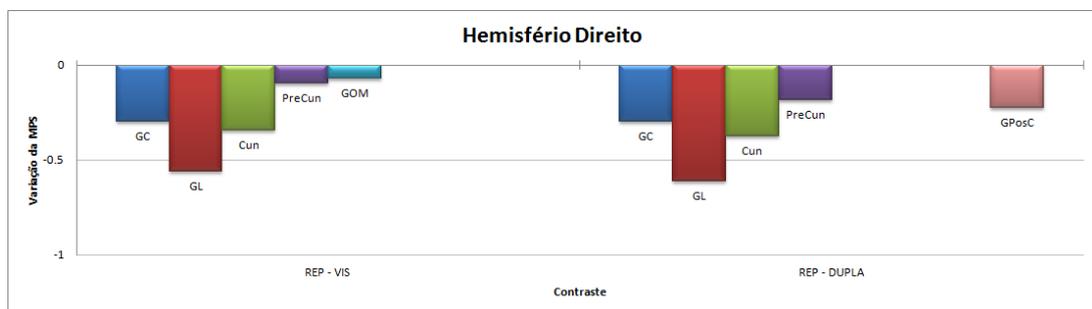


(b)

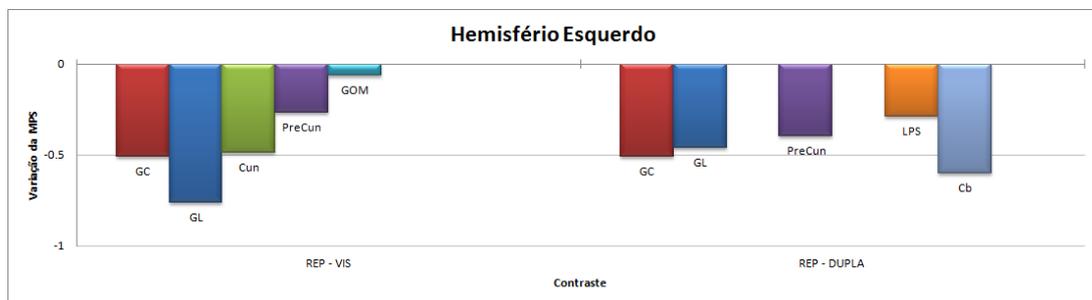
Figura 35: Resultado da análise da mudança percentual do sinal (MPS) nas principais regiões com RBP em três diferentes contrastes. (a) Hemisfério direito. (b) Hemisfério esquerdo. GL – Giro lingual; GF – Giro fusiforme; GOM – Giro occipital médio; GOI – Giro occipital inferior; GTS – Giro temporal superior; GMS – Giro medial superior; CI – Córtex insular; LPI – Lóbulo parietal inferior; GFM – Giro frontal médio; GFI – Giro frontal inferior; GPrC – Giro pré-central.

4158, no contraste REP - DUPLA, no cluster compreendendo o giro calcarino, o giro lingual e o cúneos, o valor-t máximo reduziu de 10,40 para 8,37. O número de voxels no cluster contendo o pré-cúneos direito passou de 150 para 339 e o esquerdo de 113 para 339, o valor-t máximo decresceu de 5,57 (cluster à direita) e 6,19 (cluster à esquerda) para 4,41.

Este capítulo apresentou os principais resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho. No capítulo seguinte são apresentados os comentários e as discussões referentes a estes achados.



(a)



(b)

Figura 36: Resultado da análise da mudança percentual do sinal (MPS) nas principais regiões com RBN em dois diferentes contrastes. (a) Hemisfério direito. (b) Hemisfério esquerdo. GC – Giro calcarino; GL – Giro lingual; Cun – Cúneos; PreCun – Pré-cúneos; GOM – Giro occipital médio; LPS – Lobo parietal superior; Cb – Cerebelo; GPosC – Giro pós-central.

6 DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados comentários e discussões a respeito dos resultados encontrados durante os experimentos da validação do estimulador galvânico vestibular e, também, dos experimentos realizados com a técnica de RMf para os estímulos puramente visual, puramente vestibular e simultâneo visual-vestibular.

6.1 EXPERIMENTOS DE RM EM CONJUNTO COM O EGV

O artefato de susceptibilidade magnética mostrado na Figura 21a decorre de micro gradientes ou variações na intensidade do campo magnético que ocorrem próximo a interfaces ou substâncias com diferentes susceptibilidades magnéticas. O resultado final são áreas brilhantes (hipersinal) e escuras (hiposinal), as quais geram distorção espacial da anatomia local. Dessa maneira, os materiais que compõem o eletrodo adesivo (Figura 21a) devem possuir materiais com susceptibilidade magnética diferentes das do corpo humano. Os eletrodos de silicone (Figura 21b), entretanto, não induziram artefato nas imagens tornando-os mais indicados para serem utilizados em experimentos de RM.

A vibração, movimentação mecânica, dos eletrodos relatada pelos voluntários foi provavelmente ocasionada pela indução de correntes elétricas na fiação que conecta o voluntário ao estimulador. A indução de corrente foi provocada pelos pulsos de radiofrequência gerados pelo equipamento de RM. Embora filtros de RF tenham sido colocados nas extremidades do cabo condutor para bloquear a circulação de correntes elétricas, a fiação trançada possui capacitâncias entre os fios, permitindo a circulação de correntes elétricas entre os eletrodos e o voluntário. Como nenhum voluntário relatou sensação de balanço quando o estimulador estava no período de repouso (sem estímulo elétrico) presumiu-se a corrente induzida era de alta frequência e não estava estimulando o sistema vestibular. A circulação dessa corrente pelos eletrodos, na presença do campo B_0 , provavelmente produz um torque mecânico e, assim, movimenta os eletrodos. Entretanto, isso foi eliminado inserindo-se três filtros LC passivos, construídos com componentes SMD (*Surface Mount Device*) entre os eletrodos e o botão de

segurança. Cada filtro foi colocado a uma distância entre eles de 10 cm. Esse procedimento eliminou completamente o movimento nos eletrodos. É interessante observar que quando o botão de segurança, colocado sobre o abdômen do voluntário, está desligado, os terminais da fiação são curto-circuitados, ou seja forma-se um *loop* de corrente com fio trançado entre o botão de segurança e o estimulador. Nessa fiação existe um circuito monitor de corrente, o qual indica a amplitude por meio de uma barra de *LEDs* (sessão 4.1). Observou-se que existe uma indução de corrente nessa fiação da ordem de 1 mA. Assim, a indução no *loop* dentro do magneto deve ser bem superior, provavelmente justificando a movimentação dos eletrodos. Todavia, o filtro LC utilizado não interferiu no sinal de estimulação, ele apenas reduziu o sinal de alta frequência vindo da RM.

6.2 COMPATIBILIDADE DO EGV COM O EQUIPAMENTO DE RM

Os testes de compatibilidade entre o EGV e o equipamento de RM mostraram diferenças entre as condições testadas para os parâmetros medidos, ou seja, relações sinal ruído e flutuação sinal ruído (Tabela 1). Entretanto estes resultados são da mesma ordem que as diferenças entre as condições de controle e são menores do que a variação espacial da região de interesse indicando, assim, uma variabilidade normal. Além disso, a análise do padrão de métricas de qualidade das imagens, mostra que a presença do EGV na sala do magneto não ocasiona um grande impacto na qualidade das imagens. Ainda, não foram constatados problemas no desempenho do EGV enquanto este estava na presença do sistema de RM. Dessa forma, durante o período de tempo deste estudo, o EGV teve um desempenho sem conflitos e não interferiu com a funcionalidade do equipamento de RM, sendo compatível com os experimentos de RMf. Ainda mais, o *trigger* de sincronização do EGV foi capaz de seguir o protocolo de estimulação da RMf.

6.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Neste estudo buscou-se identificar as áreas encefálicas relacionadas às tarefas visual e vestibular, com estímulos específicos para cada sistema e com um estímulo simultâneo. Durante a condição VIS, os resultados mostraram uma RBP e uma RBN em regiões envolvidas com o processamento de estímulos visuais. Durante a condição VES as áreas correspondentes ao processamento multimodal do sistema vestibular mostraram uma RBP e não houveram áreas com RBN. Durante a condição simultânea, além da RBP das áreas relacionadas com os estímulos específicos do sistema visual e vestibular foram observados focos no giro frontal médio e

inferior e no giro pré-central e regiões com RBN ao longo do giro calcarino, do giro lingual, do cúneos, do pré-cúneos, do lóbulo parietal superior, do cerebelo e do giro pós-central.

Apesar deste trabalho não apresentar áreas com RBN durante a tarefa vestibular (limiar de $p < 0,05$, FDR), alguns estudos envolvendo a estimulação do sistema vestibular indicam áreas de RBN em regiões pertencentes ao córtex visual. No trabalho de Bense et al. (2001) foram utilizadas as estimulações galvânica vestibular e cutânea a fim de diferenciar as funções vestibulares oculomotora e nociceptiva, foi observado uma RBN bilateral no córtex visual (giro fusiforme, giro occipital inferior, BA 18/19) em resposta a estimulação galvânica vestibular. Em um estudo anterior, realizado com PET, foi descrito uma diminuição do fluxo sanguíneo cerebral no córtex visual durante uma prova de irrigação calórica, além de um aumento no fluxo sanguíneo no córtex parietoinsular vestibular (WENZEL et al., 1996). Além desses estudos, Brandt et al. (1998) observaram que durante o aumento da atividade neural das áreas parietal e occipital no córtex visual havia, também, um decréscimo simultâneo do fluxo sanguíneo cerebral regional na ínsula posterior, bilateralmente. Outro estudo, envolvendo a estimulação optocinética e a RMf, mostrou áreas com RBN na região retroinsular, no giro temporal superior e no lobo parietal, essas regiões são conhecidas como a área visual temporal de Sylvian ou área visual posterior de Sylvian. O decréscimo da resposta BOLD na área PIVC foi induzido pelos movimentos optocinéticos dos olhos. Assim, a área PIVC em humanos pode gerar um aumento da resposta BOLD durante estímulo vestibular e um decréscimo da resposta BOLD durante estímulos optocinéticos de baixo campo e alto campo visual (DIETERICH et al., 2003b). Kleinschmidt et al. (2002) também mostraram um aumento de atividade neural no córtex visual acompanhado por um decréscimo da resposta BOLD na região PIVC durante um estudo de percepção de movimento e RMf.

Por outro lado, era de se esperar que a realização de mais de uma tarefa simultaneamente diminuísse a atividade em determinadas regiões pois, para isto, é preciso um processamento maior de informação comparado a realização de uma única tarefa. Este achado confirma os resultados de um trabalho realizado com as estimulações unimodais visual e vestibular (estimulação calórica) e a estimulação simultânea destes dois sistemas em PET (DEUTSCHLÄNDER et al., 2002). Uma possível explicação para este achado seria a existência da interação sensorial inibitória durante a estimulação bimodal. A inibição recíproca entre estes sistemas foi inicialmente sugerida por Brandt et al. (1998), enquanto as áreas corticais, que representam o sistema visual, mostram um aumento da atividade neural as regiões encefálicas que processam as informações do sistema vestibular, em especial a região parietoinsular vestibular, demonstram um decréscimo da atividade neural e vice-versa. O significado funcional das interações inibitória visual-vestibular e vestibulo-visual é a possibilidade do encargo sensorial ser alter-

nado de uma modalidade para outra. Ainda, a estimulação simultânea de dois sistemas sensoriais pode levar a uma distração recíproca da percepção da sensibilidade. Sabe-se, também, que a administração de tarefas duplas interferentes requer um número de processos executivos para regular a demanda de atenção entre estas tarefas (SCHUBERT; SZAMEITAT, 2003).

A seguir serão descritas a relação das principais áreas que apresentaram uma RBP e uma RBN durante as condições VIS, VES e DUPLA. As regiões foram separadas conforme suas localização anatômica, englobando os lobos frontal, parietal, temporal e occipital, o sistema límbico e as divisões subcorticais.

6.3.1 ÁREAS FRONTAIS

A área motora suplementar (BA 6), com RBP nas condições VES e DUPLA, está relacionada com o planejamento motor da ação e com o controle bimanual. Esta área também está relacionada com ações de controle interno, como o desempenho de uma sequência de movimentos pela memória (NACHEV et al., 2008). Os trabalhos envolvendo a estimulação galvânica vestibular e RMf de Smith et al. (2012) e Stephan et al. (2005) também demonstram RBP nesta área.

O giro pré-central, RBP nas três condições de estímulo, compreende o córtex motor primário. Sua função, associada as áreas pré-motoras, é planejar e executar os movimentos (KANDEL et al., 2000). A região do giro pré-central que mostrou uma RBP corresponde ao Campo Frontal do Olho (*Frontal Eye Field – FEF*), esta região está relacionada aos movimentos de torção dos olhos, os quais são induzidos durante a estimulação vestibular. Outros tipos de movimento dos olhos, tais como o nistagmo optocinético (DIETERICH et al., 1998), os movimentos sacádicos (ANDERSON et al., 1994; DELLA-JUSTINA et al., 2008) e de rastreo oculares (PETIT; HAXBY, 1999; DELLA-JUSTINA et al., 2008) também mostram uma RBP para esta área. Além disso, Guldin e Grüsser atribuíram esta área pré-motora como sendo “um circuito interno vestibular” em seus trabalhos em macacos (GULDIN; GRÜSSER, 1996). Ainda, esta área mostrou uma RBP nos trabalhos de Bense et al. (2001) e Stephan et al. (2005), ambos realizaram a estimulação galvânica vestibular em voluntários saudáveis durante exames de RMf.

Os giros frontal inferior e médio, presentes nas condições VIS, VES e DUPLA, também mostraram-se com RBP nos estudos de Bense et al. (2001) e Stephan et al. (2005). Lobel et al. (1998), indicam que as áreas frontais parecem ser as regiões homólogas a região vestibular do macaco na parte anterior ventral da área 6 pré-motora. Os giros frontal inferior e médio enviam projeções diretamente aos núcleos vestibulares e também ao córtex parietoinsular ves-

tibular (PIVC) e a região 3aV (AKBARIAN et al., 1993), as quais juntamente com a área 2v formam um circuito central no sistema vestibular cortical dos primatas (GULDIN et al., 1992). Ainda, Lobel et al. (1998) encontraram um padrão de RBP assimétrico, RBP somente a direita, o qual relacionaram com a especialização geral do hemisfério direito no comportamento espacial e que poderia ser comparado com a dominância hemisférica direita nas lesões que provocam heminegligência espacial (BISIACH; VALLAR, 1988 apud LOBEL et al., 1998). Além disso, a RBP encontrada no sulco frontal inferior esquerdo pode estar relacionada a administração de duas respostas concorrentes pois, segundo Schubert e Szameitat (2003), a RBP do sulco frontal inferior esquerdo, durante uma tarefa visual-auditiva apresentada simultaneamente, reflete um aumento da atividade neural associada ao processamento de respostas concorrentes.

6.3.2 ÁREAS PARIETAIS

O lóbulo parietal inferior, o qual mostrou-se com RBP nas três condições, está envolvido com a interpretação da informação sensorial (BREMNER et al., 2001) e da orientação espacial (WEEKS et al., 1999). A RBP no lóbulo parietal inferior também mostrou-se presente em estudos com estimulação vestibular calórica em PET (BOTTINI et al., 1994; DIETERICH et al., 2003b) e em estudos com estimulação galvânica vestibular em RMf (BENSE et al., 2001; FINK et al., 2003; STEPHAN et al., 2005). O lóbulo parietal inferior possui conexões com a área PIVC e pertence ao circuito interno vestibular (GULDIN; GRÜSSER, 1996).

O pré-cúneos (BA 7) mostrou uma RBP somente na condição VES. Esta região foi sugerida como sendo o ponto central da rede de modo padrão (*default mode network*), a qual é observada durante o estado de repouso (*resting state*), no qual os sujeitos não se envolvem intencionalmente numa atividade motora ou sensorial (GUSNARD; RAICHLE, 2001). O pré-cúneos tem sido associado com a percepção do movimento global (BARTELS; LEENDERS, 2008). Além do mais, o trabalho de Smith et al. (2012) sugere que o pré-cúneos pode ser parte de um circuito visuo-espacial das áreas envolvidas com o processamento de automovimento ou *egomotion*¹.

A RBN do lóbulo parietal superior e do giro pós-central durante a condição DUPLA e do pré-cúneos durante as condições VIS e DUPLA foi previamente relatada em um estudo envolvendo a estimulação optocinética e a RMf (DIETERICH et al., 2003b). O trabalho de (SHULMAN et al., 1997b) reporta uma RBN do lobo parietal e do pré-cúneos durante tarefas de discriminação visual. A RBN do pré-cúneos, em particular, foi considerada como sendo uma característica metabólica importante do estado alterado da consciência, caracterizada pela

¹Deslocamento de um observador em relação ao meio ambiente

perda temporária da representação do próprio corpo (MAQUET et al., 1999). Além disso, a RBN do pré-cúneos e do giro pós-central também mostrou-se presente em trabalhos anteriores com a estimulação galvânica vestibular em RMf (BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005). No trabalho de Stephan et al. (2005), estes variaram a frequência da estimulação galvânica vestibular (0,1 Hz, 0,3 Hz, 0,8 Hz, 1,0 Hz, 2,0 Hz, e 5,0 Hz), e encontraram RBN no pré-cúneos para 0,3, 0,8, 1,0 e 2,0 Hz, no giro pós-central para 0,1 Hz e no lobo parietal superior para 5,0 Hz. A RBN do giro pós-central também foi relatada em um estudo em que os voluntários foram escaneados pela RMf enquanto estes se imaginavam parados, caminhando, correndo e deitados. A RBN do giro pós-central, além da ínsula posterior, do giro temporal superior e do giro supramarginal, esteve presente somente na imaginação de caminhar e correr, sendo maior durante o caminhar. Segundo os autores, esses resultados indicam o conceito de uma organização hierárquica de postura e locomoção. Um menor processamento pelo córtex vestibular e somatosensorial impede interações adversas com o padrão espinhal otimizado e sinais sensoriais, confirmando os resultados anteriores de uma inibição multisensorial durante a locomoção sem obstáculos (JAHN et al., 2004).

6.3.3 ÁREAS TEMPORAIS

O giro fusiforme (BA 37) está envolvido com o processamento da informação de cor (BEAUCHAMP et al., 1999), com o reconhecimento da face, do corpo, de palavras e de números e, também, com a identificação de categorias (ALLISON et al., 1994).

O giro temporal médio corresponde à área homóloga em humanos da região sensível ao movimento nos macacos (*Middle temporal/Medial superior temporal – MT/MST*). Esta área também recebe entrada vestibular (THIER; ERICKSON, 1992 apud BENSE et al., 2001) e é a origem das fibras que se dirigem aos núcleos vestibulares (JEANNEROD, 1996). Nos seres humanos esta estrutura é conhecida por desempenhar um papel importante no movimento dos olhos e no processamento visuo-motor, tais como a percepção do movimento de objetos e a percepção de auto-movimento (BARTON et al., 1996). Além disso, esta área apresentou RBP em trabalhos que utilizaram a estimulação galvânica vestibular juntamente com a RMf (BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005; SMITH et al., 2012). O trabalho de Smith et al. (2012), em especial, indica somente a área MST como tendo conexões vestibulares entretanto, neste trabalho, a área MT demonstrou uma RBP durante a estimulação galvânica vestibular.

O giro temporal superior responde a estímulos visual, auditivo e somatosensoriais, além de vestibular (BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005). O trabalho de Smith et al. (2012) indica uma forte relação desta região com o sistema vestibular, pois ela é mais forte-

mente ativada durante o estímulo vestibular quando comparada a um estímulo visual que exerce influência no sistema vestibular.

6.3.4 ÁREAS OCCIPITAIS

O giro calcarino concentra o córtex visual primário (V1) ao seu redor. Cada área V1 transmite as informações para dois caminhos diferentes, chamados de via dorsal e via ventral. A via dorsal começa em V1, passa pela área V2 e, em seguida, vai para a área dorsomedial, para a área MT(V5) e para o córtex parietal posterior. A via dorsal é comumente chamada de "Caminho Onde" e está associado com a percepção do movimento, com a representação do local dos objetos e com o controle dos olhos e dos braços (GOODALE; MILNER, 1992). A via ventral começa em V1, passa pela área V2 e, em seguida, vai para área V4 e para o córtex temporal inferior. Este caminho é comumente chamado de "Caminho O que" e está associada com o reconhecimento e com a representação de objetos (KANDEL et al., 2000).

As regiões cúneos, giro lingual, giro occipital inferior e superior fazem parte do córtex visual associativo (V2, V3, V4 e V5) e estão envolvidos com o processamento da informação visual. A área V2 é a segunda maior área do córtex visual e a primeira região dentro das áreas do córtex visual associativo. Ela recebe fortes conexões de V1 e envia fortes conexões para V3, V4 e V5. A sua funcionalidade tem muitas propriedades em comum com V1, tais como a determinação da orientação, da frequência espacial e da cor. A área V3 localiza-se imediatamente em frente a área V2. Esta área possui duas subdivisões: dorsal e ventral. A área V3 dorsal localiza-se na parte superior e é normalmente considerada como parte da via dorsal, recebendo vias das áreas V2 e V1 e projetando para o córtex parietal posterior. A área V3 ventral localiza-se na parte inferior, esta possui conexões fracas com V1 e conexões mais fortes com o giro temporal inferior. A área V4 é a terceira área cortical da via ventral, recebendo fortes conexões de V2 e enviando fortes conexões para o giro temporal inferior, também recebe vias de V1 e, além do mais, possui fracas ligações com V5 (KANDEL et al., 2000). A área V5, é uma região que representa uma grande função na percepção de movimento, na integração de sinais de movimentos locais em percepções globais e na orientação de alguns movimentos dos olhos (BORN; BRADLEY, 2005).

A RBP encontrada no giro calcarino, no giro lingual, no cúneos e nos giros superior, médio e inferior occipital durante as condições VIS e DUPLA confirmam os achados até então descritos. Mesmo parecendo contraditórios os resultados referentes à RBN encontrados estão de acordo com os previamente relatados (SHMUEL et al., 2002; BRESSLER et al., 2007; PASLEY et al., 2007; BIANCIARDI et al., 2011). No geral, observa-se que a estimulação de

uma parte do campo visual evoca respostas positivas nas áreas retinotópicas do córtex visual enquanto que as respostas negativas são evocadas ao redor do córtex não estimulado (HAREL et al., 2002; SHMUEL et al., 2002, 2006). Além disso, estes trabalhos também demonstram haver uma forte correlação entre as respostas BOLD positiva e negativa.

6.3.5 ÁREAS DO SISTEMA LÍMBICO

A ínsula desempenha um papel em diversas funções, geralmente ligada ao processamento das emoções e ao regulamento homeostático do organismo. Estas funções incluem a percepção, o controle motor, a auto-consciência, o funcionamento cognitivo e a experiência interpessoal. Estudos demonstram que o processamento das sensações vestibulares se estendem até a ínsula (MARCELLI et al., 2009; EICKHOFF et al., 2006b; DIETERICH et al., 2003a; FASOLD et al., 2002; SUZUKI et al., 2001), pequenas lesões no córtex insular anterior podem causar perda de equilíbrio e vertigem (PAPATHANASIOU et al., 2006). Além disso, a área correspondente ao PIVC é geralmente considerada como sendo o córtex vestibular principal, pois as informações de outras áreas corticais vestibulares convergem para esta área (GULDIN; GRÜSSER, 1998). Ainda, a maioria dos neurônios da área PIVC recebem entradas vestibulares e a estimulação desta área produz sensação vestibular em humanos (PENFIELD, 1957), lesões desta área causam danos na percepção da subjetiva vertical (BRANDT et al., 1994), auras vestibulares em pacientes com epilepsia estão relacionadas com a ativação desta área (SMITH, 1960 apud LOBEL et al., 1998) e o fluxo cerebral sanguíneo da área PIVC aumenta durante a estimulação vestibular (FRIBERG et al., 1985 apud LOBEL et al., 1998). Confirmando estes achados, esta região apresentou RBP nos estudos envolvendo a estimulação galvânica vestibular em voluntários sadios em exames de RMf (LOBEL et al., 1998; BUCHER et al., 1998; BENSE et al., 2001; FINK et al., 2003; STEPHAN et al., 2005; SMITH et al., 2012).

O córtex do cíngulo está envolvido com a formação e o processamento das emoções, com o aprendizado e com a memória. Nos trabalhos de Wall e Smith (2008) e Cardin e Smith (2010) eles sugerem um papel importante do sulco do cíngulo na codificação do *egomotion*. Além disso, esta região também apresentou RBP em trabalhos prévios com a estimulação galvânica vestibular na RMf (BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005; SMITH et al., 2012).

6.3.6 ÁREAS SUBCORTICAIS

O cerebelo está diretamente relacionado ao controle motor. Disfunções cerebelares geram problemas no controle motor, os sujeitos continuam capazes de gerar a atividade motora, mas perdem a precisão, produzindo movimentos errados, descoordenados ou incoerentes (MA-

CHADO, 2005). Estudos mostraram que a função básica do cerebelo não é iniciar os movimentos ou decidir qual movimento executar, mas sim é calibrar a forma detalhada do movimento (HOUK et al., 1996). Além disso, o vermis (parte central do cerebelo) recebe informações visual, auditiva e vestibular além de informações somatosensoriais da cabeça e de partes próximas do corpo. O córtex vestibulocerebelar também recebe entradas visuais de fibras originárias do colículo superior e do córtex estriado, estas vias visuais são distribuídas para o lobo posterior (GHEZ; THACH, 2000). Alguns estudos demonstraram que este órgão está relacionado com várias outras funções (PELLIONISZ; LLINÁS, 1982; KRUPA et al., 1993; LEINER et al., 1993) além da motora. Estudos de neuroimagem funcional demonstraram que a função cerebelar está relacionada com tarefas de linguagem, de atenção e de imagens mentais, alguns estudos mostram interações existentes entre o cerebelo e áreas não motoras do córtex cerebral (DOYA, 2000). Doya (2000) propõe que o cerebelo é como um dispositivo supervisionado para aprendizagem, em contraste com os gânglios da base, os quais realizam o reforço do aprendizado, e do córtex cerebral, o qual executa o aprendizado sem supervisão. A relação do cerebelo com o sistema vestibular pode ser confirmada pela demonstração da RBP nos estudos de Bense et al. (2001) e Stephan et al. (2005). Além da RBP do cerebelo pela estimulação galvânica vestibular o trabalho de Stephan et al. (2005) mostrou uma RBN dos lóbulos IV e V do vermis cerebelar durante a utilização de uma frequência de 0,3 Hz. Nesta linha, o trabalho aqui apresentado mostrou uma RBN no cerebelo esquerdo para uma frequência de 1,0 Hz durante a realização das tarefas visual e vestibular simultaneamente.

O putâmen tem muitas funções, sendo que as principais são regular os movimentos (MARCH et al., 2008) e influenciar vários tipos de aprendizado (PACKARD; KNOWLTON, 2002). Como esta estrutura está interligada com várias estruturas, elas trabalham em conjunto para controlar vários tipos de habilidades motoras, as quais incluem o controle do aprendizado motor, o desempenho das tarefas motoras (DELONG, 2000), a preparação motora (ALEXANDER; CRUTCHER, 1990), especificar a amplitude do movimento (DELONG, 2000) e a sequência dos movimentos (MARCH et al., 2008). Desse modo, a sua relação com o sistema vestibular foi demonstrada em trabalhos envolvendo a estimulação galvânica vestibular e a RMf (BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005). Graziano e Gross (1993) demonstraram que alguns neurônios pertencentes ao putâmen de macacos são bimodais, respondem a estímulos visuais e somatosensoriais, enquanto outros respondem apenas a estímulos puramente visual ou puramente somatosensorial. Dessa forma, os autores sugerem que as células bimodais nas áreas 6, 7 e VIP e no putâmen formam parte de um sistema interconectado que representa o espaço extrapessoal de um modo somatotópico em macacos. Um outro trabalho também relata regiões pertencentes ao putâmen exclusivamente relacionados com o sistema visual (CAAN et

al., 1984).

O tálamo possui a função de retransmitir os sinais sensorial e motor para o córtex cerebral (SHERMAN, 2006) e, também, de regular a consciência, o sono e o estado de alerta. Cada sistema sensorial (com a exceção do sistema olfativo) possui núcleos talâmicos, os quais recebem os sinais sensoriais e enviam para as áreas corticais primárias associadas. No caso do sistema visual, os sinais vindos da retina são enviados para o núcleo geniculado lateral do tálamo, o qual projeta a informação para o córtex visual primário (área V1) no lóbulo occipital. Acredita-se que o tálamo tanto processa as informações sensoriais como as retransmite - cada uma das principais áreas de retransmissão recebe fortes projeções de volta do córtex cerebral. Da mesma maneira o núcleo ventral posterior é o retransmissor somatosensorial, o qual envia as informações tátil e proprioceptivas para o córtex somatosensorial primário. No entanto, a contribuição do tálamo para o processamento da função vestibular é quase ignorada apesar de este mostrar RBP em estudos com a estimulação galvânica vestibular em RMf (BUCHER et al., 1998; BENSE et al., 2001; STEPHAN et al., 2005).

Os principais achados do presente estudo indicam que o padrão de interação inibitória recíproco existente entre os sistemas visual e vestibular também encontra-se presente durante o processamento de estímulos visual-vestibular conflitantes. Estes resultados ainda demonstram que existe uma interação funcional em áreas frontais, durante a apresentação de estímulos visual-vestibular conflitantes, e que esta interação é afetada por áreas associativas intermodais dos lobos occipital, parietal e temporal.

Este capítulo apresentou uma discussão detalhada dos principais resultados encontrados durante o progresso deste trabalho. No próximo capítulo são apresentadas as principais contribuições desta pesquisa e sugestões de trabalhos futuros que podem ser realizados.

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste capítulo são apresentados as principais contribuições deste trabalho e, é finalizado, sugerindo possíveis trabalhos futuros que deem continuidade a esta pesquisa.

7.1 CONCLUSÕES

As pesquisas realizadas neste trabalho tiveram por objetivo contribuir para o entendimento da relação existente entre os sistemas visual e vestibular. Para isso foi preciso entender, desenvolver e validar as técnicas necessárias para a realização dos experimentos de ressonância magnética funcional. Nesse sentido, o primeiro passo foi realizar a validação *in vivo* de um estimulador galvânico para o sistema vestibular que possuísse todos os requisitos de segurança e compatibilidade com o equipamento de ressonância magnética. Os projetos de circuito eletrônico para operar em ambientes como a sala de magneto não são simples. Tal projeto foi tema de uma dissertação de mestrado (MANCZAK, 2012). Isto posto, o EGV avaliado foi desenvolvido de forma que os circuitos que fazem o fornecimento da corrente, localizado dentro da sala do magneto, contivessem apenas circuitos analógicos, a blindagem destes dispositivos foi realizada inserindo os componentes dentro de uma caixa de alumínio. A caixa de alumínio evita a interferência eletromagnética gerada pelos circuitos do EGV assim, isto foi realizado para que as emissões de RF geradas pelos circuitos não prejudicassem a qualidade das imagens geradas pelo equipamento de RM. No entanto, o segundo modo (*Gerador de sinal*) foi construído com circuitos digitais e a transmissão do sinal entre os dois modos foi feita por fibra óptica. Além disso, o estimulador possui um sistema de segurança que monitora continuamente a corrente que está sendo aplicada ao voluntário e se, por qualquer razão, a corrente ultrapassar 5 mA o circuito de segurança é automaticamente acionado, impedindo que chegue corrente até o voluntário. Ainda, o voluntário tem o seu próprio sistema de segurança, uma chave que permite a passagem de corrente se pressionada e a interrupção desta se for solta. O software desenvolvido para controlar o EGV possui uma interface intuitiva e permite que o usuário selecione a forma de onda (senoidal, quadrada, dente-de-serra ou zero), a amplitude de corrente (de 0,1 até 5 mA), a frequência (de 0,1 até 10 Hz), o tempo de duração (de 1 até 60 s) e o número de repetições

(isto é, o número de volumes do sistema de RM, de 1 a 250), além do tipo de sincronismo desejado (automático – se for permitido pelo fabricante – ou manual). Os resultados das medidas realizadas para verificar a qualidade das imagens demonstraram que não houve interferência no sistema de RM devido a presença do EGV e vice-versa.

Dentre as tarefas empregadas, a estimulação puramente visual mostrou RBP dos córtices visual primário e associativo, enquanto que a estimulação vestibular levou a RBP das principais áreas envolvidas com a função multimodal do sistema vestibular, como o córtex parietoinsular vestibular, o lóbulo parietal inferior, o giro temporal superior, o giro pré-central e o cerebelo. A estimulação simultânea dos sistemas visual e vestibular resultou na RBP dos giros frontal médio e inferior. A RBN de áreas relacionadas com o sistema vestibular (lóbulo parietal superior e cerebelo) e somatosensorial (giro pós-central) só foram observadas durante a condição simultânea. Nesta condição e na condição puramente visual também foram observadas áreas com RBN pertencentes ao córtex visual (giro calcarino, giro lingual, cúneos e pré-cúneos). Além disso, houve um menor índice de significância, um menor número de voxels com RBP e uma redução da MPS durante a condição bimodal. Este padrão foi previamente descrito em estudos envolvendo exclusivamente a ativação do sistema vestibular e visual separadamente e não foi utilizada a estimulação galvânica vestibular simultaneamente com um estímulo puramente visual. Desta forma, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com esse padrão e mostraram-se mais evidentes durante a estimulação simultânea dos sistemas visual e vestibular. Ainda, os resultados apresentados neste trabalho indicam que as regiões frontais (córtex dorsomedial pré-frontal e giro frontal superior) estão envolvidas com o processamento da função executiva quando existem informações conflitantes dos sistemas visual e vestibular. Esta é a primeira vez que a estimulação galvânica vestibular foi utilizada em conjunto com um estímulo puramente visual (sem movimento) em estudos de RMf.

7.2 TRABALHOS FUTUROS

- Incorporar a uma nova versão do estimulador galvânico vestibular algumas facilidades e serviços que foram identificadas durante a realização deste trabalho;
- Aprimorar a análise das regiões com respostas BOLD positiva e negativa nos diferentes estudos pela avaliação das respostas interindividuais;
- Realizar a análise da dominância hemisférica da função vestibular pelo cálculo do índice de lateralização;
- Ampliar o grupo de estudos empregando os mesmos paradigmas em pacientes com dis-

túrbios vestibulares e, desta forma, investigar o uso da RMf como forma de auxílio para diagnóstico de doenças vestibulares;

- Avaliar possíveis alteração nas respostas BOLD positiva e negativa nas áreas encefálicas envolvidas com o processamento de estímulos vestibular antes e depois dos pacientes realizarem procedimentos de reabilitação vestibular.
- Realizar o estudo da ação de fármacos do sistema vestibular avaliando as respostas BOLD positiva e negativa antes e depois da administração de medicamentos.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, G.; CRUTCHER, M. Preparation for movement: neural representations of intended direction in three motor areas of the monkey. *Abstract. Journal of Neurophysiology*, v. 64, p. 133–150, 1990.
- ALLISON, J. D.; MEADOR, K. J.; LORING, D. W.; FIGUEROA, R. E.; WRIGHT, J. C. Functional MRI cerebral activation and deactivation during finger movement. *Neurology*, v. 54, p. 135–142, 2000.
- ALLISON, T.; MCCARTHY, G.; A, A. N.; A, A. P.; BELGER, A. Human extrastriate visual cortex and the perception of faces, words, numbers, and colors. *Cerebral Cortex*, v. 4, p. 544–554, 1994.
- ANDERSON, T.; JENKINS, I.; BROOKS, D.; HAWKEN, M.; FRACKOWIAK, R.; KENNARD, C. Cortical control of saccades and fixation in man. A PET study. *Brain*, v. 117, p. 1073–1084, 1994.
- ARAÚJO, D. de. **Sobre Neuroimagens Funcionais por Magnetoencefalografia e Ressonância Magnética: Novos Métodos e Aplicações**. Tese (Doutorado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) — Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2002.
- AW, S. T.; TODD, M. J.; HALMAGYI, G. M. Latency and initiation of the human vestibulo-ocular reflex to pulsed galvanic stimulation. *Journal of Neurophysiology*, v. 96, p. 925–930, 2006.
- BANDETTINI, P. A.; WONG, E. C.; HINKS, R. S.; TIKOFSKY, R. S.; HYDE, J. S. Time course EPI of human brain function during task activation. *Magnetic Resonance in Medicine*, v. 25, p. 390–397, 1992.
- BARTELS, A.; LEENDERS, K. Brain imaging in patients with freezing of gait. *Movement Disorders*, v. 23, p. S461–S467, 2008.
- BEAUCHAMP, M.; JE, J. H.; JENNINGS, DEYOE, E. An fMRI version of the farnsworth-munsell 100-hue test reveals multiple color-selective areas in human ventral occipitotemporal cortex. *Cerebral Cortex*, v. 3, p. 257–263, 1999.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society - Series B: Statistical Methodology*, v. 57, p. 289–300, 1995.
- BENSE, S.; STEPHAN, T.; YOUSRY, T.; BRANDT, T.; DIETERICH, M. Multisensory cortical signal increases and decreases during vestibular galvanic stimulation (fMRI). *Journal of Neurophysiology*, v. 85(2), p. 886–899, 2001.
- BERTHOZ, A. The role of inhibition in the hierarchical gating of executed and imagined movements. *Cognitive Brain Research*, v. 3, p. 101–113, 1996.

- BERTHOZ, A.; ISRAËL, I.; GEORGES-FRANÇOIS, P.; GRASSO, R.; TSUZUKU, T. Spatial memory of body linear displacement: What is being stored? **Science**, v. 269, p. 95–98, 1995.
- BEST, C.; ECKHARDT-HENN, A.; DIENER, G.; BENSE, S.; BREUER, P.; DIETERICH, M. Interaction of somatoform and vestibular disorders. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 77, p. 658–664, 2006.
- BIANCIARDI, M.; FUKUNAGA, M.; GELDEREN, P. van; ZWART, J. de; DUYN, J. Negative BOLD-fMRI signals in large cerebral veins. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 31, p. 401–412, 2011.
- BLOCH, F. Nuclear induction. **Physical Review**, v. 70, p. 460, 1946.
- BORN, R.; BRADLEY, D. Structure and function of visual area MT. **Annual Review of Neuroscience**, v. 28, p. 157–189, 2005.
- BOTTINI, G.; STERZI, R.; PAULESU, E.; VALLAR, G.; CAPPÀ, S.; ERMINIO, F.; PAS-SINGHAM, R.; FRITH, C.; FRACKOWIAK, R. Identification of the central vestibular projections in man: a positron emission tomography activation study. **Experimental Brain Research**, v. 99, p. 164–169, 1994.
- BRANDT, T.; BARTENSTEIN, P.; JANEK, A.; DIETERICH, M. Reciprocal inhibitory visual-vestibular interaction. Visual motion stimulation deactivates the parieto-insular vestibular cortex. **Brain**, v. 121, p. 1749–1758, 1998.
- BRANDT, T.; DIETERICH, M. The vestibular cortex. Its locations, functions, and disorders. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 871, p. 293–312, 1999.
- BRANDT, T.; DIETERICH, M.; DANEK, A. Vestibular cortex lesions affect the perception of verticality. **Annals of Neurology**, v. 35, p. 403–412, 1994.
- BREMMER, F.; SCHLACK, A.; DUHAMEL, J.-R.; GRAF, W.; FINK, G. R. Space coding in primate posterior parietal cortex. **NeuroImage**, v. 14, p. S46S51, 2001.
- BRESSLER, D.; SPOTSWOOD, N.; WHITNEY, D. Negative BOLD fMRI response in the visual cortex carries precise stimulus-specific information. **PLoS ONE**, v. 2, p. e410, 2007.
- BROWN, M. R.; VILIS, T.; EVERLING, S. Isolation of saccade inhibition processes: rapid event-related fMRI of saccades and nogo trials. **NeuroImage**, v. 39, p. 793–804, 2008.
- BUCHER, S. F.; DIETERICH, M.; WIESMANN, M.; WEISS, A.; ZINK, R.; YOUSRY, T. A.; BRANDT, T. Cerebral functional magnetic resonance imaging of vestibular, auditory, and nociceptive areas during galvanic stimulation. **Annals of Neurology**, v. 44, p. 120–125, 1998.
- CAAN, W.; PERRETT, D.; ROLLS, E. Responses of striatal neurons in the behaving monkey. 2. Visual processing in the caudal neostriatum. **Brain Research**, v. 290, p. 53–65, 1984.
- CARDIN, V.; SMITH, A. Sensitivity of human visual and vestibular cortical regions to egomotion-compatible visual stimulation. **Cerebral Cortex**, v. 20, p. 1964–1973, 2010.
- COSTA, S.; CRUZ, O.; OLIVEIRA, J. **Otorrinolaringologia: Princípios e Prática**. 1a. ed. Porto Alegre: Artmed, 1994.

DELLA-JUSTINA, H.; MANCZAK, T.; WINKLER, A.; ARAÚJO de D.; SOUZA, M. de; JR, E. A.; GAMB, H. Galvanic vestibular stimulator for fMRI studies. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 30, p. 1–13, 2014.

DELLA-JUSTINA, H.; PASTORELLO, B.; SANTOS-PONTELLI, T.; PONTES-NETO, O.; SANTOS, A.; BAFFA, O.; COLAFEMINA, J.; LEITE, J.; ARAÚJO, D. de. Human variability of fMRI brain activation in response to oculomotor stimuli. **Brain Topography**, v. 20, p. 113–121, 2008.

DELLA-JUSTINA, H. M. **Variabilidade da atividade cerebral em resposta a estímulos vestibular e oculomotor avaliada por fMRI**. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) — Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

DELONG, M. The basal ganglia. In: KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.; JESSELL, T. (Ed.). **Principles of Neural Science**. 4a. ed. New York: McGraw-Hill, 2000. p. 854–867.

DEUTSCHLÄNDER, A.; BENSE, S.; STEPHAN, T.; SCHWAIGER, M.; BRANDT, T.; DIETERICH, M. Sensory system interactions during simultaneous vestibular and visual stimulation in pet. **Human Brain Mapping**, v. 16, p. 92–103, 2002.

DEVOR, A.; TIAN, P.; NISHIMURA, N.; TENG, I.; HILLMAN, E.; NARAYANAN, S.; ULBERT, I.; BOAS, D.; KLEINFELD, D.; DALE, A. Suppressed neuronal activity and concurrent arteriolar vasoconstriction may explain negative blood oxygenation level-dependent signal. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, p. 4452–4459, 2007.

DIETERICH, M.; BENSE, S.; LUTZ, S.; DRZEZGA, A.; STEPHAN, T.; BARTENSTEIN, P.; BRANDT, T. Dominance for vestibular cortical function in the non-dominant hemisphere. **Cerebral Cortex**, v. 13, p. 994–1007, 2003b.

DIETERICH, M.; BENSE, S.; STEPHAN, T.; YOUSRY, T. A.; BRANDT, T. fMRI signal increases and decreases in cortical areas during small-field optokinetic stimulation and central fixation. **Experimental Brain Research**, v. 148, p. 117127, 2003a.

DIETERICH, M.; BUCHER, S. F.; SEELOS, K. C.; BRANDT, T. Horizontal or vertical optokinetic stimulation activates visual motion-sensitive, ocular motor and vestibular cortex areas with right hemispheric dominance. An fMRI study. **Brain**, v. 121, p. 1479–1495, 1998.

DISALLE, F.; FORMISANO, E.; LINDEN, D.; GOEBEL, R.; BONAVITA, S.; PEPINO, A.; SMALTINO, F.; TEDESCHI, G. Exploring brain function with magnetic resonance imaging. **European Journal of Radiology**, v. 30, p. 84–94, 1999.

DOWKER, A. What can functional brain imaging studies tell us about typical and atypical cognitive development in children? **Journal of Physiology – Paris**, v. 99, p. 333–341, 2006.

DOYA, K. Complementary roles of basal ganglia and cerebellum in learning and motor control. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, p. 732–739, 2000.

EICKHOFF, S.; HEIM, S.; ZILLES, K.; AMUNTS, K. Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps. **NeuroImage**, v. 32, p. 570–582, 2006a.

- EICKHOFF, S.; PAUS, T.; CASPERS, S.; GROSBRAS, M.; EVANS, A.; ZILLES, K.; AMUNTS, K. Assignment of functional activations to probabilistic cytoarchitectonic areas revisited. **NeuroImage**, v. 36, p. 511–521, 2007.
- EICKHOFF, S.; STEPHAN, K.; MOHLBERG, H.; GREFKES, C.; FINK, G.; AMUNTS, K.; ZILLES, K. A new spm toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. **NeuroImage**, v. 25, p. 1325–1335, 2005.
- EICKHOFF, S.; WEISS, P.; AMUNTS, K.; FINK, G.; ZILLES, K. Identifying human parieto-insular vestibular cortex using fMRI and cytoarchitectonic mapping. **Human Brain Mapping**, v. 27, p. 611–621, 2006b.
- ENCYCLOPÆDIA BRITANNICA. **Vestibular System**. **Art. Encyclopædia Britannica Online**. 1997. Disponível em: <<http://www.britannica.com/EBchecked/media/533/The-membranous-labyrinth-of-the-vestibular-system-which-contains-the>>. Acesso em: 20 Mar. 2014 .
- ETTINGER, U.; FFTCHE, D.; KUMARI, V.; KATHMANN, N.; BREUTER; ZELAYA, F.; WILLIAMS, S. Decomposing the neural correlates of antisaccade eye movements using event-related fMRI. **Cerebral Cortex**, v. 18(5), p. 1148–1159, 2008.
- FASOLD, O.; BREVERN, M. von; KUHBERG, M.; PLONER, C.; VILLRINGER, A.; LEMPERT, T.; WENZEL, R. Human vestibular cortex as identified with caloric stimulation in functional magnetic resonance imaging. **NeuroImage**, v. 17, p. 1384–1393, 2002.
- FINK, G.; MARSHALL, J.; WEISS, P.; STEPHAN, T.; GREFKES, C.; SHAH, N.; ZILLES, K.; DIETERICH, M. Performing allocentric visuospatial judgments with induced distortion of the egocentric reference frame: an fMRI study with clinical implications. **NeuroImage**, v. 20, p. 1505–1517, 2003.
- FISCHER, B.; BISCALDI, M.; GEZECK, S. On the development of voluntary and reflexive components in human saccade generation. **Brain Research**, v. 754, p. 285–297, 1997.
- FITZPATRICK, R. C.; DAY, B. L. Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. **Journal of Applied Physiology**, v. 96, p. 2301–2316, 2004.
- FOX, P.; RAICHLE, M. Stimulus rate determines regional brain blood flow in striate cortex. **Annals of Neurology**, v. 17, p. 3035, 1985.
- FRIEDMAN, L.; GLOVER, G. Report on a multicenter fMRI quality assurance protocol. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 23, p. 827–839, 2006.
- FRISTON, K. Introduction: Experimental design and statistical parametric mapping. In: FRACKOWIAK, R.; FRISTON, K.; FRITH, C.; DOLAN, R.; FRISTON, K.; PRICE, C.; ZEKI, S.; ASHBURNER, J.; PENNY, W. (Ed.). **Human Brain Function**. 2nd. ed. [S.l.]: Academic Press, 2003.
- FRISTON, K. J.; HOLMES, A. P.; WORSLEY, K. J.; POLINE, J. P.; FRITH, C. D.; FRACKOWIAK, R. S. J. Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. **Human Brain Mapping**, v. 2, p. 189–210, 1995.
- FRISTON, K. J.; JEZZARD, P.; TURNER, R. Analysis of functional MRI time series. **Human Brain Mapping**, v. 1, p. 153–171, 1994.

- FRISTON, K. J.; WILLIAMS, S.; HOWARD, R.; FRACKOWIAK, R. S. J.; TURNER, R. Movement-related effects in fMRI time-series. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 35, p. 346–355, 1996.
- GANANÇA, F. F.; CASTRO, A. S. O.; BRANCO, F. C.; NATOUR, J. Interferência da tontura na qualidade de vida de pacientes com síndrome vestibular periférica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 70, p. 94–101, 2004.
- GHEZ, C.; THACH, W. The cerebellum. In: KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.; JESSELL, T. (Ed.). **Principles of Neural Science**. 4a. ed. New York: McGraw-Hill, 2000. p. 833–853.
- GOEBEL, R. **BrainVoyager QX User's Guide**. 2013. Disponível em: <<http://support.brainvoyager.com/functional-analysis-statistics/35-glm-modelling-a-single-study/82-users-guide-the-general-linear-model.html>>. Acesso em: 26 Mar. 2014 .
- GOODALE, M.; MILNER, A. Separate visual pathways for perception and action. **Trends in Neurosciences**, v. 15, p. 20–25, 1992.
- GRAZIANO, M.; GROSS, C. A bimodal map of space: somatosensory receptive fields in the macaque putamen with corresponding visual receptive fields. **Experimental Brain Research**, v. 97, p. 96–109, 1993.
- GULDIN, W.; GRÜSSER, O. Is there a vestibular cortex? **Trends in Neurosciences**, v. 21, p. 254–259, 1998.
- GUSNARD, D.; RAICHLE, M. Searching for baseline: functional imaging and the resting human brain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, p. 685–694, 2001.
- HALLER, S.; FASLER, D.; OHLENDORF, S.; RADUE, E. W.; GREENLEE, M. W. Neural activation associated with corrective saccades during tasks with fixation, pursuit and saccades. **Experimental Brain Research**, v. 184, p. 83–94, 2008.
- HAREL, N.; LEE, S.; NAGAOKA, T.; KIM, D.; KIM, S. Origin of negative blood oxygenation level-dependent fMRI signals. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 22, p. 908–917, 2002.
- HOUK, J. C.; BUCKINGHAM, J. T.; BARTO, A. G. Models of the cerebellum and motor learning. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 19, p. 368–383, 1996.
- HUETTEL, S. A.; SONG, A. W.; MCCARTHY, G. **Functional Magnetic Resonance Imaging**. 1a. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2004.
- HUNGRIA, H. **Otorrinolaringologia**. 6a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 488 p.
- JAHN, K.; DEUTSCHLÄNDER, A.; STEPHAN, T.; STRUPP, M.; WIESMANN, M.; BRANDT, T. Brain activation patterns during imagined stance and locomotion in functional magnetic resonance imaging. **NeuroImage**, v. 22, p. 1722–1731, 2004.
- JEZZARD, P.; CLARE, S. Principles of nuclear magnetic resonance and MRI. In: JEZZARD, P.; MATTHEWS, P.; SMITH, S. (Ed.). **Functional MRI: An Introduction to Methods**. [S.l.]: Oxford University Press, 2001.

KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.; JESSELL, T. **Principles of Neural Science**. 4a. ed. New York: McGraw-Hill, 2000.

KANOWSKI, M.; RIEGER, J. W.; NOESSELT, T.; TEMPELMANN, C.; HINRICHS, H. Endoscopic eye tracking system for fMRI. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 160, p. 10–15, 2007.

KLEINSCHMIDT, A.; THILO, K. V.; BÜCHEL, C.; GREY, M. A.; BRONSTEIN, A. M.; FRACKOWIAK, R. S. J. Neural correlates of visual-motion perception as object- or self-motion. **NeuroImage**, v. 16, p. 873–882, 2002.

KNOX AUDIOLOGY LTD. **Hearing & Testing. How do we hear?** 2014. Disponível em: <<http://www.knoxaudiology.com.au/hearing-and-testing/how-do-we-hear>>. Acesso em: 21 Mar. 2014 .

KOYAMA, M.; HASEGAWA, I.; OSADA, T.; ADACHI, Y.; NAKAHARA, K.; MIYASHITA, Y. Functional magnetic resonance imaging of macaque monkeys performing visually guided saccade tasks: comparison of cortical eye fields with humans. **Neuron**, v. 41, p. 795–807, 2004.

KRUPA, D.; THOMPSON, J.; THOMPSON, R. Localization of a memory trace in the mammalian brain. **Science**, v. 260, p. 989–991, 1993.

KWONG, K. K.; BELLIVEAU, J. W.; CHESLER, D. A.; GOLDBERG, I. E.; WEISSKOFF, R. M.; PONCELET, B. P.; KENNEDY, D. N.; HOPPEL, B. E.; COHEN, M. S.; TURNER, R.; CHENG, H.-M.; BRADY, T. J.; ROSEN, B. R. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 89, p. 5675–5679, 1992.

LAUTERBUR, P. Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. **Nature**, v. 242, p. 190–191, 1973.

LEINER, H.; LEINER, A.; DOW, R. Cognitive and language functions of the human cerebellum. **Trends in Neurosciences**, v. 16, p. 444–447, 1993.

LIU, T. T.; FRANK, L. R.; WONG, E. C.; BUXTON, R. B. Detection power, estimation efficiency, and predictability in event-related fMRI. **NeuroImage**, v. 13, p. 759–773, 2001.

LOBEL, E.; KLEINE, J. F.; BIHAN, D. L.; LEROY-WILLIG, A.; BERTHOZ, A. Functional MRI of galvanic vestibular stimulation. **Journal of Neurophysiology**, v. 80, p. 2699–2709, 1998.

LOGOTHETIS, N.; PAULS, J.; AUGATH, M.; TRINATH, T.; OELTERMANN, A. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. **Nature**, v. 412, p. 150–157, 2001.

LOGOTHETIS, N. K. The neural basis of the blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging signal. **Philosophical Transactions of The Royal Society of London - Series B: Biological Sciences**, v. 357, p. 1003–1037, 2002.

LUKASOVA, K. **Movimento ocular em crianças e adultos: estudo comparativo com uso integrado de RMf e Eye Tracking**. Tese (Doutorado em Radiologia) — Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MACDOUGALL, H. G.; MOORE, S. T.; CURTHOYS, I. S.; BLACK, F. O. Modeling postural instability with galvanic vestibular stimulation. **Experimental Brain Research**, v. 172, p. 208–220, 2006.

MACHADO, A. B. **Neuroanatomia Funcional**. 2nd. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

MANCZAK, T. **Estimulador Galvânico Vestibular para fMRI**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) — Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

MANCZAK, T.; OLIVEIRA, P. H. de; JUSTINA, H. M. D.; ZWICK, A.; GAMBA, H. R. Estimulador vestibular para fMRI. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica**, v. 1, p. 243–246, 2010.

MARCELLI, V.; ESPOSITO, F.; ARAGRI, A.; FURIA, T.; RICCARDI, P.; TOSETTI, M.; BIAGI, L.; MARCIANO, E.; SALLE, F. D. Spatio-temporal pattern of vestibular information processing after brief caloric stimulation. **European Journal of Radiology**, v. 70, p. 312–316, 2009.

MARCH, W.; LEE, J.; THATCHER, J.; HSU, E.; RASHKIN, E.; SUCHY, Y.; CHELUNE, G.; STARR, J.; BARBER, S. Putamen coactivation during motor task execution. **Neuroreport**, v. 19, p. 957–960, 2008.

MEDENDORP, W. P.; GOLTZ, H. C.; VILIS, T. Directional selectivity of BOLD activity in human posterior parietal cortex for memory-guided double-step saccades. **Journal of Neurophysiology**, v. 95, p. 1645–1655, 2006.

MEDICINA NET. **O paciente com tontura – Elliot M Frohman MD PhD**. 2012. Disponível em: <<http://www.medicinanet.com.br>>. Acesso em: 25 Mar. 2014 .

MINOR, L. B. Physiological principles of vestibular function on earth and in space. **Otolaryngology Head and Neck Surgery**, v. 118, p. S5–15, 1998.

MOORE, S. T.; MACDOUGALL, H. G.; PETERS, B. T.; BLOOMBERG, J. J.; CURTHOYS, I. S.; COHEN, H. S. Modeling locomotor dysfunction following spaceflight with galvanic vestibular stimulation. **Experimental Brain Research**, v. 174, p. 647–659, 2006.

NACHEV, P.; KENNARD, C.; HUSAIN, M. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, p. 856–869, 2008.

NAGEL, M.; SPRENGER, A.; ZAPF, S.; ERDMANN, C.; KOMPF, D.; HEIDE, W.; BINKOFSKI, F.; LENCER, R. Parametric modulation of cortical activation during smooth pursuit with and without target blanking. An fMRI study. **NeuroImage**, v. 29, p. 1319–1325, 2006.

NEUHAUSER, H. K. Epidemiology of vertigo. **Current Opinion in Neurology**, v. 20, p. 40–46, 2007.

OGAWA, S.; LEE, T. M.; KAY, A. R.; TANK, D. W. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 87, p. 9868–9872, 1990b.

OGAWA, S.; LEE, T. M.; NAYAK, A. S.; GLYNN, P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 14, p. 68–78, 1990a.

OGAWA, S.; MENON, R. S.; KIM, S. G.; UGURBIL, K. On the characteristics of functional magnetic resonance imaging of the brain. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v. 27, p. 447–474, 1998.

OGAWA, S.; TANK, D. W.; MENON, R.; ELLERMANN, J. M.; KIM, S.-G.; MERKLE, H.; UGURBIL, K. Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 89, p. 5951–5955, 1992.

OLIVEIRA, P. de; MANCZAK, T. **Estimulador Galvânico Vestibular para Ressonância Magnética Funcional**. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) — Departamento Acadêmico de Eletrônica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PACKARD, M. G.; KNOWLTON, B. J. Learning and memory functions of the basal ganglia. **Annual Review of Neuroscience**, v. 25, p. 563–593, 2002.

PAPATHANASIOU, E.; PAPACOSTAS, S.; CHARALAMBOUS, M.; ERACLEOUS, E.; THODI, C.; PANTZARIS, M. Vertigo and imbalance caused by a small lesion in the anterior insula. **Electromyography and Clinical Neurophysiology**, v. 46, p. 185–192, 2006.

PASLEY, B.; INGLIS, B.; FREEMAN, R. Analysis of oxygen metabolism implies a neural origin for the negative BOLD response in human visual cortex. **NeuroImage**, v. 36, p. 269–276, 2007.

PELLIONISZ, A.; LLINÁS, R. Space-time representation in the brain. the cerebellum as a predictive space-time metric tensor. **Neuroscience**, v. 7, p. 2949–2970, 1982. ISSN 0306-4522.

PETIT, L.; HAXBY, J. Functional anatomy of pursuit eye movements in humans as revealed by fMRI. **Journal of Neurophysiology**, v. 82, p. 463–471, 1999.

PURCELL, E. M.; TORREY, H. C.; POUND, R. V. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. **Physical Review**, v. 69, p. 37, 1946.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A.-S.; MCNAMARA, J. O.; WHITE, L. E. **Neuroscience**. 4a. ed. [S.l.]: Sinauer Associates, 2007.

QUIZLET. **Chapter 15. Special senses. Part 8 – Balance and Labyrinth**. 2014. Disponível em: <<http://quizlet.com/8369614/ap-15-special-senses-part-8-labyrinths-flash-cards/>>. Acesso em: 21 Mar. 2014 .

SCHNEIDER, E.; GLASAUER, S.; DIETERICH, M. Central processing of human ocular torsion analyzed by galvanic vestibular stimulation. **Neuroreport**, v. 11, p. 1559–1563, 2000.

SCHUBERT, T.; SZAMEITAT, A. J. Functional neuroanatomy of interference in overlapping dual tasks: an fMRI study. **Cognitive Brain Research**, v. 17, p. 733–746, 2003.

SHERMAN, S. Thalamus. **Scholarpedia**, v. 1, p. 1583, 2006.

- SHMUEL, A.; AUGATH, M.; OELTERMANN, A.; LOGOTHETIS, N. Negative functional MRI response correlates with decreases in neuronal activity in monkey visual area V1. **Nature Neuroscience**, v. 9, p. 569–577, 2006.
- SHMUEL, A.; YACOUB, E.; PFEUFFER, J.; MOORTELE, P. V. de; ADRIANY, G.; HU, X.; UGURBIL, K. Sustained negative bold, blood flow and oxygen consumption response and its coupling to the positive response in the human brain. **Neuron**, v. 36, p. 1195–1210, 2002.
- SHULMAN, G. L.; CORBETTA, M.; BUCKNER, R. L.; RAICHLE, M. E.; F, J. A. F.; MIEZIN, M.; PETERSEN, S. E. Top-down modulation of early sensory cortex. **Cerebral Cortex**, v. 7, p. 193–206, 1997a.
- SHULMAN, R.; ROTHMAN, D.; HYDERA, F. A BOLD search for baseline. **NeuroImage**, v. 36, p. 277–281, 2007.
- SINGH, M.; KIM, S.; KIM, T. Correlation between bold-fmri and eeg signal changes in response to visual stimulus frequency in humans. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 49, p. 10814, 2003.
- SMITH, A.; BLUMENFELD, H.; BEHAR, K.; ROTHMAN, D.; SHULMAN, R.; HYDER, F. Cerebral energetics and spiking frequency: the neurophysiological basis of fMRI. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 10765–10770, 2002.
- SMITH, A. T.; WALL, M. B.; THILO, K. V. Vestibular inputs to human motion-sensitive visual cortex. **Cerebral Cortex**, v. 22, p. 1068–1077, 2012.
- SMITH, S. M. Preparing fMRI data for statistical analysis. In: JEZZARD, P.; MATHEWS, P. M.; SMITH, S. M. (Ed.). **Functional MRI: An Introduction to Methods**. 1a. ed. [S.l.]: Oxford University Press, 2001. p. 229–241.
- STEFANOVIC, B.; WARNKING, J.; PIKE, G. Hemodynamic and metabolic responses to neuronal inhibition. **NeuroImage**, v. 22, p. 771–778, 2004.
- STEPHAN, T.; DEUTSCHL'ANDER, A.; NOLTE, A.; SCHNEIDER, E.; WIESMANN, M.; BRANDT, T.; DIETERICH, M. Functional MRI of galvanic vestibular stimulation with alternating currents at different frequencies. **NeuroImage**, v. 26, p. 721–732, 2005.
- SUZUKI, M.; KITANO, H.; ITO, R.; KITANISHI, T.; YAZAWA, Y.; OGAWA, T.; SHIINO, A.; KITAJIMA, K. Cortical and subcortical vestibular response to caloric stimulation detected by functional magnetic resonance imaging. **Cognitive Brain Research**, v. 12, p. 441–449, 2001.
- THE ONLINE MEDICAL LIBRARY FOR STUDENTS. **The Special Senses. Berne and Levy Physiology 6th Edition**. 2008. Disponível em: <<http://users.atw.hu/blr6/BLP6/HTML/C0089780323045827.htm>>. Acesso em: 21 Mar. 2014 .
- TOGA, A.; THOMPSON, P. M.; MORI, S.; AMUNTS, K.; ZILLES, K. Towards multimodal atlases of the human brain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, p. 952–966, 2006.
- VELASCO, P. fMRI data quality. **Ratio**, v. 143, p. 1–15, 2009.
- WALL, M.; SMITH, A. The representation of egomotion in the human brain. **Current Biology**, v. 18, p. 191–194, 2008.

WARDMAN, D. L.; TAYLOR, J. L.; FITZPATRICK, R. C. Effects of galvanic vestibular stimulation on human posture and perception while standing. **The Journal of Physiology**, v. 551, p. 1033–1042, 2003.

WATSON, S. R. D.; BRIZUELA, A. E.; CURTHOYS, I. S.; COLEBATCH, J. G.; MACDOUGALL, H. G.; HALMAGYI, G. M. Maintained ocular torsion produced by bilateral and unilateral galvanic (DC) vestibular stimulation in humans. **Experimental Brain Research**, v. 122, p. 453–458, 1998.

WEISSKOFF, R. M.; KIIHNE, S. MRI susceptometry: image-based measurement of absolute susceptibility of MR contrast agents and human blood. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 24, p. 375–383, 1992.

WENGER, K. K.; VISSCHER, K. M.; MIEZIN, F. M.; SCHLAGGAR, S. E. P. B. L. Comparison of sustained and transient activity in children and adults using a mixed blocked/event-related fMRI design. **NeuroImage**, v. 22, p. 975–985, 2004.

WENZEL, R.; BARTENSTEIN, P.; DIETERICH, M.; DANEK, A.; WEINDL, A.; MINOSHIMA, S.; ZIEGLER, S.; SCHWAIGER, M.; BRANDT, T. Deactivation of human visual cortex during involuntary ocular oscillations. a PET activation study. **Brain**, v. 119, p. 101–110, 1996.

WINKLER, A. M. **Inferência baseada em voxel para fMRI**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) — Pós-Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

WOODS, R. P.; CHERRY, S. R.; MAZZIOTTA, J. C. Rapid automated algorithm for aligning and reslicing PET images. **Journal of Computer Assisted Tomography**, v. 16, p. 620–633, 1992.

YARDLEY, L.; OWEN, N.; NAZARETH, I.; LUXON, L. General practice community sample of working age people. **British Journal of General Practice**, v. 48, p. 1131–1135, 1998.

**ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Núcleo de Bioética
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº **0001763/08**

Protocolo CEP Nº **2278**

Título do projeto **Estudo da variabilidade da atividade cerebral em resposta a estimulações calórica e galvânica vestibular avaliada por fMRI em voluntários na cidade de Curitiba PR**

Grupo **III**
Versão **2**

Protocolo CONEP **0071.0.084.000-08**

Pesquisador responsável **Humberto Gamba**

Instituição

Objetivos

Analisar a variabilidade intra e interindividual das áreas cerebrais ativadas pela estimulação calórica e galvânica do sistema vestibular por meio da imagem funcional por ressonância magnética

Comentários

O projeto não apresenta inadequações de ordem ética, portanto encontra-se em condições de prosperar.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Adequado. Recomenda-se apenas explicar melhor no primeiro parágrafo o que é atividade vestibular.

Recomendações

Recomenda-se apenas explicar melhor o que é atividade física no primeiro parágrafo do TCLE.

Conclusões

Aprovado com recomendações.

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **02/07/2008**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado com recomendações**.



Parecer Nº **0001763/08**

Protocolo CEP Nº **2278**

Titulo do projeto **Estudo da variabilidade da atividade cerebral em resposta a estimulações calórica e galvânica vestibular avaliada por fMRI em voluntários na cidade de Curitiba PR**

Grupo **III**
Versão **2**

Protocolo CONEP **0071.0.084.000-08**

Pesquisador responsável **Humberto Gamba**

Instituição

Situação Aprovado com recomendações

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Curitiba, 02 de Julho de 2008.



Prof. Dr. Sergio Surugi de Siqueira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
PUCPR



**ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**



HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ao

Departamento de Radiologia e Radioterapia

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 13.10.10, tomou conhecimento que o Protocolo de Pesquisa nº **0279/08** intitulado **“Movimento ocular em crianças e adultos: estudo comparativo com uso integrado de RMf e Eye Tracking.”**, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Edson Amaro Júnior**, contempla o sub-projeto intitulado **“Variabilidade da Ativação Cerebral em Resposta a Estimulação Galvânica Vestibular com o Uso Integrado de RMfe Eye Tracking”**, que será doutorado da aluna Hellen Mathei Della Justina, bem como da Prorrogação de execução do prazo e do Relatório de Andamento do Projeto

São Paulo, 13 de Outubro de 2010.

PROF. DR. EDUARDO MASSAD
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

**ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS
EXPERIMENTOS DE RMF E *EYE TRACKING***

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: :.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F
DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO: CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Variabilidade da atividade cerebral em resposta a estimulação galvânica vestibular com o uso integrado de RMf e Eye Tracking.

PESQUISADOR : Prof. Dr. Edson Amaro Jr.

CARGO/FUNÇÃO: Professor Associado Departamento de Radiologia – USP

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 78604

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 6 meses

1 – Desenho do estudo e objetivo: Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa identificar como o cérebro responde quando se faz um estímulo elétrico na região atrás da orelha em diferentes pessoas. O presente projeto irá complementar o estudo referente a maturidade cerebral em adultos e crianças utilizando estímulos de movimento dos olhos. Este projeto, intitulado: Movimento ocular em crianças e adultos: estudo comparativo com uso integrado de RMf e Eye Tracking, já foi aprovado pela CAPPesq do HC e da FMUSP, Protocolo de Pesquisa nº 0279/08. O resultado desse estudo ajudará os pesquisadores no entendimento de como o cérebro se comporta em indivíduos saudáveis.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: O indivíduo será colocado em um tubo de aproximadamente 60 cm, deitado de barriga para cima. O estímulo vestibular (atrás da orelha) será aplicado através de um aparelho galvânico (elétrico) que foi desenvolvido pelos pesquisadores. Quando o indivíduo estiver fora da máquina os eletrodos serão posicionadas atrás das orelhas, os quais quando ligado proporcionarão uma sensação de balanço, como se o indivíduo estivesse em um barco. A permanência dentro da máquina será por um período máximo de 20 minutos. O estímulo poderá ser interrompido pelo voluntário a qualquer momento que houver algum desconforto.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – Serão realizados exames de ressonância magnética funcional em conjunto com eye tracking.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3: O exame pode causar um pouco de desconforto, vermelhidão e formigamento, no local de aderência dos eletrodos. Talvez algumas pessoas se sintam desconfortáveis dentro da máquina, se isto acontecer o sujeito pode e deverá ser retirado assim que solicitar, o sujeito também tem que permanecer com a cabeça mais parada o possível para não atrapalhar o exame.

5 – Benefícios para o participante: Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício, com os dados obtidos neste estudo os pesquisadores serão capazes de entender melhor a variabilidade funcional e anatômica existente entre indivíduos e ajudar, futuramente, a população em geral.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr. Edson Amaro Jr., o qual pode ser encontrado no endereço: Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – 3º andar – Telefone: 3069-7619. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – Telefone: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnnet.usp.br.

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

9 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros indivíduos, não sendo divulgado a identificação de nenhum indivíduo.

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o indivíduo em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

13 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Variabilidade da atividade cerebral em resposta a estimulação galvânica vestibular com o uso integrado de RMf e Eye Tracking”.

Eu discuti com o Dr. Edson Amaro Jr. sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____