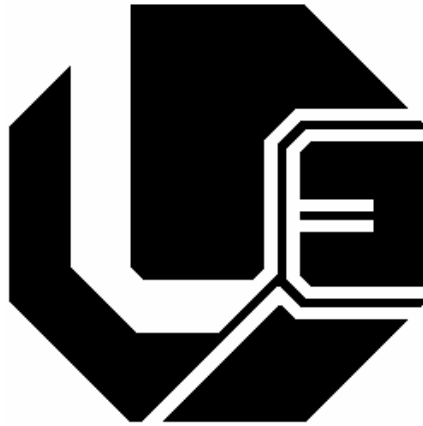


UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA



PROCESSAMENTO DE SINAIS DE ATIVIDADE
ELÉTRICA NEURONAL A PARTIR DE FERRAMENTAS
MATEMÁTICAS CLÁSSICAS

TATIANE VIEIRA BORGES

JULHO

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

PROCESSAMENTO DE SINAIS DE ATIVIDADE ELÉTRICA
NEURONAL A PARTIR DE FERRAMENTAS MATEMÁTICAS
CLÁSSICAS

TATIANE VIEIRA BORGES¹

Dissertação apresentada por Tatiane Vieira Borges à Universidade Federal de Uberlândia, perante a banca de examinadores abaixo, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Banca Examinadora:

João Batista Destro Filho, Orientador (UFU)

Celina Monteiro da Cruz Lotufo, (UFU)

Luiz Otávio Murta Júnior, (USP)

Aldo Rogelis Aquiles Rodrigues, (UFTM)

¹A bolsa de estudo para esta pesquisa foi concedida pela CAPES, Brasil.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

B732p Borges, Tatiane Vieira, 1981-
Processamento de sinais de atividade elétrica neuronal a partir de
ferramentas matemáticas clássicas / Tatiane Vieira Borges. - 2009.
198 f. : il.

Orientador: João Batista Destro Filho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica.
Inclui bibliografia.

1. Processamento de sinais - Teses. 2. Eletroencefalograma - Teses.
3. Fourier, Transformações de - Teses. I. Destro Filho, João Batista. II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Elétrica. III. Título.

CDU: 621.397.331

PROCESSAMENTO DE SINAIS DE ATIVIDADE ELÉTRICA NEURONAL A PARTIR DE FERRAMENTAS MATEMÁTICAS CLÁSSICAS

TATIANE VIEIRA BORGES¹

Texto da dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Prof. João Batista Destro Filho, Dr.

Orientador

Prof. Alexandre Cardoso, Dr.

Coordenador do curso de Pós-Graduação

¹A bolsa de estudo para esta pesquisa foi concedida pela CAPES, Brasil.

“Os problemas significativos que enfrentamos não podem ser resolvidos no mesmo nível de pensamento em que estávamos quando os criamos.”

Albert Einstein

Aos meus pais com muito carinho, Vilmondes e Édna

Ao meu irmão, Leonardo e à minha cunhada, Mônica

Ao meu sobrinho, que amo tanto, Matheus

À memória da minha avó, Maria

Agradecimentos

Primeiramente devo agradecer a **Deus**, por ter me permitido à vida, me abençoando sempre, pois é feliz quem tem fé e Deus no coração.

Quero agradecer aos **meus pais** e ao **meu irmão**, pessoas que amo muito, pelo apoio, carinho, compreensão, me guiando nos momentos difíceis. Ao meu **sobrinho Matheus**, por me fazer sentir ser a “titia querida”. A **toda minha família**, tios, tias, primos e primas, que não são poucos, pela amizade e conselhos. Em especial ao meu **tio Edmar e Gledes**, pela super força e apoio num momento de decisões em minha vida. A **tia Eny**, pelo carinho e incentivo. Não poderia de citar dentre os primos, **Lídia, Ana Paula, Juliana, Fernanda**, pela amizade e incentivo.

Aos meus grandes amigos: **Érika**, pela amizade; **Michelle**, pela palavras certas nas horas certas; **Rafael**, por saber me ouvir; **Edgard**, um amigo “meio doidinho”, mas que está sempre disposto a me ajudar, uma qualidade que admiro muito; **Ângela**, pelo carinho e pela forte amizade que surgiu em tão pouco tempo; **Sarah**, uma verdadeira amiga que admiro muito, obrigada pelo companheirismo, conselhos, incentivo, por estar sempre presente; **Kátia**, pelo carinho e força; **Eder**, pela disposição em oferecer ajuda e ao meu “irmãozinho do Biolab”, **Rodrigo**, pela atenção e carinho.

Ao meu professor **João Batista Destro Filho**, por partilhar sua sabedoria, seu conhecimento e atenção que ajudaram a desenvolver este trabalho. Além de disso, quero agradecer por sua paciência, sua compreensão e acima de tudo, pela sua humildade, cuja esta é uma das suas qualidades que admiro muito.

Agradeço também aos meus companheiros do Biolab (Laboratório de Engenharia Biomédica): **Laíse, Jeovane, Guilherme Cunha, Guilherme Cavalheiro, Iraídes**,

Alessandro, Daniel, Lilian, Maria Fernanda, Bruno Calil, Suélen, Ailton, Antônio, Nayara, Kheline, Daniel Balduino, pelo companheirismo, favores, momentos de descontração, pela paciência e amizade.

Quero agradecer ao professores da FAMAT, em especial aos professores **Edson Agustini, Ednaldo Carvalho Guimarães e Valdair Bonfim**, pela disposição, atenção e auxílio.

À **Aline**, pela grande força nesta etapa final. Às alunas, **Moara e Luana**, pela coletas dos dados de EEG no setor de eletroencefalografia do Hospital de Clínicas de Uberlândia. Ao **Dr. Marcos Campos**, pela análise e seleção dos traçados de EEG. Ao aluno de iniciação científica **Dhainner**, pela ajuda com os dados EEG. À secretária da Coordenação de Pós Graduação, **Cinara**, pelo apoio e auxílio.

À **Universidade de Gênova (UniGe)**, Itália, na figura do **Prof. Sergio Martinoia**, pela disponibilização dos materiais e financiamento da estadia do estudante **Danilo R Campos** (UFU), responsável pela mensuração dos dados aqui analisados. À **Organização Internacional do Cérebro (IBRO)**, pelo financiamento da viagem do mesmo estudante. Ao programa **PIBIC CNPq/UFU**, pelas bolsas de Iniciação Científica dos diversos estudantes envolvidos. À **Camila A. Araújo**, pela ajuda na organização dos dados. Especial agradecimento, em memória, ao **Prof. Massimo Grattarola (UniGe)**, pela boa vontade, disponibilidade e abertura de espírito que permitiram nossas primeiras reuniões de trabalho em 2001.

Enfim, agradeço a todos, incluindo aqueles que não foram mencionados nos parágrafos anteriores, mas que de uma forma ou de outra, me ajudaram e contribuíram para a conclusão de mais uma etapa da minha trajetória acadêmica.

Resumo

BORGES, Tatiane Vieira. *Processamento de Sinais de Atividade Elétrica Neuronal a partir de Ferramentas Matemáticas Clássicas*. Uberlândia: FEELT – UFU, 2009, 174 f.

Esta dissertação tem como objetivo fazer um estudo e processamento de dois tipos de sinais de atividade elétrica neuronal. O primeiro foi registrado a partir de matrizes multieletródos (MEA), referentes a atividade espontânea de grupos neuronais em cultura. Foram analisadas duas culturas consideradas como inativas, ou seja, culturas que após alguns dias *in vitro*, não se verificou a conexão entre os neurônios. Foram aplicadas duas ferramentas matemáticas, autocorrelação e densidade espectral de potência, permitindo uma análise do sinal no domínio do tempo e frequência, respectivamente, procurando verificar se os dados registrados destas culturas inativas poderiam ser considerados como ruído de instrumentação. De fato, os resultados apontam que estes sinais apresentam características semelhantes ao ruído branco, o qual perturba qualquer análise informática normalmente realizada por pesquisadores em neurociência computacional. Outra fonte de sinais utilizados para este estudo foram registros de eletroencefalografia (EEG), coletados em 20 pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia sob prévio consentimento destes. Após uma análise clínica por profissional qualificado, foi realizada uma análise computacional utilizando transformada de Fourier e densidade espectral de potência. Através dos gráficos de amplitude (transformada de Fourier) e densidade espectral, percebeu-se que a energia do sinal está concentrada em torno das frequências mais representativas e, em alguns casos, observou-se presença de ruído de rede elétrica. Com o espectro de fase, foi possível concluir que sinais com frequências semelhantes apresentam espectros de fase semelhantes.

Palavras-chave: matrizes multieletródo, culturas inativas, autocorrelação, densidade espectral de potência, eletroencefalograma, transformada de Fourier.

Abstract

BORGES, Tatiane Vieira. *Processamento de Sinais de Atividade Elétrica Neuronal a partir de Ferramentas Matemáticas Clássicas*. Uberlândia: FEELT – UFU, 2009, 174 f.

This dissertation aims to make a study and processing of two types of signs of neuronal electrical activity. The first was recorded from multielectrode arrays (MEA), in reference to spontaneous activity of neuronal groups grown in cultures. We analyzed two cultures considered inactive, meaning, cultures that after a few days in vitro, there was not a connection between neurons. It was applied two mathematical tools, autocorrelation and power spectral density, allowing an analysis of the signal in time domain and frequency, respectively, trying to verify whether the data recorded from these inactive cultures could be considered as noise from instrumentation. In fact, the results indicate that these signals have similar characteristics to white noise, which disturbs any computer analysis usually performed by researchers in computational neuroscience. Another source of signals used for this study were records of electroencephalography (EEG), collected on 20 patients from the Clinical Hospital of Uberlândia under prior consent. After a clinical examination by qualified professional, an analysis was performed using computational Fourier transform and power spectral density. Through amplitude graphics (Fourier transform) and spectral density, we have realized that the signal energy is concentrated around the frequencies more representative and, in some cases, there was presence of noise from power network. With the phase spectrum, it was possible to conclude that signals with similar frequencies have spectra of similar phase.

Key-words: multielectrode arrays, inactive cultures, autocorrelation, power spectral density, electroencephalography, Fourier transform.

Sumário

Lista de Figuras.....	xv
Lista de Tabelas	xxiii
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xxiv
Capítulo 1 - Introdução	1
Capítulo 2 - Conceitos Básicos de Fisiologia Celular, Culturas e Matrizes	
Multieletrodos.....	6
2.1 Introdução	6
2.2 Transporte de Íons através da Membrana Celular	7
2.3 Potencial de Membrana causado por Difusão	10
2.3.1 <i>Potencial de Repouso da membrana</i>	11
2.3.2 <i>Potencial de Ação</i>	12
2.5 Fisiologia do Sistema Nervoso Central	14
2.5.1 <i>Algumas Células do SNC</i>	16
2.5.2 <i>Os Tipos de Célula da Glia</i>	18
2.5.3 <i>O Tecido Nervoso</i>	21

2.6 Culturas Celulares	22
2.6.1 Preparação de uma cultura de neurônios	23
2.7 Matrizes Multieletrodo (MEAs)	26
2.7.1 – Alguns tipos de MEAs existentes no comércio	28
2.7.2 – Instrumentação	36
2.8 Processamento dos Sinais Captados em uma MEA	39
2.8.1 – Detecção de spikes.....	39
2.8.1 – Detecção de Burst.....	40
2.9 Algumas Aplicações de MEA	43
2.10 Conclusão.....	49
Capítulo 3 - Processamentos dos Sinais de MEA.....	50
3.1 Introdução	50
3.2 Conceitos Básicos de Processo Estocástico.....	51
3.3 Definição da Função de Autocorrelação.....	54
3.3.1 – Propriedades da Função de Autocorrelação	59
3.3.2 – Ilustração das propriedades.....	61
3.3.3 – Interpretação da Autocorrelação	64
3.4 Definição da Função Densidade Espectral de Potência.....	65
3.4.1 – Propriedades da Função Densidade Espectral de Potência.....	68

3.4.2 – <i>Ilustração das propriedades</i>	68
3.4.3 – <i>Interpretação da Função Densidade Espectral de Potência</i>	69
3.5 Metodologia	71
3.4.1 <i>Aquisição dos Sinais</i>	71
3.4.2 <i>Estimação da Autocorrelação e Densidade Espectral de Potência</i>	72
3.6 Resultados	76
3.6 Conclusão.....	78
Capítulo 4 - Análise de Sinais Eletroencefalógrafos através da Transformada de Fourier e Densidade Espectral de Potência	79
4.1 Introdução	79
4.2 Geração do Sinal de Eletroencefalograma (EEG)	81
4.2.1 <i>Potencial de ação nos neurônios</i>	81
4.2.2 <i>Potencial Estacionário</i>	83
4.2.3 <i>Propagação dos Potenciais de Ação</i>	86
4.2.4 <i>Principais responsáveis pela geração do sinal de EEG</i>	87
4.3 Eletrodos	88
4.3.1 – <i>Tipos de Eletrodos</i>	88
4.3.2 – <i>Montagem</i>	90
4.3.3 – <i>Posicionamento dos Eletrodos</i>	91
4.4 Equipamentos.....	93

4.4.1 Elementos e Técnicas de Avaliação do Sinal de EEG.....	94
4.5 Procedimentos e Normas para Coleta de Sinal EEG.....	100
4.6 Estudo dos Sinais EEG em Pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia.....	101
4.6.1 Metodologia.....	101
4.6.2 Resultados de Análise Clínica Espectral.....	108
4.6.3 Discussões	145
4.7 Conclusões	146
Capítulo 5 - Conclusão e Trabalhos Futuros.....	147
5.1 Conclusões gerais	147
5.2 Trabalhos Futuros	150
Referências Bibliográficas.....	152
Anexos.....	159

Lista de Figuras

Figura 1. 1 – Desenho esquemático de um neurônio (adaptado de (GENESER, 2003)).	2
Figura 2. 1 - Moléculas protéicas responsáveis pelo transporte celular e os processos de transporte de substâncias (adaptada de (GUYTON,1993)).	7
Figura 2. 2- Composição química dos fluidos do meio extra e intracelular(adaptada (GUYTON,1993)).	7
Figura 2. 3- Representação do transporte dos íons de sódio e potássio através dos canais de proteínas(adaptada de (GUYTON,1993)).	9
Figura 2. 4 - (A) Representação de potencial de difusão numa membrana permeável aos íons de potássio. (B) Representação de potencial de difusão numa membrana permeável aos íons de sódio (adaptado de (GUYTON, 1993)).	 10
Figura 2. 5 - Gráfico de um potencial de ação com suas fases: despolarização, repolarização e repouso (hiperpolarização)(adaptado, GUYTON, 1993)).	 12
Figura 2. 6 – Figura que representa as principais partes do neurônio(adaptado de (URL 1)).	 14
Figura 2. 7 - Classificação dos neurônios quanto à forma e função (modificado de (URL 2)).	 16
Figura 2. 8 - Célula estrelada (adaptado de (URL 16)).	 16
Figura 2. 9 - Células granulares (adaptado de (URL 7)).	 17

Figura 2. 10 - Célula fusiforme (adaptado de (URL 6)).	17
Figura 2. 11 - Célula piramidal (adaptada de (URL 4)).	18
Figura 2. 12 - Neurônio de Purkinje (adaptada de (URL 4)).	18
Figura 2. 13 - Astrócito protoplasmáticos no lado esquerdo e astrócito fibroso no lado direito (adaptado de (URL 8)).	19
Figura 2. 14 - No lado esquerdo temos uma foto de um oligodendrócito e no lado direito uma representação de um oligodendrócito (adaptado de (URL 5)).	19
Figura 2. 15 - Microfotografia de células microgliais (adaptado de (URL 5)).	20
Figura 2. 16 - Célula endimárias (adaptado de (URL 5)).	20
Figura 2. 17 - Microfotografia do tecido nervoso e seus principais componentes (adaptado de (URL 3)).	21
Figura 2. 18 – Medida de um embrião de rato mostradas nos dias 13, 15, 17, 17 e 21 (adaptada de(CHIAPPALONE, 2003)).	23
Figura 2. 19 – Embrião de rato entre o 18º e 19º dias (adaptada de(TINKLE et al.,2008))	25
Figura 2. 20 – Neurônios após a dissociação (adaptada de CHIAPPALONE, 2003)).	25
Figura 2. 21 – Conjunto de microeletrodos em um tecido nervoso (adapitada de (RIBEIRO, 2006)).	26
Figura 2. 22 – População de neurônios desenvolvidos em um MEA com seis eletrodos de contato (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	28
Figura 2. 23 – MEA Ntt. (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	29
Figura 2. 24 – MEA em forma de ninho com leaky wall (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	30
Figura 2. 25 – MEA Stanford (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	31

Figura 2. 26 – MEA Standart (adaptado de (URL).....	32
Figura 2. 27 - HighDenseMEA com seus dois campos de gravação (adaptado de ()).	32
Figura 2. 28 - MEA 3D, com detalhe dos eletrodos (figura de baixo)(adaptado de ())......	33
Figura 2. 29 – EcoMEA (adaptado de ()).	34
Figura 2. 30 - FlexMEA. Observe os furos que permitem melhor fixação do dispositivo (pontos brancos entre eletrodos) (adaptado de ())......	35
Figura 2. 31 – À esquerda, uma visualização do software MCRack na tela e à direita, a área de trabalho dos experimentos (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	37
Figura 2. 32 – Uma placa de aquisição multicanal (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).	37
Figura 2. 33 – Cultura de neurônios sobreposta à uma MEA (à direita) e a interface do MCRack (à esquerda) (adaptada de (URL 7)).	38
Figura 2. 34 – Gráfico de um sinal, evidenciando os spikes	39
Figura 2. 35- Gráfico de um sinal evidenciando um burst.....	41
Figura 2. 36 – (A) Neurônios em uma MEA cercados por um eletrododo; (B) Atividade eletrofisiológica registrada pelo eletrodo; (C) Resultado da técnica de detecção de pico e (D) Resultado da técnica de detecção de burst (adaptado de (CHIAPALLONE, et al., 2005)).....	42
Figura 2. 37 – Gráfico dos padrões de skipes versus o tempo (normalizados) (adaptado de (FAIRHALL et al., 2001))......	44
Figura 2. 38 – Esquema de um neuroimplante inteligente (adaptada de (RIBEIRO, 2006)).	45
Figura 2. 39 – Esquema utilizado para determinar o melhor subconjunto de aspecto e disposição dos eletrodos para predição da doença (adaptado de LITT et al., 2003)).	46
Figura 2. 40 – Atividade eletrofisiológica registrada em um microeletrodo de uma MEA; (a)atividade espontânea; (b)atividade durante o tratamento com a substancia CTZ; (c)	

atividade durante o tratamento com MK-801; (d) tratamento com NBQX (adaptado de (CHIAPPALONE et al., 2003)). 47

Figura 2. 41 – Esquema para o controlar artificialmente o Animat (adaptado de (DEMARSE et al., 2001)). 48

Figura 3. 1 – Representação do processo $x(t, \xi_\omega)$ 51

Figura 3. 2 – Gráfico do processo estocástico $x(t, \xi_t) = \sin(2\pi f t)$ 52

Figura 3. 3 – Figura que representa os sinais gravados em 4 canais de uma MEA. 53

Figura 3. 4 – Gráfico que representa o processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$ 53

Figura 3. 5 – Gráfico da média do sinal (à direita) e gráfico da autocorrelação (à esquerda). 56

Figura 3. 6 – Gráfico da média do sinal captado em um microeletrodo de um MEA (esquerda) e gráfico da função de autocorrelação para este mesmo sinal (direita).. 57

Figura 3. 7 – Gráfico que da autocorrelação do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$. Traço em azul, autocorrelação via Matlab, em vermelho, autocorrelação obtida pelo cálculo analítico. 59

Figura 3. 8 – Gráfico da autocorrelação do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$ 62

Figura 3. 9 – Autocorrelação do sinal segmentado em janelas de aproximadamente 2 segundos. 63

Figura 3. 10 - Gráfico da função de autocorrelação dos Exemplos 3.2, 3.3 e 3.4. 64

Figura 3. 11 – Gráfico da densidade espectral de potência do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$ 66

Figura 3. 12 – Gráfico do $S_x(f)$ médio de um sinal neural captado em um canal de MEA. ...67

Figura 3. 13 – Gráfico da função densidade espectral de potência do Exemplo 3.2. 67

Figura 3. 14 – Gráfico comparativo da densidade espectral de potência obtida para os 3 exemplos da seção 3.4.2. 70

Figura 3. 15 – Gráfico da autocorrelação obtida para todo o conjunto de dados. 76

Figura 3. 16 – Gráfico da densidade espectral de potência obtida para todo o conjunto de dados.	76
Figura 4. 1 - Representação de uma onda de despolarização e repolarização na parte superior da figura e na parte inferior, esquematização da onda conforme os canais de sódio-potássio (adaptado de (URL 9)).	82
Figura 4. 2- (1) Sinapse elétrica (adaptada de (URL 10)); (2) Sinapse química (adaptada de (URL 10))	83
Figura 4. 3 - Ângulo Sólido gerado por um dipolo hipotético em dois eletrodos diferentes..	85
Figura 4. 4 - Potencial estacionário.	85
Figura 4. 5 - Fluxo de corrente no neurônio devido à entrada de sinapses excitatórias (adaptado de (URL 13)).	86
Figura 4. 6 - Eletrodos de disco de prata (adaptado de (CARDOSO, 2005)).....	88
Figura 4. 7 - Eletrodos de agulha de platina (adaptado de (CARDOSO, 2005)).....	89
Figura 4. 8 - Eletrodos nasofaríngeo (adaptado de (CARDOSO, 2005)).	89
Figura 4. 9 - Eletrodo tipo capacete (adaptado de (URL 11)).	89
Figura 4. 10 - Eletrodo de agulha de platina (adaptado de (CARDOSO, 2005)).	90
Figura 4. 11 - Eletrodos corticais (adaptado de (CARDOSO, 2005)).	90
Figura 4. 12 – (A) Representação de uma montagem bipolar e (B) de uma montagem monopolar (adaptado de (MALMIVUO et al,1995)).	91
Figura 4. 13 - Sistema Internacional 10-20 de posicionamento de eletrodos (adaptado de (MALMIVUO et al,1995)).	92
Figura 4. 14 - Diagrama de um equipamento de EEG (adaptado de (URL 14)).	94
Figura 4. 15 - Onda delta (adaptado de (URL 12)).....	95
Figura 4. 16 - Onda teta (adaptado de (URL 12)).....	95
Figura 4. 17 - Onda alfa (adaptado de (URL 12)).	96
Figura 4. 18 - Onda beta (adaptado de (URL 12)).....	96

Figura 4. 19 - Onda com frequência de 10 Hz, módulo e fase da DFT.	98
Figura 4. 20 - Pannel de eletrodos do BrainNet BNT-36..	102
Figura 4. 21 – Montagem Eletrodos para visualização da onda alfa.	111
Figura 4. 22 – Ritmo alfa.	111
Figura 4. 23 – Ritmo alfa (montagem rolândica).	112
Figura 4. 24 - Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Alfa. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	112
Figura 4. 25 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Alfa.	113
Figura 4. 26 - Montagem Eletrodos para visualização da onda beta.	113
Figura 4. 27 - Ritmo beta.	114
Figura 4. 28 - Ritmo beta (alguns canais).	114
Figura 4. 29 - Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Beta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	115
Figura 4. 30 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Beta.	115
Figura 4. 31 - Montagem Eletrodos para visualização da onda teta.	116
Figura 4. 32 - Ritmo Teta.	116
Figura 4. 33 - Ritmo Teta (alguns canais).	117
Figura 4. 34 – Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Teta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	117
Figura 4. 35 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Teta.	118
Figura 4. 36 - Montagem Eletrodos para visualização da onda delta.	118
Figura 4. 37 – Ritmo Delta.	119
Figura 4. 38 – Ritmo Delta (alguns canais).	119
Figura 4. 39 - Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Delta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	120
Figura 4. 40 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Delta.	120
Figura 4. 41 - Montagem Eletrodos para visualização da onda aguda do vertéx.	121

Figura 4. 42 - Onda aguda do vértex – Referencial Cz.....	121
Figura 4. 43 - Onda aguda do vértex –Referencial Rf.	122
Figura 4. 44 - Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Aguda do Vertex Cz. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	123
Figura 4. 45 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Aguda do Vertex Cz.	123
Figura 4. 46 - Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Aguda do Vertex Rf. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	124
Figura 4. 47 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Aguda do Vertex Rf.	124
Figura 4. 48 - Montagem Eletrodos para visualização do movimento ocular.	125
Figura 4. 49 - Movimento ocular (abertura e fechamento ocular).....	125
Figura 4. 50 - Movimento ocular (abertura e fechamento ocular – alguns canais).	126
Figura 4. 51 - Gráfico da Transformada de Fourier do Movimento Ocular. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	127
Figura 4. 52 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Movimento Ocular.	127
Figura 4. 53 - Montagem Eletrodos para visualização do artefato de ECG.	128
Figura 4. 54 - Artefato de ECG.....	128
Figura 4. 55 - Artefato de ECG.....	129
Figura 4. 56 – Gráfico da Transformada de Fourier do Artefato ECG. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).....	129
Figura 4. 57 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Artefato de ECG.....	130
Figura 4. 58 - Montagem Eletrodos para visualização do artefato de sudorese.	130
Figura 4. 59 - Artefato de sudorese.....	131
Figura 4. 60 - Artefato de sudorese (alguns canais).	131
Figura 4. 61 - Gráfico da Transformada de Fourier do Artefato de Sudorese. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	132
Figura 4. 62 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Artefato de Sudorese.	132
Figura 4. 63 - Montagem Eletrodos para visualização de ponta-onda lenta.....	133

Figura 4. 64 – Ponta- onda lenta representando atividade epiléptica interictal.	134
Figura 4. 65 – Ponta- onda lenta representando atividade epiléptica interictal (alguns canais).	134
Figura 4. 66 - Gráfico da Transformada de Fourier do Complexo Espícula Onda Lenta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	135
Figura 4. 67 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Complexo Espícula Onda Lenta.	136
Figura 4. 68 - Montagem Eletrodos para visualização de assimetria.	136
Figura 4. 69 – Assimetria.....	137
Figura 4. 70 - Gráfico da Transformada de Fourier da Assimetria. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).....	138
Figura 4. 71 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Assimetria.....	138
Figura 4. 72 - Montagem Eletrodos para visualização da assimetria (à esquerdo) e onda delta fronto-temporal (à diretita).	139
Figura 4. 73 – Delta fronto-temporal patológico + assimetria.....	139
Figura 4. 74 – Delta fronto-temporal patológico + assimetria (alguns canais).....	140
Figura 4. 75 - Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Delta Fronto Temporal. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	141
Figura 4. 76 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Delta Fronto Temporal.	141
Figura 4. 77 - Montagem Eletrodos para visualização de ponta-onda lenta generalizada....	142
Figura 4. 78 - Ponta-onda lenta generalizada.	142
Figura 4. 79 - Ponta-onda lenta generalizada (alguns canais).	143
Figura 4. 80 - Gráfico da Transformada de Fourier da Ponta Onda Lenta Generalizada. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).	144
Figura 4. 81 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Ponta Onda Lenta Generalizada.	144

Lista de Tabelas

Tabela 2. 1 - Quadro comparativo de alguns tipos de MEAs.	36
Tabela 3. 1 – Valores da autocorrelação com os respectivos tempos (segundos).....	64
Tabela 4. 1 - Ondas cerebrais.....	95
Tabela 4. 2 - Síntese do perfil dos pacientes.....	105
Tabela 4. 3 – Síntese dos laudos realizados seguidos de algumas observações.	108
Tabela 4. 4 – Morfologias e Arquivos.	109
Tabela 4. 5 – Detalhes das Morfologias Disponibilizadas.....	110

Lista de Abreviaturas e Símbolos

EEG	Eletroencefalografia ou Eletroencefalograma
MEA	Multielectrode array (Matriz Multieletrodo)
DIV	Days in vitro (Dias in vitro)
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
SNC	Sistema Nervoso Central
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
Na⁺	Íon de Sódio
K⁺	Íon de Potássio
Mg	Íon de Mânésio
Ca⁺	Íon de Cálcio
Cl⁻	Íon de Cloro
PBS	Phosphate-buffered saline
HBSS	Hanks balanced salt solution
ITO	Tin Oxide (Óxido de Tin)
TiN	Nitrído de Titânio
MCS	Multi Channel Systems
ISI	Inter Spike Interval (Intervalo entre Spikes)
HCU – UFU	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
FFT	Fast Fourier Transformer (Transformada Rápida de Fourier)
STFT	Short Time Fourier Transform (Transformada Janelada de Fourier)
ECG	Eletrocardiograma ou Eletrocardiografia

Capítulo 1

Introdução

A unidade viva fundamental para existência e realização das atividades básicas do corpo é a célula. O corpo humano é formado por cerca de 100 trilhões de células (GUYTON, 1997). Embora cada tipo celular seja responsável por uma determinada função, todas elas possuem as mesmas características básicas, como por exemplo, em todas as células o oxigênio reage com carboidratos, gordura ou proteína para liberar a energia necessária ao funcionamento celular (GUYTON, 1997).

O sistema nervoso é o centro controlador de todas as ações voluntárias e involuntárias do corpo humano. É responsável pela regulação e integração da função dos órgãos, pela captação de estímulos do meio-ambiente e através de seus componentes anatômicos é capaz de perceber estímulos, interpretá-los e desencadear respostas adequadas a estes estímulos. Anatomicamente o sistema nervoso é dividido em duas partes fundamentais: o sistema nervoso central (SNC) e o sistema nervoso periférico. O sistema nervoso central é responsável pela recepção de estímulos, de comando e é desencadeador de respostas. O sistema nervoso periférico é constituído pelas vias que conduzem os estímulos ao sistema nervoso central ou que levam até os órgãos efetadores das ordens emitidas pelo SNC.

As células que constituem o tecido nervoso são os neurônios e células da glia ou gliais. As células gliais são responsáveis pela sustentação e nutrição dos neurônios. O SNC é

composto de mais de 100 bilhões de neurônios (LENT, 2004). A Figura 1.1 ilustra um típico neurônio do SNC e suas principais partes.

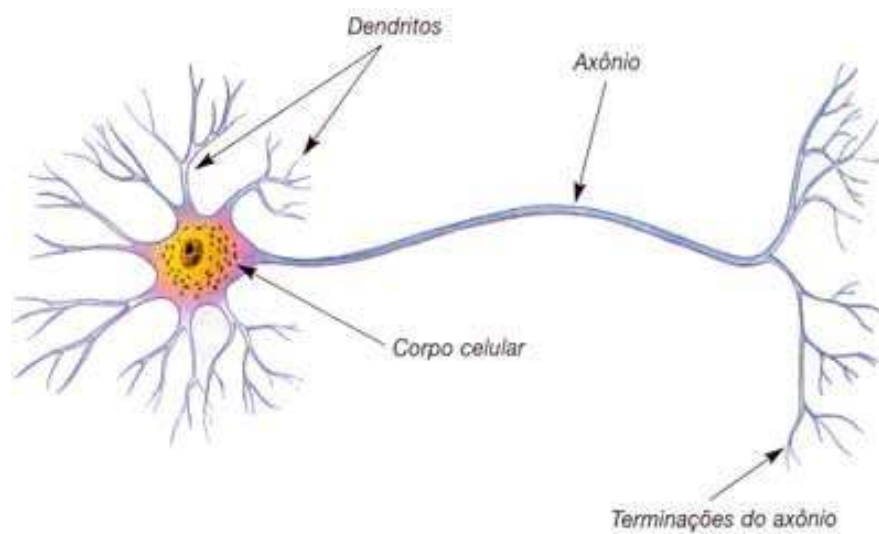


Figura 1.1 – *Desenho esquemático de um neurônio (adaptado de (URL 1)).*

Uma das fronteiras na ciência biomédica é o desenvolvimento de próteses para o SNC com o objetivo de modificar terapeuticamente processos fisiológicos que foram perdidos devido a danificações ou doenças (BERGER et al, 2001). Como exemplo destas patologias, pode-se destacar a epilepsia, a qual consiste no disparo anormal de um grande número de neurônios, associado a um desequilíbrio entre a excitação e a inibição da atividade destes mesmos neurônios (DURAND, 2001).

Em (LITT, 2003), os autores descrevem estratégias para a construção de neuroimplantes visando minimizar as crises epiléticas, incluindo experimentos preliminares de eletroestimulação em animais, baseando-se em dispositivos nanotecnológicos denominados "Matrizes Multieletrodo" (MEAs). Estes dispositivos são constituídos de circuitos integrados nanotecnológicos e registram a atividade espontânea extracelular de grupos de neurônios. A dimensão dos eletrodos é próxima à extensão dos neuritos. O registro simultâneo de uma rede neuronal e o processamento destes sinais permitem um melhor desenvolvimento de próteses neurais (NAJAFI, 1986).

Supõe-se que próteses neurais devem substituir as funcionalidades de células neuronais por meio de um dispositivo artificial permanentemente implantado no córtex. Os "neurônios de silicone" recebem atividade elétrica do córtex, processam-nas e enviam microestimulações, como saída, para algumas áreas corticais (COCKERELL et al, 1998). Em

consequência, circuitos básicos de próteses neurais devem ser "neurocomputacionais" (RUTTEN, 2002), ou seja, eles devem trabalhar com base em modelos matemáticos dinâmicos não-lineares, incluindo a auto-sintonização e características adaptáveis de acordo com o comportamento geral de células biológicas. Esta última característica é essencial, uma vez que torna possível encaixar as funcionalidades da prótese neural com as características específicas do paciente (BERGER et al, 2001).

Existem diversas limitações e desafios técnicos que impedem a aplicação clínica dos neuroimplantes, cuja implementação física está intimamente ligada ao desenvolvimento do conhecimento acerca de detalhes importantes associados aos dispositivos MEA. Sinais adquiridos de culturas através de MEA são compostos de unidades básicas denominadas spikes (GLASER et al, 1976). Inicialmente, a análise clássica de *spikes* (GLASER, 1976; LEWICKI, 1998) apresenta diversas limitações. O limiar numérico que permite detectar o *spike* não possui valor fixo, podendo ser influenciado por ruído de instrumentação do dispositivo utilizado nas medidas, sendo que sua amplitude é determinada visualmente pelo usuário, de forma subjetiva, o que implica em imprecisões para métodos que se valem desta estratégia (VATO, 2004).

Fica claro, portanto, a partir do parágrafo anterior, que o ruído de instrumentação tem impacto muito importante no processamento de sinais oriundos de MEAs. Este fato torna-se ainda mais relevante no contexto da moderna tendência de dispositivos MEA de alta densidade, ou seja, contendo 4000 eletrodos (GUNNING, 2007). Neste caso, esperam-se influências mais acentuadas do ruído, pois a potência do sinal fica bastante reduzida se comparada com a tecnologia atual (KIM, 2007).

Sendo assim, um dos objetivos deste trabalho é fazer um estudo sobre o ruído de instrumentação de sinais registrados a partir de MEAs através de culturas inativas. Considera-se uma cultura inativa quando após 10 dias *in vitro* (DIVs), ao realizar-se medidas de atividade elétrica neural espontânea verifica-se que a frequência de disparos é inferior a 1 kHz (RUTTEN, 2002). Com base nestas descrições, será feito um estudo de duas culturas, cujas mesmas foram consideradas inativas.

Outra técnica que permite estudar comportamento neuronal é a partir do estudo dos potenciais elétricos evocados no córtex cerebral e captados por eletrodos dispostos no escalpo. Esta é uma importante ferramenta denominada Eletroencefalografia (EEG) que

permite o diagnóstico e o estudo de diversas patologias que atingem o cérebro, o monitoramento de pacientes em enfermarias ou UTIs e o acompanhamento de fenômenos cognitivos (CARDOSO, 2005).

Existem várias formas e técnicas de avaliar um sinal de EEG. O uso da eletroencefalografia quantitativa, a qual permite uma avaliação do sinal EEG através do uso de computadores e com o auxílio de ferramentas matemáticas, promove uma possibilidade maior para se extrair informações úteis dos sinais coletados.

Durante a captação do traçado de EEG, é raro encontrar um exame que não contenha artefatos, os quais são definidos como potenciais elétricos provenientes de outra fonte que não seja o cérebro. Em muitas vezes estes artefatos podem gerar algumas dificuldades durante a interpretação do EEG. Outro fato importante a ser considerado em um exame de EEG é que ele apresenta baixa sensibilidade, sabe-se que 50 a 80% dos traçados de EEG realizados em pacientes com epilepsia não apresentam anormalidades (NOACHTAR, 1999).

Tendo em vista as questões abordadas no último parágrafo, outro objetivo deste trabalho será abordar o estudo dos fenômenos normais do EEG e a partir dos traçados coletados em pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia, foram selecionados aqueles que apresentaram anormalidades, a fim de discutir as características e critérios de EEG patológico, assim como as limitações e recomendações para a utilização clínica da eletroencefalografia.

Em acordo com o que foi descrito anteriormente, acredita-se que esta dissertação possa contribuir com o estudo da caracterização do ruído de instrumentação de MEA, os quais perturbam os sinais captados pela MEA, tendo como plataforma as culturas inativas. Em relação às análises de exames de EEGs, este trabalho poderá contribuir com a caracterização freqüencial de diversas morfologias do EEG, laudadas tecnicamente por um neurologista. Outra contribuição muito importante está relacionada com a função de autocorrelação e densidade espectral de potência, pois propõe-se neste trabalho uma discussão pedagógica muito elaborada a respeito destas ferramentas matemáticas.

Com isto, esta dissertação estará subdividida da seguinte forma. No Capítulo 2, será tratado os sinais eletrofisiológicos, destacando as principais células que constituem o sistema nervoso. Um assunto abordado também neste capítulo será sobre culturas celulares de

neurônios adquiridos do córtex cerebral de embriões de ratos. Explanaremos também a história das Matrizes Multieletrodos (MEA), suas formas de utilização e exemplos de MEA disponíveis no mercado. No Capítulo 3, será dedicado à análise e processamento de sinais registrados de culturas inativas. O processamento destes sinais será feito a partir das ferramentas matemáticas *Função de Autocorrelação* e *Densidade Espectral de Potência*. Será proposto, de forma bastante didática conceitos fundamentais sobre estas ferramentas matemáticas. No Capítulo 4, ocorrerá uma breve introdução sobre a geração do sinal de EEG, bem como técnicas para registro, eletrodos utilizados e por fim a análise de sinais eletroencefalográficos registrados de pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia. Estes sinais foram analisados pelo médico Dr, Marcos Campos e em seguida analisados através de ferramentas matemáticas *Densidade Espectral de Potência* e *Transformada de Fourier*.

Capítulo 2

Conceitos Básicos de Fisiologia Celular, Culturas e Matrizes

Multieletrodos

2.1 Introdução

Para entendermos melhor sobre os sinais eletrofisiológicos, é necessário, primeiramente, compreender como são formados estes sinais. Este capítulo trata de assuntos fundamentais para o entendimento deste processo.

A princípio abordaremos como se dá o transporte de íons através da Membrana Celular apresentando as características da membrana e os tipos de transporte de íons. Enfocaremos também, o potencial de membrana causado por difusão, discutindo juntamente o potencial de repouso e o potencial de ação.

O Sistema Nervoso tem como principais células os Neurônios e Células da Glia, responsáveis pela geração dos sinais. Sendo assim, a fisiologia do Sistema Nervoso Central será analisada neste capítulo enfocando além do funcionamento das células acima descritas, a constituição e a principal função do Sistema Nervoso.

Outro assunto fundamental para esta compreensão são as Culturas Celulares, onde colocaremos alguns conceitos e como acontece a preparação das Culturas de Neurônios de embrião de rato.

Finalmente, explanaremos a história das Matrizes Multieletrodos (MEA), suas formas de utilização e exemplos de MEA disponíveis no mercado. Apresentaremos também algumas aplicações destes dispositivos.

2.2 Transporte de Íons através da Membrana Celular

A membrana celular é formada quase que exclusivamente por uma bicamada lipídica onde estão inseridas moléculas protéicas e esta bicamada lipídica é a principal controladora da saída e entrada de substâncias da célula. Algumas destas moléculas protéicas são as proteínas carreadoras que se fixam às superfícies a serem transportadas e outras são denominadas proteínas de canal que possuem condutos aquosos ao longo de toda molécula permitindo o livre movimento de íons (Figura 2.1).

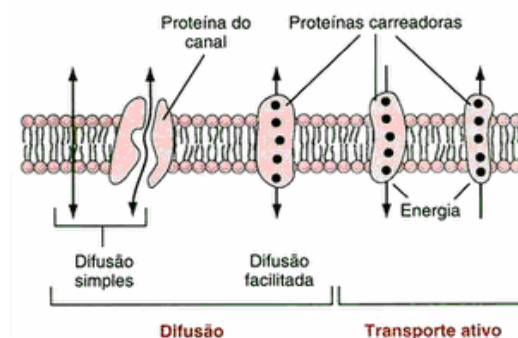


Figura 2. 1 - Moléculas protéicas responsáveis pelo transporte celular e os processos de transporte de substâncias (adaptada de (GUYTON, 1993)).

A Figura 2.2 apresenta a composição química dos fluidos do meio intra e extracelular da membrana. Nota-se que o meio extracelular contém grande quantidade de *sódio* e *cloreto*, mas apresenta pouca quantidade de *potássio* e exatamente o oposto é encontrado no meio intracelular.

	Extracellular fluid	Intracellular fluid
Na ⁺	142 mEq/L	10 mEq/L
K ⁺	4 mEq/L	140 mEq/L
Ca ⁺⁺	2.4 mEq/L	0.0001 mEq/L
Mg ⁺⁺	1.2 mEq/L	50 mEq/L
Cl ⁻	103 mEq/L	4 mEq/L
HCO ₃ ⁻	26 mEq/L	16 mEq/L
Phosphates	4 mEq/L	75 mEq/L
SO ₄	1 mEq/L	5 mEq/L
Glucose	90 mg/dl	3 to 20 mg/dl
Amino acids	30 mg/dl	200 mg/dl
Cholesterol		2 to 50 g/dl
Phospholipids	0.5 g/dl	
Neutral fat		
PO ₂	35 mm Hg	20 mm Hg
PCO ₂	40 mm Hg	35 mm Hg
pH	7.4	7.5
Proteins	2 g/dl (5 mEq/L)	5 g/dl (140 mEq/L)

Figura 2. 2- Composição química dos fluidos do meio extra e intracelular(adaptada (GUYTON, 1993)).

O transporte de íons através da membrana celular pode ocorrer por difusão ou transporte ativo. O transporte por difusão é dividido em difusão simples e difusão facilitada. A difusão simples pode ocorrer de duas maneiras, através da bicamada lipídica ou através dos canais protéicos.

Algumas substâncias que apresentam uma grande lipossolubilidade, tais como o oxigênio, o nitrogênio, o dióxido de carbono, podem se dissolver diretamente na bicamada lipídica e se difundir através da membrana celular. Algumas substâncias insolúveis também podem passar através da bicamada lipídica, desde que sejam suficientemente pequenas (GUYTON, 1993). Outras substâncias precisam dos canais de proteínas para se difundir. Estes canais são muitas das vezes seletivamente permeáveis a certas substâncias e muitos destes podem ser abertos ou fechados por comportas. A seletividade de cada canal se deve ao fato das suas próprias características, como, seu diâmetro, sua forma e a natureza das cargas elétricas ao longo de suas superfícies internas.

As comportas dos canais protéicos representam um meio para controlar a permeabilidade desses canais. O controle de abertura ou fechamento das comportas se dá por dois meios: *comportas voltagem-dependente* e *comportas ligantes - dependentes* que se relacionam, respectivamente, com o potencial elétrico entre as duas faces da membrana celular e com a fixação de outra molécula à proteína.

A difusão facilitada necessita da ajuda de proteínas carreadoras, isto é, o carreador é o facilitador do transporte da substância para o outro lado da membrana.

O transporte ativo conta com a ajuda de proteínas transportadoras denominadas bombas, as mais importantes são as bombas de sódio-potássio e as bombas de cálcio. Elas transportam substâncias através da membrana celular, de uma área de menor concentração para outra de maior concentração. Existem dois tipos de transporte ativo: o *transporte ativo primário*, cujo processo de transporte está acoplado à quebra de uma ligação covalente da molécula de ATP, que é a fonte de energia necessária para que o processo ocorra e o *transporte ativo secundário*, no qual a substância é transportada devido à energia derivada, secundariamente, de gradientes de concentração iônica criados em primeiro lugar, por transporte ativo primário.

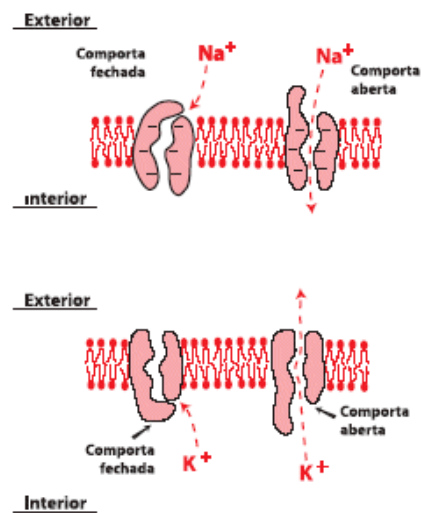


Figura 2. 3- Representação do transporte dos íons de sódio e potássio através dos canais de proteínas(adaptada de (GUYTON, 1993)).

2.3 Potencial de Membrana causado por Difusão

Todas as células do corpo humano apresentam um potencial elétrico através da sua membrana que é designado de potencial de membrana causado por diferenças entre as concentrações iônicas dos líquidos intracelulares e extracelulares. Nas condições de repouso, esse potencial é negativo no interior da membrana. Os potenciais de membrana desempenham papel fundamental na transmissão dos sinais neurais, no controle da concentração muscular, da secreção glandular, e em muitas outras funções celulares.

Observando a Figura 2.4-A, percebe-se uma situação em que se a membrana é permeável apenas a potássio, ela apresenta em seu interior uma alta concentração de potássio e assim estes íons tendem a se difundir para fora da membrana. Como o meio extracelular é mais positivo em relação ao meio intracelular, ocorre um potencial eletroquímico repelindo os mesmos para longe, ficando o meio intracelular ainda mais negativo devido aos ânions negativos que não se difundiram para fora junto com o potássio. Conseqüentemente haverá uma nova diferença de potencial que os repelirão novamente para dentro da membrana. Após o potencial atingir o valor de aproximadamente -94 mV, para a fibra nervosa, cerca de 1 ms depois, ocorre o bloqueio da difusão de potássio (GUYTON, 1993).

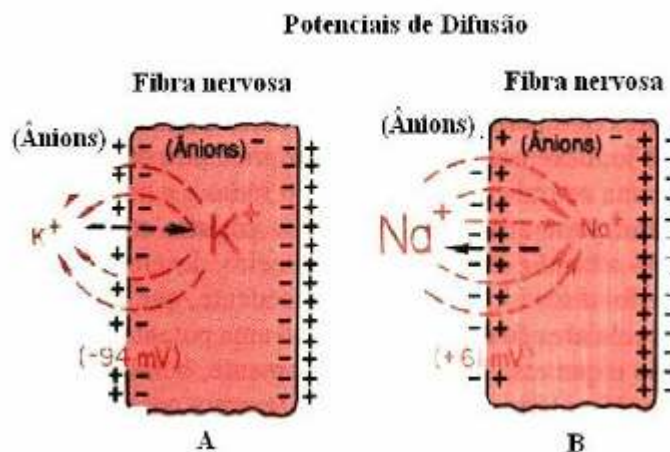


Figura 2. 4 - (A) Representação de potencial de difusão numa membrana permeável aos íons de potássio. (B) Representação de potencial de difusão numa membrana permeável aos íons de sódio (adaptado de (GUYTON, 1993)).

No caso de a membrana ser permeável apenas aos íons de sódio, como podemos observar na Figura 2.4-B, ela terá em seu exterior uma maior concentração de sódio. Sendo

assim estes íons tenderão a se difundir para dentro da membrana ficando o interior mais positivo que o exterior. Esta nova diferença de potencial repelirá os íons novamente para o exterior da membrana. Cerca de 1 ms depois, quando o potencial atinge aproximadamente 61 mV, para a fibra nervosa, ocorre um bloqueio da difusão de sódio (GUYTON, 1993).

Portanto, esta diferença de concentração de íons, através da membrana seletivamente permeável, pode provocar a geração de um potencial de membrana.

O potencial de membrana gerado através da membrana em equilíbrio eletroquímico, o *potencial de equilíbrio*, pode ser previsto utilizando a seguinte equação, denominada *equação de Nernst*:

$$FEM(mV) = \pm 61 \log \left(\frac{\text{concentração}_{\text{interna}}}{\text{concentração}_{\text{externa}}} \right) \quad (2.1)$$

Admite-se que o potencial de Nernst é o potencial no interior da membrana e considera-se que o potencial na face exterior sempre permanece exatamente no valor zero. O potencial será positivo quando o íon considerado for negativo e vice-versa.

2.3.1 Potencial de Repouso da membrana

O potencial de repouso é a diferença de potencial elétrico constante da membrana plasmática de células em repouso. Ele desempenha papel central na excitabilidade das células nervosas e musculares, bem como em algumas outras respostas celulares, já que a modificação desse potencial (os chamados potenciais de ação) resulta em diversas alterações nas células vivas.

O potencial de membrana das células nervosas quando estão em repouso é cerca de -90 mV. Os fatores com importância para o estabelecimento do potencial de membrana em repouso de -90 mV são o *potencial de difusão do potássio*, *difusão de sódio através da membrana* e *bombas de sódio-potássio*.

2.3.2 Potencial de Ação

Potencial de ação é a alteração brusca e rápida da diferença de potencial da membrana. Os sinais neurais são transmitidos através dos potenciais de ação. Nos neurônios, a propagação do sinal se dá em um único sentido, dendrito-axônio.

A Figura 2.5 representa esquematicamente o potencial de ação mostrando o seu início e a sua recuperação quase tão rápida. Na parte superior temos uma representação do que ocorre na membrana durante o potencial de ação, o qual mediu-se colocando pipeta de prata – cloreto de prata no interior da célula e obteve o gráfico da parte inferior.

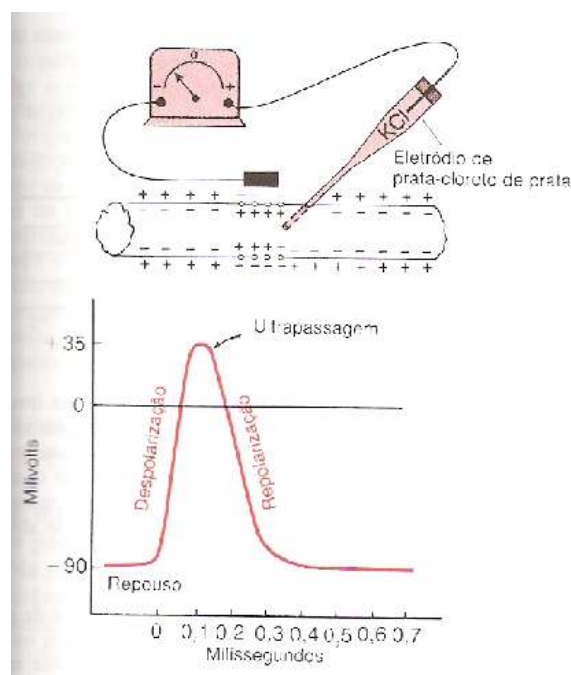


Figura 2. 5 - Gráfico de um potencial de ação com suas fases: despolarização, repolarização e repouso (hiperpolarização)(adaptado, GUYTON, 1993)).

Um potencial de ação em uma típica célula excitável dura apenas alguns poucos milésimos de segundo, e pode ser dividido nas seguintes fases:

- ✓ Repouso: corresponde ao potencial de membrana em repouso. Durante esta fase a membrana é dita “polarizada”, devido ao grande potencial negativo de membrana presente.
- ✓ Despolarização: Durante esta fase ocorre um significativo aumento na permeabilidade aos íons sódio na membrana celular aumentando assim o potencial de membrana.

Quando este potencial fica entre -70 a -50 mV os canais de sódio controlados por tensão começam a abrir rapidamente. Isso propicia um grande fluxo de íons sódio de fora para dentro da célula através de sua membrana fazendo com que o potencial varie rapidamente em direção a positividade. Após alguns centésimos de segundo os canais começam a fechar, ficando o interior da membrana mais positivo e o exterior negativo.

- ✓ Repolarização: Durante este curtíssimo período, a permeabilidade na membrana celular aos íons sódio retorna ao normal e, simultaneamente, ocorre agora um significativo aumento na permeabilidade aos íons potássio devido aos canais de potássio se abrirem mais que o normal. Tudo isso faz com que o potencial na membrana celular volte a ser negativo e então a membrana fica repolarizada (GUYTON, 1993).

2.5 Fisiologia do Sistema Nervoso Central

O sistema nervoso central (SNC) é formado por neurônios, células da glia e reduzida quantidade de substâncias intercelulares, atuando diretamente na coordenação funcional dos diferentes órgãos e demais sistemas, armazenando informações, captando sensações e efetuando reações por mecanismos hormonais e motores.

Pode-se dizer que os neurônios são os principais componentes do SNC, pois são células excitáveis altamente especializadas na recepção e condução de impulso de natureza elétrica possuindo grande variedade quanto ao tamanho, forma e função.

Os neurônios são envolvidos por uma membrana semi-permeável que separa o meio extracelular do meio intracelular. Esta membrana é formada por lipídios, onde flutuam proteínas de diferentes tipos e funções.

O citoplasma e o núcleo compõem todo o interior da célula nervosa. O citoplasma é composto por um líquido denso, uma sopa protéica denominada citosol, e por proteínas organizadas na forma de fibrilas compondo o citoesqueleto, cuja função é permitir a mobilidade dos neurônios jovens, além de dar a sua forma (LENT, 2004).

A Figura 2.6 mostra um típico neurônio com suas principais partes: corpo celular ou soma, dendritos e axônio.

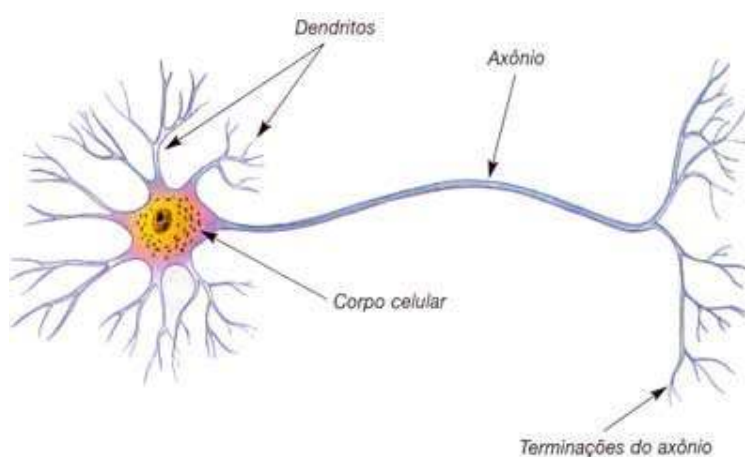


Figura 2. 6– *Figura que representa as principais partes do neurônio(adaptado de (URL 1)).*

É a partir do corpo celular que se originam as outras partes do neurônio e onde estão concentradas as principais organelas intracelulares. O núcleo é a maior organela presente no

corpo celular, onde se aloja grande parte do DNA e RNA do neurônio e é delimitado pela membrana nuclear. O retículo endoplasmático recebe o nome de “Corpúsculo de Nissl” e sua concentração indica a capacidade de grande taxa metabólica, particularmente uma alta taxa de incorporação de aminoácidos e de síntese de proteínas. Dos corpúsculos de Nissl brotam vesículas que juntamente com um “conjunto de cisternas citoplasmáticas” formam o aparelho de Golgi e deste brotam pequenas organelas citoplasmáticas denominadas lisossomos que contem enzimas que promoverão a renovação das organelas. Duas outras organelas presentes no corpo celular são: a mitocôndria que é muito importante para a vida de todas as células, pois realiza a fixação de oxigênio e o peroxissomo, uma organela semelhante ao lisossomo, contendo uma substância de proteção contra o peróxido.

Os dendritos são expansões do corpo celular. Possuem ramificações, denominadas ramos dendríticos constituídos de numerosas espinhas que são microcompartimentos que concentram íons e moléculas influentes na transmissão de informação entre os neurônios. A sua estrutura interna é similar ao corpo celular, e possui Corpúsculos de Nissl em sua porção inicial, diminuindo ou até desaparecendo nos ramos mais finos, assim como o aparelho de Golgi e os microtúbulos do citoesqueleto. A maioria dos sinais que vão ser transmitidos pelo neurônio o atinge pelos dendritos (LENT, 2004).

O axônio é um condutor de impulso nervoso. É revestido pelo axolema e o citoplasma do axônio recebe o nome de axoplasma, onde estão presentes os microfilamentos, microtúbulos que são responsáveis pela comunicação entre o soma e as extremidades do axônio: o fluxo axoplasmático e um pouco de mitocôndrias. A parte onde o axônio se une ao corpo celular é chamada de *cone de implantação* ou *zona de disparo*, região muito excitável do neurônio. Muitos axônios são revestidos por uma camada isolante composta por lipídios e proteínas, chamada bainha de mielina.

Os neurônios são classificados quanto à forma em *multipolares*, *bipolares* e *unipolares* e quanto à função em *motores (eferentes)*, *sensoriais (aférentes)* e *interneurônios* (Figura 2.7).

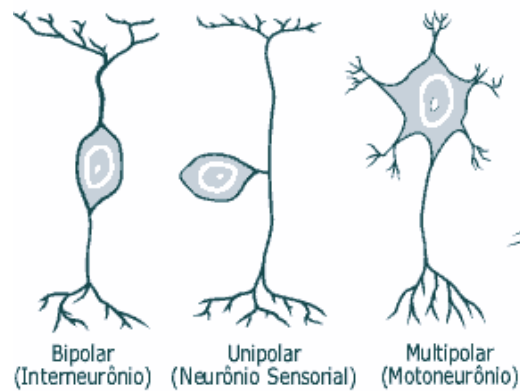


Figura 2. 7 - Classificação dos neurônios quanto à forma e função (modificado de (URL 2)).

2.5.1 Algumas Células do SNC

O córtex cerebral é a camada mais externa do cérebro e está dividido em seis camadas apresentando grande quantidade de neurônios organizados em agrupamentos chamadas microcolunas (LENT, 2004). O córtex cerebral integra sinais sensoriais, permite seu processamento associativo graças ao número enorme de conexões horizontais entre suas áreas funcionais, e gera comandos efetores que são modulados por outras estruturas associadas, como os núcleos da base e o cerebelo, e então enviados aos neurônios efetores.

Os tipos de células presentes no córtex são:

1) Células estelares: Este tipo de neurônio não apresenta espinhas dendríticas e os dendritos estão em torno do corpo celular sem orientação preferencial (estrelada). Está presente na IV camada do córtex cerebral.



Figura 2. 8 - Célula estrelada (adaptado de (URL 16)).

2) Células granulares: São granulações no citoplasma e estão presentes nas camadas II e IV do córtex cerebral. São responsáveis pela recepção da informação sensitivo–sensorial. São neurônios excitatórios e juntamente com os neurônios estelares compõe os interneurônios cuja função é estabelecer conexões entre outros neurônios formando circuitos complexos.

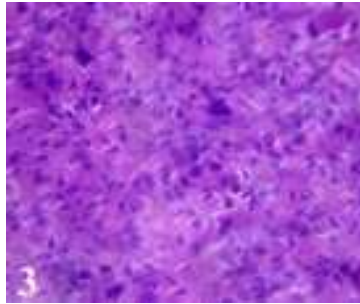


Figura 2. 9 - *Células granulares* (adaptado de (URL 7)).

3) Células fusiformes: São células que apresentam o corpo celular em forma de fuso e estão presentes nas camadas I e IV do córtex cerebral. São neurônios inibitórios e sua principal função é de associação.

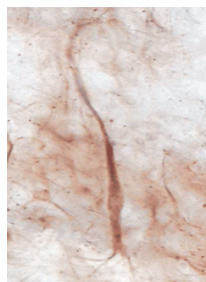


Figura 2. 10 - *Célula fusiforme* (adaptado de (URL 6)).

4) Célula piramidal: Estas células possuem o corpo celular em forma de pirâmide e estão presentes na camada V do córtex cerebral. São células fundamentais para a transmissão do impulso nervoso, devido a sua forma, pois seus dendritos apresentam várias espinhas dendríticas e também por possuir o axônio vertical descendente.

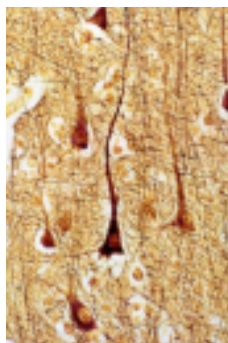


Figura 2. 11 - *Célula piramidal (adaptada de (URL 4)).*

5) Célula de Purkinje: Estas células estão localizadas no cerebelo. Possuem grande árvore dendrítica e transmitem impulsos eferentes formados no córtex cerebelar.

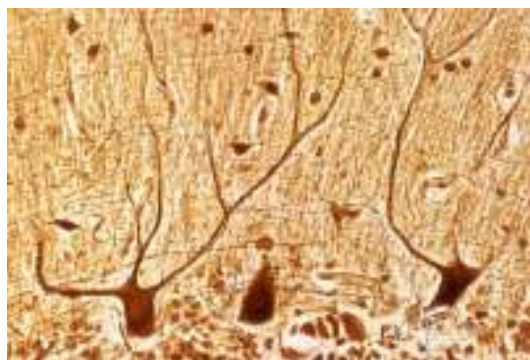


Figura 2. 12 - *Neurônio de Purkinje (adaptada de (URL 4)).*

2.5.2 Os Tipos de Célula da Glia

As células da glia, também conhecidas como neuroglia, estão presentes no sistema nervoso central e sistema nervoso periférico e são responsáveis pela nutrição, proteção e sustentação dos neurônios fornecendo a eles nutrientes e oxigênio. As células da glia constituem cerca de metade do volume do encéfalo. Elas se diferem quanto à morfologia, a origem embrionária e às funções que exercem.

São elas:

1) Astrócitos: São as maiores células da neuroglia, podendo ser divididas quanto à sua localização em astrócitos protoplasmáticos que apresentam ramificações curtas e estão localizados na substância cinzenta, e em astrócitos fibrosos que possuem prolongamentos longos e poucas ramificações e se encontram na substância branca. Estas células possuem núcleos esféricos centrais e os prolongamentos envolvem os capilares sanguíneos e os

induzem a formar junções oclusivas que constituem a barreira hematoencefálica (LENT,2004). Os astrócitos também enviam seus prolongamentos à superfície dos órgãos do SNC (encéfalo, medula), onde formam uma camada na superfície do tecido nervoso. Dessa forma, os astrócitos formam um compartimento funcional com os íons e as moléculas adequadas para o bom funcionamento dos neurônios.

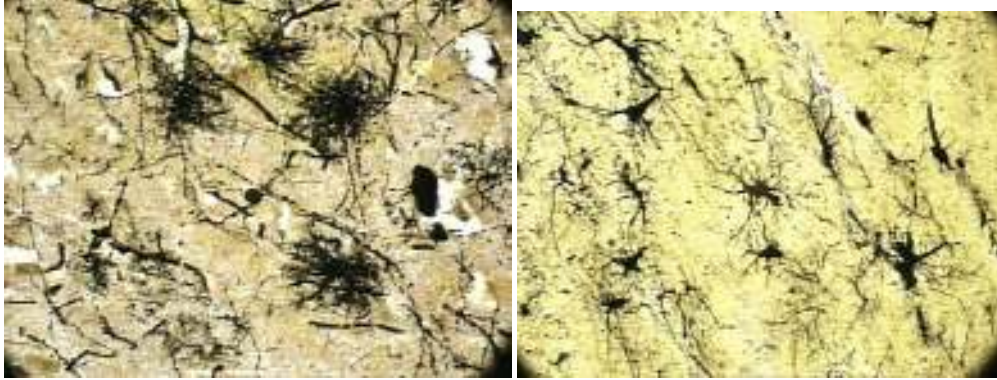


Figura 2. 13 - *Astrócito protoplasmáticos no lado esquerdo e astrócito fibroso no lado direito (adaptado de (URL 8)).*

2) Oligodendrócitos: São células menores e possuem poucos prolongamentos e seu citoplasma possui mais organelas do que as outras células da neurógli. Situam-se tanto na substância branca como na cinzenta, sendo encontrados apenas no SNC. Na substância cinzenta, estas células se localizam preferencialmente próximo aos corpos celulares dos neurônios, constituindo células satélites, que formam uma relação simbiótica com esses neurônios. Já na substância branca, os oligodendrócitos estão organizados em fileiras, entre as fibras nervosas, e produzem a bainha de mielina.

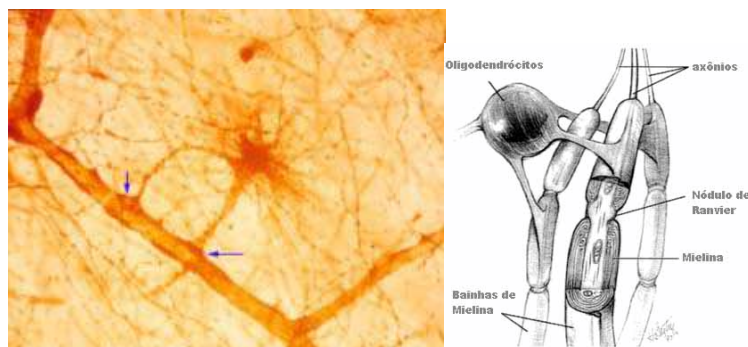


Figura 2. 14 - *No lado esquerdo temos uma foto de um oligodendrócito e no lado direito uma representação de um oligodendrócito (adaptado de (URL 5)).*

3) Células microgliais: Estas células são macrofágicas, cuja principal função é a defesa imunológica do SNC. O corpo dessas células é pequeno e alongado, com núcleo denso e também alongado. Pouco numerosas, com prolongamentos curtos e cobertas por saliências finas, conferem a essas células um aspecto espinhoso. Localizam-se tanto na substância branca quanto na cinzenta.

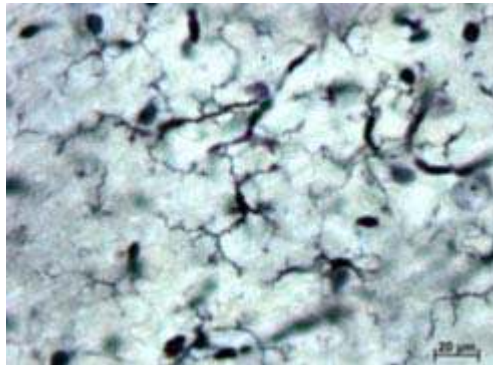


Figura 2. 15 - Microfotografia de células microgliais (adaptado de (URL 5)).

4) Células endoteliais: São células cilíndricas, com a base afilada e diversas vezes ramificada, que originam prolongamentos que se dispõem no interior do tecido nervoso. São células que possuem um arranjo epitelial e que revestem as cavidades do encéfalo e da medula, e conseqüentemente, estão em contato com o líquido cefalorraquidiano, que é encontrado no interior dessas cavidades.

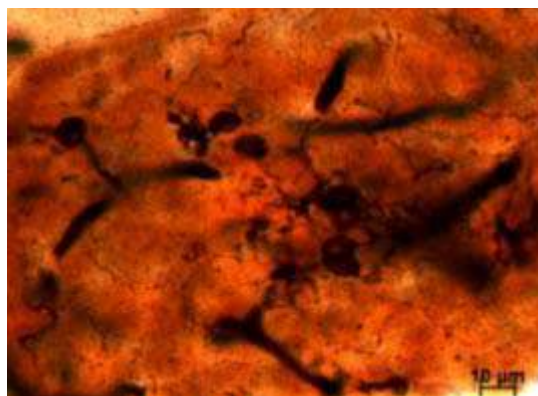


Figura 2. 16 - Célula endotelial (adaptado de (URL 5)).

2.5.3 O Tecido Nervoso

O tecido nervoso é composto pelos neurônios e pela neuroglia formando os órgãos dos sistemas nervosos central, periférico e autônomo. É sensível a vários tipos de estímulos que se originam de fora ou do interior do organismo. Ao ser estimulado, esse tecido torna-se capaz de conduzir os impulsos nervosos de maneira rápida e, às vezes, por distâncias relativamente grandes. Trata-se de um dos tecidos mais especializados do organismo animal.

O tecido nervoso está em contacto com os músculos, regulando o seu movimento, e com os tecidos glandulares regulando a sua atividade secretora.

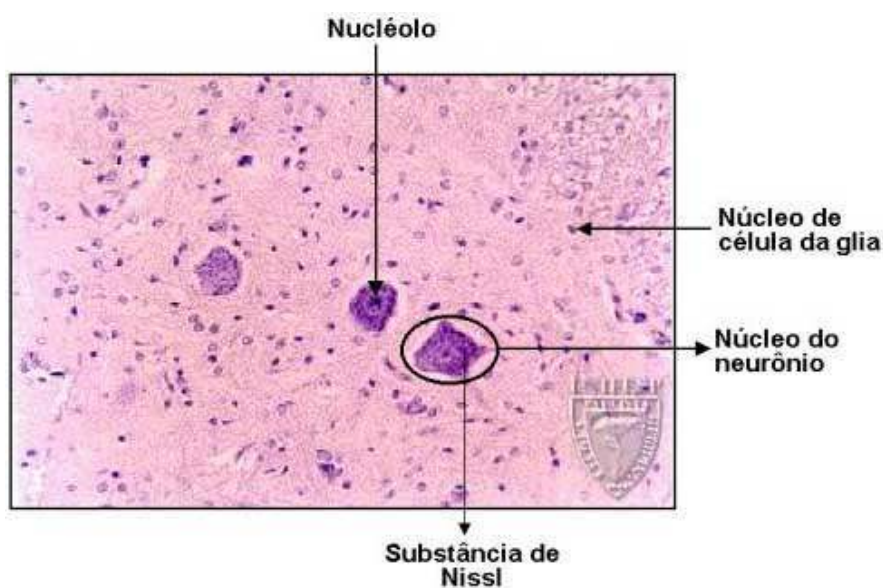


Figura 2. 17 - *Microfotografia do tecido nervoso e seus principais componentes (adaptado de (URL 3)).*

2.6 Culturas Celulares

A ciência da cultura celular, juntamente com a sua aplicação aos problemas de neurobiologia surgiu através dos experimentos realizados por R. Granville Harrison (CHIAPPALONE, 2003), nos primeiros anos do século XX. O objetivo em demonstrar que a célula poderia sobreviver e crescer fora do corpo era provar que, mesmo em cultura, os aspectos morfológicos como sinapses, mielinização, poderiam acontecer fora do organismo, em culturas.

Cultura celular é um conjunto de técnicas que permitem cultivar ou manter células isoladas fora do organismo onde existem, mantendo as características próprias. As células são removidas do animal ou da planta e em seguida são alojadas dentro de um recipiente de vidro ou plástico, o qual contém um líquido ou substância que supre as necessidades da célula permitindo sua sobrevivência e o seu crescimento. Esta substância nutritiva é constituída por uma solução salina balanceada, que é uma simples mistura de sais Na^+ , K^+ , Mg^{2+} (MgSO_4), Ca^{2+} , Cl^- , PO_4 e HCO_3 (CHIAPPALONE, 2003) e glicose.

Experimentos realizados com células obtidas de cultura são, às vezes, ditos como tendo sido conduzidos *in vitro* para diferenciá-los daqueles experimentos com organismos intactos, os quais são conhecidos como conduzidos *in vivo*.

Segundo (RYAN, 2008), denomina-se cultura primária (ou cultura dissociada) quando um pedaço de tecido é retirado do organismo e é colocado em uma cultura onde as células se fixarão, se dividirão e crescerão. Existem duas formas de se obter uma cultura primária. O primeiro é conhecido como cultura explantar, onde pedaços de tecido são fixados no prato de cultura e são banhados com uma substância nutritiva permitindo o crescimento das células. Esta substância consiste em um soro suplementado de base média juntamente com um conjunto de hormônios e fatores de crescimento. Após alguns dias nesta cultura, as células irão mover do tecido para a superfície com a cultura e iniciará o processo de crescimento e divisão celular. A segunda forma de obter uma cultura primária é através da dissociação enzimática, a qual se adicionando enzimas tais como tripsina ou colágenos aos pedaços de tecido para separar as células que estão juntas, permitindo a suspensão de uma única célula que então é colocada dentro de um prato de cultura para poder crescer e se dividir.

Quando as células de uma cultura primária crescem e ocupam todo o espaço disponível na cultura, elas são suavemente removidas com enzimas, do mesmo modo que se obtém uma cultura primária, e em seguidas são colocadas em novos vasilhames de cultura para continuar o seu crescimento.

2.6.1 Preparação de uma cultura de neurônios

Culturas de neurônios extraídos de embrião de ratos são mais utilizadas por causa de várias vantagens, tal como, o baixo custo. O primeiro dia embrionário é contado a partir do momento da concepção. Após as 24 horas da concepção é marcado o 2º dia do embrião. O crescimento do embrião depende do estado hormonal da mãe, dentre outros fatores. No início do 4º dia de gestação, o embrião é uma mórula contendo 12 a 16 células (CHIAPPALONE, 2003). O embrião é implantado no útero da mãe no 5º dia de gestação, quando o blastócito é enganchado pelo endométrio. Do 9º ao 10º dia começam a surgir as primeiras protovértebras, que são massas de mesoderma, dispostas paralelamente ao tubo neural do embrião que formam a coluna vertebral e a musculatura segmentar. No 16º dia, o número de vértebras vai de 58 para 65 e o comprimento do embrião, medido conforme a Figura 2.18 é em média 13,5 mm.

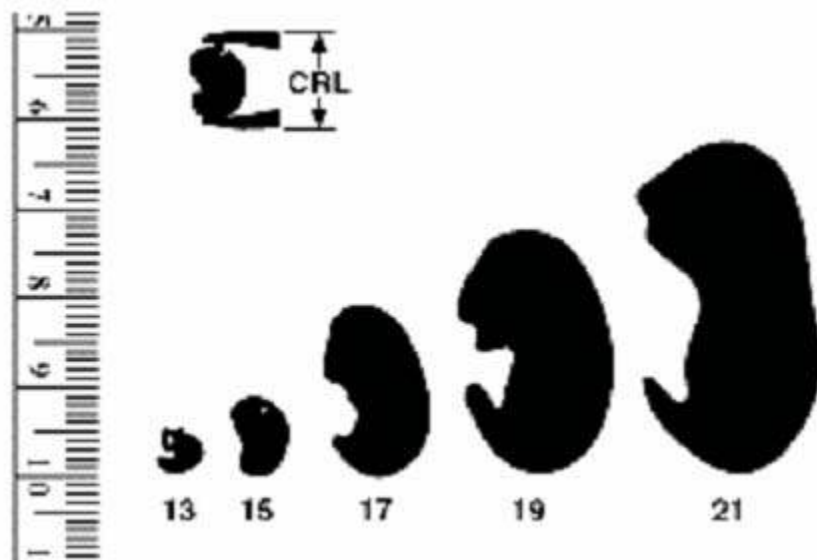


Figura 2. 18 – Medida de um embrião de rato mostradas nos dias 13, 15, 17, 17 e 21 (adaptada de(CHIAPPALONE, 2003)).

Após a fase de organogênese, que ocorre no 5º dia (dia da implantação) ao 9º dia, o embrião entra na fase de maturação. Nesta fase o crescimento dos órgãos torna-se funcionalmente completa. O período de gestação de uma ratazana é de 21 a 23 dias, sendo que no 22º dia o comprimento do embrião é de 40,5 a 42,6 mm e o peso é de 5,9 a 6,4 gramas (CHIAPPALONE, 2003).

É necessário esterilizar e preparar a MEA um dia antes da data prevista para a cultura. A camada isolante da MEA é preparada com uma solução a Poli-l/d-Lysine e concentração final de 0.1 mg/ml, (CHIAPPALONE, 2003), a qual será colocada no substrato da matriz e estas ficarão em uma incubadora durante a noite. Na manhã seguinte, esta MEA deverá ser lavada a fim de retirar o excesso da solução e a concentração da lâmina passa a ser de 0.02 mg/ml e esta MEA ficará por mais duas horas na incubadora e finalmente ela deve ser lavada mais algumas vezes e secada antes da colocar o tecido.

Os neurônios corticais são extraídos do embrião do rato entre o 18º e 19º dia de gestação. Segundo (CHIAPPALONE, 2003), as principais etapas para este procedimento são:

- ✓ Anestesiar a rata gestante com O₂/CO₂.
- ✓ Estando o animal em uma superfície esterilizada, com a parte inferior do abdômen também esterilizada, faz-se um corte medialmente, a fim de expor a musculatura abdominal. Esta musculatura é pulverizada com etanol e então é feito mais um corte para deixar o útero exposto.
- ✓ Retirar todo o útero contendo os filhotes e colocar em uma placa de Petri com PBS (phosphate-buffered saline) ou HBSS (Hanks balanced salt solution).
- ✓ Remover os filhotes do saco embrionário (Figura 2.19) e decapitar as cabeças, colocando-as em uma placa de Petri contendo PBS ou HBSS.
- ✓ Utilizando uma pequena tesoura, fazer um corte na cabeça, a fim de deixar o cérebro exposto.
- ✓ Tendo exposto o cérebro, inserir uma espátula estéril em frente à parte rostral do córtex e colher cuidadosamente o cérebro do crânio.
- ✓ Isolar o hemisfério cortical, remover as meninges e bulbos olfatórios com um par de pinças fina, cortar o hipocampo e gânglios basais.
- ✓ Recolher todos os hemisférios corticais em uma placa de Petri 35mmØ com PBS sobre o gelo.



Figura 2. 19 – Embrião de rato entre o 18º e 19º dias (adaptada de(TINKLE et al.,2008)).

Após a remoção de todas as partes corticais, o PBS deve ser removido da placa de Petri, adicionando a esta placa uma solução de 500µl de 0,125% de tripsina a 37 ° C. O córtex cortado em pequenos pedaços é removido para um tubo centrifugador de 15ml contendo de 2 a 3ml de solução de tripsina, para cada córtex. O tubo é banhado com água e incubado por 25 a 30 minutos a 37 ° C, sendo agitado suavemente a cada 5 minutos. Em seguida, retira-se a tripsina excedente com uma pipeta e para bloquear a quebra de moléculas de proteínas (digestão proteolítica) é adicionado ao tecido 5ml de solução nutritiva contendo 10% de soro fetal bovino. Esta operação deve ser repetida até que não haja mais aglomerações de tecido.

As células são retiradas em um meio composto com 2% de vitamina B27 e 1% de Glutamax I em 10 ml de soro Neurobasal (CHIAPPALONE, 2003). Elas são contadas utilizando um hemocitômetro e então a suspensão de células corticais é diluída em uma concentração final de 800000 células / ml.

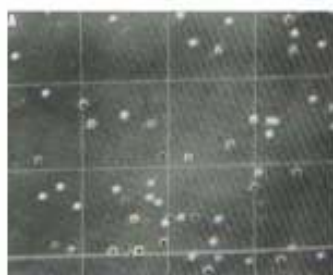


Figura 2. 20 – Neurônios após a dissociação (adaptada de CHIAPPALONE, 2003)).

2.7 Matrizes Multieletrodo (MEAs)

Matriz Multieletrodo é um dispositivo construído a partir de um substrato onde estão alojados microcircuitos compostos de um conjunto de microeletrodos, os quais ficarão em contato com o corpo celular do neurônio (Figura 2.21). Esta ferramenta é utilizada para medir e monitorar atividades espontâneas de neurônios permitindo registrar simultaneamente a atividade elétrica de cerca de centenas de neurônios podendo captar dados em múltiplas posições. Estes microeletrodos devem apresentar uma superfície bem pequena suficientemente capaz de detectar sinais elétricos com uma relação aceitável de sinal-ruído e a condição ideal para uso deste dispositivo é que os eletrodos estejam localizados próximos à célula. Para uma melhor qualidade do sinal registrado é necessário diminuir a impedância do eletrodo e proporcionar uma melhor fixação entre a célula e o substrato (RUTTEN, 2002). Sendo assim, o substrato é uma variável importante a ser considerada na fabricação de MEA. Para redução da impedância do eletrodo tem-se feito a platinização dos mesmos (CHIAPPALONE, 2003). As culturas celulares se adaptam muito bem em MEAs devido ao fato de serem não-invasivas.

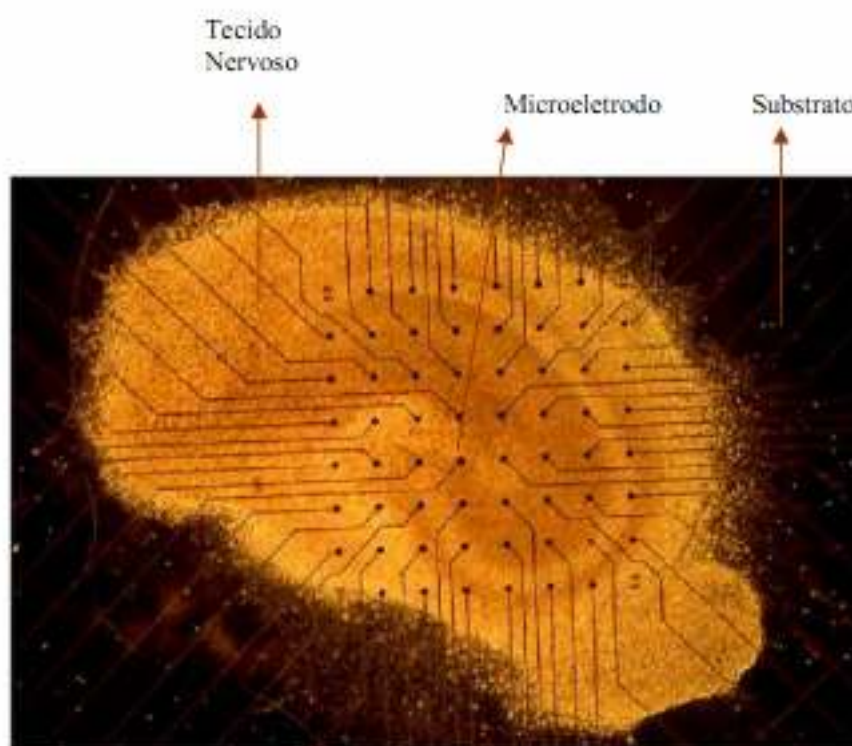


Figura 2. 21 – Conjunto de microeletrodos em um tecido nervoso (adaptada de (RIBEIRO, 2006)).

Tem-se que a primeira MEA foi proposta por Thomas et al. em 1972, (RIBEIRO, 2006), e consistia em uma MEA de ouro platinado embutida em um substrato de vidro, onde detectou-se a atividade de culturas dissociadas de células do coração de galinha (CHIAPPALONE, 2003). Foi a partir de 1980 que se realizaram experimentos com culturas de neurônios e obteve-se a confirmação experimental de que as matrizes de fato medem sinais extracelulares, que são os correspondentes temporais dos sinais intracelulares (RIBEIRO, 2006).

O desenvolvimento de MEAs vem crescendo com o progresso do processamento de dados e também pelo fato de serem capazes de registrar a atividade elétrica de uma grande quantidade de eletrodos. As MEAs disponíveis no mercado são produzidas na Alemanha pela Multichannel Systems e no Japão pela Panasonic (CHIAPPALONE, 2003) e o fato comum de todas estas matrizes é a natureza não porosa do substrato.

Existem vários tipos de técnicas clássicas de eletrofisiologia para MEAs, umas utilizam eletrodos de fios finos passivados, outras, eletrodos constituídos de micropipetas de vidro enchidos com uma solução salina. Estas micropipetas são também utilizadas para medir corrente através da técnica de patch-clamp, que é uma técnica que permite medir corrente iônica através dos canais protéicos das membranas quando uma voltagem constante é aplicada às mesmas. Elas são fabricadas pela expansão do tubo de vidro localmente aquecido, obtendo uma abertura muito pequena, cerca de 30 nm (CHIAPPALONE, 2003). Daí, elas são inseridas dentro de cada neurônio e assim pode medir o potencial intra ou extracelular.

As posições dos eletrodos numa matriz não podem ser controladas com a mesma exatidão do que as pipetas de vidro, mas neste caso, isto não é problema, pois em uma cultura primária, as células cobrem toda superfície e a disposição dos eletrodos é a mesma durante todo o experimento. O uso de microeletrodos em substratos planares fornece uma junção entre a membrana celular e os microeletrodos. Estas estimulações entre os neurônios podem durar dias, e por isso durante esse tempo os neurônios da cultura desenvolvem mudanças nos contatos sinápticos na presença de condições fisiológicas, mostrando também possibilidade na mudança de sua forma, aderência e ramificação (Figura 2.22).

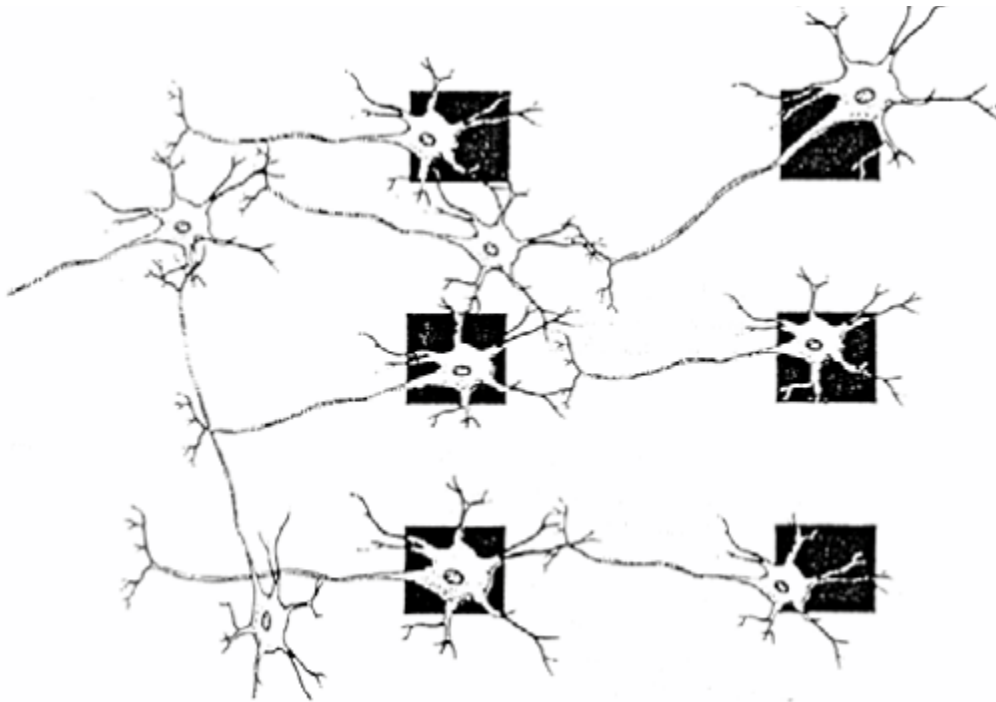


Figura 2. 22 – *População de neurônios desenvolvidos em um MEA com seis eletrodos de contato (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003).*

2.7.1 – Alguns tipos de MEAs existentes no comércio

Os tipos de MEAs se diferem por: materiais carreadores usados, área de gravação, geometria, tamanho do eletrodo, distância intereletrodo. A seguir alguns modelos de MEA existentes no mercado.

MEA Ntt

A MEA Ntt consiste em uma matriz com 64 microeletrodos cobertos com isoladores compatíveis, fabricados pela técnica de fotolitografia, com uma camada espreada de Indium Tin Oxide (ITO) (material transparente, o que permite manipulação por microscópio ótico) ou ouro sobre o substrato isolado. Os microeletrodos são revestidos com uma fina camada de platina preta para reduzir a impedância de interface e o valor da impedância do eletrodo a 1 kHz é em torno de 100 k Ω (CHIAPPALONE, 2003).

A matriz é arranjada em uma grade quadrada 8 x 8, compondo uma área de 1,6 x 1,3 mm e o tamanho dos terminais onde se capta os sinais pode ser 50 μ m x 50 μ m e a distância entre eles de 250 μ m, ou 30 μ m x 30 μ m e a distância de 150 μ m. Para diminuir a

impedância, a superfície dos eletrodos é coberta por um corante de platina. O valor desta impedância é em torno de 100 k Ω até 1 kHz (Figura 2.23).

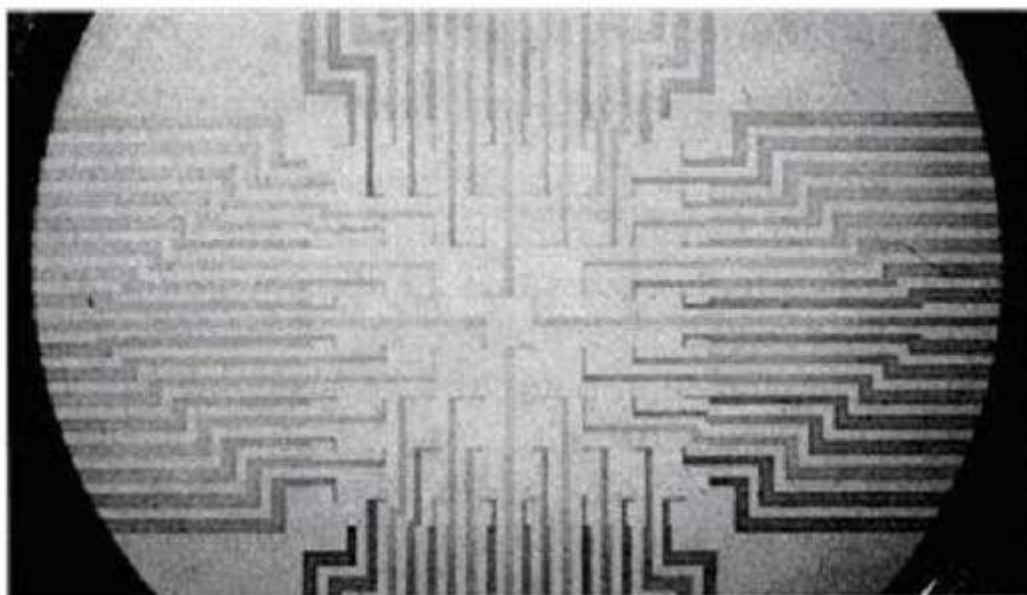


Figura 2. 23 – MEA Ntt. (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).

MEA em forma de ninho

O material utilizado para esta matriz deve apresentar resistência à solução salina usada em culturas celulares e resistência a altas temperaturas de esterilização, pois as células neuronais são cultivadas diretamente na superfície da matriz. A lâmina de vidro do substrato tem 1 mm de espessura e os eletrodos são feito de ouro e possuem apenas 30 nm de espessura. Esta matriz é caracterizada pela camada central polimérica chamada leaky wall (Figura 2.24), uma estrutura que possui microcaminhos em forma de túneis os quais os neuritos devem seguir durante seu crescimento.

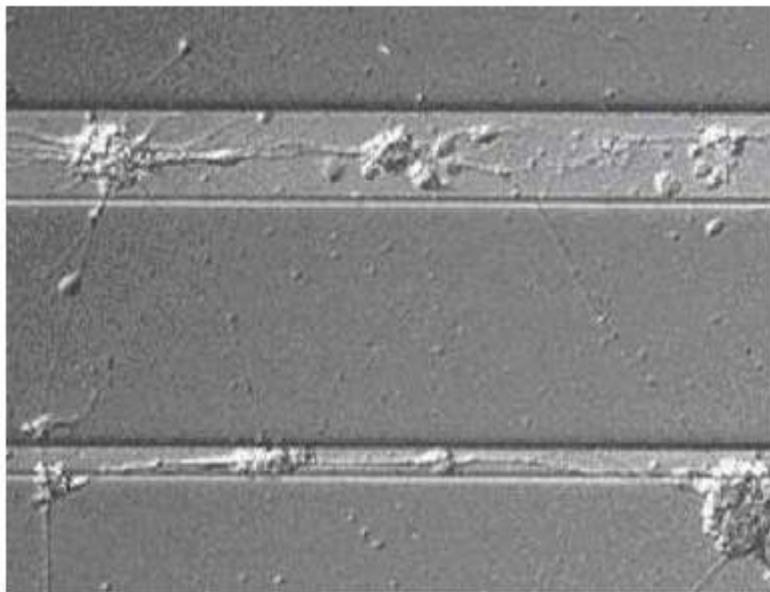


Figura 2. 24 – MEA em forma de ninho com leaky wall (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).

Esta matriz tem 61 eletrodos, onde 21 estão localizados do lado esquerdo (seção de estimulação) do leaky wall e os outros 40 do lado direito (seção de aquisição). Os eletrodos de estimulação têm 20 μm de diâmetro e os de aquisição têm 10 μm . A distância entre eles, para os dois tipos, pode variar de 160 a 320 μm . Para um maior número de contatos sinápticos a maior parte dos neurônios deve ficar próximo ao leaky wall.

MEA Stanford

Esta matriz possui 74 microeletrodos planares de ouro de dimensão 30 μm x 30 μm arranjados em 5 quadrados (1,5 mm x 1,5mm), e é caracterizada por uma profundidade variando entre 50 e 100 μm . Ela é composta por uma camada grossa de poliamida. Estes pontos estão localizados entre uma distância de 500 μm entre eles e conectados juntos por recursos de canais micromaquinados com a mesma profundidade sobre 100 μm de extensão.

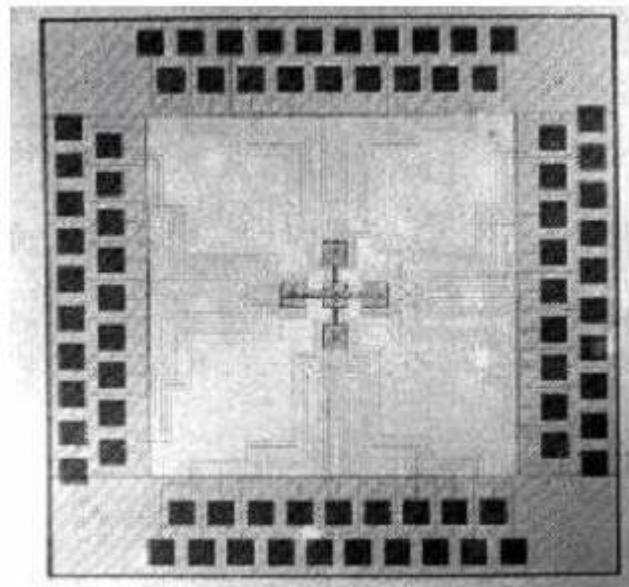


Figura 2. 25 – MEA Stanford (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).

A configuração particular da sub população de neurônios pode ser muito útil para monitoramento da atividade elétrica de pequenas populações da cultura de neurônios dentro do quadrado, estimulação e gravação da atividade elétrica de sub populações de neurônios conectados cada um com canais micromaquinados e desenvolvimento de técnicas de plaqueamento de diferentes populações de neurônios para gravar a atividade elétrica da rede de neurônios durante seu desenvolvimento.

MEA Standard

As MEAs Standard possui 60 eletrodos em um layout de 8 x 8, conforme apresentado na Figura 2.26. O diâmetro dos eletrodos pode variar entre 10 μm (distância intereletrodo 100 μm ou 200 μm) e 30 μm (distância intereletrodo de 200 μm ou 500 μm). Estas matrizes apresentam um eletrodo interno de referência com as mesmas dimensões descritas anteriormente.

Os eletrodos planos circulares são feitos de nitrido de titânio (TiN), e as trilhas são feitas de titânio ou ITO. O material utilizado para isolamento é nitrido de silício.

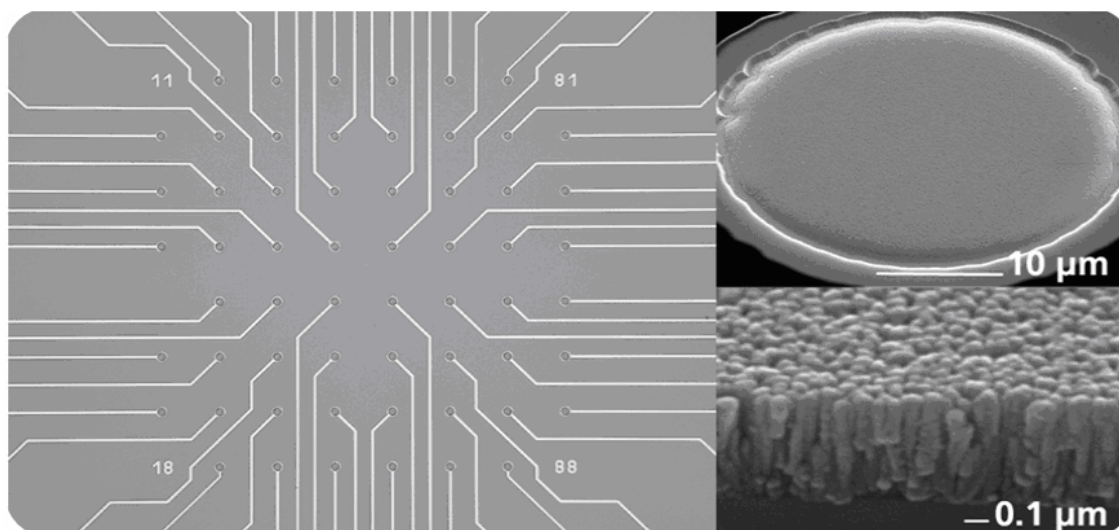


Figura 2. 26 – MEA Standard (adaptado de (URL17))

MEA HighDense

MEAs deste tipo possuem eletrodos de 10 µm arranjados em dois campos de gravação com 5 x 6 eletrodos cada. O espaço intereletrodo é de apenas 30 µm centro a centro, vide Figura 2.27.

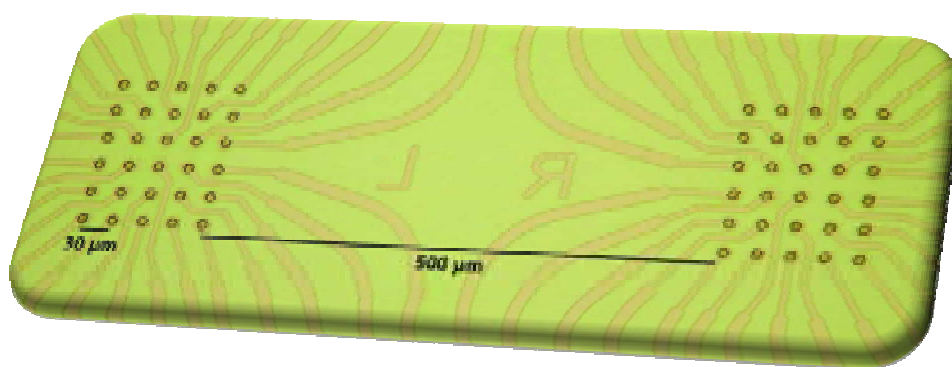


Figura 2. 27 - HighDense MEA com seus dois campos de gravação (adaptado de (URL 17)).

Os eletrodos planos circulares são feitos de nitrido de titânio (TiN), e as trilhas são feitas de titânio ou ITO (transparente). O material utilizado para isolamento é nitrido de silício.

Este tipo de MEA é especialmente útil para aplicações onde uma alta resolução espacial é crítica.

MEA 3D

Neste tipo de MEA os eletrodos possuem a forma pontiaguda, o que proporciona maior área de contato. Por padrão, possuem 60 eletrodos alinhados em layout 8×8 . A distância intereletrodo é de 200 μm .

Os eletrodos de platina possuem 50 a 70 μm de altura com diâmetro da base de 40 μm , como mostrado na Figura 2.28. As trilhas são feitas de platina, e o material de isolamento é o *SU-8*.

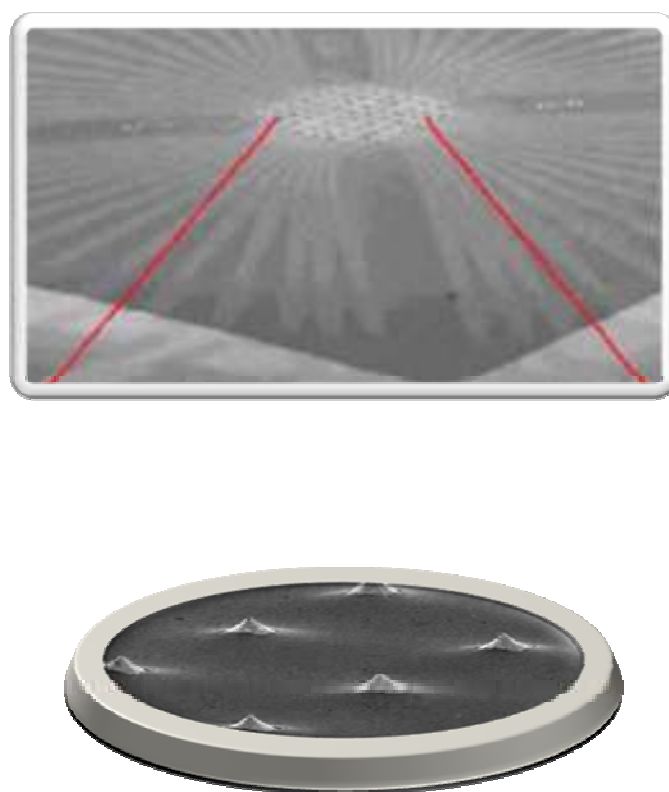


Figura 2. 28 - MEA 3D, com detalhe dos eletrodos (figura de baixo)(adaptado de (URL 17)).

Estes tipos de MEAs são estáveis em temperaturas até 80 °C.

Devido ao formato dos eletrodos podem penetrar em camadas de células danificadas e entrar em contato com as células saudáveis acima.

EcoMEAs

As EcoMEAs são uma variação mais barata das MEAs. Novos processos de produção e o uso de novos materiais tornaram possível a criação desta MEA de alta qualidade a preços muito baixos.

Apesar de mais acessíveis, este tipo de MEA é opaca, o que impossibilita operação com microscópio. Entretanto, é ideal para culturas estabilizadas. Recomenda-se utilizar uma *MEA Standard* com eletrodos de 30 μm e espaçamento entre eles de 200 μm , para estabilização da cultura celular e depois transferi-la para a EcoMEA.

Este tipo de MEA é bastante útil para situações onde uma alta resolução espacial não é importante. Possui um layout 8×8 , entretanto outros layouts são possíveis a baixo custo. Os eletrodos possuem diâmetro de 100 μm e distância intereletrodo de 700 μm (vide Figura 2.29).

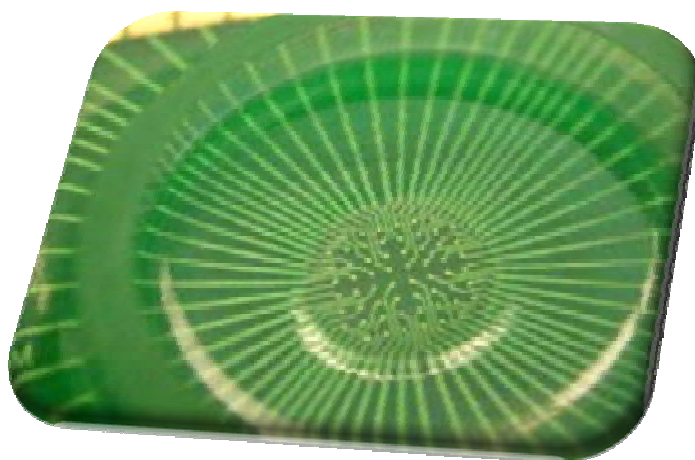


Figura 2. 29 – EcoMEA (adaptado de (URL 17)).

Tanto os eletrodos como as trilhas são fabricados em ouro puro, e podem ir em autoclave.

EcoMEAs novas são muito hidrofóbicas. Portanto, devem ser revestidas com nitrocelulose ou tratada com um limpador de Plasma antes de usar.

FlexMEAs

FlexMEAs são feitas de material polimérico flexível. São perfeitas para aplicações *in vivo* e aplicações especiais *in vitro*.

Possuem apenas 12 μm de espessura e, com massa de menos de 1 g, tem 32 eletrodos mais dois eletrodos de referência indiferentes e dois eletrodos de base.

A base flexível é perfurada para um melhor contato com o tecido, conforme pode ser verificado na Figura 2.30.

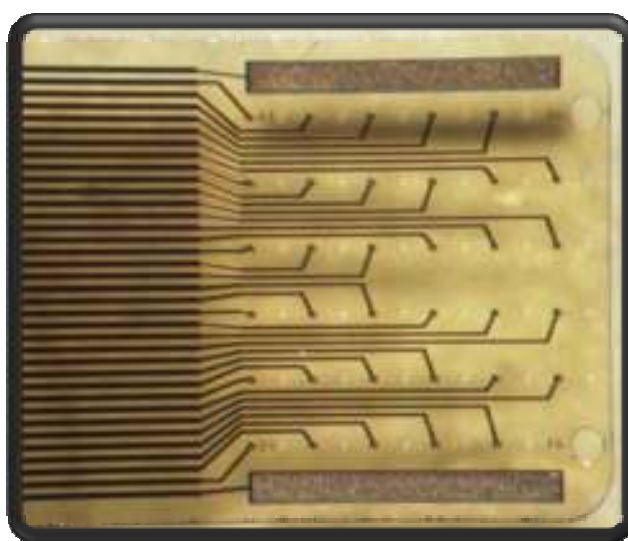


Figura 2. 30 - FlexMEA. Observe os furos que permitem melhor fixação do dispositivo (pontos brancos entre eletrodos) (adaptado de (URL 17)).

Os eletrodos possuem diâmetros de 30 μm e a distância intereletrodo é de 300 μm . Os materiais condutores utilizados são de ouro puro. Este tipo de MEA é estável em temperaturas entre 10 °C e 40 °C.

A Tabela 2.1 apresenta um quadro comparativo entre alguns tipos de MEAs discutidos anteriormente.

Tipo de MEA	MEA Standart	MEA 3D	Eco-MEA
Compatibilidade de Temperatura	0 °C a 125 °C	0 °C a 80 °C	0 °C a 125 °C
Dimensão	49 mm x 49 mm x 1 mm	49 mm x 49 mm x 1 mm	49 mm x 49 mm x 1 mm
Peso	8 g	8 g	8 g
Material da Base	Vidro	Vidro	-
Blocos de Contato e Material da trilhas	Oxido de estanho de Indium (ITO)	Platina	Ouro
Diâmetro do Eletrodo	10, 20 e 30 μm	40 μm (na base)	100 μm
Distância inter-eletrodo	100 a 200 μm ou 200 a 500 μm	200 μm	700 μm
Altura do Eletrodo	Planar	Aproximadamente 50 μm a 70 μm	Planar
Tipo do Eletrodo	Nitrído de Titânio	Platina	Ouro
Tipo do Isolador	Nitrído de Silício 500 nm (PEVCD)	SU-8	-
Impedância do Eletrodo	30 k Ω a 400 k Ω , dependendo do tipo e diâmetro do eletrodo	aprox. 400 k Ω (escala de 250 a 500)	aprox. 30 k Ω
Layout da distribuição dos eletrodos na grade	8 x 8	8 x 8	8 x 8
Número de Eletrodos	60	60	60

Tabela 2.1 - Quadro comparativo de alguns tipos de MEAs.

2.7.2 – Instrumentação

Os sinais analisados nesta dissertação foram adquiridos através de uma MEA planar contendo 60 microeletrodos (*Multi Channel Systems - MCS*), cujas dimensões principais correspondem a 30 micrômetros de diâmetro e 200 micrômetros de espaçamento entre si, distribuídos em uma matriz 8 x 8. Utilizou-se cultura de neurônios retirados do hipocampo de embrião de rato com 18 a 19 dias, cujo mesmo foi retirado segundo técnicas de dissecação e cuidados descritos na seção 2.6.1.

Cada microeletrodo foi conectado a um amplificador, constituindo assim um conjunto de 60 amplificadores compreendendo os estágios de pré-amplificação e amplificação propriamente dita, com ganho total absoluto de 1200.

Foi utilizado também um computador equipado com placa PCI de aquisição de dados com no máximo 128 canais de registro e 12 bits de resolução, um microscópio invertido, uma mesa antivibratória, um controlador de temperatura e uma gaiola de Faraday. Os dados foram monitorados e gravados usando o software comercial *MCRack*, que permite monitorar os sinais em tempo real por um longo prazo de aquisição à partir do MCS.



Figura 2. 31 – À esquerda, uma visualização do software MCRack na tela e à direita, a área de trabalho dos experimentos (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).

A Multi Channel Systems oferece componentes de hardware e software que permite ao usuário focar na velocidade de aquisição de dados e análise on-line de muitas células. Este sistema de registro consiste em dois componentes: pré e fitro-amplificador integrado com 60 canais (MEA 1060) e um PC baseado no sistema de aquisição de dados utilizando placa PCI A/D, a qual é possível amostrar até 128 canais simultaneamente em 50 kHz por canal.



Figura 2. 32 – Uma placa de aquisição multicanal (adaptado de (CHIAPPALONE, 2003)).

A Figura a seguir apresenta a interface do MC_Rack. Este software armazena os dados brutos, trechos de atividade fisiológica, intervalo entre um conjunto de impulsos nervosos e outro, razão entre os potenciais extracelulares e, além disso, o usuário poderá escolher a taxa de amostragem de dados e escolher a tensão numa escala de +/- 400 mV à +/- 4V.

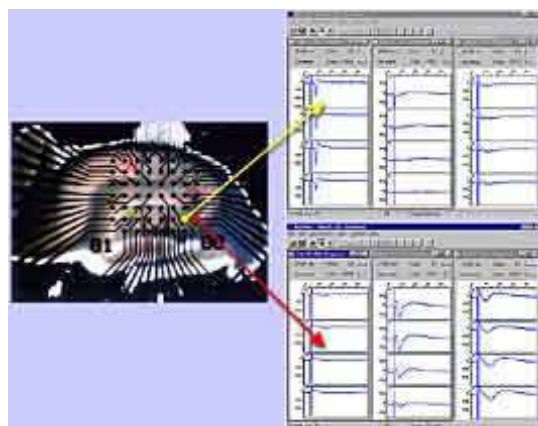


Figura 2. 33 – *Cultura de neurônios sobreposta à uma MEA (à esquerda) e a interface do MCRack (à direita)*
(adaptada de (URL 7)).

2.8 Processamento dos Sinais Captados em uma MEA

Em um conjunto de experimentações de MEAs, dependendo do número de canais de registro, a frequência de amostragem pode variar de 5 kHz a 48 kHz (CHIAPPALONE, 2003) e devido ao fato do tempo de medições geralmente ser grande, isto pode resultar em uma grande quantidade de dados registrados, tornando o processamento mais difícil. Por isso novas ferramentas de software para processamento destes sinais têm sido desenvolvidas permitindo uma análise estatística detalhada do comportamento eletrofisiológico *in vitro* de grupos de neurônios através de um gerenciamento simples e rápido dos dados obtidos.

2.8.1 – Detecção de spikes

Uma série de spikes neuronais é uma sequência de impulsos nervosos, potências de ação, produzido por um neurônio (PERKEL et al, 1967), sendo o mesmo observado por um período de tempo relativamente longo. A Figura 2.34 mostra a atividade elétrica de grupos neuronais registrada em um canal de MEA.

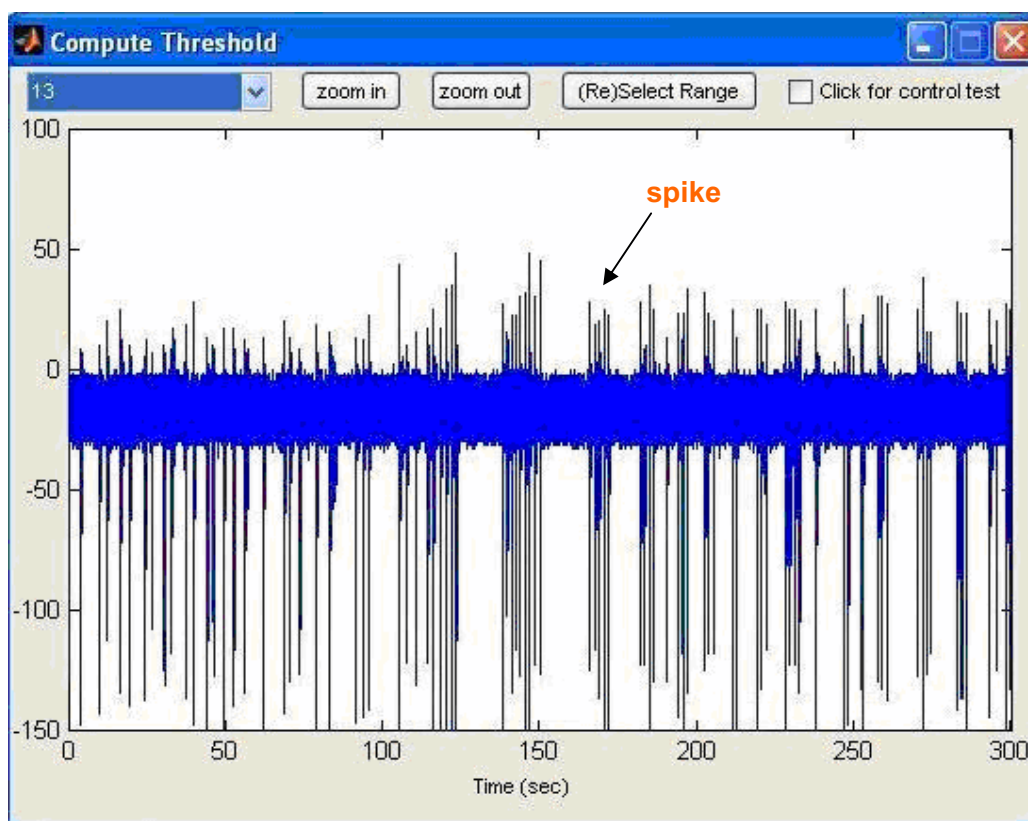


Figura 2. 34 – Gráfico de um sinal registrado em um canal de MEA, evidenciando os spikes

Um conjunto de spikes $ST(t)$ pode ser definido através da seguinte fórmula:

$$ST(t) = \sum_{n=1}^N \delta(t - t_n) \quad (2.2)$$

onde N é o total de spikes dentro do conjunto, t_n é o momento de ocorrência do n -ésimo spike e $\delta(t)$ é a função delta indicando a ocorrência do spike no tempo $t = t_n$ (CHIAPPALONE et al., 2005). Define-se *Inter Spike Interval (ISI)* como sendo o intervalo de tempo entre dois spikes consecutivos dentro do conjunto de spikes, ou seja, $ISI = t_n - t_{n-1}$.

Deteção de spikes é uma técnica que verifica a presença de spikes armazenando informações sobre suas amplitudes e ritmos para análises posteriores. O *limiar pico-a-pico* é um critério utilizado para detecção dos picos. Este limiar é calculado como um múltiplo do desvio padrão do ruído biológico adquirido em cada eletrodo de medição durante o experimento (VATO et al, 2004). É feito um janelamento, de forma que nesta janela apareça apenas um spike, esta janela é deslocada ao longo sinal. Quando a diferença entre o máximo e o mínimo dentro da janela for superior ao *limiar pico-a-pico*, o spike é armazenado.

Alguns algoritmos são implementados utilizando funções estatísticas para estudar as mudanças significativas do sinal. O *Inter Spike Interval Histogram (ISIH)*, a função de autocorrelação com o histograma do *Joint ISI (JISIH)* e a função correlação condicional cruzada com o histograma *Cross ISI (CISIH)* permitem estimar a sincronização relativa à atividade dos spikes (VATO et al, 2004).

2.8.1 – Deteção de Burst

Um burst é considerado como uma seqüência de spikes e sua duração é igual a soma de todos os ISI contidos num mesmo conjunto. Define-se *Inter Burst Interval (IBI)*, o intervalo entre dois burst consecutivos. A Figura 2.35 apresenta a atividade elétrica de grupos neuronais registrada em um canal de MEA.

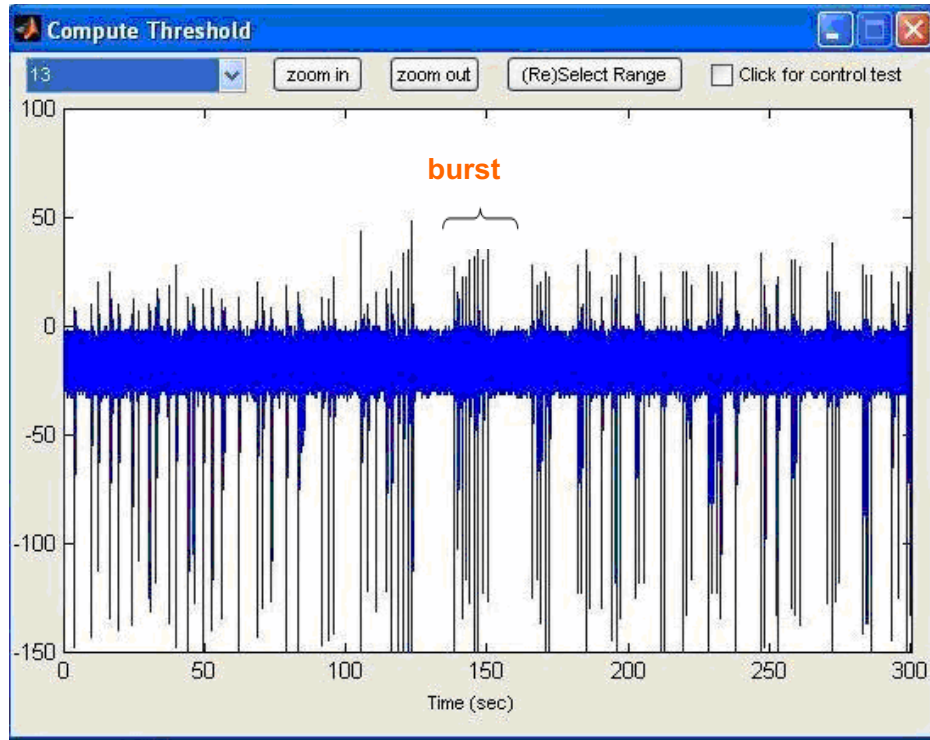


Figura 2. 35- Gráfico de um sinal registrado em um canal de MEA, evidenciando um burst.

Um conjunto de burts com um total de M burst presentes em um mesmo sinal é definido a partir da equação

$$BT(t) = \sum_{m=1}^M \left(A_m \Pi \left(\frac{t - t_m}{\tau_m} \right) \right), \quad (2.3)$$

onde t_m representa o início do m -ésimo burst, $\Pi(t/\tau)$ é uma função retangular indicando a ocorrência do burst no instante $t = t_m$ e τ e A_m são, respectivamente, a duração e amplitude do burst. As amplitudes do burst podes ser obtidas a partir de

$$A_i = \frac{1}{\tau_i} \int_{t_i}^{\tau_i} \sum_{n=1}^{N_{\tau_i}} \delta(t - t_n) dt = \frac{N_{\tau_i}}{\tau_i}, \quad (2.4)$$

onde τ_i é a duração temporal do burst e N_{τ_i} é o número de spikes dentro do burst (CHIAPPALONE et al, 2005). Note que a amplitude do cada burst depende de dois parâmetros, número de spikes por burst e duração do burst.

Para a detecção de burst, dois limiares são fixados: o primeiro é baseado na distribuição estatística de uma série de spikes e é definido como o máximo ISI para spikes

dentro do burst (fixado num valor de 100 ms) e o segundo é definido como o número mínimo de spikes consecutivos pertencentes a um burst (fixado num valor de 10 ms) (CHIAPPALONE et al, 2005).

As características extraídas dos burst através do algoritmo descrito acima são: tempo de ocorrência do burst (segundos), duração (ms ou segundos), *Inter Burst Interval* (IBI) (ms) e amplitude do burst (unidade arbitrária).

Fazendo uma mudança temporal, é possível extrair informações de atividade de burst do mesmo modo como foi feito para a análise de spikes utilizando o histograma IBI, o histograma *Cross IBI* e o histograma *Joint IBI*.

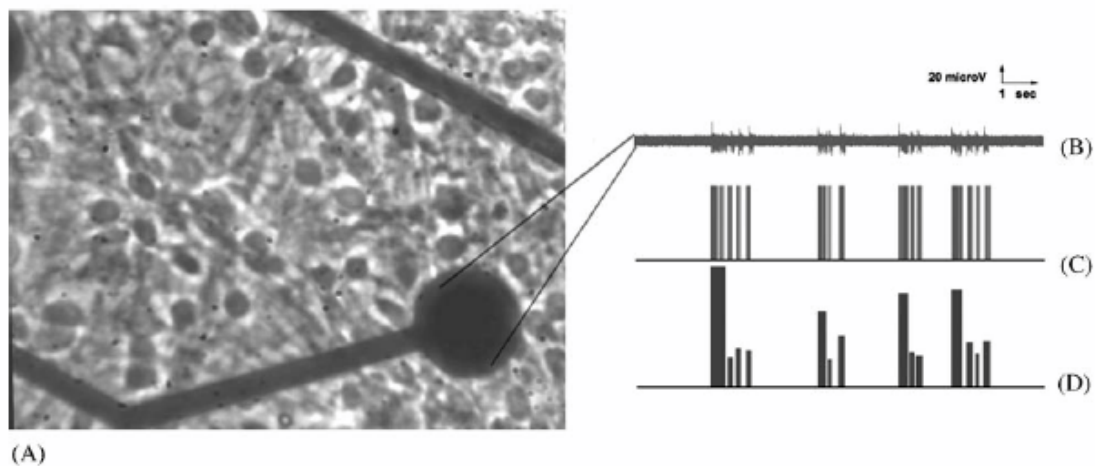


Figura 2. 36 – (A) Neurônios em uma MEA cercados por um eletrododo; (B) Atividade eletrofisiológica registrada pelo eletrodo; (C) Resultado da técnica de detecção de pico e (D) Resultado da técnica de detecção de burst (adaptado de (CHIAPALLONE, et al, 2005)).

2.9 Algumas Aplicações de MEA

Existem vários campos de aplicações para matrizes multieletródos que vão desde ao entendimento do funcionamento do neurônio à utilização de neuroimplantes. Atualmente, MEAs estão sendo utilizadas também em aplicações farmacológicas e interface cérebro-máquina. Citaremos nesta seção as principais aplicações para matrizes multieletródos.

Análise e entendimento do funcionamento neural (Codificação Neural)

Com o aumento da fabricação e comercialização de MEAs, vários centros de pesquisa estão registrando continuamente o código neural, gerando uma imensa quantidade de dados elétricos para serem analisados em tempo real. Assim, ocorre a necessidade da utilização de vários processadores para estudar o comportamento destes sinais gerados pela grande massa de neurônios. A velocidade dos computadores permite analisar e gerar estímulos para simular o comportamento de um tecido nervoso num determinado ambiente e também proporcionar uma interação com o mesmo. Então, com esta sequência de estímulos sensoriais, a cultura de neurônios reage obedecendo a um padrão de atividade elétrica de tal forma que a atividade da rede biológica sofre mudanças persistentes, as quais podem se tornar compreensíveis para o manipulador externo (RIBEIRO, 2006).

Em (FAIRHALL et al, 2001), os autores examinaram os potenciais de ação registrados de neurônios do sistema visual de uma mosca *Calliphora vicina*. Segundo os mesmos, os diferentes aspectos ocorrem em prazos que vão numa escala de dezenas de milissegundos a vários minutos. Para descobrir as células responsáveis por esta mudança eles utilizaram o seguinte modelo matemático para representar a velocidade angular deste estímulo

$$S(t) = z(t) \cdot \sigma(t), \quad (2.5)$$

onde $z(t)$ é um ruído branco e $\sigma(t)$ é a variação da amplitude do sinal biológico. Na Figura 2.37, a curva em cinza está representando uma relação de spikes, em função do tempo, cuja mesma, foi obtida calculando a média do sinal captado em vários intervalos de tempo. Esta relação reflete a dinâmica da resposta para $\sigma(t)$.

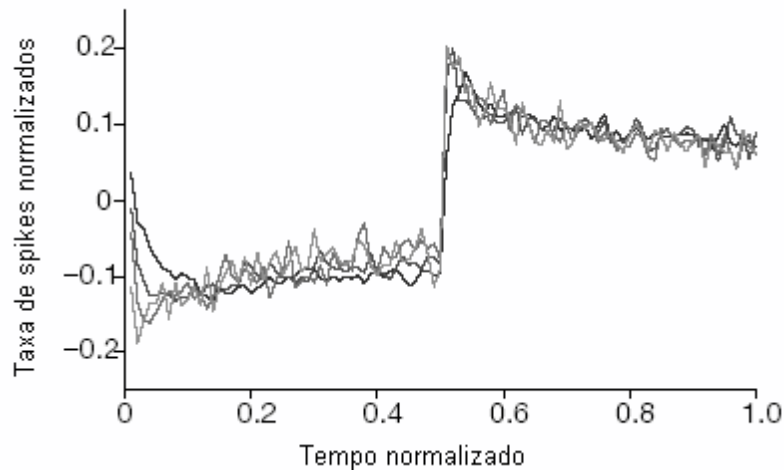


Figura 2. 37 – Gráfico dos padrões de spikes versus o tempo (normalizados) (adaptado de (FAIRHALL et al, 2001)).

Oberseve que, para este experimento, o modelo matemático adotado está próximo à relação média de spikes calculada para o ruído branco. Logo, tendo conhecimento das informações para o ruído branco, é possível obter uma aproximação para o sinal biológico. Os autores concluíram que a codificação de multicamadas permite o conjunto de spikes transportar informações sobre o estímulo através de vários canais independentes.

Neuroimplantes

Neuroimplante é uma aplicação de MEA cujo principal objetivo é o desenvolvimento de próteses para o sistema nervoso central (SNC), com o intuito de modificar terapeuticamente processos fisiológicos que foram perdidos devido a danificações ou doenças.

A Figura 2.38 apresenta um esquema para a implantação de um neuroimplante “inteligente”, o qual se adapta às condições específicas do paciente.

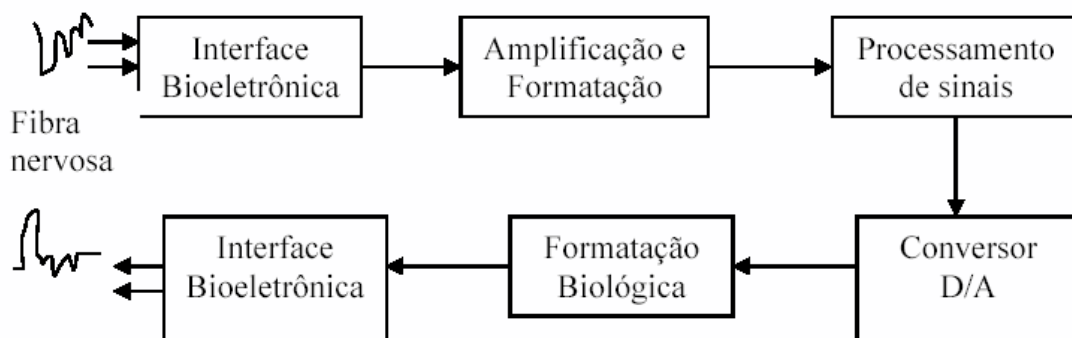


Figura 2. 38 – Esquema de um neuroimplante inteligente (adaptada de (RIBEIRO, 2006)).

Observe que os potenciais de ação são adquiridos pela interface bioeletrônica, amplificados e formatados e em seguida são processados para permitir uma modelação dos fenômenos e identificação da informação biológica com objetivos terapêuticos. Após esta etapa, o sinal passa por um conversor D/A, e então o resultado deste processamento é formatado biologicamente, em termos das amplitudes de tensão e de frequências, para que, através de uma interface bioeletrônica, retorne ao mundo biológico.

Os autores em (LITT et al, 2003) apresentam o neuroimplante como uma forma de tratamento para a epilepsia. Acredita-se que a utilização de neuroimplantes pode minimizar as crises epiléticas. Isto deve ao fato de experimentos preliminares de eletroestimulação em animais, baseando-se em MEAs. Primeiramente, foi realizado um estudo da atividade cerebral através do EEG intracraniano (Figura 2.39) para investigar a área onde está ocorrendo o foco epilético. Várias características são analisadas e consideradas, levando em conta a disposição dos eletrodos, para formar um conjunto de dados final. Algumas combinações destas características selecionadas e a disposição dos eletrodos são avaliadas pela sua capacidade de prever apreensões sobre um conjunto de dados de ensaio, objetivando encontrar uma melhor combinação para cada tipo de paciente e assim o conjunto de dados resultante é utilizado para treinar a rede neural avaliando os dados de ensaio e de potencial.

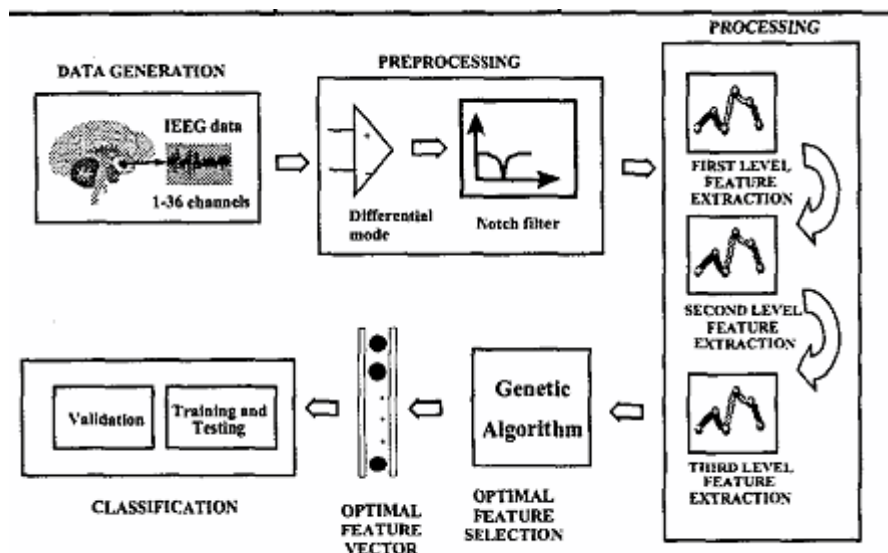


Figura 2. 39 – Esquema utilizado para determinar o melhor subconjunto de aspecto e disposição dos eletrodos para predição da doença (adaptado de LITT et al, 2003)).

Os autores acreditam que a implantação destes dispositivos capazes de monitorar a geração da doença e modulá-la está se tornando uma realidade. Embora estudos empíricos de estimulação elétrica para interromper ou abortar doenças clínicas são promissores, o tratamento ideal está susceptível a depender de mecanismos subjacentes à geração da doença.

Farmacologia

Para aplicações farmacológicas, as MEAs são utilizadas para monitorar os efeitos crônicos e agudos de drogas e toxinas apresentando estudos funcionais induzindo condições patológicas sem danos (RIBEIRO, 2006). Um mapa de diferentes drogas poderá ser gerado através da resposta elétrica que é realizada em vários locais do tecido nervoso e com isso poderá obter-se conclusões importantes a respeito da atuação bioquímica específica da droga em estudo.

Os autores em (CHIAPPALONE et al, 2002) utilizaram neurônios espinhais de embrião de galinha para analisar a atividade padrão induzida pelo tratamento com drogas específicas agindo em receptores do glutamato (NMDA e não-NMDA). Foram utilizados dois tipos de protocolos farmacológicos a fim de caracterizar a rede neuronal ao recebimento de diferentes drogas e condições para melhor compreender o tipo de receptores de glutamato que estão envolvidos na modulação da atividade espontânea. Estes experimentos foram realizados durante várias horas e a atividade elétrica foi registrada a partir de um conjunto de oito canais

escolhidos de uma MEA. Segundo os autores, o objetivo é comparar a atividade espontânea com a atividade registrada após o tratamento medicamentoso. A Figura 2.40 mostra esta comparação.

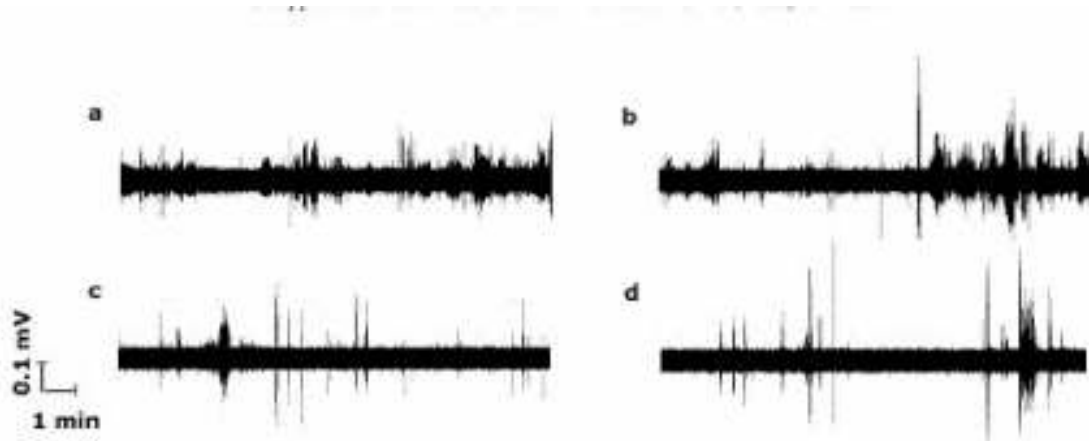


Figura 2. 40 – Atividade eletrofisiológica registrada em um microeletrodo de uma MEA; (a)atividade espontânea; (b)atividade durante o tratamento com a substancia CTZ; (c) atividade durante o tratamento com MK-801; (d) tratamento com NBQX (adaptado de (CHIAPPALONE et al, 2003)).

Note que durante o tratamanto com CTZ (Figura 2.40 (a))houve um aumento do número de burst significando que os neurônios estão respondendo ao tratamento. Quando foi adicionado MK-801, observou-se uma rápida depressão em termos da freqüência de burst, o que era esperado, já que MK-801 é uma droga antagonista. Finalmente, observa-se na Figura 2.40 (d) que a freqüência de burts ainda é baixa devido ao bloqueio dos receptores AMPA pelo antagonista NBQX inibindo as respostas de neurônios espinhais.

Interface cérebro – máquina

Os sistemas de interface cérebro-máquina consistem em extrair sinais diretamente do cérebro para controlar dispositivos robóticos. Várias experiências foram realizadas a fim de conceber novos métodos eletrofisiológicos capazes de investigar a distribuição neurodinâmica dos neurônios no cérebro.

(DEMARSE et al, 2001) citam um tipo de interface cérebro-máquina através da preparação *in vitro*. Esta interface emprega culturas desenvolvidas em MEA, onde os sinais captados são utilizados artificialmente para controlar um animal, que foi nomeado de *Animat*. A aproximação deste *Animat* controlado neuronalmente permite fazer algumas correlações

entre morfologia neural e conectividade, que não são atualmente viáveis nas interfaces neurais *in vivo*.

A Figura 2.41 apresenta um esquema para esta interface utilizando o *Animat*. Observe a presença da cultura de neurônios em uma MEA, cuja mesma irá registrar a atividade extracelular para controlar o comportamento do animal artificial (o *Animat*) dentro de um ambiente simulado no qual o *Animat* poderá se movimentar e a direção do movimento é definida através de padrões de atividade espaço-temporal adquirido pela MEA, com a detecção dos spikes. Um sensor de entrada para o *Animat* é traduzida em padrões de estímulos elétricos enviados de volta para a rede neuronal. Estímulos de feedback normalmente ocorrem dentro de 100 ms após a detecção do padrão, geralmente produzindo bursts que se propagam a partir de estímulos ao longo dos canais multi-sinápticos.

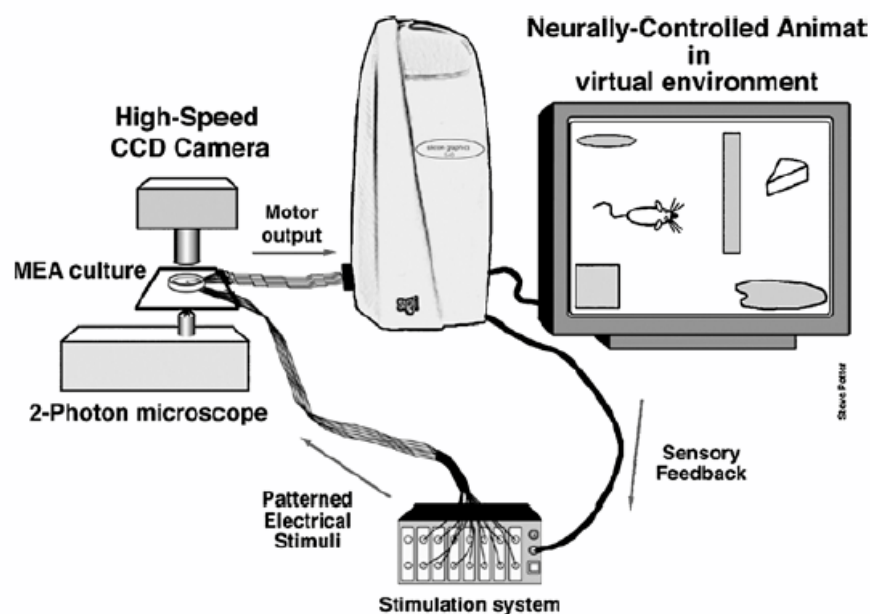


Figura 2. 41 – Esquema para o controlar artificialmente o Animat (adaptado de (DEMARSE et al, 2001)).

Apesar de ainda não se ter conhecimento de como os padrões de atividades foram afetados durante os estímulos e nem como esses padrões são codificados dentro da rede em um nível celular os autores acreditam que é possível construir um sistema capaz de responder e fornecer feedback para uma rede neuronal viva.

2.10 Conclusão

Para entender a geração dos sinais eletrofisiológicos é fundamental compreender o funcionamento dos agentes causadores, neurônios e células da glia. Por isso, dedicamos uma parte deste capítulo para apresentar ao leitor estas principais células do SNC. Este estudo sobre os neurônios foi importante também para entender melhor o conceito de culturas neuronais.

As culturas utilizadas para este estudo foram preparadas a partir de neurônios do córtex cerebral extraídos de embriões de ratos durante o 18º dia de gestação. Foi citado todo um procedimento necessário para a preparação de uma cultura. No capítulo seguinte trataremos do estudo e processamento do sinal elétrico produzido por neurônios nestas culturas e registrados a partir de uma MEA Standard.

Matrizes multieletrodos (MEAs) são dispositivos nanotecnológicos construídas sobre um substrato composto de um conjunto de microeletrodos, cuja dimensão é próxima à extensão dos neuritos, os quais ficarão em contato com o corpo celular do neurônio. MEAs registram atividade extracelular e espontânea de grupos de neurônios. Para um melhor registro da atividade elétrica neuronal é necessário que o corpo celular do neurônio fique o mais próximo possível do microeletrodo.

Uma sequência de impulsos nervosos (potenciais de ação) produzidos por um neurônio é considerada como sendo um conjunto de spikes. Define-se ISI o intervalo entre um spike e outro. Somando todos os ISI de um conjunto de spikes tem-se o que foi definido de burst, ou seja, um burst é considerado como uma sequência de spikes e sua duração é igual a soma de todos os ISI contidos num mesmo conjunto.

Existem várias aplicações de MEAs atualmente, tais como em codificações neurais, aplicações farmacológicas para estudar o comportamento de grupos neurais durante o tratamento com algum medicamento, neuroimplantes utilizando MEAs objetivando desenvolver próteses para o SNC com o intuito de modificar terapeuticamente processos fisiológicos que foram perdidos devido a danificações ou doenças, e aplicações como interface cérebro-máquina em que acredita-se que é possível construir “robôs” a partir destes dispositivos.

Capítulo 3

Processamentos dos Sinais de MEA

3.1 Introdução

Este Capítulo trata de uma análise e processamento de sinais de atividade neural espontânea, captados através MEA's, tomados em culturas de neurônios do hipocampo do rato. Serão analisadas duas culturas, sendo estas consideradas como “*inativas*”, em que não se observa conexão entre as células.

Os sinais captados em MEA foram processados utilizando as ferramentas matemáticas *Função de Autocorrelação* e *Densidade Espectral de Potência*. Como os sinais neuronais registrados em MEA são considerados processos estocásticos, iniciaremos o Capítulo definindo processo estacionário e processo estocástico, apresentaremos também alguns exemplos para ilustrar estes conceitos.

Para um melhor entendimento da aplicação destas técnicas de processamento, explanaremos os conceitos fundamentais sobre a Função de Autocorrelação e Densidade Espectral de Potência.

Neste capítulo abordaremos também a metodologia que foi utilizada para o processamento dos sinais, tais como aquisição dos sinais e estimativa para a autocorrelação e densidade espectral de potência.

E por fim, apresentaremos os resultados obtidos através da aplicação destas técnicas para estudo dos sinais oriundos de culturas neuronais cultivadas em MEA.

3.2 Conceitos Básicos de Processo Estocástico

Em muitos problemas físicos um valor numérico é indicado ao resultado de uma experiência aleatória. Uma variável aleatória associa um número real a cada resultado possível do experimento de tal forma que a probabilidade de um intervalo real seja igual à probabilidade dos acontecimentos que lhe deram origem. As variáveis aleatórias são discretas quando assumem um número finito de possibilidades e quando elas assumem um número infinito de possibilidades são ditas variáveis aleatórias contínuas.

Um processo aleatório é uma extensão do conceito de variável aleatória. Neste caso, para cada resultado possível associa-se um vetor $x(t)$ em função do tempo de acordo com alguma regra $x(t, \xi)$, onde ξ representa um ponto amostral dentro do espaço amostral obtendo então um conjunto de funções amostrais. Um processo aleatório é também chamado de processo estocástico.

Exemplo 3.1: Considere o lançamento sucessivo de duas moedas. Neste experimento, há quatro possíveis resultados, cara (C) ou coroa (K): $\{CC, CK, KC, KK\}$. Os pontos amostrais para este experimento são respectivamente ξ_1, ξ_2, ξ_3 e ξ_4 . Daí associa-se um vetor, que será uma função do tempo, a cada ponto amostral, ou seja, $x(t, \xi_1), x(t, \xi_2), x(t, \xi_3)$ e $x(t, \xi_4)$ de acordo com alguma regra. Se por exemplo, essa regra for $x(t, \xi_\omega) = \text{sen}(\omega t)$, com $\omega = 1, 2, 3$ e 4 rad/s, então será formado quatro funções amostrais $\text{sen}(t), \text{sen}(2t), \text{sen}(3t)$ e $\text{sen}(4t)$ e conseqüentemente a probabilidade para cada vetor é $1/4$. Neste caso, observe que a aleatoriedade do processo está no ω , que representa a frequência angular do sinal com distribuição de probabilidade uniforme discreta, conforme a Figura 3.1.

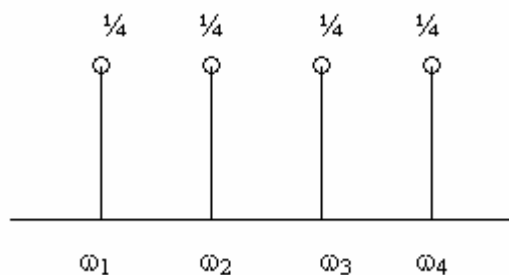


Figura 3. 1 – Representação do processo $x(t, \xi_\omega)$.

Exemplo 3.2: Consideremos o Exemplo 3.1, no caso em que ω pode variar continuamente, com função de densidade probabilidade gaussiana. Reescrevendo ω em

função de f , onde f representa a frequência variando de 0 a 120 Hz, temos que $\omega = 2\pi f$ e assim $x(t, \xi_f) = \text{sen}(2\pi f t)$.

A Figura 3.2 mostra o gráfico do processo $x(t, \xi_f) = \text{sen}(2\pi f t)$. Note que, neste caso a aleatoriedade está nos valores que f pode assumir. Observe que este processo poderia estar representando um sinal de rede elétrica.

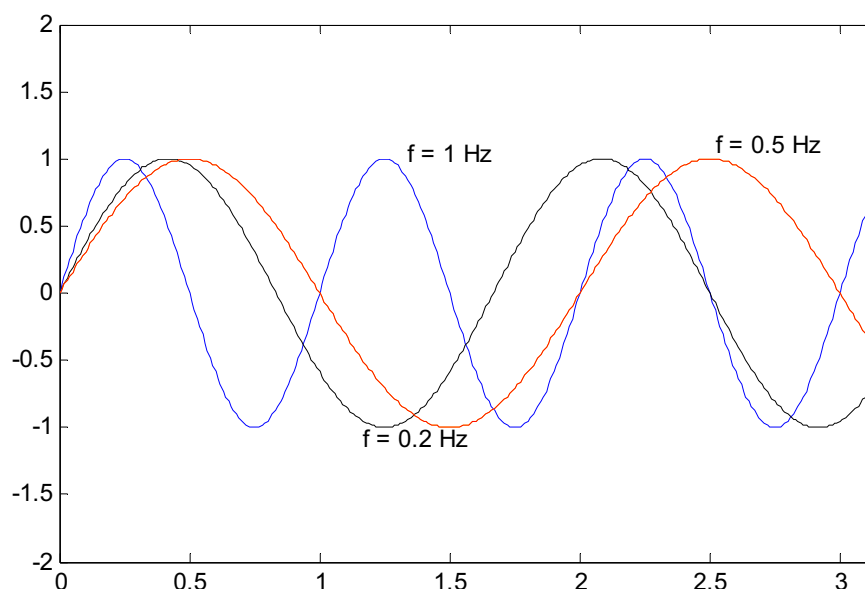


Figura 3. 2 – Gráfico do processo estocástico $x(t, \xi_f) = \text{sen}(2\pi f t)$.

Exemplo 3.3: A Figura 3.3 ilustra a forma de onda de grupos neuronais extraídos do córtex do embrião de um rato com 21 dias em cultura, registrado em 4 canais de MEA. Nesta figura, o eixo horizontal corresponde ao tempo analógico, medido em segundos; enquanto que o eixo vertical representa a amplitude da atividade elétrica do neurônio, medida em milivolts. Os sinais captados em uma MEA também formam um processo estocástico, pois em cada canal da matriz é gravado um tipo de sinal diferente, ou seja, são sinais não-determinísticos, no sentido em que os sinais de cada canal da MEA não determina completamente qual será o espectro do sinal de outro canal. Isto pode ser verificado na Figura 3.3, e pode-se afirmar também que a aleatoriedade deste processo está em cada canal da MEA.

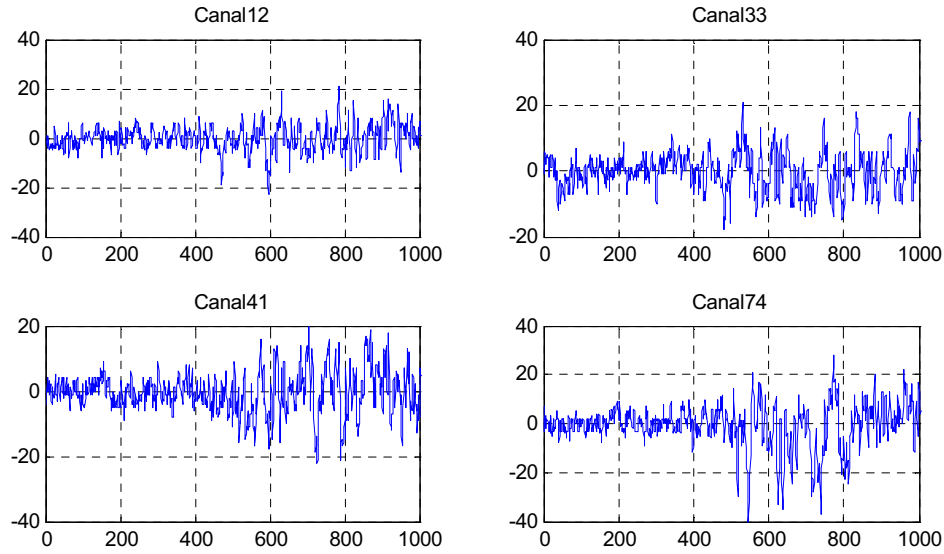


Figura 3.3 – Figura que representa os sinais gravados em 4 canais de uma MEA.

Exemplo 3.4: Outro exemplo de processo estocástico é o processo dado pela seguinte expressão $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$, onde a amplitude k e a fase θ são ambas variáveis aleatórias

e θ distribuído uniformemente no intervalo $(0, 2\pi)$, $p_\theta(\theta) = \begin{cases} \frac{1}{2\pi} & 0 < \theta < 2\pi \\ 0 & \text{para outros valores} \end{cases}$.

Na Figura 3.4, temos 4 exemplos de possíveis resultados para este processo. Observe que para cada valor de k e ω_0 , os gráficos apresentam formas distintas.

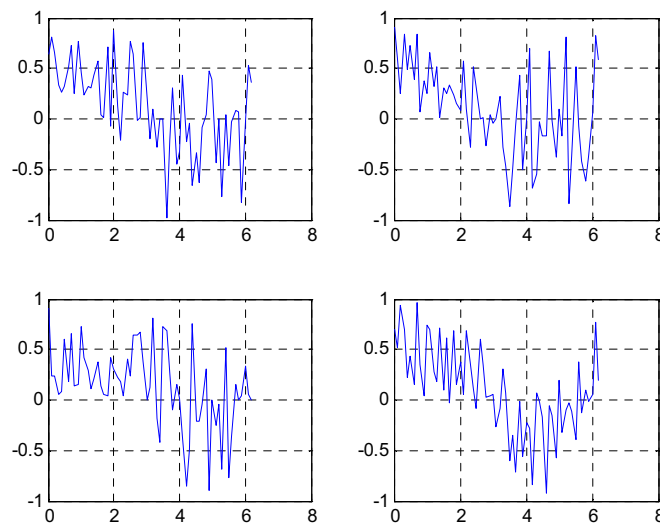


Figura 3.4 – Gráfico que representa o processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$, variando k e ω_0 .

3.3 Definição da Função de Autocorrelação

Autocorrelação é a medida do grau de similaridade de um sinal com ele mesmo deslocado no tempo. É um método de análise no domínio do tempo que é bastante útil para o estabelecimento do grau de coerência de sinais aleatórios e para a determinação do tempo de captação e análise destes sinais.

A esperança matemática ou valor médio de um processo aleatório contínuo é definido por (CHILDERS, 1997)

$$\mu_x(t) = E[X(t)] = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) p_x(x(t)) d(x(t)) \quad (3.1)$$

onde $p_x(x)$ é a função densidade de probabilidade da variável aleatória x .

A função de autocorrelação $R_x(t_1, t_2)$ de um processo estacionário é definida como a esperança matemática do produto $[X(t_1)X(t_2)]$ em termos de função densidade de probabilidade conjunta $p(x_1, x_2; t_1, t_2)$ como

$$R_x(t_1, t_2) = E[X(t_1)X(t_2)] = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} x_1 x_2 p(x_1, x_2; t_1, t_2) dx_1 dx_2 \quad (3.2)$$

Assumindo que $\tau = t_2 - t_1$, a equação 3.2 pode ser escrita da seguinte forma

$$R_x(t, t + \tau) = E[X(t) X(t + \tau)]. \quad (3.3)$$

Processo Estacionário

A função média ($\mu_x(t)$) e função de autocorrelação podem fornecer informações sobre a estrutura temporal do processo aleatório (CHILDERS, 1997). Serão definidas agora, duas classes de processo aleatório estacionário contínuo no tempo.

Um processo aleatório contínuo é estacionário no sentido estrito se todos os seus momentos estatísticos são invariantes no tempo, ou seja, para todo inteiro positivo n tem-se que

$$p_x[x(t_1), x(t_2), \dots, x(t_n)] = p_x[x(t_1 + \tau), x(t_2 + \tau), \dots, x(t_n + \tau)] \quad (3.4)$$

onde τ é um parâmetro de deslocamento no tempo. Caso contrário, o processo é não-estacionário.

Um processo aleatório é dito ser estacionário no sentido amplo se satisfaz as seguintes condições:

$$\mu_x(t) = \text{constante para todo } t$$

$$R_x(t_1, t_2) = R_x(\tau), \text{ onde } \tau = t_2 - t_1 \quad (3.5)$$

Logo, se um processo não é estacionário no sentido amplo, então ele não é estacionário (CHILDERS, 1997).

Para sinais estacionários, a autocorrelação calculada para uma realização do processo $x(t)$ é igual à autocorrelação calculada para qualquer outra realização do mesmo processo (GRANADO, 1994).

No caso do **Exemplo 3.1**, em que descreve o processo de cara-coroa, temos que ele pode ser considerado como sendo um processo estacionário no sentido estrito, pois sua função densidade de probabilidade é sempre a mesma, igual a $1/4$ em todo momento. Ou seja, a função densidade de probabilidade não é uma função variável no tempo.

Para estudar a estacionariedade do **Exemplo 3.2** partimos primeiramente de cálculos analíticos e chegamos às seguintes expressões para a autocorrelação e a média, respectivamente:

$$R_x(t_1, t_2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \left(\int_0^{120} e^{\frac{-(f-60)^2}{2\sigma^2}} \cos(2\pi f(t_1 - t_2)) df + \int_0^{120} e^{\frac{-(f-60)^2}{2\sigma^2}} \cos(2\pi f(t_1 + t_2)) df \right) \quad (3.6)$$

$$\mu_x(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_0^{120} e^{\frac{-(f-60)^2}{2\sigma^2}} \text{sen}(2\pi ft) df \quad (3.7)$$

As expressões (3.6) e (3.7) apresentam integrais extremamente complexas de resolver, por isso optamos por resolução numérica via Matlab. O procedimento para o cálculo da média e autocorrelação para este processo ocorreu através de estimativa computacional. Foram geradas 100 funções amostrais do tipo $x(t, \xi_j) = \text{sen}(2\pi f t)$, sendo f a variável aleatória com

distribuição gaussiana no intervalo de 0 a 120 Hz. Para cada função calculou-se a média e a autocorrelação. Como resultado, obteve-se a média da média e da autocorrelação de todas as funções amostrais. A Figura 3.5, ilustra a média (à esquerda) e a função de autocorrelação (à direita) média do processo. Podemos observar que tanto a média, não apresentaram variações significantes em relação ao tempo. Assim, podemos concluir que o processo é estacionário?

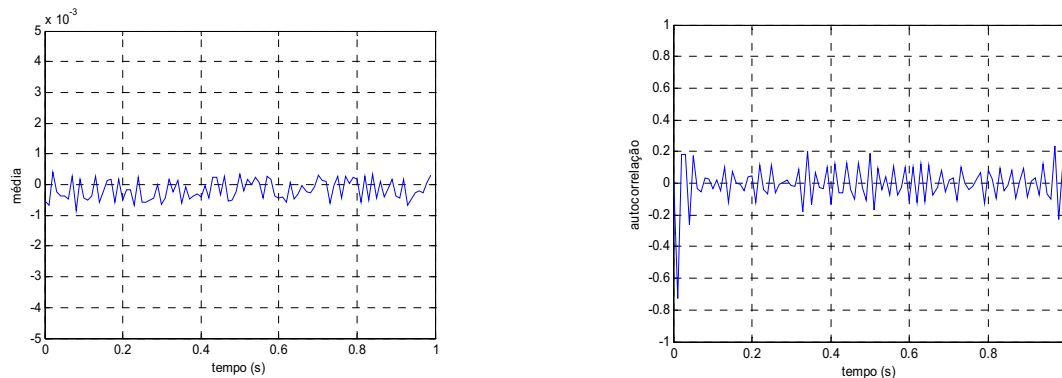


Figura 3.5 – Gráfico da média do sinal (à direita) e gráfico da autocorrelação (à esquerda).

Exemplo 3.5: Considerando um processo aleatório definido por $X(t) = a \cdot \sin(\omega t)$, onde a é uma variável aleatória uniformemente distribuída entre 0 e a_0 e ω é uma constante. Vamos calcular a média e a função de autocorrelação.

$$\mu_x = E[X(t)] = \int_0^{a_0} \frac{1}{a_0} a \sin(\omega t) da = \frac{a_0}{2} \sin(\omega t) \quad (3.8)$$

$$\begin{aligned} R_x(t, t + \tau) &= E[a^2] \sin(\omega t) \sin(\omega t + \tau) \\ &= \frac{1}{3} a_0^2 \sin(\omega t) \sin(\omega t + \tau) \end{aligned} \quad (3.9)$$

Note que, nas Equações 3.8 e 3.9, tanto a média quanto a função de autocorrelação são funções que dependem do tempo. Logo, podemos afirmar que este processo é não estacionário.

Exemplo 3.6: Vamos agora calcular a média e função de autocorrelação para o mesmo processo aleatório do **Exemplo 3.5** considerando como variável aleatória a fase θ uniformemente distribuída entre 0 e 2π , ou seja, $X(t) = a \cdot \sin(\omega t + \theta)$, com a e ω constantes.

$$\mu_x = E[X(t)] = \int_0^{2\pi} \frac{1}{2\pi} a \sin(\omega t + \theta) d\theta = 0 \quad (3.10)$$

$$\begin{aligned} R_x(t, t + \tau) &= E[a \sin(\omega t + \theta) \sin(\omega(t + \tau) + \theta)] \\ &= a^2 \int_0^{2\pi} \sin(\omega t + \theta) \sin(\omega(t + \tau) + \theta) p_\theta(\theta) d\theta \\ &= \frac{a^2}{2} \int_0^{2\pi} [\cos(\omega\tau) - \cos(\omega(2t + \tau) + 2\theta)] \frac{1}{2\pi} d\theta \\ &= \frac{a^2}{2} \cos(\omega\tau) = R_x(\tau) \end{aligned} \quad (3.11)$$

Observe agora que este processo apresenta média constante igual a 0, calculada conforme Equação 3.10 e função de autocorrelação independentemente do tempo (Equação 3.11). Assim, podemos concluir que o processo acima é estacionário no sentido amplo.

Discutindo a estacionariedade do **Exemplo 3.3** que trata do processo estacionário referente a um sinal captado em canal de MEA. O sinal medido em cada canal da matriz tem aproximadamente 5 minutos de duração. Sendo assim, este sinal foi dividido em trechos de 2 segundos e em seguida calculou-se a autocorrelação de cada trecho. O gráfico abaixo está representando a autocorrelação média deste sinal e para o cálculo desta autocorrelação utilizou-se também um estimador não tendencioso, o qual será discutido com maiores detalhes na seção 3.4.2. A Figura 3.6 apresenta a média para este experimento e também a função de autocorrelação.

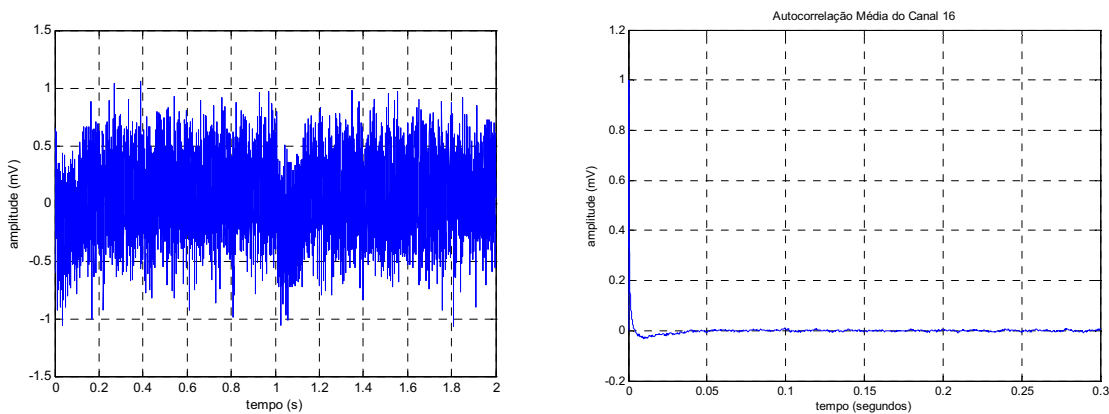


Figura 3.6 – Gráfico da média do sinal captado em um microeletrodo de um MEA (esquerda) e gráfico da função de autocorrelação para este mesmo sinal (direita)..

Como já descrito anteriormente este sinal não apresenta característica de sinais estacionários. Isto pode ser verificado no gráfico acima, pois se observa que tanto a média quanto a autocorrelação são funções variante com o tempo.

No caso do **Exemplo 3.4**, o qual apresenta o processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$, temos que a sua função de autocorrelação é dada pela seguinte expressão, conforme demonstrado em (LATHI, 1967):

$$R_x = \frac{k^2}{2} \cos(\omega \tau) \quad (3.12)$$

O mesmo autor também demonstra que para este processo, $\mu(t) = 0$, e da equação 3.12, observa-se que a função de autocorrelação é função apenas de τ . Assim sendo, dizemos que este processo é estacionário no sentido amplo. O gráfico da Figura 3.7 apresenta uma comparação entre a função de autocorrelação expressa pela equação 3.12 (traço em vermelho) e uma estimativa da função de autocorrelação via Matlab (traço em azul). A realização dos experimentos para a estimativa ocorreu da seguinte forma: gerou-se 100 funções amostrais, da forma $x(t) = k \cos(\omega t + \theta)$, com $\omega = k = 1$, e θ uniformemente distribuído entre 0 e 2π . Em seguida, calculou-se a autocorrelação de cada função amostral e o gráfico abaixo apresenta a autocorrelação média deste processo. Note que o gráfico apresenta ambas as funções normalizadas.

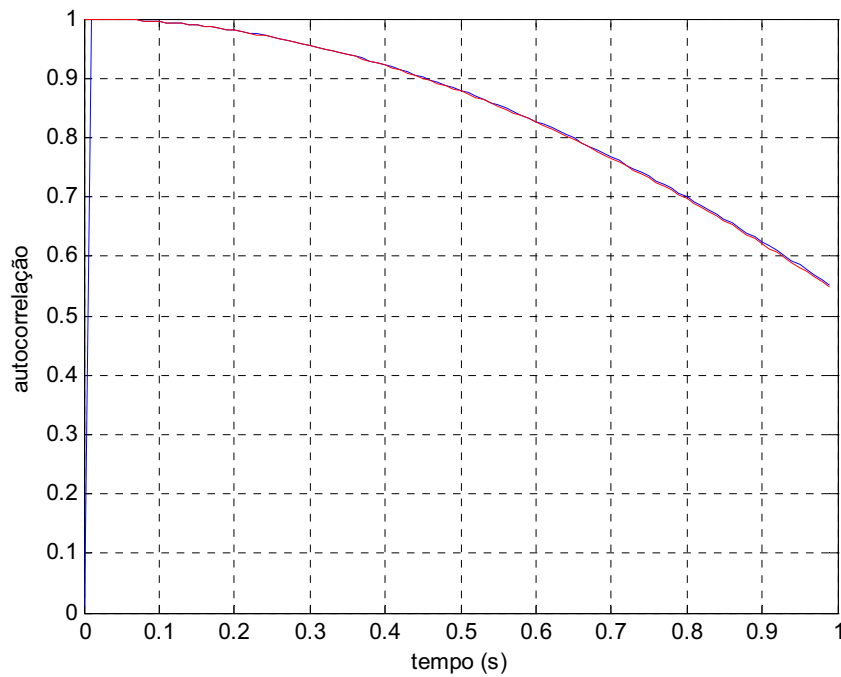


Figura 3. 7 – Gráfico que da autocorrelação do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$. Traço em azul, autocorrelação via Matlab, em vermelho, autocorrelação obtida pelo cálculo analítico.

Podemos perceber que as duas curvas estão bastante próximas, significando que os dois métodos efetuados estão coerentes um com o outro.

3.3.1 – Propriedades da Função de Autocorrelação

Nesta seção apresentaremos as principais propriedades da função de autocorrelação para processos aleatórios estacionários no sentido amplo.

Propriedade 1 – A função de autocorrelação é função par, ou seja, apresenta simetria em torno de $\tau = 0$:

$$R_x(\tau) = R_x(-\tau). \quad (3.13)$$

Propriedade 2 – O valor da função de autocorrelação na origem é igual o momento de segunda ordem do processo aleatório $x(t)$

$$R_x(0) = \mu(x^2(t)). \quad (3.14)$$

Propriedade 3 – Se um processo aleatório $z(t)$ é composto pela soma de dois processos $x(t)$ e $y(t)$, então a função autocorrelação de $z(t)$ será, como demonstrado em (LATHI, 1967):

$$R_z(\tau) = R_x(\tau) + R_y(\tau) + R_{xy}(\tau) + R_{yz}(\tau) \quad (3.15)$$

onde $R_{xy}(\tau)$ e $R_{yx}(\tau)$ são as correlações cruzadas de $x(t)$ e $y(t)$, definidas em (GRANADO, 1994) como

$$R_{xy}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} x_1 y_2 p(x_1, y_2) dx_1 dy_2. \quad (3.16)$$

Propriedade 4 – Se um processo aleatório tem uma componente periódica de período T , então a função de autocorrelação também terá uma componente com o mesmo período T . De fato, seja $x(t)$ um processo aleatório tal que

$$x(t) = x(t + T) = x(t + nT)$$

daí,

$$\begin{aligned} R_x(\tau) &= \overline{x(t)x(t+\tau)} \\ &= \overline{x(t)x(t+\tau+nT)} \\ &= R_x(\tau+nT) \end{aligned}$$

Este tipo de processo é denominado ciclo estacionário.

Propriedade 5 – Se $x(t)$ não contem nenhuma componente periódica, então

$$\lim_{\tau \rightarrow \infty} R_x(\tau) = \mu(x^2(t)). \quad (3.17)$$

Propriedade 6 – O valor máximo da função de autocorrelação ocorre em $\tau = 0$, ou seja,

$$R_x(0) \geq |R_x(\tau)|, \text{ onde } \tau \neq 0. \quad (3.18)$$

O ruído branco é um tipo de sinal que apresenta similaridade apenas com sua versão original não deslocada no tempo, logo sua função de autocorrelação é um impulso em torno de $\tau = 0$. Portanto, um sinal físico pode ser encarado como ruído branco se sua autocorrelação for uma curva bastante estreita em torno de $\tau = 0$ (GRANADO, 1994).

Dado um processo estocástico, define-se autocovariância de uma variável aleatória como sendo a covariância entre $x(t)$ e $x(t + \tau)$, ou seja, é a covariância do sinal com uma versão dele mesmo deslocado no tempo. Considerando μ_x como o valor médio esperado para este processo, tem-se que

$$Cov_x(t, t + \tau) = E[(x(t) - \mu_x(t))(x(t + \tau) - \mu_x(t + \tau))]. \quad (3.19)$$

Da mesma forma, define-se o coeficiente de autocorrelação como sendo um número que indica se um sinal está relacionado com uma versão do mesmo, deslocada no tempo e pode ser calculado da seguinte forma

$$\rho_x(t, t + \tau) = \frac{Cov_x(t, t + \tau)}{Cov_x(t, t)Cov_x(t + \tau, t + \tau)} \quad (3.20)$$

Os valores do coeficiente de autocorrelação estão limitados entre -1 e +1, e sem nenhuma unidade de medida. Quanto maior o valor do coeficiente (positivo ou negativo) indicará uma relação mais forte entre os sinais. No extremo, se o coeficiente for igual a 1, significa que os sinais estão correlacionados e se for igual a -1 significa que existe uma correlação negativa entre os sinais. Se este coeficiente for igual a zero não existe nenhuma correlação entre os sinais.

3.3.2 – Ilustração das propriedades

Iremos fazer uma ilustração das propriedades apresentadas acima utilizando os exemplos abordados neste capítulo.

Já vimos que a função de autocorrelação definida para o processo estocástico $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$ (Exemplo 3.4) onde θ é uma variável aleatória e está distribuído uniformemente dentro do intervalo $(0, 2\pi)$ é a seguinte expressão:

$$R_x(\tau) = \frac{k^2}{2} \cos(\omega\tau).$$

Para construir o gráfico desta função consideramos $k = 1 \text{ mV}$ obtendo a Figura 3.8.

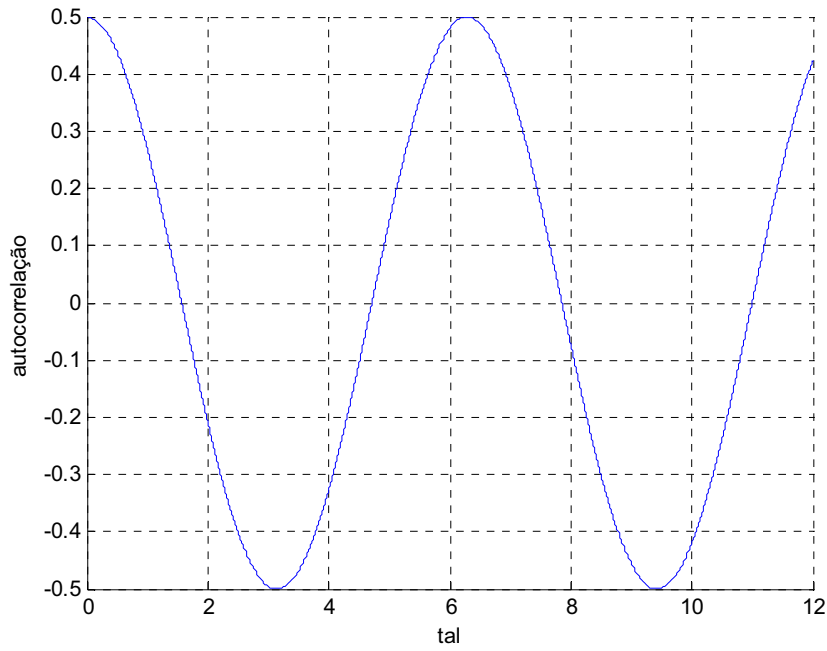


Figura 3.8 – Gráfico da autocorrelação do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$.

A propriedade 1 é claramente satisfeita. De fato, a mesma se verifica, pois

$$\frac{k^2}{2} \cos(\omega\tau) = \frac{k^2}{2} \cos(\omega(-\tau)) . \text{ Logo, } R_x(\tau) = R_x(-\tau).$$

Em (LATHI, 1967) demonstra-se que $\mu(x^2(t)) = \frac{k^2}{2}$ e como estamos considerando $k = 1 \text{ mV}$, logo $\mu(x^2(t)) = \frac{1}{2} \text{ mV}$ e, portanto a propriedade 2 está verificada.

Tem-se que a função $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$ é periódica de período 2π e observa-se na Figura 3.8 que a autocorrelação também apresentou período igual a 2π e assim a propriedade 4 é satisfeita.

Observa-se também pelo gráfico da Figura 3.8 que o máximo da função de autocorrelação ocorre na origem e comprovando assim a propriedade 6.

Calculando o coeficiente de autocorrelação, obtém-se $\rho_x = 1$, utilizando a equação 3.18, e assim podemos afirmar que existe uma relação forte do sinal com ele mesmo deslocado no tempo.

O **Exemplo 3.3**, que trata do processo estocástico gerado por um canal de MEA, foi considerado anteriormente como processo não estacionário. Todavia, trabalhar com sinais não estacionários geralmente não é tão simples e por isso, para facilitar o processamento dos mesmos, consideramos o sinal segmentado, ou seja, subdividimos o sinal em trechos que se aproximam de um sinal estacionário. Analisaremos então, as propriedades para este exemplo com o intuito de verificar a se divisão em trechos acarretou em um processo estacionário. A Figura 3.9 apresenta a autocorrelação do sinal dividido em janelas de aproximadamente dois segundos. Esta autocorrelação não está normalizada.

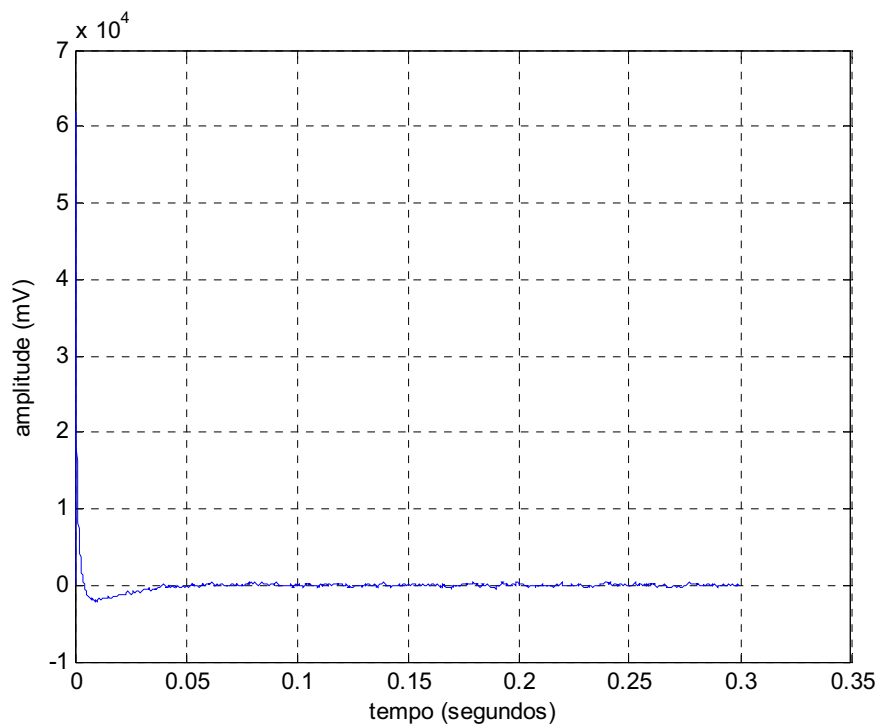


Figura 3. 9 – Autocorrelação do sinal segmentado em janelas de aproximadamente 2 segundos.

Através de cálculos realizados via Matlab e do gráfico da figura acima, percebemos que o valor da autocorrelação na origem é igual a 9.3889 mV . Para o momento de segunda ordem foi obtido este mesmo valor multiplicado por uma constante. Logo, a propriedade 2 não é satisfeita.

As propriedades 3 e 4 não podem ser analisadas para este processo, pois o mesmo não é soma de dois processos e também não apresenta componentes periódicas.

Observando os valores da autocorrelação na Tabela 3.1, temos que a propriedade 6, não se verifica. Isto se dá ao fato da não estacionariedade do sinal, e como supomos acima, ele ser um processo estacionário após divisão do sinal em trechos.

Tempo	0	0.0001	0.0002	0.0003	0.0004	0.0005	0.0006
R_x	9.3889	62035.625	40422.488	32090.113	27177.082	23540.348	20688.646

Tabela 3. 1 – Valores da autocorrelação com os respectivos tempos (segundos).

3.3.3 – Interpretação da Autocorrelação

Nesta seção vamos fazer uma interpretação da função de autocorrelação discutida nos exemplos acima. A Figura 3.10 ilustra o gráfico da função de autocorrelação de todos os exemplos apresentados seção 3.3.2.

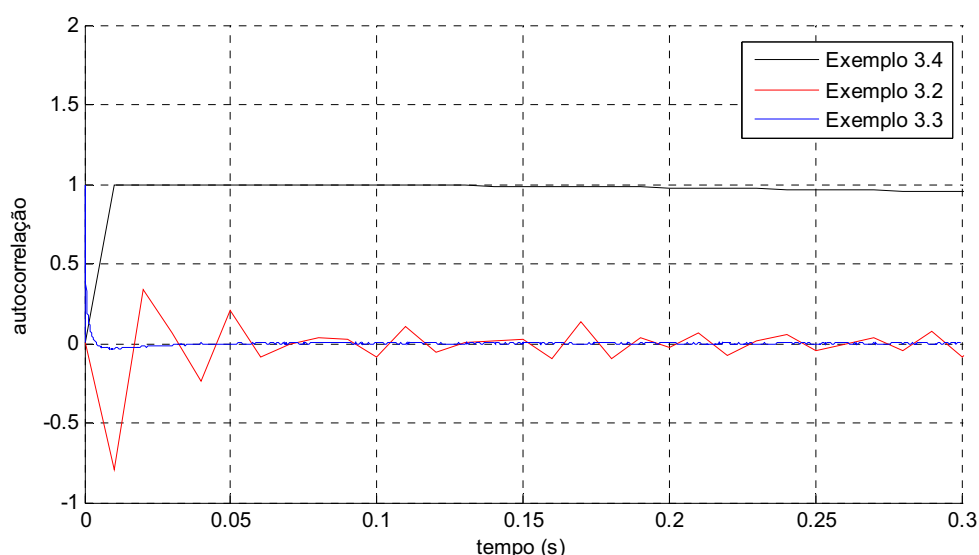


Figura 3. 10 - Gráfico da função de autocorrelação dos Exemplos 3.2, 3.3 e 3.4.

Podemos observar no gráfico acima que para os três exemplos, a autocorrelação apresenta valores bem distintos. Para o Exemplo 3.4, a autocorrelação apresenta uma variação muito lenta, enquanto que para o Exemplo 3.3, esta variação é muito rápida, ou seja, esta curva aproxima do zero muito rápido. O processo do Exemplo 3.2, apresentou autocorrelação com valores negativos e com variação em relação ao tempo, mas tende a zero a partir de 0.25 segundos.

3.4 Definição da Função Densidade Espectral de Potência

A função de autocorrelação nos permite uma análise do sinal no domínio do tempo. Para uma análise do sinal no domínio da frequência utilizamos uma ferramenta denominada densidade espectral de potência. A análise do sinal no domínio da frequência pode oferecer algumas informações a mais que escapam à análise no domínio do tempo.

Para o cálculo da densidade espectral de potência precisa-se ter em mente o conceito de transformada de Fourier. A transformada de Fourier apresenta o sinal analisado como resultante da decomposição do mesmo em um número infinito de senóides e cossenóides, com frequências distintas acima e abaixo de uma frequência fundamental, transformando uma sequência temporal numa representação espectral.

A transformada de Fourier de uma função integrável $f(t)$ é definida como

$$\mathfrak{F}[f(t)] = F(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-j\omega t} dt \quad (3.21)$$

e a transformada inversa que recupera a função original é definida como

$$f(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} F(\omega) e^{j\omega t} d\omega. \quad (3.22)$$

Assim, temos que $F(\omega)$ é uma representação do sinal $f(t)$ no domínio da frequência representando as amplitudes de várias componentes de frequência da função.

A densidade espectral de potência para um processo estacionário no sentido amplo é definida como a transformada de Fourier da função de autocorrelação do processo aleatório, ou seja,

$$\begin{aligned} S_x(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} R_x(\tau) e^{-j\omega\tau} d\tau \\ R_x(\tau) &= \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S_x(\omega) e^{j\omega\tau} d\omega \end{aligned} \quad (3.23)$$

Estes pares de equações em (3.23) são conhecidas como relações de Wiener-Khinchin.

Das relações de Wiener-Khinchin, segue que

$$\begin{aligned} S_x(\omega) &= 2 \int_0^{\infty} R_x(\tau) \cos(\omega\tau) d\tau \\ R_x(\tau) &= \frac{1}{\pi} \int_0^{\infty} S_x(\omega) \cos(\omega\tau) d\omega \end{aligned} \quad (3.24)$$

A função densidade espectral de potência ($S_x(\omega)$ ou $S_x(f)$) descreve como é distribuída a energia de potência de uma série temporal no domínio da frequência. A função $S_x(\omega)$ pode ser calculada tanto para processos determinísticos quanto para processos estocásticos. A sua unidade é Watts/Hertz.

Exemplo 3.7: Considerando o processo estocástico $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$, onde θ é uma variável aleatória e está distribuído uniformemente dentro do intervalo $(0, 2\pi)$ e k e ω_0 constantes. Temos que a função $S_x(\omega)$ para este processo é (LATHI, 1967)

$$S_x(\omega) = \frac{\pi k^2}{2} [\delta(\omega - \omega_0) + \delta(\omega + \omega_0)] \quad (3.25)$$

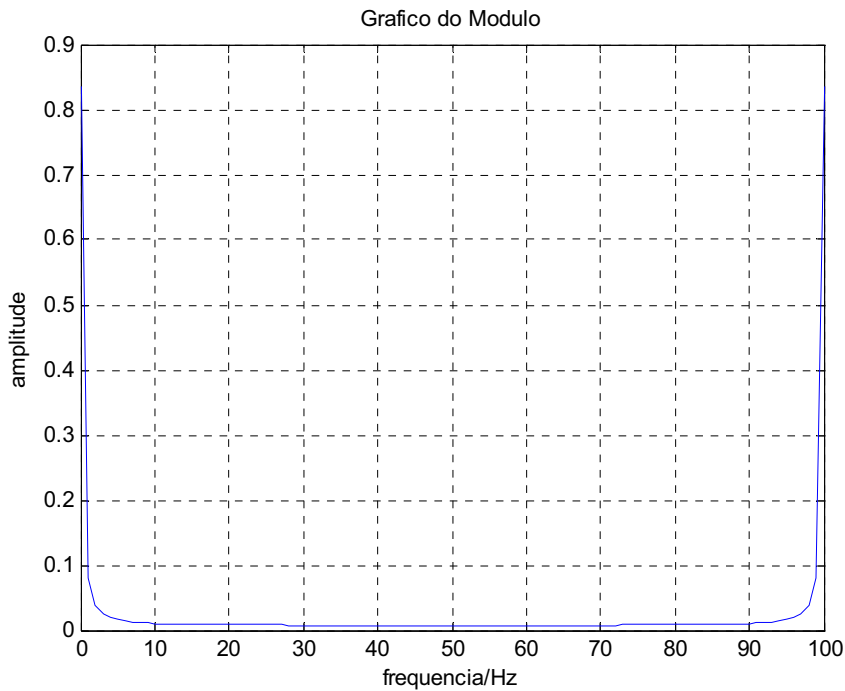


Figura 3. 11 – Gráfico da densidade espectral de potência do processo $x(t) = k \cos(\omega_0 t + \theta)$.

Exemplo 3.8: A Figura 3.12 apresenta o gráfico da função $S_x(\omega)$ de um sinal que apresenta a atividade neuronal captada de neurônios do córtex cerebral de embrião de rato através de um canal de MEA. Para este exemplo, utilizou neurônios com 21 dias de cultura.

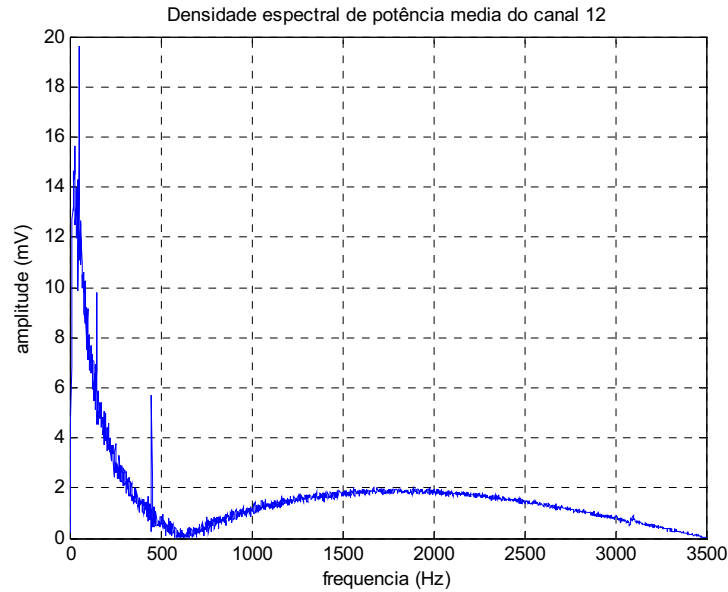


Figura 3. 12 – Gráfico do $S_x(f)$ médio de um sinal neural captado em um canal de MEA.

Exemplo 3.9: A Figura 3.13 apresenta a o gráfico da função densidade espectral de potência estimada para o processo do **Exemplo 3.2**, cujo mesmo trata do processo aleatório proporcionado por uma onda senoidal com distribuição gaussiana.

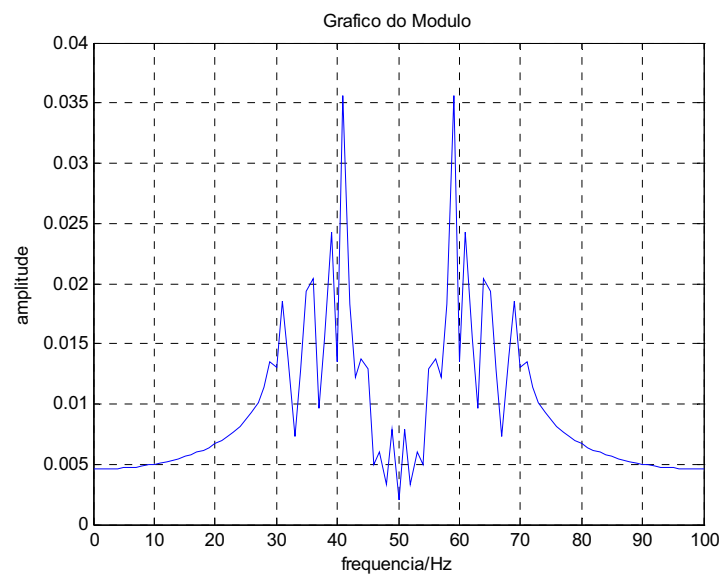


Figura 3. 13 – Gráfico da função densidade espectral de potência do Exemplo 3.2.

3.4.1 – Propriedades da Função Densidade Espectral de Potência

A função densidade espectral de potência admite as seguintes propriedades:

Propriedade 1 – $S_x(\omega)$ é uma função par de ω , ou seja, $S_x(\omega) = S_x(-\omega)$. De fato, pois

$$\begin{aligned} S_x(\omega) &= \int_{-\infty}^{\infty} R_x(\tau) e^{-j\omega\tau} d\tau = \int_{-\infty}^{\infty} R_x(\tau) [\cos(\omega\tau) - j \sin(\omega\tau)] d\tau \\ &= \int_{-\infty}^{\infty} R_x(\tau) \cos(\omega\tau) d\tau \end{aligned}$$

Tem-se que $\cos(\omega\tau)$ é uma função par então $S_x(\omega)$ resulta em uma função par.

Propriedade 2 – O espectro de potência é não negativo, isto é, $S_x(\omega) \geq 0$. Esta propriedade pode ser verificada a partir da equação em (3.24).

Propriedade 3 – A potência média de um processo aleatório é dado por

$$R_x(0) = \int_{-\infty}^{\infty} S_x(f) df = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S_x(\omega) d\omega \geq 0. \quad (3.26)$$

3.4.2 – Ilustração das propriedades

Nesta seção discutiremos as propriedades da função densidade espectral de potência para os exemplos propostos na seção 3.4.

Para o **Exemplo 3.7**, temos que a propriedade 1 é verificada. De fato, a equação (3.25), cuja mesma representa a densidade espectral do sinal, é função par, logo a densidade espectral para este processo é uma função par. Observando o gráfico da Figura 3.11, temos que ele não apresenta espectro negativo, ou seja, $S_x(\omega) \geq 0$, verificando então a propriedade 2.

Queremos provar que $R_x(0) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S_x(\omega) d\omega$. De fato,

$$\begin{aligned}
\frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} S_x(\omega) d\omega &= \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\pi k^2}{2} [\delta(\omega - \omega_0) + \delta(\omega + \omega_0)] d\omega \\
&= \frac{k^2}{4} \left(\int_{-\infty}^{\infty} \delta(\omega - \omega_0) d\omega + \int_{-\infty}^{\infty} \delta(\omega + \omega_0) d\omega \right) \\
&= \frac{k^2}{2}
\end{aligned}$$

e da equação $R_x = \frac{k^2}{2} \cos(\omega\tau)$, segue que $R_x(0) = \frac{k^2}{2}$. Portanto, a propriedade 3 é satisfeita.

O **Exemplo 3.8**, trata do processo aleatório gerado por um canal de MEA. Para o estudo da função densidade espectral de potência, subdividimos o sinal em trechos da mesma forma que foi feito para o estudo da função de autocorrelação (seção 3.3.2). Pelo gráfico da Figura 3.12, verificamos que a propriedade 2 é satisfeita, pois o gráfico não possui valores negativos, ou seja, $S_x(\omega) \geq 0$.

Vamos agora fazer o estudo do processo proposto no **Exemplo 3.9**. Pela Figura 3.13, temos que a densidade espectral de potência não apresenta valores negativos, ou seja, $S_x(\omega) \geq 0$, e assim a propriedade 2 é satisfeita.

3.4.3 – Interpretação da Função Densidade Espectral de Potência

De maneira análoga à seção 3.3.3, vamos fazer uma interpretação da função densidade espectral de potência calculada para os Exemplos 3.7, 3.8 e 3.9. A Figura 3.14, apresenta o gráfico da densidade espectral de potências para estes exemplos.

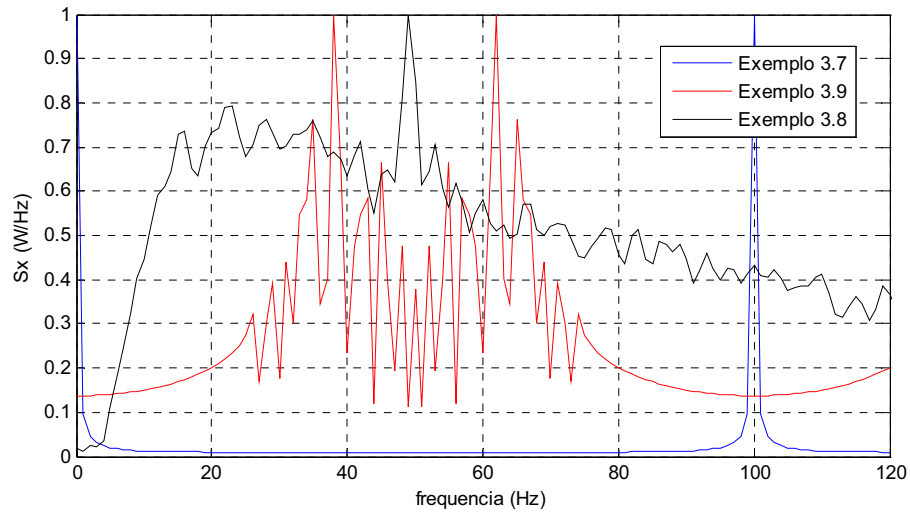


Figura 3. 14 – Gráfico comparativo da densidade espectral de potência obtida para os 3 exemplos da seção 3.4.2.

Verificamos que a densidade espectral de potência para estes 3 exemplos apresentou valores distintos. Para o Exemplo 3.7, ocorreram picos na origem e em 100 Hz, implicando que a energia do sinal está concentrada na origem e em 100 Hz. Para o Exemplo 3.8, houve picos na origem e na frequência de 50 Hz. No Exemplo 3.9, podemos perceber que a energia do sinal está concentrada próximo de 40 Hz e 60 Hz.

3.5 Metodologia

Trataremos nesta seção das técnicas de processamento para os sinais oriundos de culturas inativas, bem como a aquisição dos mesmos. Utilizamos a função de autocorrelação $R_x(\tau)$ e a função densidade espectral de potência $S_x(f)$ para obtermos uma característica dos sinais tanto no domínio do tempo quanto no domínio da frequência.

3.4.1 Aquisição dos Sinais

Os sinais a serem analisados nesta dissertação são sinais extracelulares registrados a partir de uma MEA60 planar (*MultichannelSystems, Reutlingen, Germany*). Maiores detalhes sobre esta matriz foram discutidos no Capítulo 2, seção 2.7.1. Utilizou-se culturas primárias dissociadas de neurônios corticais retirados do embrião de ratos no 18º dia de gestação, os quais foram previamente anestesiados e tomados todos os cuidados necessários, estipulados pelo Comitê de Ética da Universidade de Gênova. Na seção 2.6.1, do Capítulo 2, foi apresentado como se deu a dissecação dos tecidos neuronais e a preparação das culturas. Estas culturas cresceram sobre as MEA's.

A MEA propriamente dita foi conectada a um banco de 60 amplificadores integrados (cada qual associado a um microeletrodo), montados em suporte conjunto, compreendendo os estágios de pré-amplificação e amplificação propriamente dita, com ganho total absoluto de 1200. Utilizou-se também um regulador de temperatura, um computador pessoal equipado com uma placa PCI de aquisição de dados para monitoramento em tempo real, um microscópio invertido, uma mesa antivibratória e uma gaiola de Faraday. Os dados foram monitorados e gravados usando o software comercial *MCRack (MultichannelSystems, Reutlingen, Germany)*.

Uma vez preparada a cultura, esta é depositada na MEA, sendo imediatamente levada a uma estufa protetora, sendo esta data denominada “dia de incubação” (ou “*Day In Vitro*” – DIV). Após dez dias em estufa, ou 10 DIVs, realizam-se medidas de atividade elétrica neural espontânea. Caso a frequência de disparos seja inferior a 1 kHz e a amplitude seja menor que 100 μ V, considera-se a cultura “inativa”, sendo que, para a grande maioria dos casos, esta cultura evolui para a morte fisiológica (RUTTEN, 2002). Do contrário, diz-se “cultura ativa”.

Duas culturas neurais foram monitoradas, sendo estas identificadas como cultura C358 e cultura C359. Quando possível, para um experimento completo, cada cultura é

monitorada durante 20 minutos, sendo que o procedimento é subdividido em quatro sessões de cinco minutos cada. Desta forma, os sinais de C358 foram observados no 7º (em 3 sessões), 11º (em 1 sessão), 14º (em 2 sessões) e 18º (em 1 sessão) dia de incubação (DIV). Já os sinais de C359 foram observados no 21º (em 4 sessões) e 25º (em 4 sessões) DIV. Dado que cada sessão dura cinco minutos, então há quinze conjuntos de sinais. O tempo de amostragem utilizado foi de 0,1 milissegundos e a frequência de amostragem igual a 10 kHz.

Para todos os experimentos descritos no parágrafo anterior, constatou-se a ausência de atividade elétrica significativa, além de frequência de disparo inferior a 1 kHz, o que pode ser interpretado como dificuldade de conexão da cultura com os microeletrodos. Assim sendo, tanto a cultura 358 como a cultura 359 podem ser consideradas inativas. Esta inatividade das culturas foi natural, ou seja, o experimento não foi dimensionado para gerar ou induzir tal fenômeno.

Cada MEA foi retirada da estufa de CO₂ e colocada sobre o respectivo banco de amplificadores. As medidas foram iniciadas após 20 minutos da deposição da cultura sobre os eletrodos, com o objetivo de permitir às células de se adaptarem ao novo ambiente. Em seguida, para cada cultura, foram coletados quatro registros consecutivos de amostra do sinal de atividade neural espontânea, sendo que cada um desses registros teve duração de 5 minutos. Ou seja, para cada MEA, foi possível registrar a atividade elétrica dos 60 microeletrodos durante um tempo total de 20 minutos. Deve-se destacar que cada experimento completo de 20 minutos foi realizado em uma única cultura, de forma que as MEAs foram medidas individualmente, sendo uma MEA medida subsequentemente à outra.

3.4.2 Estimação da Autocorrelação e Densidade Espectral de Potência

Como visto nas seções anteriores, os sinais MEA não são estacionários. Para simplificar o processamento destes sinais consideramos a hipótese de estacionariedade fazendo a segmentação do sinal. Segundo (RANGAYYAN, 2001), esta segmentação pode ser útil para resolver este problema de não estacionariedade baseada na seguinte idéia, os dados não estacionários são analisados e divididos em segmentos de tal forma que dentro de cada segmento o sinal passar a ser considerado estacionário. Resultados propostos na literatura, através da clássica detecção de spikes, sugerem que estes segmentos não devem ser maiores que 1 a 2 segundos. Afim de verificar se estes resultados experimentais também valem para sinais registrados de culturas inativas, (SHIMAZAKI et al, 2007), realizou um experimento

com estes sinais, concordando com as conclusões anteriores relatadas na literatura. O ideal para esta segmentação seria considerar segmentos de comprimentos variáveis, no entanto, a fim de simplificar o trabalho, um comprimento de tamanho fixo foi determinado para o processamento destes sinais. Em resumo, este é o procedimento padrão proposto na literatura (SHIMAZAKI et al, 2007).

Conseqüentemente, todas as estimativas realizadas nesta dissertação baseiam-se na seguinte metodologia. Cada registro é representado por um arquivo digital organizado como a seguir.

$$X = [x_1 \ x_2 \ \dots \ x_{60}] \quad (3.27 - a)$$

$$X = \begin{bmatrix} \underbrace{x_1}_{x_{1,1}} & \underbrace{x_2}_{x_{1,2}} & \ddots & \underbrace{x_{60}}_{x_{1,60}} \\ x_{2,1} & x_{2,2} & \dots & x_{2,60} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ x_{M,1} & x_{M,2} & \dots & x_{M,60} \end{bmatrix} \quad (3.28 - b)$$

Onde a matriz X é composta por de vetores colunas x_k , $k = 1, 2, \dots, 60$, cada um deles associados com a amplitude do sinal (μV) de um único canal da MEA durante 5 minutos de registro, levando a um comprimento total de M igual a 3.010.000 linhas.

Cada vetor coluna, os quais representam um canal da MEA, desta matriz foi dividido em 150 segmentos de comprimento igual a 20000 amostras, o que corresponde a uma duração de 2 segundos. Para cada segmento, uma simples estimativa de suas características foi realizada envolvendo a função de autocorrelação (Equação 3.3) e função densidade espectral de potência (Equação 3.23). Logo, para cada canal, calculou-se a autocorrelação média e densidade espectral de potência média. Este modelo caracteriza o comportamento estatístico de um canal, para uma seção de experimentos, através da média calculada para estes 150 trechos. Como a base de dados é composta por 15 seções de experimentos, todos os passos foram repetidos para cada arquivo digital. Finalmente, calculou-se a média de todos os resultados obtidos.

Supondo os dados serem estacionários, durante um seguimento de um único canal, a autocorrelação (Equação 3.3) foi calculada considerando o tempo discreto n , como se segue

$$R_x(\tau) = \frac{R_x(\tau)}{R_x(0)}; \tau = 0, 1, \dots, \tau_{\max}; \tau_{\min} \leq L-1; L = 20000 \quad (3.29)$$

$$R_x(\tau) = \left(\frac{1}{L-\tau} \right) \cdot \sum_{n=0}^{L-\tau-1} x(n)x(n+\tau); \tau \leq L-1; \tau = 0, 1, \dots, \tau_{\max}; \tau_{\min} \leq L-1 \quad (3.30)$$

As Equações 3.29 e 3.30 apresentam um estimador não tendencioso para a autocorrelação, cujo mesmo está normalizado. A normalização é necessária, uma vez que há vários procedimentos para estimar a média geral da função de autocorrelação de todos os dados. O tamanho de L foi estabelecido de acordo como discutido no parágrafo acima. Em relação à escolha de $\tau_{\max}$, ela foi baseada em várias simulações envolvendo sinais de canais únicos com eletrodos diferentes que foram selecionados a partir de diferentes sessões. As Equações 3.29 e 3.30 foram aplicadas para estes sinais, considerando um grande conjunto de valores para $\tau_{\max}$. Em resumo, este estudo de simulações apontou que as amplitudes da função de autocorrelação não são relevantes para $\tau_{\max}$ superior a 3000 amostras ou 300 milésimos de segundos. Conseqüentemente, para análises subseqüentes, $\tau_{\max}$ foi considerado como um valor constante de 3000 amostras.

A aplicação das Equações 3.29 e 3.30 para todos os segmentos de um único canal (uma sessão) resultou em 150 funções de autocorrelação, e no final calculou-se a média destas 150 funções. Este procedimento foi repetido para cada experimento e os dados foram armazenados em uma matriz com 60 linhas, onde cada linha representa os resultados obtidos para cada canal da MEA. Como são 15 conjuntos de dados, foi obtido um total de 15 matrizes deste tipo. Finalmente, calculou-se a média geral da autocorrelação destes 15 arquivos de dados e obteve a autocorrelação média do experimento. O número de colunas desta matriz foi determinado pelo comprimento de $\tau_{\max}$.

Para o cálculo da densidade espectral de potência, utilizou a Equação 3.24 e o procedimento foi o mesmo descrito para a função de autocorrelação. Obtendo com resultado final para cada conjunto de dados, uma matriz composta por 60 linhas, cada linha

armazenando a densidade espectral de potência para cada canal e o número de colunas foi determinado pelo comprimento do vetor de frequências f . Analogamente ao estudo da autocorrelação para determinar o tamanho de $\tau_{\max}$, obtivemos que o comprimento máximo e significativo para f foi igual a 3500 Hz.

A função de autocorrelação foi gerada a partir de um programa executado no software Matlab. Este programa tem como parâmetros de entrada o vetor que representa a função para o cálculo da autocorrelação, o tempo de amostragem e um valor máximo de τ , em que o usuário tem total liberdade para a escolha do valor de τ , desde que este valor seja menor ou igual ao comprimento do vetor de dados. O parâmetro de saída é o vetor de autocorrelação normalizado. Este programa recebeu o nome de *autocorr.m* e ele calcula a função de autocorrelação utilizando o estimador não tendencioso discutido em parágrafos anteriores. O código fonte se encontra no Anexo I.

Em seguida, implementamos no Matlab uma rotina para o cálculo da autocorrelação e densidade espectral de potência média dos sinais obtidos em MEA. Denominamos este programa de *Rx_and_Sx_geral.m*, e seus parâmetros de entrada são os sinais de cada canal da MEA que têm dimensões 3010000 x 1, um valor máximo para τ , o período de amostragem, medido em segundos, um vetor de frequências, medido em Hz. Para cada sinal de dimensão 3010000 x 1, foi feito um janelamento, onde a variável de entrada *janela*, que é um escalar medido em amostras, define o comprimento de cada trecho deste sinal. Para estes sinais utilizamos um janelamento de comprimento igual a 20000, que representa 2 segundos de amostra. Outro parâmetro de entrada é a variável *trecho*, que é uma matriz de dimensão $num \times janela$, onde *num* é o número que representa a quantidade de trechos em que o sinal ficou dividido. Os parâmetros de saída são uma matriz de dimensão $60 \times \tau_{\max}$ que contém a autocorrelação média de cada canal da MEA, um vetor de dimensão $1 \times \tau_{\max}$ que representa a autocorrelação média do experimento, uma matriz de dimensão $60 \times tamanho\ do\ vetor\ de\ frequências$ que contém a densidade espectral média de cada canal da MEA e um vetor de dimensão $1 \times tamanho\ do\ vetor\ de\ frequências$ que representa a densidade espectral média do experimento. O respectivo código fonte deste programa se encontra no Anexo II.

Para facilitar a rotina deste programa desenvolvemos uma função auxiliadora denominada *carregar.m* que contém todos os vetores que representam os 60 canais da MEA. Esta função foi ajustada para cada experimento, durante o processamento destes sinais.

3.6 Resultados

A autocorrelação de todo o conjunto de sinais (sessenta microeletrodos) durante todas as quinze sessões de registro, está ilustrado na Figura 3.15.

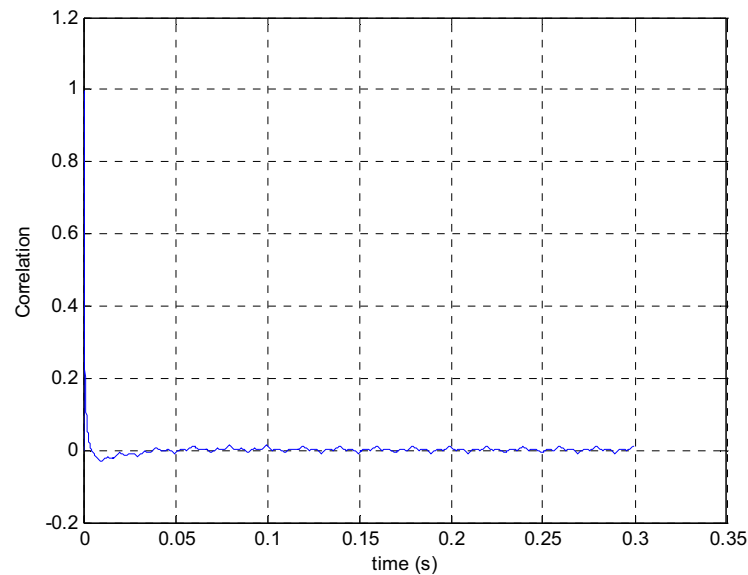


Figura 3. 15 – Gráfico da autocorrelação obtida para todo o conjunto de dados.

A aplicação da Equação 3.22 na função de autocorrelação levou à correspondente função densidade espectral de potência ilustrada na Figura 3.16.

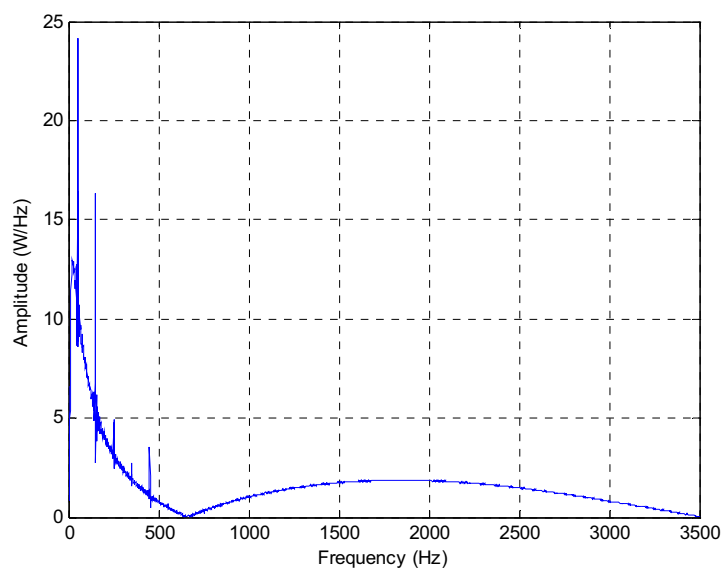


Figura 3. 16 – Gráfico da densidade espectral de potência obtida para todo o conjunto de dados.

A Figura 3.15 sugere que a correlação entre amostras de sinais oriundos de culturas inativas pode ser considerada nula para o tempo superior que 25 milissegundos, o que equivale a 250 amostras. Observa-se que a autocorrelação decaiu para zero muito rapidamente, significando que o sinal apresenta variações muito rápidas. Conforme proposto em (GRANADO, 1994), este sinal apresenta uma tendência muito grande para o ruído branco, pois sua autocorrelação é uma curva bastante estreita em torno de $\tau = 0$. Pode-se notar que existe uma forte correlação entre os sinais. A densidade espectral de potência tem componentes significantes numa escala de 0 a 2,5 kHz (Figura 3.16). Pode-se dizer que a energia do sinal está concentrada neste intervalo.

3.6 Conclusão

Este Capítulo utilizou duas técnicas clássicas de processamento de sinal, sendo uma (autocorrelação) permitindo uma análise no domínio do tempo e a outra (densidade espectral de potência) permitindo uma análise no domínio da frequência. Assim é possível obter informações tanto no domínio temporal quanto no domínio da frequência para os mesmos sinais.

Foram analisadas duas culturas de neurônios extraídos do córtex de embriões de ratos com 18 dias de gestação. A princípio, estas culturas foram consideradas culturas inativas, pois se observou que a frequência de disparos foi inferior a 1 kHz e a amplitude menor que 100 μ V. Considera-se que esta frequência de disparo de 1 kHz é observada pela soma dos potenciais de vários neurônios. Nosso objetivo era estudar as culturas inativas verificando a presença de ruído de instrumentação, pois são dois assuntos pouco abordados na literatura e pela importância do conhecimento do tipo de ruído de instrumentação que está sendo registrado juntamente com o sinal. Os dados analisados revelam, portanto, características importantes do ruído de instrumentação da MEA, o qual perturba qualquer análise informática normalmente realizada por pesquisadores em neurociência computacional.

Podemos concluir que a função de autocorrelação foi importante para verificar que estes sinais registrados apresentam uma correlação forte entre si até os primeiros 25 milissegundos de medida, o que permite concluir que o sinal está correlacionado com ele mesmo apenas nos 25 primeiros milissegundos, e como esta autocorrelação decai muito rapidamente para zero, segundo (GRANADO, 1994), pode-se dizer que existe uma tendência ao ruído branco.

Com a densidade espectral de potência foi possível constatar que a energia do sinal está concentrada no intervalo de 0 a 2,5 kHz.

No Capítulo seguinte utilizaremos a função densidade espectral de potência, juntamente com a transformada de Fourier para estudar as morfologias de sinais neuronais captados a partir de Eletroencefalografia. Faremos então uma comparação entre estas duas ferramentas, as quais nos permitem uma análise do sinal no domínio da frequência.

Capítulo 4

Análise de Sinais Eletroencefalógrafos através da Transformada de Fourier e Densidade Espectral de Potência

4.1 Introdução

As primeiras pesquisas dos fenômenos elétricos cerebrais foram realizadas em animais, por um pesquisador inglês, Richard Canton em 1875, utilizando um galvanômetro. Posteriormente, em 1924, Hans Berger um psiquiatra alemão, registrou, pioneiramente a atividade elétrica cerebral em seres humanos. Berger descobriu que era possível registrar fracas correntes elétricas geradas no cérebro humano que se alternavam de acordo com o estado funcional do cérebro, sem a necessidade de incisar a calota craniana. Desde a sua introdução, as técnicas eletroencefalográficas têm evoluído, e o exame tem sido usado como coadjuvante no diagnóstico de diversas doenças neurológicas (ANGHNAH, 2007).

O eletroencefalograma (EEG) possui valor no diagnóstico e, também, no seguimento do tratamento de pacientes com epilepsia, doença esta decorrente de um distúrbio da excitabilidade do córtex cerebral e, portanto, mensurável por métodos neurofisiológicos.

Este Capítulo trata de padrões eletroencefalográficos registrados com eletrodos de superfície. Os traçados foram coletados no Setor de Eletroencefalografia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HCU – UFU) a partir do consentimento formal dos pacientes.

Primeiramente, será apresentado neste Capítulo como se dá a geração do sinal de EEG, falando sucintamente como ocorre o potencial de ação neuronal, potencial estacionário e será explicado também como é realizada a propagação destes potenciais.

Apresentaremos, a partir de traçados eletroencefalográficos registrados com eletrodos de superfície, aspectos relacionados à descrição técnica da realização de um EEG, abordando neste tópico, eletrodos, tipos de montagens e derivações.

Durante a captação do traçado de EEG, é raro encontrarmos um traçado que não contenha artefatos, os quais são definidos como potenciais elétricos provenientes de outra fonte que não seja o cérebro. Tendo em vista este fato, e as dificuldades que os artefatos podem gerar durante a interpretação do EEG, incluiremos algumas morfologias relacionadas a artefatos.

O eletroencefalograma é um exame complementar em neurologia que possui baixa sensibilidade, a exemplo é sabido que cerca de 50-80% dos traçados realizados em portadores de epilepsia não apresentam anormalidades (NOACHTAR, 1999). Assim abordaremos o estudo dos fenômenos normais do EEG, uma vez que este será, na maioria dos traçados, o objeto de interpretação.

A partir dos traçados coletados, foram selecionados aqueles que apresentaram anormalidades, a fim de discutir as características e critérios de EEG patológico, assim como as limitações e recomendações para a utilização clínica da eletroencefalografia.

Além da análise clínica dos exames coletados feita pelo Dr. Marcos Campos (HCU – UFU), será apresentada uma análise destes através de ferramentas matemáticas, transformada de Fourier e densidade espectral de potência.

4.2 Geração do Sinal de Eletroencefalograma (EEG)

O eletroencefalograma é um registro da atividade elétrica em massa do SNC obtido através de eletrodos posicionados no couro cabeludo. Exibe padrões de atividades regulares (ritmos de sincronização coletiva), de caráter previsível e com alta correlação funcional. Os principais parâmetros no EEG são amplitude e frequência. A amplitude depende de vários fatores como, por exemplo, localização, diâmetro e distância entre os eletrodos, do estado funcional e até mesmo do estado de maturidade do indivíduo. As amplitudes podem variar de 0 a 200 μV e a frequência varia de 0 a 30 Hz (CARDOSO, 2005). A intensidade das ondas cerebrais registradas no EEG é determinada em sua maior parte pelo número de neurônios e fibras que disparam sincronicamente.

4.2.1 Potencial de ação nos neurônios

O neurônio é uma célula excitável que possui a capacidade de gerar eletricidade e assim propagar o impulso elétrico de um ponto a outro da célula, isto é, são células dotadas de condutibilidade. Nestas células excitáveis, determinados estímulos causam mudanças transitórias na diferença de potencial elétrico a ponto de inverter completamente a polaridade elétrica. Para a maioria dos tipos de axônios, essas alterações consistem de um aumento rápido e transitório na permeabilidade ao sódio (Na^+), seguido de um aumento mais lento e mais prolongado na permeabilidade ao potássio (K^+) (PURVES et al, 2005). Como vimos, tal evento elétrico é chamado de *potencial de ação* (PA).

Segundo (PURVES et al, 2005), um aumento transitório na permeabilidade da membrana neuronal ao Na^+ provoca o início de um potencial de ação, ou seja, potenciais de ação são observados apenas quando o potencial da membrana neuronal torna-se mais positivo que um certo limiar. Em repouso, a membrana de alguns tipos de neurônios é polarizada em cerca de -90 mV e com a despolarização, esse valor pode chegar até +35 mV. Observa-se, então um aumento muito rápido do potencial de membrana seguido de uma descida também muito rápida até um valor inferior a -100 mV, e por fim, um lento retorno até o valor de repouso de -90 mV.

No entanto, para que haja a propagação do potencial de ação é necessário que o estímulo sofrido pela membrana neuronal seja capaz de elevar abruptamente o potencial de

membrana de 15 a 30 mV (GUYTON, 1993), ou seja, o potencial deve chegar a cerca de -65 mV (potencial limiar).

Pode-se observar na Figura 4.1, que quando o axônio do neurônio sofre um estímulo específico, os canais de sódio se abrem mais rapidamente que os canais de potássio, ocorrendo uma elevação no potencial de membrana no sentido positivo e quando a tensão vai ficando mais positiva tendendo a 0 mV, abrem mais canais de sódio e com isso o interior da célula fica mais positivo e mais positivo se torna o potencial no interior desta célula até um momento que a corrente despolarizante do sódio é maior que a corrente repolarizante do potássio, podendo superar o potencial de limiar e quando este limiar é atingido, ocorre o fenômeno do *tudo-ou-nada*, ou seja, o processo não poderá ser revertido, caso contrário, se o limiar não for atingido não ocorrerá o potencial de ação.

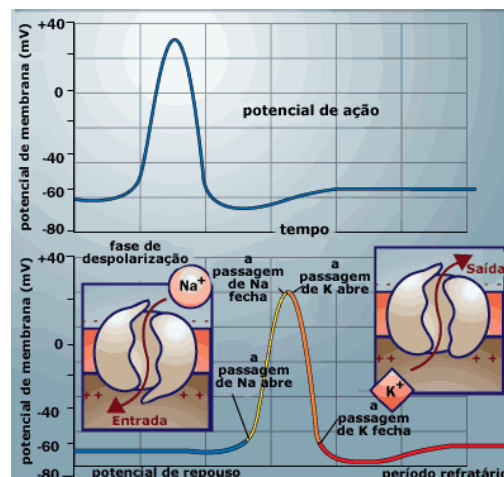


Figura 4. 1 - Representação de uma onda de despolarização e repolarização na parte superior da figura e na parte inferior, esquematização da onda conforme os canais de sódio-potássio (adaptado de (URL 9)).

Ao passar alguns instantes, os canais de sódio começam a fechar e os de potássio ainda estão se abrindo e com isso ocorre um aumento da quantidade de potássio que sai da célula, fazendo com que o potencial de membrana comece a cair. Quanto menos positivo o potencial de membrana, menos sódio entra na célula, e com a saída de mais potássio, mais o potencial avança no sentido negativo, retornando ao repouso. Como os canais de potássio são mais lentos, eles demoram mais a se fecharem e por isso, antes da membrana se repolarizar, o potencial ultrapassa, no sentido negativo, o potencial de repouso e à medida que eles vão se fechando, o potencial vai lentamente retornando ao valor de repouso. (Figura 4.1)

O axônio do neurônio, ao longo do seu comprimento, pode apresentar várias ramificações. Estes ramos recebem o nome de colaterais (LENT, 2004). Alguns colaterais emergem próximo ao corpo celular e retornam às vizinhanças dele formando contato sináptico com outros neurônios nesta região. Outros emergem mais distantes podendo alcançar diferentes regiões do sistema nervoso. Na extremidade de cada colateral o axônio se bifurca várias vezes, formando uma espécie de arborização terminal, local onde são estabelecidas as sinapses – que é um meio de comunicação entre os neurônios – com as células-alvo.

As sinapses podem ser elétricas ou químicas. As sinapses elétricas ocorrem através das *junções comunicantes* – região de aproximação entre duas células que possui canais iônicos denominados *conexons* – e se dá pela transmissão direta de íons de uma célula à outra e as sinapses químicas ocorrem através dos terminais sinápticos dos neurônios (Figura 4.2), em que a membrana pré-sináptica secreta, na fenda sináptica, os neurotransmissores e estes se difundem nesta fenda fixando-se sobre as proteínas receptoras que estão na membrana pós-sináptica. Daí a célula receptora (neurônio pós-sináptico) será inibida (sinapse inibitória) ou excitada (sinapse excitatória), dependendo dos neurotransmissores e das proteínas receptoras.

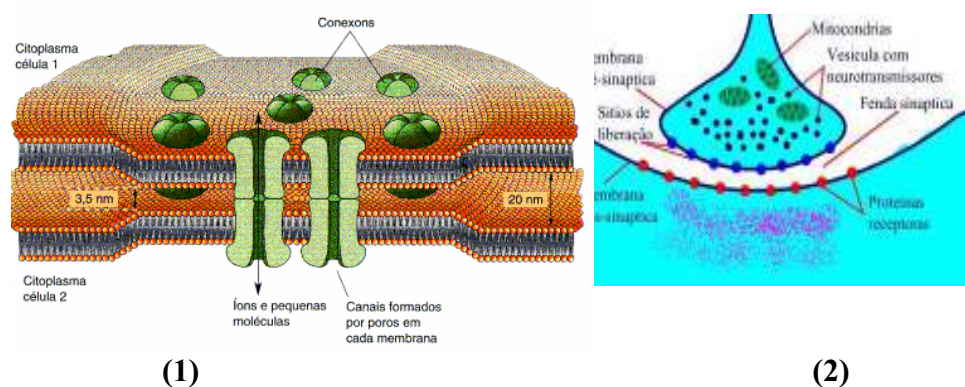


Figura 4.2- (1) Sinapse elétrica (adaptada de (URL 10)); (2) Sinapse química (adaptada de (URL 10)).

As sinapses elétricas permitem que as correntes iônicas fluam passivamente, através dos poros das junções comunicantes, de um neurônio para outro. A fonte desta corrente é comumente a diferença de potencial gerada localmente pelo potencial de ação. O neurônio que origina a corrente é chamado de elemento *pré-sináptico* e o neurônio para onde a

corrente flui é chamado de elemento *pós-sináptico* (PURVES et al, 2005). A transmissão de corrente iônica é bidirecional e extraordinariamente rápida.

Na sinapse química, existe a presença de pequenas organelas próximas ou ligadas às membranas no terminal pré-sináptico, cujas são denominadas vesículas sinápticas. Nestas vesículas se encontram os neurotransmissores. A transmissão de corrente iônica nas sinapses químicas é baseada em uma elaborada seqüência de eventos e o processo é iniciado quando um potencial de ação invade o terminal neuronal pré-sináptico.

4.2.2 Potencial Estacionário

Um volume condutor pode ser entendido como um sólido em que corrente elétrica ocorre de forma tridimensional. O corpo humano pode ser considerado um volume condutor, pois sua estrutura é tridimensional e as correntes iônicas são capazes de se espalhar por esse volume, pois ele é formado por uma grande parte de água e diversos íons livres. Um condutor tende a manter um potencial constante em todo o seu volume. Então se colocarmos uma carga positiva em algum ponto desse condutor ela irá atrair as cargas negativas para sua proximidade. Essas cargas negativas irão mover-se gerando correntes iônicas, e se fixarão próximas à carga positiva original gerando uma área carregada negativamente que atrai cargas positivas na região repetindo o processo que se propaga por todo o volume condutor até que tenhamos uma nova estabilidade atingindo um potencial constante.

A tensão medida por um eletrodo é o produto da tensão gerada pelo dipolo e o ângulo sólido – que é a medida da área aparente formada pela seção transversal da projeção de um eletrodo e um ponto da membrana celular – formado pelo dipolo e o eletrodo, ou seja, se aumentarmos o ângulo sólido, aumentamos a tensão medida pelo eletrodo. (Figura 4.3)

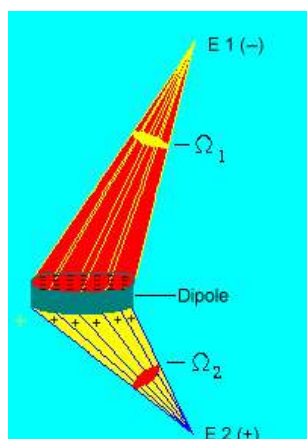


Figura 4. 3 - Ângulo Sólido gerado por um dipolo hipotético em dois eletrodos diferentes.

As células piramidais, presentes no córtex cerebral, possuem ramificações dendríticas bastante assimétricas e superficiais. As sinapses excitatórias nestas células ocorrem principalmente nos dendritos apicais e as sinapses inibitórias se concentram no soma. As sinapses excitatórias tornam o potencial no interior da membrana mais positivo e o potencial no exterior da membrana fica mais negativo. Já as sinapses inibitórias deixam o interior da membrana mais negativo e o exterior mais positivo. Daí tem-se dipolos nos dendritos e no soma do neurônio. Estes potenciais gerados no soma e nos dendritos são denominados potenciais estacionários. A Figura 4.4 ilustra essa situação onde o potencial captado é gerado pela diferença de potencial ocasionada por uma sinapse excitatória e uma inibitória em partes diferentes do neurônio.

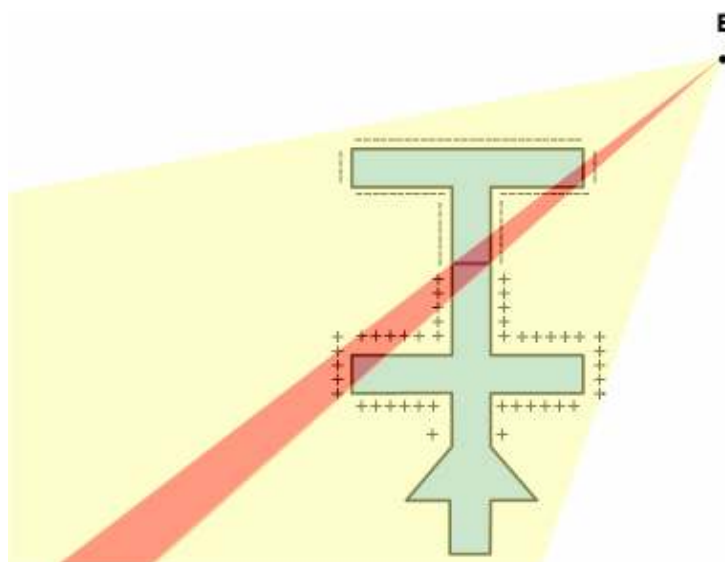


Figura 4. 4 - Potencial estacionário.

Assim o potencial registrado por um eletrodo no escalpo depende da polaridade, orientação e localização dos potenciais pós-sinápticos em relação ao eletrodo de medida (CARDOSO, 2005). Os dipolos mudam de intensidade e sentido e assim ocorrem flutuações ondulares no potencial elétrico resultante no volume condutor, que se propagam passando pelas meninges e pela caixa craniana até alcançarem o escalpo (Figura 4.5)

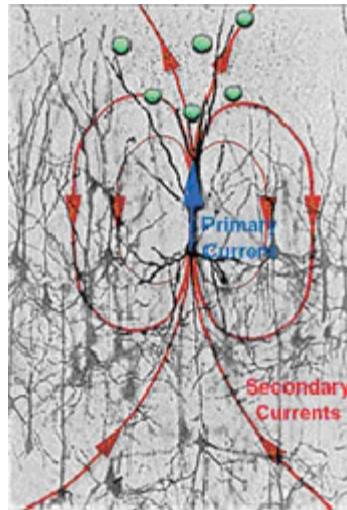


Figura 4. 5 - *Fluxo de corrente no neurônio devido à entrada de sinapses excitatórias (adaptado de (URL 13)).*

4.2.3 Propagação dos Potenciais de Ação

Sabe-se que a membrana do axônio é altamente excitável, possuindo grande densidade de canais iônicos em toda sua extensão. Quando os canais de Na^+ da zona de disparo se abrem, surge um potencial de ação nessa região, ou seja, ocorre uma troca na polaridade da membrana. Além das correntes iônicas que atravessam a membrana surgirá também nesta região, correntes locais no axoplasma e no meio externo justaposto à superfície. Como o limiar de excitabilidade do soma é mais alto, a despolarização provocada pelas correntes locais só serão capazes de atingir o limiar das regiões opostas ao soma e assim o potencial de ação se propagará em direção aos terminais sinápticos. Este sentido de propagação também se explica pelo fato de que quando uma membrana sofre um potencial de ação seus canais ficam inativos tornando-se inexcitáveis, ao contrário do que acontece com os canais situados à frente que se encontram em repouso e a membrana da região estando plenamente excitável.

Os potenciais de ação possuem a propriedade auto-regenerativa, pois ele se multiplica várias vezes ao longo do axônio e quando chegam às regiões de bifurcação, ambos os ramos produzem potenciais idênticos e com isso o potencial de ação regenerado no segmento inicial do axônio chega igualmente a todos os seus ramos terminais, com a mesma amplitude e a mesma forma de origem. (LENT, 2004)

A velocidade de propagação dos potenciais de ação depende do calibre do axônio. Axônios mais calibrosos apresentam menor resistência axoplasmática às correntes iônicas e sendo a resistência interna menor, será maior a intensidade das correntes e mais rapidamente se atingirá o limiar das regiões vizinhas. A bainha de mielina também contribui para uma maior velocidade de propagação do potencial de ação pelo axônio, pois nestes neurônios os canais iônicos se acumulam nos nós de Ranvier, tornando-os regiões de baixo limiar de excitabilidade.

4.2.4 Principais responsáveis pela geração do sinal de EEG

Em função da amplitude observada sugere-se que os neurônios piramidais seriam os principais responsáveis pelas ondas obtidas no EEG, pois estes neurônios são as maiores células excitáveis presentes no SNC e se comunicam utilizando o *glutamato*, principal neurotransmissor do SNC. Os neurônios piramidais também ajudam a amplificar as correntes sinápticas devido ao fato de possuírem múltiplas zonas de disparo em seus dendritos.

As correntes iônicas no meio extracelular – que por sua vez, somam-se algebricamente e de forma linear – juntamente com uma profusão de potenciais sinápticos estabelecidos em inúmeros espinhos dendríticos também contribuem para fazer emergir os padrões oscilatórios no EEG.

As sinapses inibitórias junto ao soma da célula piramidal permitem a geração de potenciais inibitórios de grande amplitude e maior duração e por outro lado a presença de minúsculos pós-potenciais hiperpolarizantes de curta duração favorece a ocorrência de disparos de alta frequência.

4.3 Eletrodos

Os eletrodos para medição de EEG podem ser classificados em superficiais, especiais ou basais (aplicados na base do crânio) e neurocirúrgicos. Os mais utilizados são os superficiais, que são eletrodos não invasivos, aplicados sobre o couro cabeludo. Estes eletrodos devem ser pequenos, de fácil fixação no escalpo e com impedância de contatos iguais e constantes.

Quanto ao material, os eletrodos mais utilizados são os de prata-cloreto de prata e os de placa de ouro. Os eletrodos de prata-cloreto de prata proporcionam um potencial de junção baixo e estável. Os eletrodos de placa de ouro apresentam alta condutividade, baixa impedância e devido a sua característica inerte faz com que os eletrodos possam ser reutilizáveis. Porém, como desvantagens são bem mais caros, possuem maior potencial de junção e são mais suscetíveis aos ruídos gerados pelo movimento do eletrodo e cabos de ligação, que os de prata-cloreto de prata.

Os eletrodos devem ser fixados no couro cabeludo juntamente com um gel, uma pasta condutora que, além de fixá-los, permite a aquisição adequada dos sinais elétricos que constituem a atividade elétrica cerebral.

4.3.1 – Tipos de Eletrodos

1) Eletrodos de disco de prata: são eletrodos de superfície e possuem um orifício no meio para aplicação de gel condutivo. Possuem de 6 a 10 mm de diâmetro.



Figura 4. 6 - Eletrodos de disco de prata (adaptado de (CARDOSO, 2005)).

2) Eletrodos de agulha de platina: Feitos para aplicação única. Possuem uma agulha de platina com comprimento cerca de 10 mm, apresentando em forma longitudinal ou em ângulo reto. São inseridos tangencialmente abaixo da pele, apresentando risco de quebra e sangramento.



Figura 4. 7 - Eletrodos de agulha de platina (adaptado de (CARDOSO, 2005)).

3) Nasofaríngeo: são eletrodos especiais do tipo não-invasivos, colocados pelas narinas, até a cavidade nasofaríngea, onde captam atividade do hipocampo e base do córtex. São bastante incômodos. Seu registro capta muitos artefatos, principalmente de respiração e atividade cardíaca.



Figura 4. 8 - Eletrodos nasofaríngeo (adaptado de (CARDOSO, 2005)).

4) Tipo capacete: estes eletrodos são pré-fixados em um molde, que pode ser, por exemplo, uma touca. Podem ser do tipo ventosa de borracha, através do qual se faz a colocação sem colódio.



Figura 4. 9 - Eletrodo tipo capacete (adaptado de (URL 11)).

5) Clipe de orelha: Utiliza dois eletrodos tipo disco, de ouro ou prata, com furo no meio montado num suporte plástico. São utilizados como eletrodo referência.

disc	hole	metal	lead length
10 mm	2 mm	Gold	12"
			24"
			30"
			48"
			60"
			72"
			96"
10 mm	2 mm	Silver	120"
			12"
			24"
			30"
			48"
			60"
			72"
			96"
			120"

Figura 4. 10 - Eletrodo de agulha de platina (adaptado de (CARDOSO, 2005)).

6) Eletrodos corticais: Utilizados para registrar potenciais no córtex exposto. Compostos por fios flexíveis de ouro ou prata e com suporte na forma de bola.

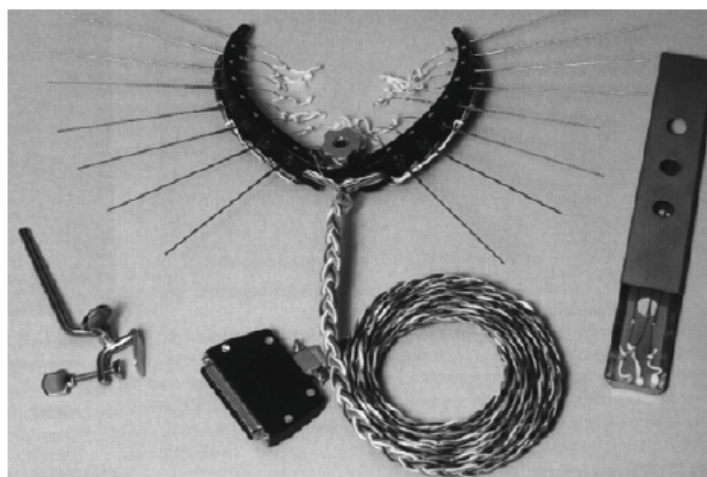


Figura 4. 11 - Eletrodos corticais (adaptado de (CARDOSO, 2005)).

4.3.2 – Montagem

Na prática, utilizam-se geralmente 15 a 20 eletrodos. O registro da atividade captada em quaisquer uns dos eletrodos denomina-se derivação. Um conjunto de derivações constitui

uma montagem. Existem dois tipos de montagem, montagem unipolar e bipolar, sendo a unipolar a mais utilizada.

Na montagem unipolar, utiliza-se um eletrodo, denominado eletrodo referência, ligado a uma parte do corpo, como por exemplo, no lobo da orelha – região que apresenta baixa voltagem podendo ser considerada neutra – para completar o circuito elétrico. Assim o sinal adquirido será a diferença entre o eletrodo fixado no escalpo e o eletrodo referência. Neste tipo de montagem o mesmo eletrodo referência é utilizado para todos os canais.

Numa montagem bipolar, os eletrodos completam seus circuitos elétricos com ligações diretamente a outros eletrodos vizinhos no escalpo. Assim o sinal amplificado será o resultado da diferença entre um eletrodo e o seu vizinho, por exemplo, Fp1 – F3, F3-C3, etc. Existem muitas combinações possíveis numa montagem bipolar, e elas já são pré-definidas no aparelho.

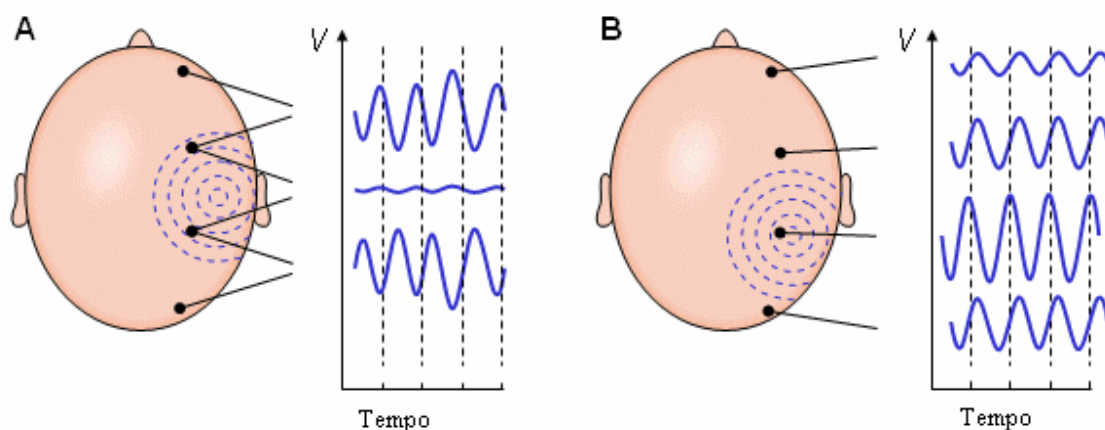


Figura 4. 12 – (A) Representação de uma montagem bipolar e (B) de uma montagem monopolar (adaptado de (MALMIVUO et al,1995)).

4.3.3 – Posicionamento dos Eletrodos

Os eletrodos são usualmente posicionados no couro cabeludo segundo o Sistema Internacional 10-20, que é um modelo padronizado para colocação de eletrodos recomendado pela Federação Internacional das Sociedades de Encefalografia e Neurofisiologia, com base em medidas que constituem de 10% a 20% de duas distâncias fundamentais: uma longitudinal — do Nasion ao Inion — e outra transversal, correspondente à distância entre os pontos pré-auriculares que são as indentações achatadas logo acima da entrada do ouvido

(pontos A₁ e A₂ na Figura 4.13). As letras Fp, F, C, P, O e T referem-se, respectivamente, às linhas de eletrodos pré-frontais, frontais, centrais, parietais, occipitais e temporais. Os índices ímpares correspondem ao hemisfério esquerdo e os pares ao direito. Os eletrodos da linha média são representados por Fz, Cz e Pz.

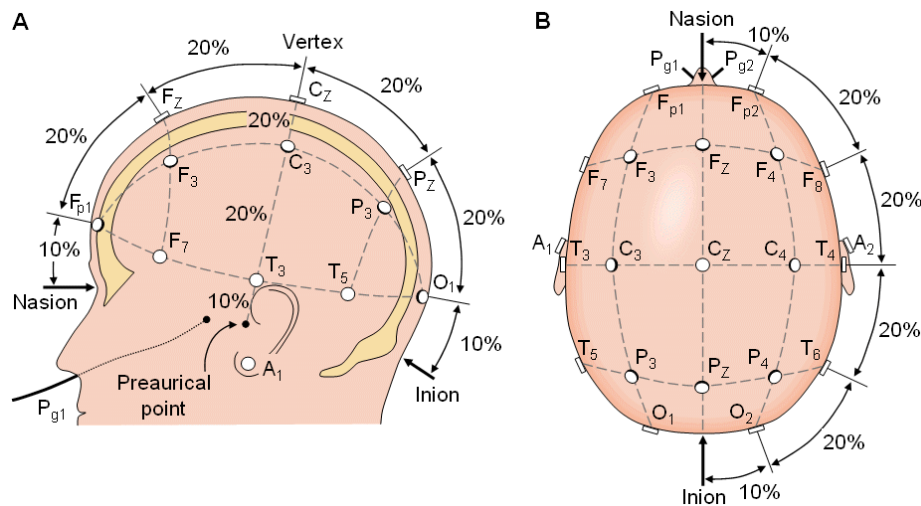
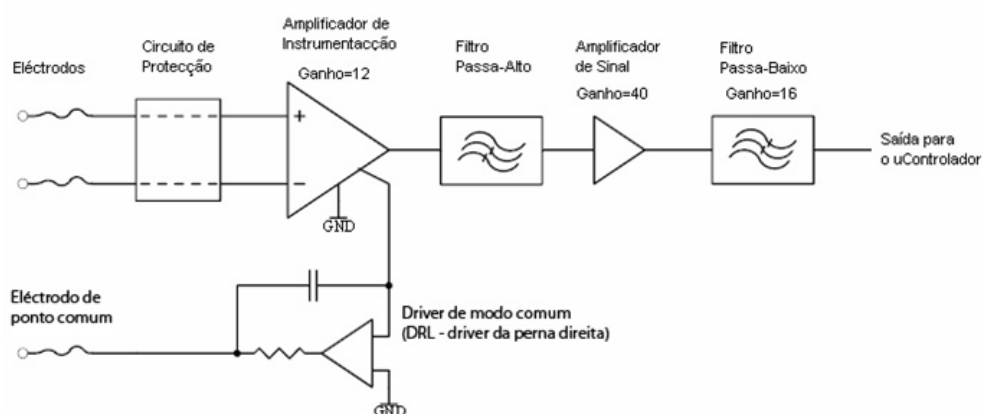


Figura 4. 13 - Sistema Internacional 10-20 de posicionamento de eletrodos (adaptado de (MALMIVUO et al,1995)).

4.4 Equipamentos

Quando captados através do couro cabeludo, os sinais elétricos cerebrais são muito pequenos e por isso eles são amplificados por meio dos amplificadores diferenciais. Estes amplificadores são capazes de amplificar diferenças de potencial entre dois pontos do escalpo, um de maior e outro de menor voltagem, gerando posteriormente um traçado gráfico que pode ser impresso em papel ou, visualizado na tela de um computador, após a conversão analógico-digital (A/D). Uma das principais características do amplificador diferencial é a rejeição de modo comum, ou seja, sinais com amplitudes semelhantes são eliminados.

A Figura 4.14 apresenta um diagrama de um eletroencefalógrafo com recursos digitais. O circuito de proteção protege o circuito da eletricidade estática. O amplificador de instrumentação amplifica o sinal captado pelos eletrodos medindo a diferença de potencial entre dois pontos do escalpo. O filtro passa-alta remove o nível DC do sinal sendo necessário pois, alguns dos materiais dos eletrodos são susceptíveis a polarização, e podem criar uma tensão DC considerável e o filtro passa-baixa minimiza a distorção causada pelo aliasing que ocorre quando o sinal analógico é convertido para digital. O microcontrolador é utilizado para a conversão A/D de cada canal. O opto-acopulador isola electricamente o circuito de captura contra interferências ou falhas causadas pelo circuito eléctrico do computador e de fontes externas.



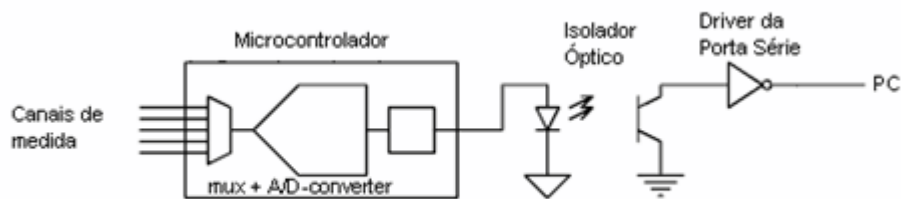


Figura 4. 14 - Diagrama de um equipamento de EEG (adaptado de (URL 14)).

4.4.1 Elementos e Técnicas de Avaliação do Sinal de EEG

Existem várias formas e técnicas de avaliar um sinal de EEG. Depende do que se deseja avaliar ou da necessidade de rapidez do resultado. Se for necessário um resultado rápido, pode se avaliar o sinal de EEG simplesmente através das ondas cerebrais e comparando com EEGs normais. Caso se necessite de um exame mais detalhado poderá utilizar algumas técnicas de processamento de sinais, como por exemplo a transformada de Fourier.

O espectro do sinal de EEG pode ser dividido em diferentes tipos de ondas, mostradas na tabela abaixo.

Ritmo (onda)	Frequência (Hz)	A que se relacionam	Região de localização cortical mais comum
Delta	0,5 a 3,5	Sono profundo	Frontal
Teta	4 a 7	Hipnose; desenvolvimento da memória; meditação; estresse; sonolência; sonhos.	Temporal e Parietal
Alfa	8 a 13	Vigília com olhos fechados; relaxamento mental.	Occipital (às vezes frontal e parietal)
Beta	13 a 30	Vigília; estado de alerta.	Frontal (às vezes occipital)
Gama	30 a 60	Intensa atividade mental; alta concentração.	Diferentes áreas corticias

Lambda	Acima de 60	Estados extraordinários de consciência; estado mais alto de meditação; consciência plena de si mesmo; estímulos visuais complexos.	Occipital
Mi	7 a 11	Intersecção entre a faixa teta e alfa; intenção de mover-se.	Central e Temporal (córtex motor)
Ondas Fusiformes	12 a 14	Intersecção entre a faixa alfa e beta; estágio inicial do sono.	Frontal e parietal
Complexos K	0,5 a 3,5	Ondas delta de amplitude muito alta, com ápice pontiagudo; sono leve.	Frontal

Tabela 4. 1 - Ondas cerebrais.

Comumente se trabalha com apenas quatro destas ondas, delta, teta, alfa e beta, que ocupam a faixa de frequência de 0,5 a 30 Hz (CARDOSO, 2005).

As ondas delta são ondas lentas, geralmente de grande amplitude. É um ritmo comum em crianças, recém nascidos e são encontradas durante o sono profundo em adultos.



Figura 4. 15 - Onda delta (adaptado de (URL 12)).

As ondas tetas também são comuns em crianças e são encontradas durante o período de sonolência e sono em adultos. Pode aparecer, na região frontal durante atividade mental. Quando assimétricas ou constantes, o ritmo teta pode sugerir disfunção em determinada área cerebral.

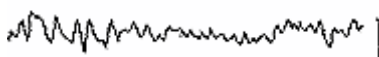


Figura 4. 16 - Onda teta (adaptado de (URL 12)).

As ondas alfa são predominantes na região posterior do cérebro, durante o repouso com olhos fechados. Este ritmo se estabelece por volta dos três anos de idade. A abertura dos olhos, influxo de luz e atividade mental são estímulos que bloqueiam ou pelo menos atenuam a atividade alfa.



Figura 4. 17 - Onda alfa (*adaptado de (URL 12)*).

E por fim, as ondas beta são encontradas em adultos no estado de vigília nas regiões anteriores do cérebro. Alguns medicamentos e o sono podem aumentar a frequência das ondas beta. As ondas beta apresentam amplitude e duração menores que as ondas alfa e elas ocorrem durante o estado de alerta e de alta concentração mental.

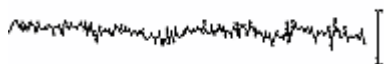


Figura 4. 18 - Onda beta (*adaptado de (URL 12)*).

Os eletroencefalógrafos digitais geram um relatório com os resultados do exame que podem ser visualizados num monitor de vídeo e armazenados em disco e permitindo pós-processamento e além da aquisição de grande quantidade de dados, detecção e análise de eventos importantes. A análise meramente qualitativa do sinal EEG é insuficiente para as diversas utilizações experimentais e clínicas que a neurofisiologia hoje em dia compreende e assim diversas técnicas de processamento de sinais são utilizadas para uma melhor compreensão do mesmo. Os dois tipos de processamento mais utilizados são: processamento no domínio temporal e processamento no domínio da frequência.

A análise do sinal de EEG no domínio do tempo considera a amplitude como um dos parâmetros mais relevantes e ela pode ser medida de várias maneiras, como por exemplo, amplitude de pico, amplitude pico a pico, amplitude média, valor RMS – raiz quadrática média.

A transformada de Fourier é uma ferramenta que decompõe um determinado sinal determinístico nas suas componentes frequenciais. Para que a transformada seja aplicada a

uma função, esta deve ser periódica, ou seja, possuir um padrão que se repete periodicamente. Entretanto, muitos sinais trabalhados na prática não são periódicos, contudo, estes sinais podem, muitas das vezes, serem considerados periódicos (ou estacionários) em curtos períodos de amostragem.

Partindo-se, então, dessa concepção, e definindo-se um sinal qualquer $x(t)$ no tempo, a função $X(f)$ é a transformada direta de Fourier de $x(t)$, e representa as amplitudes das várias componentes de frequência que constituem o sinal. Assim sendo, $X(f)$ é uma representação do grau de participação das componentes frequenciais da função $x(t)$ no domínio da frequência, conforme se pode observar na equação abaixo.

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t) e^{-j2\pi ft} dt \quad (4.1)$$

A representação no domínio do tempo da função $x(t)$ especifica um valor do sinal em cada instante de tempo t , enquanto que a representação no domínio da frequência da transformada de Fourier $X(f)$ especifica as amplitudes relativas das componentes de frequência do sinal. Qualquer uma das representações define univocamente a informação contida em $x(t)$, entretanto, a função $X(f)$ é, em geral, complexa, e necessita de dois gráficos para a sua representação gráfica. O espectro de amplitude $|X(f)|$ (lê-se “*módulo da transformada $X(f)$* ”) é uma função par de f , já o espectro de fase $\theta(f)$ é uma função ímpar de f .

A transformada de Fourier de $x(t)$ é uma função $X(f)$ cuja imagem está no conjunto dos *números complexos*, logo ela pode ser decomposta em suas partes *real* e *imaginária*, mas também pode ser escrita em sua forma polar. Tomaremos $X_r(f)$ e $X_i(f)$ como as partes real e imaginária de $X(f)$, respectivamente, e $j = \sqrt{-1}$. Escreveremos:

$$X(f) = X_r(f) + jX_i(f) = |X(f)| e^{j\theta(f)} \quad (4.2)$$

A amplitude da transformada de Fourier $X(f) = X_r(f) + jX_i(f)$ (ou espectro de amplitude do sinal $x(t)$) é definida como:

$$|X(f)| = \sqrt{X_r(f)^2 + X_i(f)^2} \quad (4.3)$$

O ângulo de fase da transformada de Fourier $X(f) = X_r(f) + jX_i(f)$ (ou espectro de fase do sinal $x(t)$) é definido por:

$$\theta(x) = \arctan\left(\frac{X_i(f)}{X_r(f)}\right) \quad (4.4)$$

O espectro de potência do sinal $x(t)$ é definido como:

$$P(f) = |X(f)|^2 = X_r(f)^2 + X_i(f)^2 \quad (4.5)$$

Exemplo 4.1: A Figura 4.19 exibe o gráfico de uma onda triangular, gerada através da equação $f(t) = \arcsin(\sin(2\pi f t))$, onde f representa a frequência da onda e t refere-se ao tempo. Neste exemplo, o sinal foi amostrado à 200 Hz, no período de 1 segundo, o que significa que 200 amostras foram coletadas com frequência de 10 Hz. A figura exibe também o módulo e a fase da Transformada de Fourier Discreta do sinal. Analisando a fase, percebemos que há uma transição forte na frequência de 10 Hz, que é a frequência fundamental do sinal.

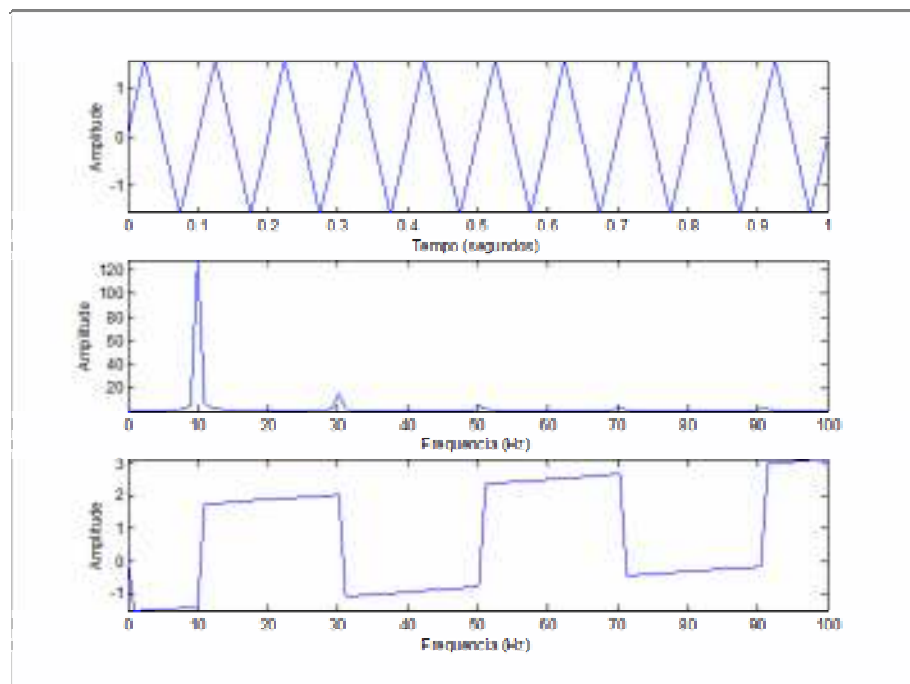


Figura 4. 19 - Onda com frequência de 10 Hz, módulo e fase da DFT.

No domínio da frequência, a análise do sinal de EEG pode oferecer outras informações que escapam à análise no domínio do tempo permitindo a análise da amplitude do sinal em cada faixa de frequência. A análise espectral do sinal EEG apresenta uma aproximação para este sinal como resultado de um cruzamento de infinitas componentes sinusoidais com frequências distintas. O método mais utilizado para esta análise é a FFT (Fast Fourier Transformer), que é um algoritmo que transforma uma sequência temporal numa representação espectral. A FFT calcula a autocorrelação da série temporal e a seguir a quantidade de energia por unidade de frequência do espectro (densidade espectral de potência).

As informações (frequentemente) exploradas no domínio da frequência são: potência e amplitude dos diferentes conjuntos (ondas delta, teta, etc); relações entre ondas; frequência média e análise de correção que mede o grau de similaridade entre dois sinais (coeficiente de correlação).

A análise do sinal EEG ainda pode ser feita no domínio tempo-frequência que fornece dados sobre a frequência relacionada ao tempo permitindo optar por um compromisso entre a resolução temporal e a resolução espectral. O método mais simples é a STFT (short time fourier transform) que é utilizada para observar uma pequena seção do sinal no tempo (separação do sinal em trechos). O tamanho da janela da STFT se mantém constante durante todo o tempo, e por isso o sinal só pode ser analisado com uma boa resolução no domínio do tempo ou uma boa resolução no domínio da frequência.

Outro método utilizado no domínio tempo-frequência, é a transformada de Wavelet que fornece uma boa resolução em ambos os domínios, pois a janela de análise não possui comprimento fixo (escalas).

4.5 Procedimentos e Normas para Coleta de Sinal EEG

Para uma boa coleta de sinal EEG é necessário alguns procedimentos básicos:

- ✓ O paciente deve estar sem brincos ou objetos de metal, com os cabelos limpos e secos. É necessário fazer uma limpeza no local onde o eletrodo irá ser fixado com um algodão umedecido em álcool.
- ✓ Os eletrodos devem ser fixados no couro cabeludo apenas com uma quantidade necessária de massa condutora, pois o excesso de massa pode conectar dois eletrodos vizinhos e assim comprometer a qualidade técnica do exame.
- ✓ Aplicar os eletrodos conforme o sistema internacional 10-20, ou de acordo com uma determinação específica.
- ✓ O local da coleta deve ser calmo, silencioso, sem luzes intensas. A temperatura deve ser ajustável, de forma que o paciente não sinta frio ou calor.
- ✓ Os eletrodos utilizados precisam apresentar impedâncias de contato iguais e constantes, não dever causar desconforto ao paciente.
- ✓ A impedância entre a pele e os eletrodos deve ser continuamente monitorada.
- ✓ É importante conhecer os fatos básicos sobre EEGs normais em crianças, adolescentes, adultos e idosos, e como são utilizadas técnicas especiais como hiperventilação, fotoestímulo, pontas evocadas e outras.

4.6 Estudo dos Sinais EEG em Pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia

Vamos agora fazer um estudo de sinais EEG coletados de 20 pacientes do Hospital de Clínicas de Uberlândia (HCU – UFU) com o objetivo de realizar uma análise clínica e uma análise quantitativa através das ferramentas matemáticas transformada de Fourier e densidade espectral de potência.

4.6.1 Metodologia

A coleta dos exames foi realizada pelas acadêmicas Luana M. Oliveira (Faculdade de Medicina) e Moara L. R. Lime (Faculdade de Enfermagem) em pacientes do HCU – UFU, no setor de EEG do hospital, sob orientação do Dr. Marcos Campos, e em concordância da direção geral do HCU – UFU. Estes pacientes foram abordados momentos antes da realização do exame. Enquanto estes aguardavam na sala de espera, foi explicada a finalidade do projeto, e solicitada a leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo III), após a assinatura do termo, foi aplicado um questionário aos pacientes (Anexo IV) objetivando obter mais informações a respeito dos mesmos, sendo úteis para a formulação dos laudos dos exames, pois com informações sobre medicamentos utilizados, idade, queixa do paciente, indicação médica pode-se ter maior certeza sobre a presença ou não de patologias.

Após o término do exame, copiou-se os traçados do EEG em CD-R. Em seguida, este foi salvo em uma sub-pasta denominada “001” que se encontra dentro da pasta “EMSA XP” (que se encontra no diretório C:). Para visualização do exame, clicar no ícone “EEG telas XP” (desktop), selecionar o exame desejado e clicar em “abrir”. Maiores detalhes a respeito do software utilizado serão discutidos nos parágrafos a seguir.

O amplificador que foi utilizado é o *BrainNet BNT-36*, fabricado pela Lynx Tecnologia Eletrônica LTDA, que é um equipamento para Eletroencefalografia Digital, cuja função é amplificar e converter o sinal elétrico gerado pelo córtex cerebral em sinal digital que será armazenado no computador, ou em discos. Ele possui entrada diferencial e rejeição de modo comum superior a 90 dB e emprega filtro passa-altas de 1ª Ordem ajustados em 0,1 Hz e os filtros passa-baixas de 2ª Ordem ajustados em 1000 Hz. O sinal é amostrado à uma taxa de 2400 amostras por segundo e cada canal pode ser filtrado em 0,1; 0,5; 1; 2; 5; 10 e 50 Hz no passa-altas digital e 20; 35; 70 e 100 Hz no passa-baixas digital. O sinal convertido é

decimado e enviado à porta de rede, à uma taxa opcional, dentre os seguintes valores: 600; 400; 300; 200; 150 ou 100 amostras por segundo.

O conversor A/D possui resolução de 16 bits, tempo de conversão igual a 10 μ s, por aproximação sucessiva e fluxo de dados gerenciado por micro controlador, tanto para aquisição de dados quanto para comunicação.

A Figura 4.20 mostra o painel de eletrodos do BrainNet BNT-36. Neste painel será conectados os eletrodos, será a entrada dos sinais analógicos. Ele apresenta 20 canais do tipo monopolares e as entradas 23 a 32 e 36 correspondem aos canais bipolares. Os canais 33 a 35 são para nível DC, ou seja, são para registro cujo potencial elétrico varie muito lentamente. Os canais Trig In e Trig Out são para um EEG em que se deseja utilizar um comando fotoestimulador e o canal REF pode ser usado como uma referência para montagem monopolares ou bipolares. Os leds, quando estão com a cor verde indicam que os eletrodos estão conectados corretamente e se eles apresentarem a cor amarela ou avermelhada significa que o canal não está fixado corretamente.



Figura 4. 20 - *Painel de eletrodos do BrainNet BNT-36..*

A menor amplitude de sinal fisiológico do paciente que este equipamento pode tratar e apresentar de forma confiável é de 2 μ V. Operação com sinais abaixo deste nível podem causar resultados com imprecisão.

Todo exame gerado pelo aparelho é armazenado em um único arquivo, onde o nome do paciente, data e hora fazem parte do nome deste. Tal recurso facilita a realização de salvamentos e a interpretação de exames através de uma rede de computadores.

O programa oferece também uma análise a partir da Transformada Rápida de Fourier (FFT), para gerar o mapeamento cerebral, além de mapas de Frequência, Histogramas, Análise de Espectro, entre outras opções, que são facilmente elaboradas. Conta com inúmeros recursos para analisar e diagnosticar diversos tipos de distúrbios do sono, e sinais de várias fontes: eletroencefalograma, eletrocardiograma, fluxo aéreo nasal e bucal, cintas de esforço respiratório, ronco, eletromiograma de queixo e tibial, entre outros sinais.

Os eletrodos são banhados a ouro e possuem fios longos leves e flexíveis, com medidas de 1,22 m e 2,44 m e pinos injetáveis.

O software utilizado foi o BRAINTECH, que é composto pelos programas *EEG Captações*, *EEG Cadrastos*, *EEG Telas*, *Editor de montagens* e *EEG Imagens*.

O programa *EEG Captações* é utilizado para a coleta do sinal, apresentando várias opções para a aquisição e gravação do sinal, como por exemplo, escolha da montagem, alteração da velocidade, calibração dos canais dentre outras.

O *EEG Telas* é utilizado para visualização e análise de traçados catados no *EEG Captações*. O usuário poderá escolher o exame de algum paciente para uma melhor análise do mesmo. No *EEG Telas*, o usuário também poderá fazer uma redução do exame, onde se deseja armazenar apenas trechos selecionados ocupando assim, menos espaço na memória do computador. Pode-se também fazer a impressão do exame fazendo a inspeção das telas que foram enviadas para impressão de modo a ter certeza do que vai ser impresso.

O *EEG Imagens* possui uma série de recursos que facilitam a criação e a edição de telas, que poderão ser exibidas posteriormente no *EEG Telas*. O *EEG Cadrastos* destina-se à manutenção, inclusão, controle e acesso a todos os cadastros de pacientes.

Sob coordenação do Dr. Marcos Campos (HCU – UFU), foi realizada uma análise do conjunto de EEG's, cujos resultados serão apresentados a seguir.

A Tabela 4.2 traça um perfil de algumas características dos pacientes analisados.

Paciente	Sexo	Idade	Escolaridade	Motivo do exame	Queixa	Medicações em uso	Co-morbidades
1	F					Ácido valpróico	
2	M	11	1º grau incompleto	A esclarecer	Cefaléia, falta de concentração	_____	_____
3	F	45	2º grau completo	A esclarecer	Tontura	Diazepan	Fibromialgia crônica
4	M	7	1º grau incompleto	A esclarecer	2 crises convulsivas	Tegretol 5ml	_____
5	M	44		Paciente preenchendo os critérios clínicos para morte encefálica no momento da realização do EEG.	_____	Noradrenalina	_____
6	M	8 meses		Acompanhamento	Anoxia perinatal + crise epiléptica	Tegretol	Asfixia perinatal grave
7	M	13	1º grau incompleto	A esclarecer	Falta de concentração	_____	_____
8	M	22			Surto psicótico	_____	- Crises convulsivas de repetição- início focal com generalização secundária - Abstinência alcoólica.
9	M	34			Surto psicótico a esclarecer	_____	- Paciente sem história de epilepsia. - Internado na psiquiatria para tratamento de surto psicótico inédito.
10	M	32		Crises convulsivas de repetição	Crises convulsivas	Tegretol 200 mg Diazepan 10 mg Carbamazepina 200	Portador do vírus HIV Usuário de álcool e outras drogas

						mg	
11	M	6 meses		Espasmos recorrentes, paralisia cerebral	Crise de “susto” Espasmo infantil	Fenobarbital 4mg/Kg/di	Hidrocefalia
12	M	39		Controle	Epilepsia de controle	Fenobarbital 200 mg Carbamazepina 500 mg	_____
13	M	4		Crises convulsivas de repetição a esclarecer	Crises convulsivas de repetição		Deficiência múltipla sulfatases, leucodistrofia metacromática.
14	M	60	1º grau completo	A esclarecer	Cefaléia	Fluoxetina	Doenças renais fibromialgia
15	M	39		Apresenta crises convulsivas de repetição, de início focal.	portador de epilepsia há 20anos	Tegretol	Leucemia mielóide crônica em fase blástica.
16	F	44	1º grau completo	Cefaléia a esclarecer	Perda de memória e depressão	Fluoxetina	_____
17	M	8	1º grau incompleto	Acompanhamento	Crise	_____	Diabetes insipidus
18	M	3	_____	A esclarecer	Afasia	Carbamazepina 300 mg	_____
19	F	7	1º grau incompleto	Crises de ausência	Crises de ausência	_____	_____
20	F	11	1º grau incompleto	Acompanhamento	Episódios de desmaio	Depakine 250 mg	_____
21	F	7	1º grau incompleto	Crise de ausência atípica	Episódios de automatismo	Depakine 250 mg	_____

Tabela 4. 2 - Síntese do perfil dos pacientes.

A Tabela 4.3 sintetiza os laudos realizados e apresenta algumas observações notadas durante o exame.

Paciente	Exame	Prontuário	Laudo	Observações
1	0254901	424576	normal	- Ondas delta entremeadas por ondas beta; - Após 3 segundos de exame presença de artefato em Fz.
2	0274101	745931	normal	- Onda teta evidente na hiperpnéia; - Artefatos em Fz e Pz .
3	0274001	149671	normal	- Atividade muscular (02:00 minutos de exame); - Mastigação (atividade muscular) mais evidente em T3/T4; - Supressão do ritmo alfa e predomínio de beta – característico de ansiedade (EEG normal).
4	0256201	1107595	normal	_____
5	0270201	68709	acentuada depressão da atividade cortical	- Interferência de ECG após 5 segundos de exame, em montagem referencial (O2/Fz/Cz); - Aanalisar o EEG com amplitude 2µV para suspeita de morte encefálica; - Montagem referencial – ritmo de baixa voltagem (evidente em T4/T6).
6	0265401	1101111	normal	- Não há ondas alfa no exame (normal para a idade – 5 meses); - Presença de delta difuso/teta difuso; - Após 02:46 minutos de exame – aparecimento de ondas de sono; - Após 04:00 – 04:05 minutos de exame – complexo K.
7	0273301	681649	normal	_____
8	0270501	_____	normal	Após 05:40 minutos de exame – substituição de alfa por teta.
9	0270401	_____	Discreto alentecimento de atividade de base	- Alfa lento (5 segundos de exame) – frequência de 7,3 Hz; - Após 05:57 minutos de exame – substituição de alfa por teta.
10	0270301	234241	Discreto alentecimento de atividade de base	- Visualização do exame em montagem referencial (com orelha); - Artefato muscular no início do exame;

				• Abertura ocular (01:55 minutos de exame); • Alfa lento (medicação?).
11	0271901	1103930	Hipsarritmia ? Desorganização severa de atividade de base Atividade epilética temporal	• Após 5 segundos de exame – onda de sono; • Após 02:35 minutos de exame – fuso de sono “mal-formado”.
12	0274401	167517	descargas difusas de ondas de caráter irritativo	• Alfa lento no início do exame; • Após 01:15 minuto de exame (montagem referencial com orelha) – assimetria; • Após 03:40 minutos de exame – delta assimétrico (alentecimento à esquerda) visualizado em F7/T3/T5/F7.
13	0231601	10244622	Desorganização severa de atividade de base. Atividade epilética temporal E.	• Após 08:55 minutos de exame – onda aguda do vértex; • Após 11:15 minutos de exame – onda lenta; • Após 13:25 minutos de exame – presença de ponta, melhor visualizada em T3/T5.
14	0273901	8925	normal	• Alfa bem definido; • Atenuação da onda beta (04:14 – 04:23 minutos de exame); • Alfa é substituído por teta na hiperpnéia (04:46 – 04:55 minutos de exame), melhor observado em T5/O1.
15	0270601	0993630	Assimétrico/ondas agudas	• Nos primeiros 10 segundos de exame – alfa é substituído por teta (evidencia lentificação); • Após 01:15 minuto de exame – delta assimétrico no hemisfério esquerdo, enquanto que hemisfério direito não apresentou a mesma morfologia – evidência de alentecimento e assimetria; • Após 03:00 minutos de exame – assimetria; • Na hiperpnéia o traçado ficou mais lento que o esperado – evidência de patologia; • Onda delta patológica prevalece durante todo o exame.
16	0273401	1072251	normal	• Artefatos não técnicos em todo o traçado; • Paciente se movimentando muito; • Após 01:05 minuto de exame - alentecido em regiões posteriores.
17	3497	709885	Atividade epileptogênica temporal esquerda	• Presença de ponta-onda lenta em T3 (entre 30 e 40 segundos), em montagem Cz; • Presença de campo em F7, T3 e T5; • Foi analisada a tomografia do paciente

				para maiores esclarecimentos, sendo que esta foi laudada como normal, o paciente não apresenta nenhuma lesão temporal.
18	3479	1009666	normal	- Exame visualizado à uma amplitude de 300 μV mm; - Presença de ondas agudas do vértex em todos eletrodos em montagem CZ, no tempo de 05:15 a 05:25 e 05:25 a 05:35 minutos; - Presença de fusos de sono em todos eletrodos em montagem CZ, no tempo de 13:07 a 13:17. (amplitude de 225 μV mm); - Presença de complexo K em todos eletrodos em montagem CZ, no tempo de 11:54 a 12:04. (amplitude de 175 μV mm).
19	3692	999750	Atividade epileptiforme de predomínio anterior	- Exame visualizado à uma amplitude de 400 μV mm; - Complexos espícula-onda lenta visualizados nos tempos: 06:05 a 06:15 – 08:59-09:09, nos pares de eletrodos F3-C3; - Utilizada montagem bipolar.
20	3696	330477	Poliespícula seguidas de onda lenta evidenciando epilepsia mioclônica juvenil	- Exame visualizado à uma amplitude de 400 μV mm; Velocidade do papel de 30 mm/s - Utilizada montagem bipolar; - Poliespículas seguidas de onda lenta melhores visualizadas no tempo de 05:25 a 05:35 nos pares de eletrodos T3-O1 / F3-C3; - Exame evidenciando epilepsia mioclônica juvenil.
21	3897B	1122898	Ausência atípica	Exame ainda não analisado pelo Dr. Marcos

Tabela 4.3 – Síntese dos laudos realizados seguidos de algumas observações.

4.6.2 Resultados de Análise Clínica Espectral

Vamos agora mostrar uma análise clínica espectral para EEGs de alguns destes pacientes citados na tabela anterior. Inicialmente, apresenta-se uma análise feita pelo médico e em seguida uma análise feita por ferramentas matemáticas. Estes cálculos matemáticos foram feitos por mim, no Laboratório de Engenharia Biomédica (BioLab) via programas computacionais utilizando o software Matlab. Para gerar os gráficos de espectro de amplitude

e fase e densidade espectral de potência foi utilizado o programa *prog.m* executado no Matlab, cujo código fonte do programa se encontra no Anexo V.

Através da organização dos diversos exames resultantes da análise clínica, as tabelas logo abaixo apresentam as diversas morfologias disponibilizadas ao leitor para processamento computacional.

Laudo do exame	Montagem	Arquivo.PLG	Descrição
EEG normal	Padrão	254901	Paciente 1
EEG Normal	Padrão	0274101.PLG	Paciente 2
EEG Normal	Padrão	0274001.PLG	Paciente 3
EEG Normal	Padrão	0256201.PLG	Paciente 4
Acentuada depressão da atividade cortical.	Padrão	0270201.PLG	Paciente 5
EEG Normal	Padrão	0265401.PLG	Paciente 6
EEG Normal	Padrão	0273301.PLG	Paciente 7
EEG Normal	Padrão	0270501.PLG	Paciente 8
Discreto alentecimento de atividade de base	Padrão	0271901.PLG	Paciente 9
Discreto alentecimento de atividade de base	Padrão	0270301.PLG	Paciente 10
Hipsarritmia; Atividade epilética temporal.	Padrão	0271901.PLG	Paciente 11
Presença de freqüentes descargas difusas .	Padrão	0274401.PLG	Paciente 12
Atividade epilética temporal, com bissincronismo secundário.	Padrão	0231601.PLG	Paciente 13
EEG Normal	Padrão	0273901.PLG	Paciente 14
Assimétrico/ondas agudas	Padrão	0270601.PLG	Paciente 15
EEG Normal	Padrão	0273401.PLG	Paciente 16
Atividade epileptogênica temporal esquerda	Padrão	0261801.PLG	Paciente 17
EEG Normal	Padrão	0349701.PLG	Paciente 18
Apresenta complexos espícula-onda lenta 3Hz	Padrão	0369201.PLG	Paciente 19
Evidenciando epilepsia mioclônica juvenil	Padrão	0369601.PLG	Paciente 20

Tabela 4. 4 – Morfologias e Arquivos.

Acontecimento	Paciente	Canal(ais) Referência-Rf	Tempo	Arquivos.mat
Ritmo Alfa - Normal	14	P3-O1 / Pz-Oz	05:06 a 05:07	Ritmo_Alfa.mat
Ritmo Alfa - Rolândica	14	Referência Cz - [O1-O2]	05:06 a 05:07	Ritmo_Alfa_Rolândica.mat
Ritmo Beta - Normal	14	Fp1 / Fp2	05:06 a 05:07	Ritmo_Beta.mat
Ritmo Teta	14	T5 / O1	05:20 a 05:21	Ritmo_Teta.mat
Ritmo Delta	6	Referência Cz - [F3]	04:43 a 04:46	Ritmo_Delta.mat
Onda Aguda do Vértex	18	Referência Cz - [P3-O1-P4]	05:25 a 05:35	Onda_aguda_do_Vertex_Cz.mat
Onda Aguda do Vértex	18	Fp2-F4-C4-P4-O2-Fz-Cz-Pz	10:47 a 10:52	Onda_aguda_do_Vertex_Rf.mat
Fuso de Sono	18	Referência Cz - [Fz-C3-P3-O1-F8-C4-P4-O2]	13:07 a 13:17	-----
Complexo K	18	Referência Cz -	11:54 a 12:04	-----
Artefato Muscular	3	Referência Cz - [F7-F8-T3-T4]	07:18 a 07:22	-----
Movimento Ocular	14	Referência Cz - [Fp1-Fp2]	02:16 a 02:20	Movimento_Ocular.mat
Artefato ECG	5	F8-T4 / Pz	00:21 a 00:24	Artefato_ECG.mat
Artefato de Sudorese	9	F3	04:13 a 04:17	Artefato_Sudorese.mat
Reatividade Alfa	10	O1 / O2	01:55 a 02:05	Reatividade_Alfa.mat
Complexo Espícula Onda Lenta	17	F7-T3-T5	00:32 a 00:36	Complexo_espícula_Onda_lenta.mat
Assimetria	12	F7 até O1 / F8 até Fz. Exceto (Cz-Pz-Oz)	03:39 a 03:49	Assimetria.mat
Delta Fronto Temporal	12	F7	01:14 a 01:17	Delta_fronto_Temporal.mat
Ponta - Onda Lenta generalizada	19	Outra Referência	09:02 a 09:12	-----
Poliponta - Onda Lenta	20	Outra Referência	05:25 a 05:35	-----

Tabela 4. 5 – Detalhes das Morfologias Disponibilizadas.

Morfologias associadas a EEG normal

1 – Ritmo alfa – (arquivo alfa.mat)

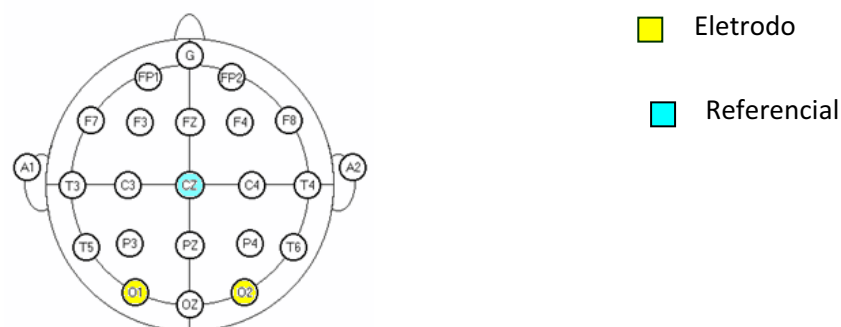


Figura 4. 21 – Montagem Eletrodos para visualização da onda alfa.



Figura 4. 22 – Ritmo alfa.

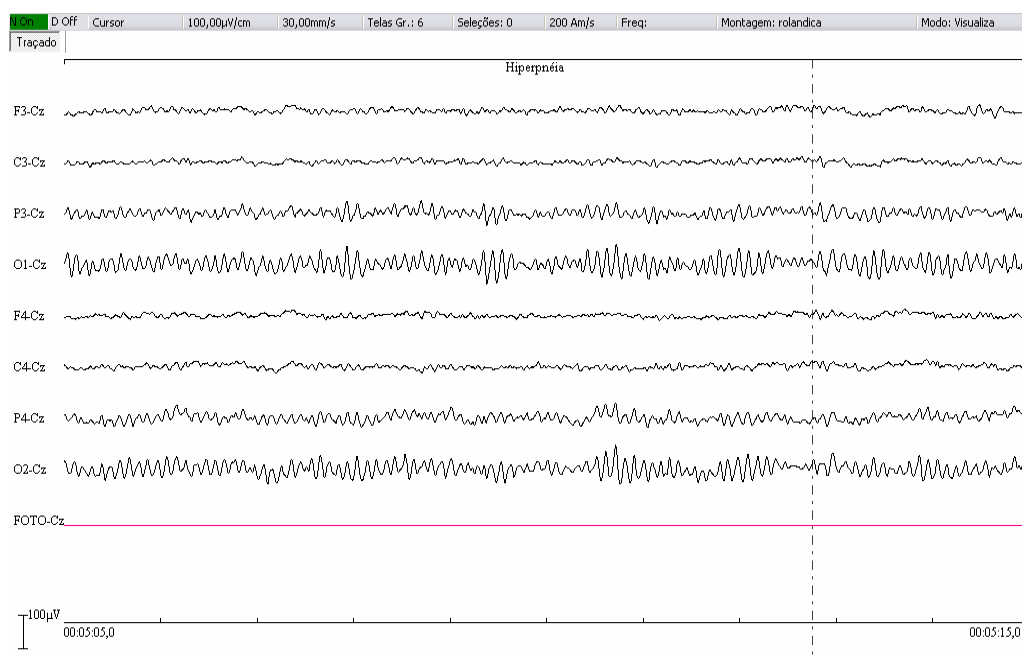


Figura 4. 23 – Ritmo alfa (montagem rolândica).

Estes traçados de EEG foram obtidos do Paciente 14, sexo feminino com 60 anos de idade, e queixando cefaléia intensa. A montagem dos eletrodos está de acordo com a Figura 4.21, montagem padrão para o registro de ondas alfa. O intervalo para análise foi de 05:05 a 05:15 minutos. Observa-se que o ritmo alfa foi melhor visualizado nos pares de eletrodos O1/Rf e O2/Rf, no tempo de 05:06 a 05:07 (Figura 4.22), com frequência de 11Hz.

Os gráficos apresentados na Figura 4.24, são respectivamente, espectro de amplitude e de fase para este sinal.

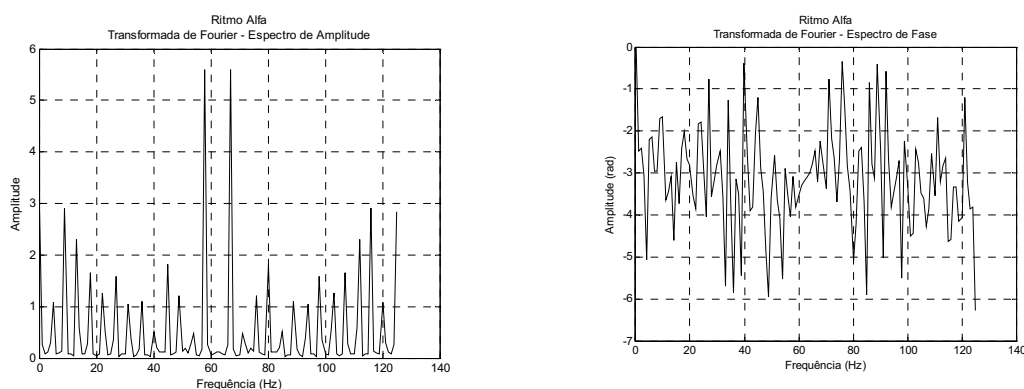


Figura 4. 24 – Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Alfa. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

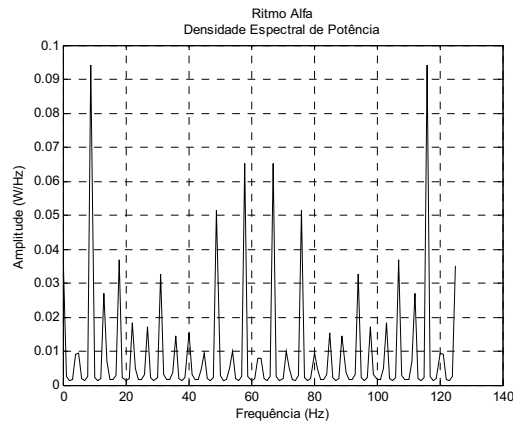


Figura 4. 25 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Alfa.

O espectro de amplitude do Ritmo alfa apresentou simetria par em torno de 65 Hz. As frequências que mais contribuem para o sinal são as frequências de 10 e 15 Hz, e como o sinal é simétrico, as frequências de 115 e 125 Hz também contribuem para o sinal. O nível DC do sinal apresentou amplitude igual a 2,8 μ V. Observando o gráfico do espectro de fase, podemos ver que este sinal está com um atraso de 180°.

A energia do sinal está concentrada em torno das frequências de 10 e 115 Hz (Figura 4.25).

2 – Ritmo beta (arquivo beta.mat)

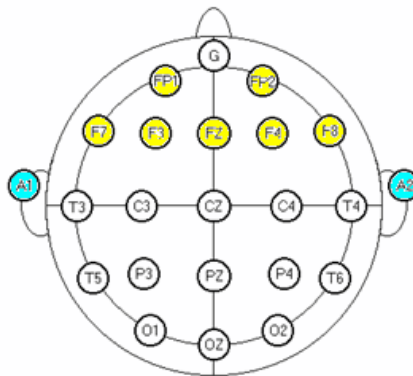


Figura 4. 26 – Montagem Eletrodos para visualização da onda beta.

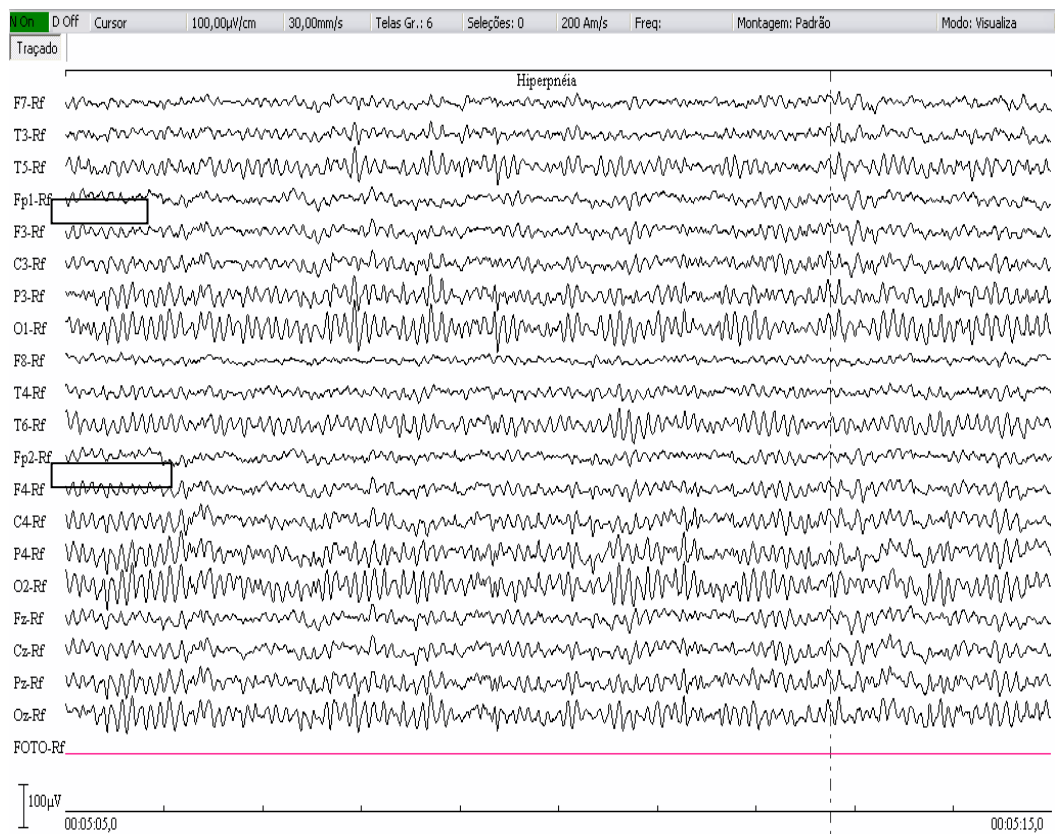


Figura 4. 27 – Ritmo beta.

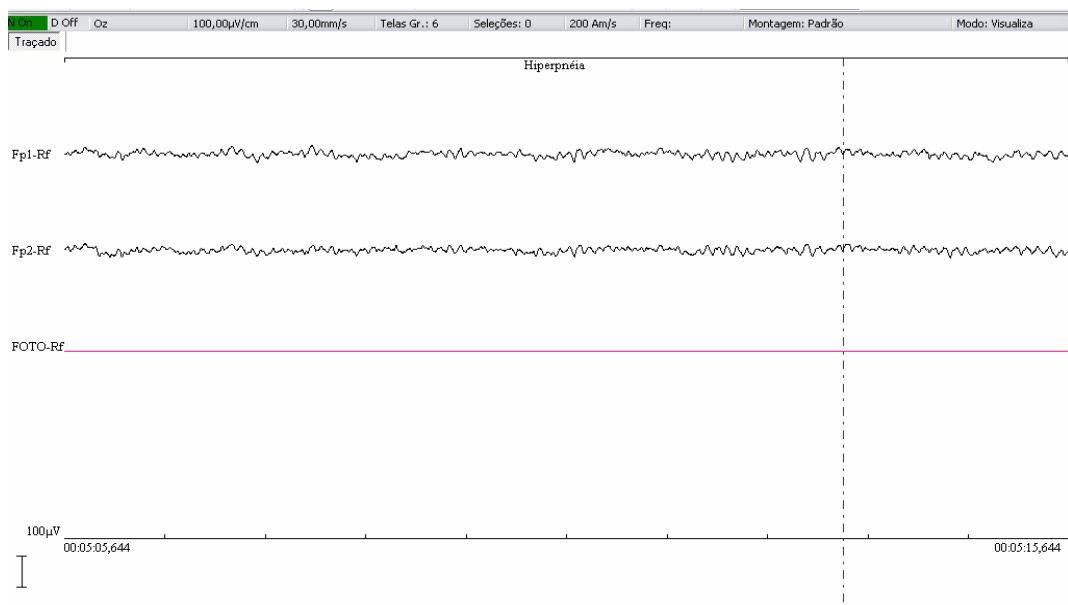


Figura 4. 28 – Ritmo beta (alguns canais).

Resultado obtido do mesmo paciente acima, Paciente 14, sendo a morfologia associada à EEG normal – Ritmo beta. O intervalo de tempo considerado para esta análise foi de 05:05 a 05:15 minutos. O ritmo beta foi melhor visualizado nos pares de eletrodos Fp1/Rf e Fp2/Rf, no tempo de 05:06 a 05:07, com frequência de 18 Hz.

A Figura 4.29 apresenta os gráficos de espectro de amplitude e fase para a transformada de Fourier, e na Figura 4.30 temos o gráfico da função densidade espectral de potência.

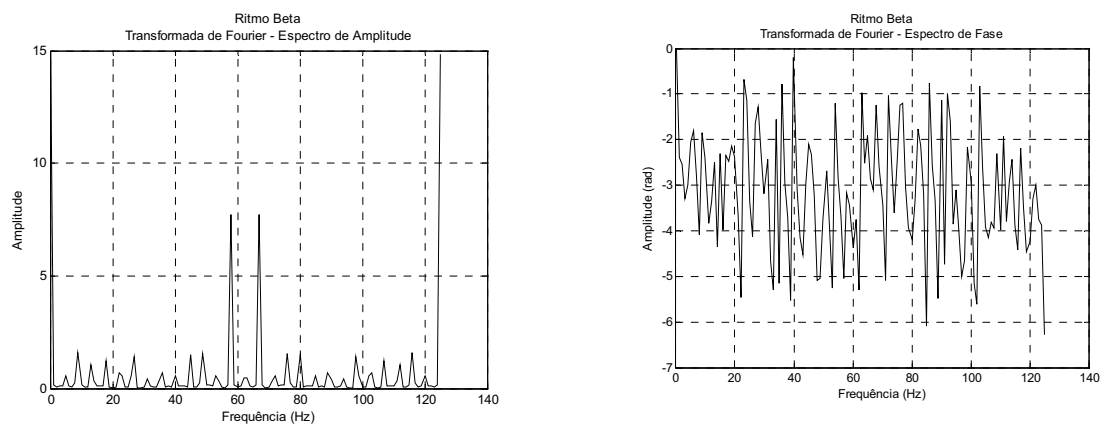


Figura 4. 29 – Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Beta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

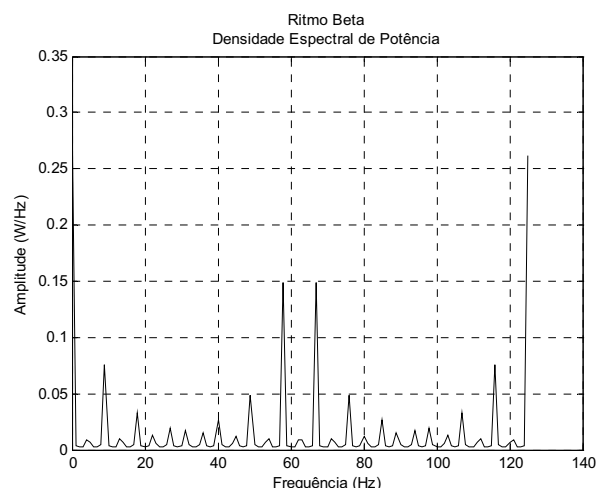


Figura 4. 30 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Beta.

O gráfico do espectro de amplitude do ritmo beta (Figura 4.29) apresentou simetria em torno de 60 Hz. O nível DC é muito significativo, amplitude igual a 15 μ V e a frequência que mais contribui para o sinal é a frequência de 125 Hz, sendo que as frequências de 58 e 68

Hz são bastante significativas. Pelo gráfico do espectro de fase pode-se dizer que o sinal apresentou um atraso de 180° .

A potência do sinal está concentrada na origem e nas frequências de 58, 68 e 125 Hz (Figura 4.30).

3 – Ritmo teta (arquivo teta.mat)

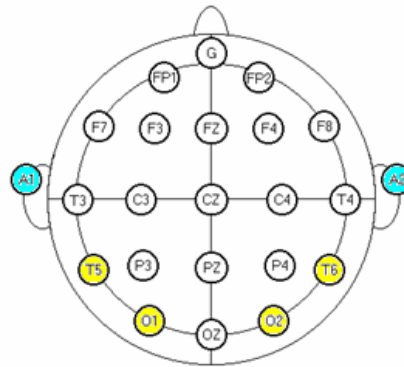


Figura 4. 31 – Montagem Eletrodos para visualização da onda teta.

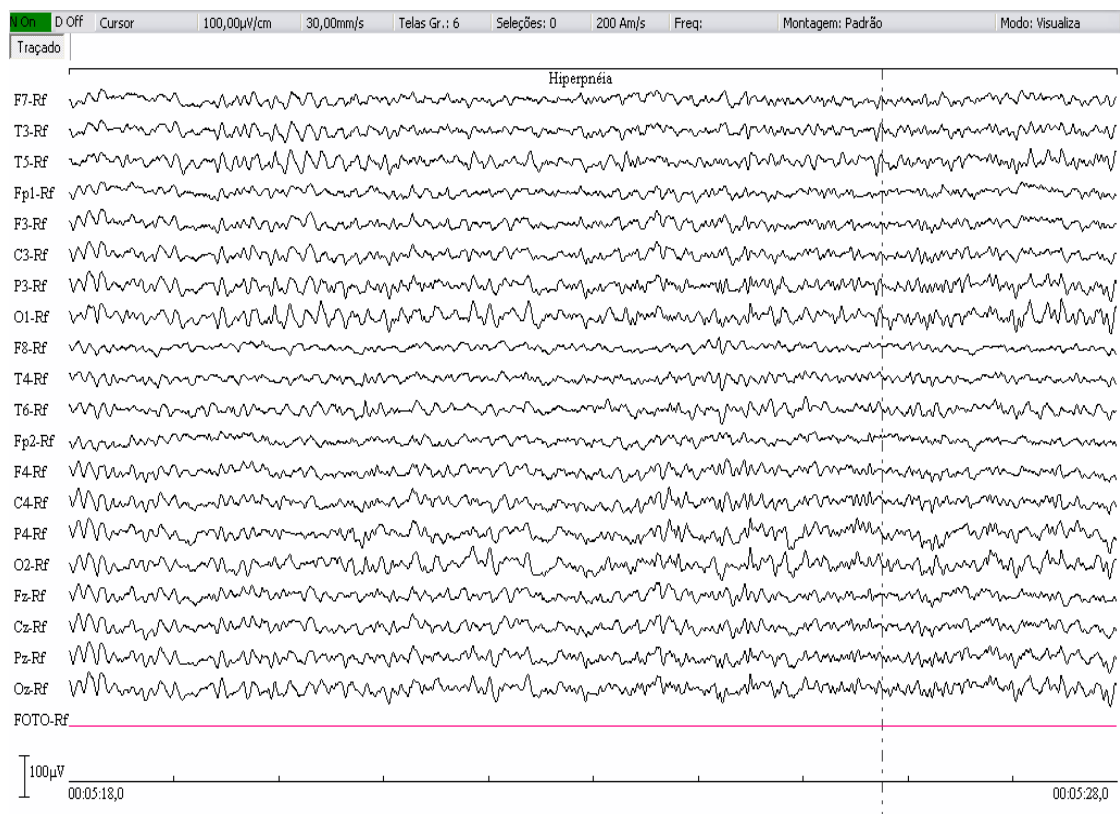


Figura 4. 32 – Ritmo Teta.

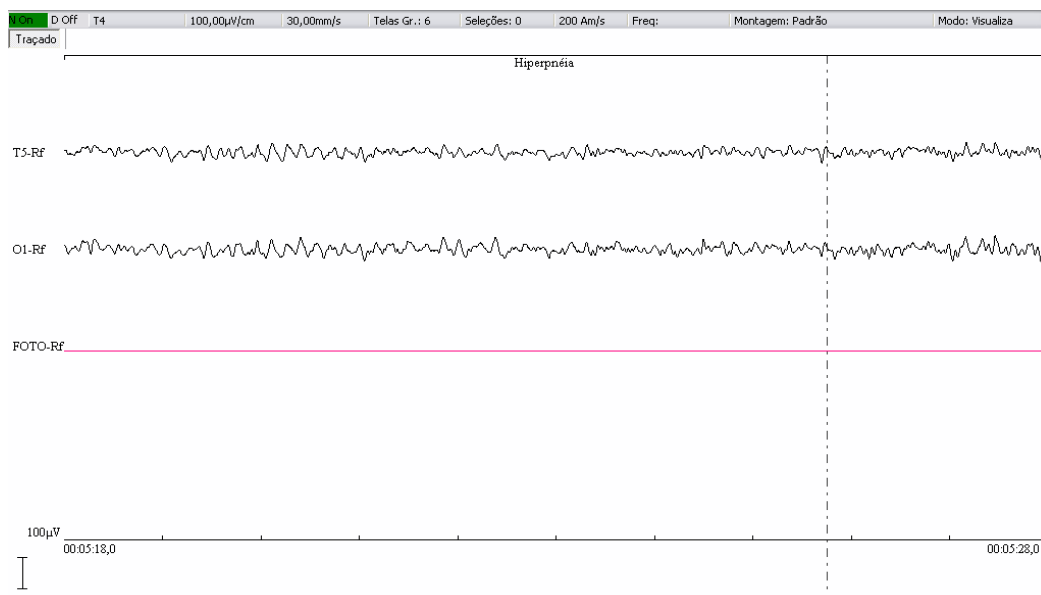


Figura 4. 33 – Ritmo Teta (alguns canais).

Exame associado ao mesmo paciente observando as ondas teta. O intervalo de tempo para análise neste caso foi de 05:18 a 05:28 minutos. O ritmo teta foi melhor visualizado nos pares de eletrodos T5/Rf e O1/Rf, no tempo de 05:20 a 05:21, com frequência de 6,5 Hz.

A atividade teta focal assimétrica constante pode representar disfunção em determinada região cerebral.

Analisando o espectro de amplitude e fase (Figura 4.34), e densidade espectral de potência (Figura 4.35).

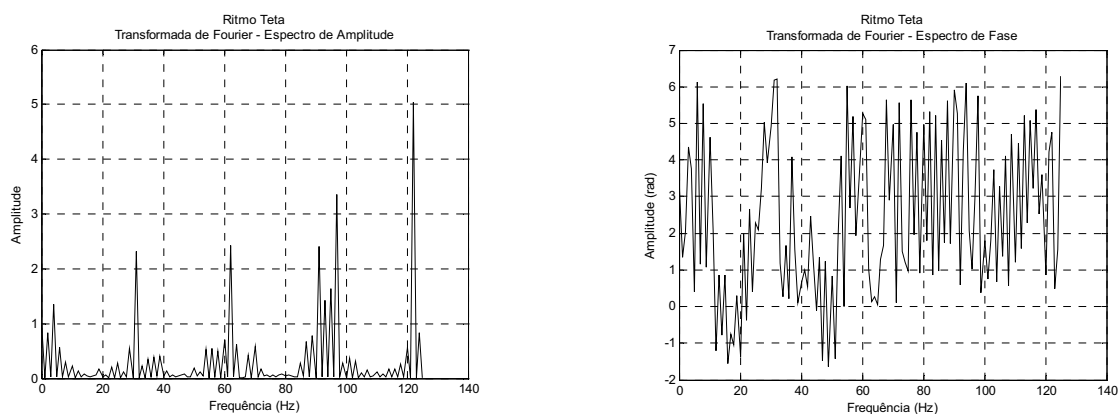


Figura 4. 34 – Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Teta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

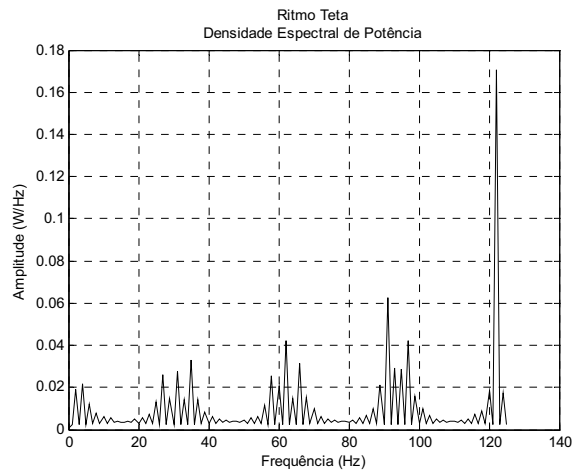


Figura 4. 35 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Teta.*

Para o ritmo teta, observa-se que o espectro de amplitude (Figura 4.34) não é simétrico, mas nota-se que as frequências de 32, 62, 98 e 122 Hz estão contribuindo para o sinal em ordem crescente referente às amplitudes. O nível DC do sinal tem amplitude igual a 1 μ V. Pelo gráfico do espectro de fase pode-se dizer que praticamente todo o sinal está com um atraso de 180°, com exceção para poucas frequências.

A Figura 4.35 nos mostra que a energia do sinal está concentrada em torno da frequência de 120 Hz.

4 – Ritmo delta

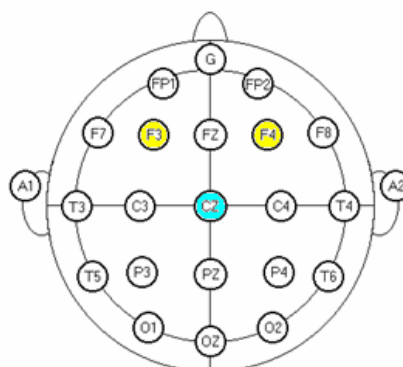


Figura 4. 36 – *Montagem Eletrodos para visualização da onda delta.*

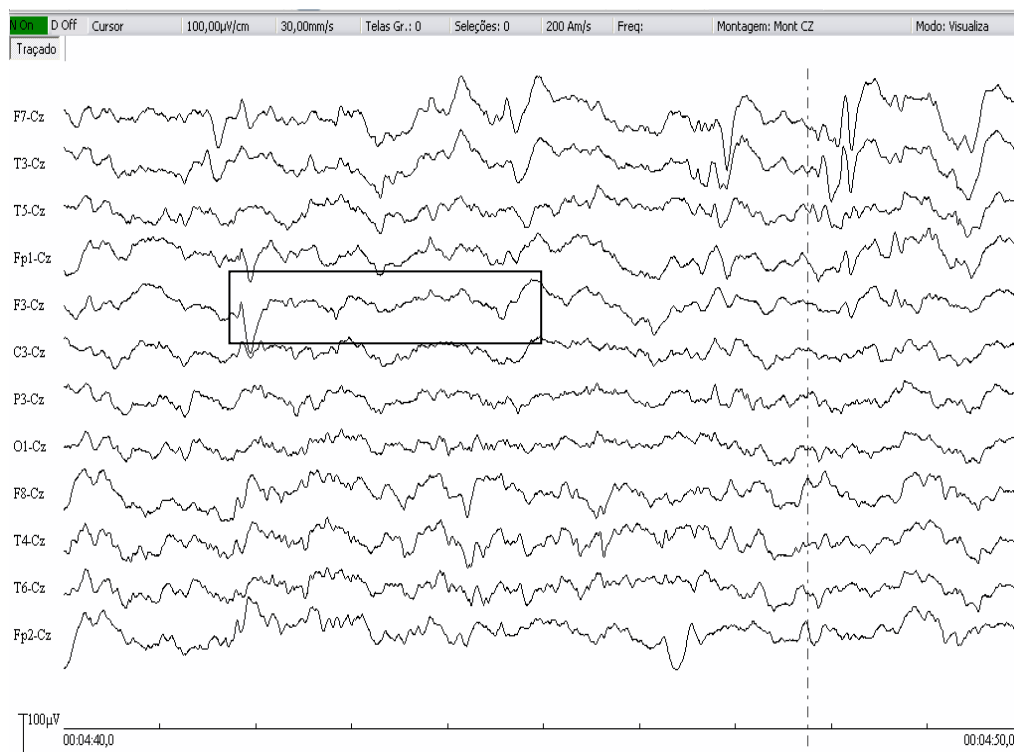


Figura 4. 37 – Ritmo Delta.

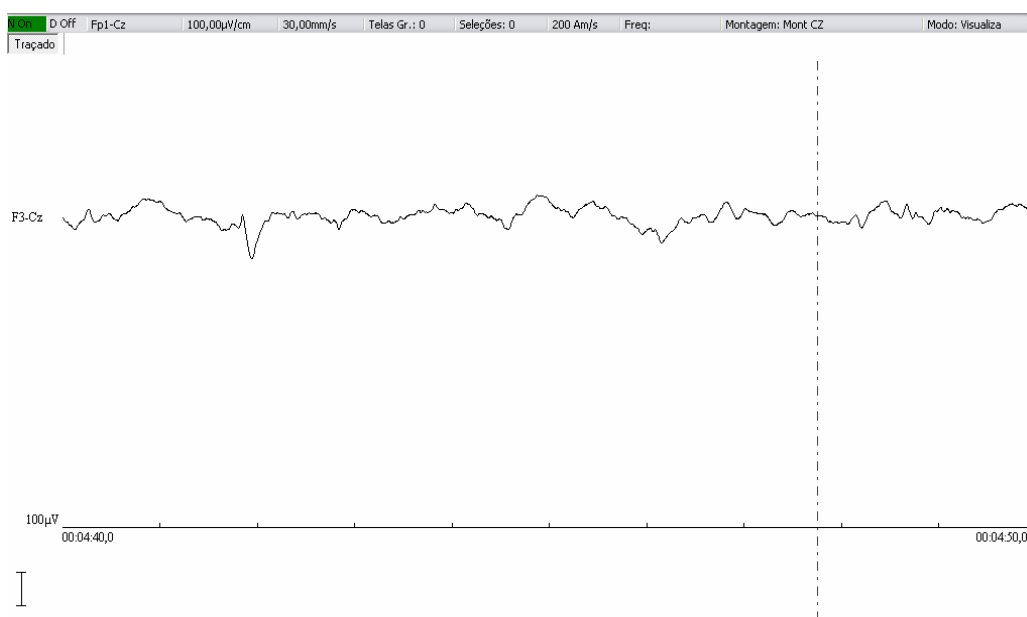


Figura 4. 38 – Ritmo Delta (alguns canais).

Este EEG representa o atividade cerebral registrada do Paciente 6, sexo masculino com 5 meses de idade. A montagem utilizada foi com referencial em Cz e o considerou o

intervalo de tempo de 04:40 a 04:50 minutos para análise deste sinal. O ritmo delta foi melhor visualizado no eletrodo F3/Cz no tempo de 04:43 a 04:46. Observou-se ondas delta entremeadas ondas beta.

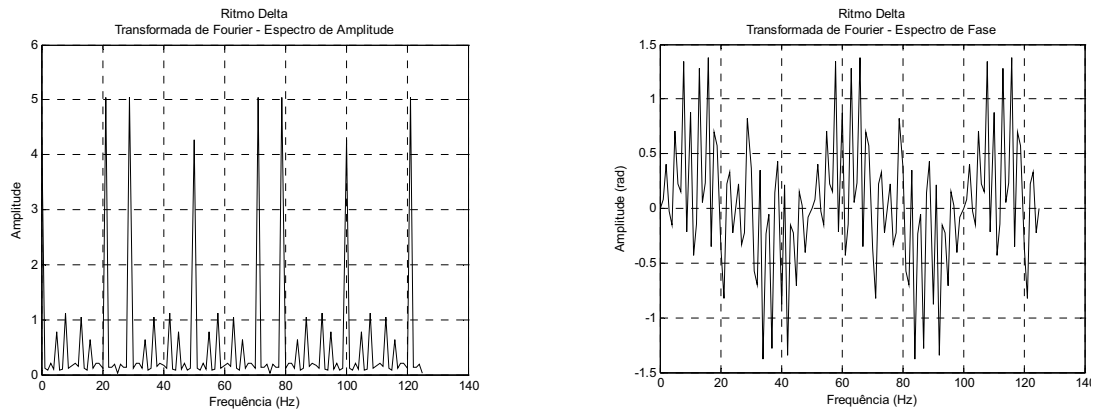


Figura 4. 39 – Gráfico da Transformada de Fourier do Ritmo Delta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

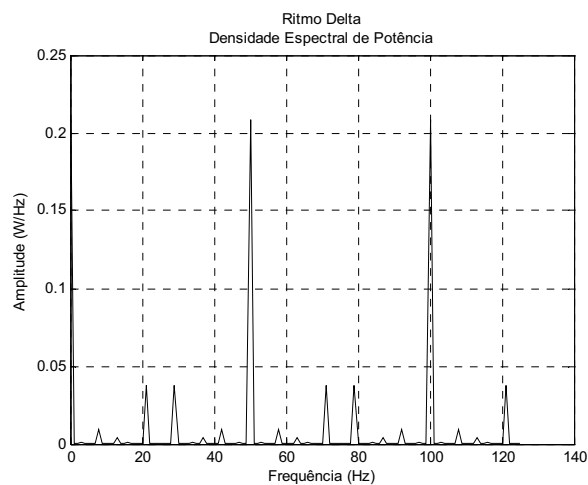


Figura 4. 40 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Ritmo Delta.

O espectro de amplitude do ritmo delta apresentou simetria dentro do intervalo de 0 a 50 Hz, sendo que as frequências que mais contribuem para o sinal são as frequências de 21 e 29 Hz. O nível DC tem amplitude igual a 4,2 μV . A fase deste sinal apresentou simetria ímpar.

A potência está concentrada na origem e nas frequências de 50 e 100 Hz (Figura 4.40).

5 – Onda aguda do vértex

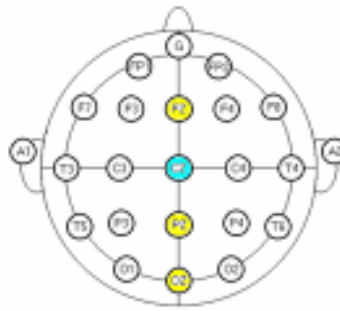


Figura 4. 41 – Montagem Eletrodos para visualização da onda aguda do vértex.

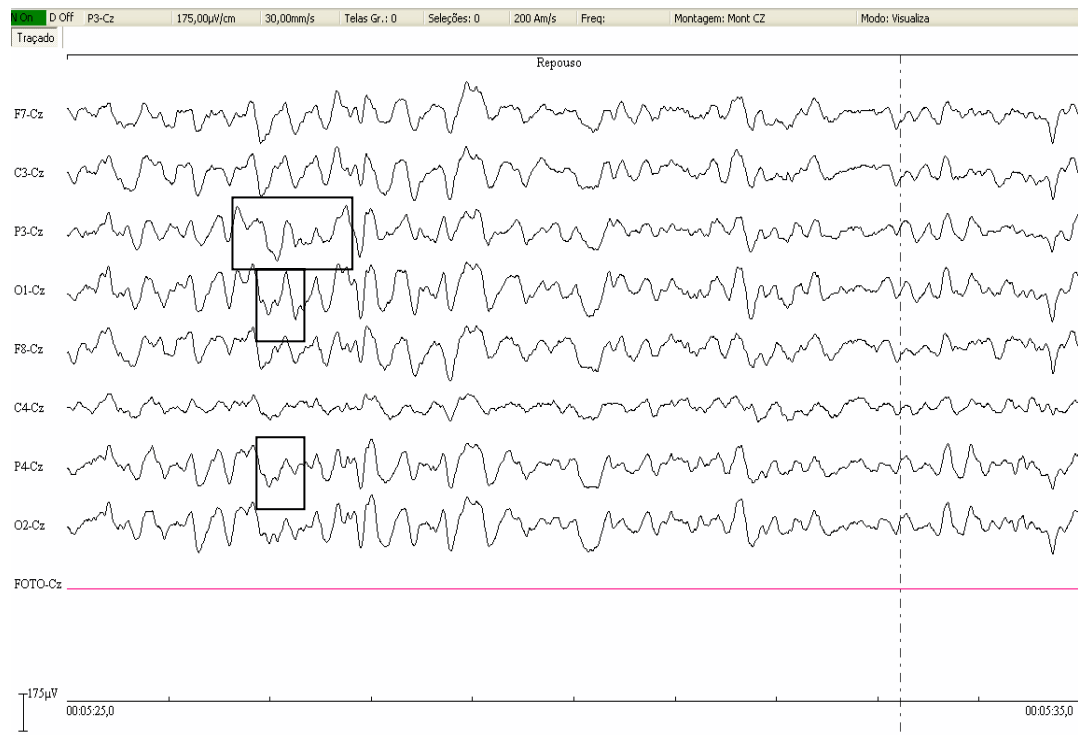


Figura 4. 42 – Onda aguda do vértex – Referencial Cz.

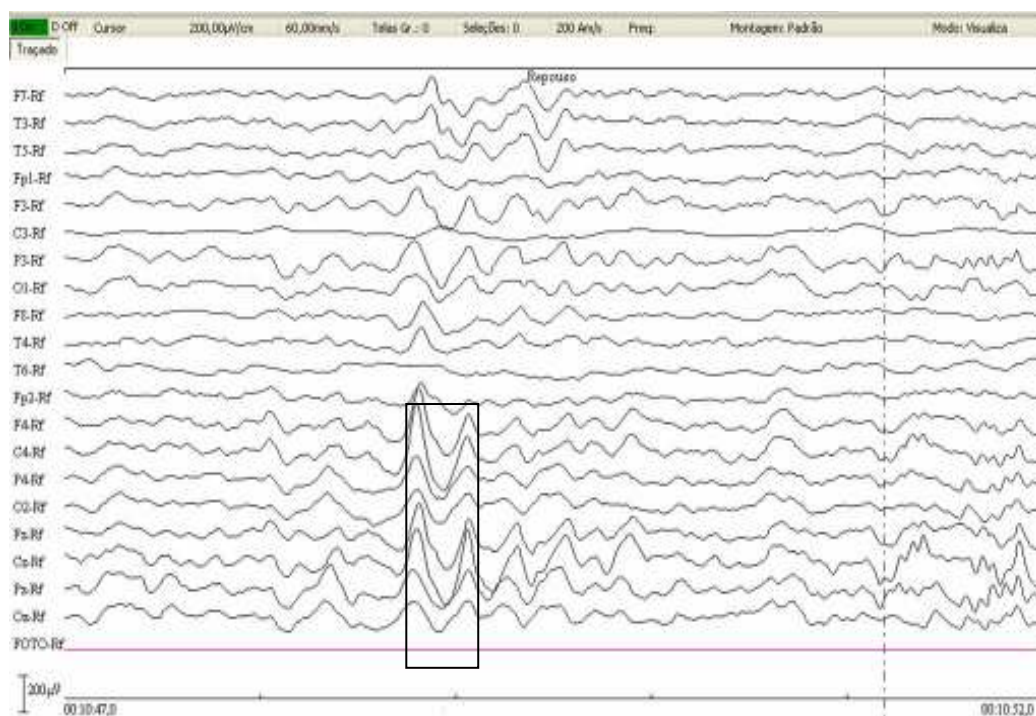


Figura 4. 43 – Onda aguda do vértex –Referencial Rf.

Traçado de EEG retirado do Paciente 18, sexo masculino, com 3 anos de idade. Morfologia associada à EEG normal (ritmo do sono) – Onda aguda do vértex. A configuração apresenta montagem com referencial em Cz (Figura 4.42) e Montagem com referencial em Rf (Figura 4.43). Considerou o intervalo de tempo de 05:25 a 05:35 minutos para o EEG com montagem referencial em Cz, e observou uma amplitude de 175 $\mu\text{V}/\text{cm}$. Notou-se também a presença de onda aguda do vértex visualizada em todos os eletrodos. O intervalo de tempo considerado para a análise do EEG com montagem referencial em Rf foi de 10:47 a 10:52 minutos e observou uma amplitude de 200 $\mu\text{V}/\text{cm}$.

As ondas agudas do vértex são observadas a partir do 5º mês, e sua amplitude aumenta com o passar do tempo, atingindo o máximo entre os 3 e 8 anos de idade, quando são relativamente mais agudizadas, de alta amplitude. Sua negatividade (amplitude negativa) máxima ocorre na região do vértex (Cz), podendo ser assimétrica.

As Figuras 4.44 e 4.45 apresentam, respectivamente, o gráfico de espectro de amplitude e fase, e o gráfico da densidade espectral de potência para o EEG com referência em Cz.

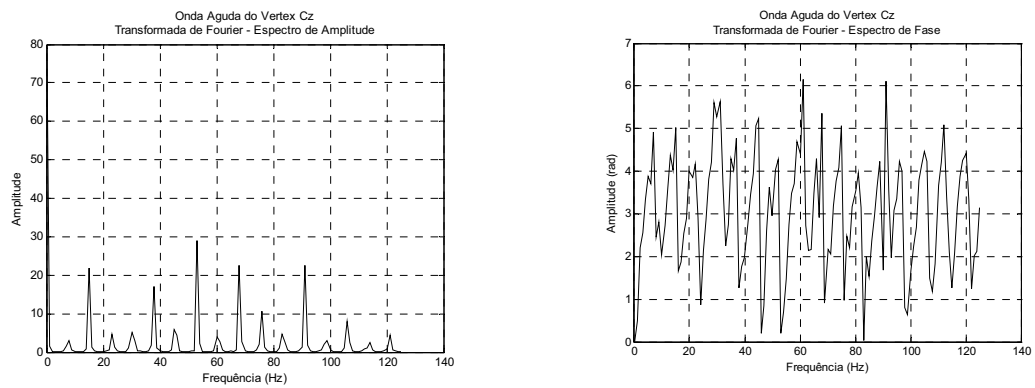


Figura 4. 44 - *Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Aguda do Vertex Cz. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

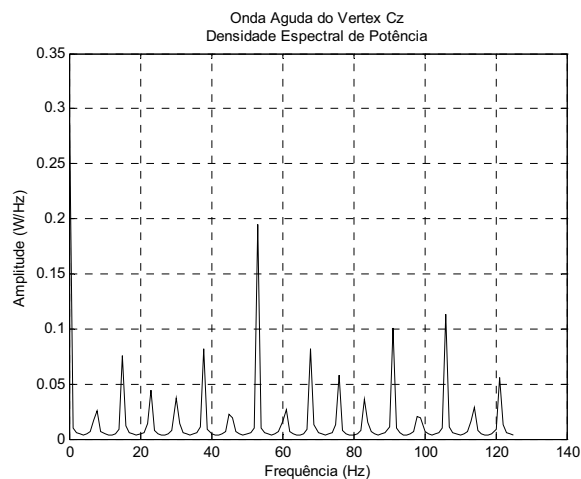


Figura 4. 45 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Aguda do Vertex Cz.*

Este sinal apresenta nível DC bastante significativo, com amplitude de 80 μV (Figura 4.44). O espectro de amplitude não apresentou simetria. E a frequência que mais contribui para o sinal é a frequência de 55 Hz, mas as frequências de 15, 68 e 92 também são bastante significativas para o sinal. O espectro de fase nos mostra que o sinal está em fase.

Em relação à potência do sinal, temos que ela está concentrada em torno da origem, apresentando uma energia significativa em 48 Hz.

As Figuras 4.46 e 4.47 apresentam, respectivamente, o gráfico de espectro de amplitude e fase, e o gráfico da densidade espectral de potência para o EEG com referência em Rf.

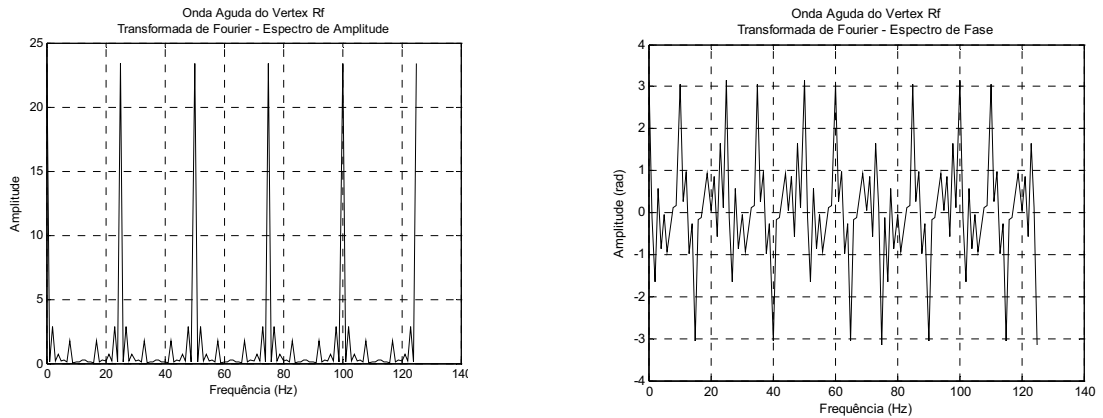


Figura 4. 46 - *Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Aguda do Vertex Rf. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

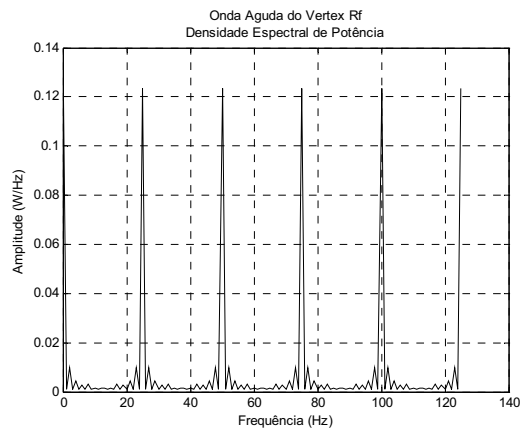


Figura 4. 47 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Aguda do Vertex Rf.*

Observando a Figura 4.46, notamos que o gráfico do espectro de amplitude apresenta simetria par em intervalos de 25 Hz. As frequências que mais contribuem para o sinal são as frequências de 25 Hz e as frequências múltiplas de 25 Hz. O nível DC do sinal apresenta amplitude igual a 23 μ V. A fase deste sinal apresenta simetria impar.

A energia do sinal também está concentrada nas frequências de 25 Hz e suas frequências múltiplas (Figura 4.47).

Analisando de uma forma geral o espectro de fase para estas morfologias normais, percebemos que tanto para o ritmo alfa e beta, cujas são ondas de maiores frequências, o espectro apresentou valores negativos para todas as frequências. Para a onda teta, cuja frequência varia de 4 a 7 Hz, o espectro apresentou valores positivos praticamente para todas as frequências do sinal. Já para a onda delta, que é uma onda mais lenta, temos que o espectro

apresentou certa periodicidade. Uma importante característica a ser observada é que o sinal para a morfologia onda aguda do vértex com referencial em Rf, apresentou ser uma onda lenta, e observando o espectro de fase, este apresentou de forma periódica, semelhante ao ocorrido com a onda delta.

Morfologias associadas a artefatos

1 - Movimento ocular (abertura e fechamento ocular)

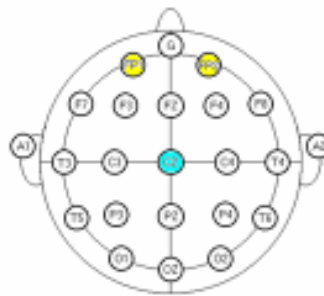


Figura 4. 48 - *Montagem Eletrodos para visualização do movimento ocular.*

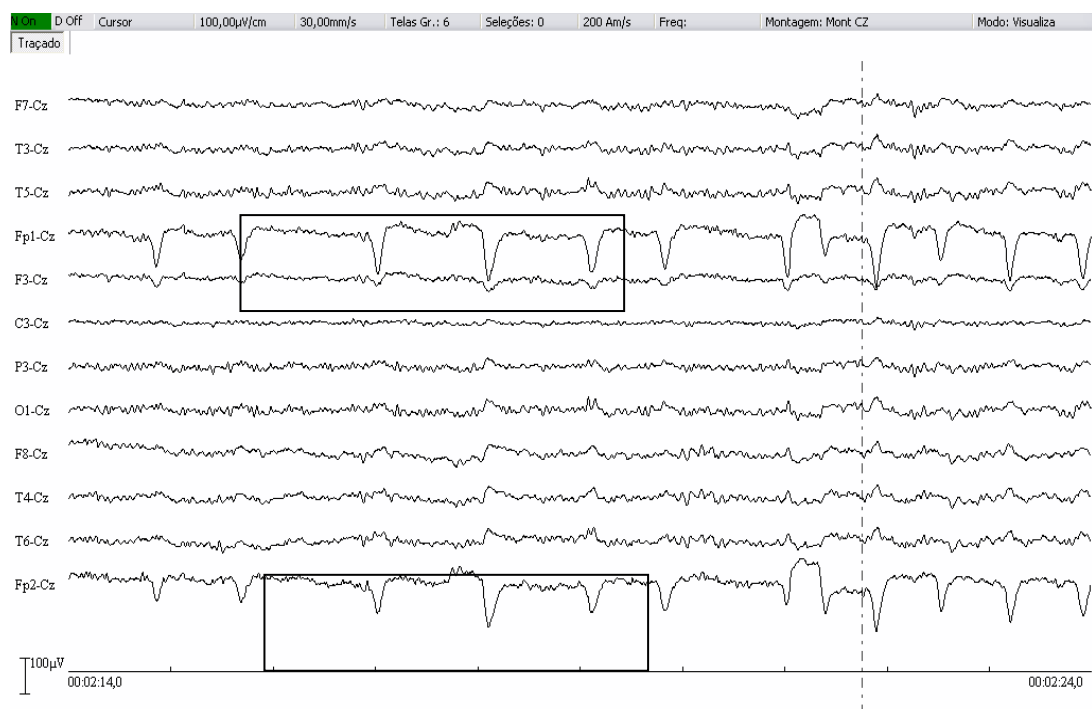


Figura 4. 49 - *Movimento ocular (abertura e fechamento ocular).*

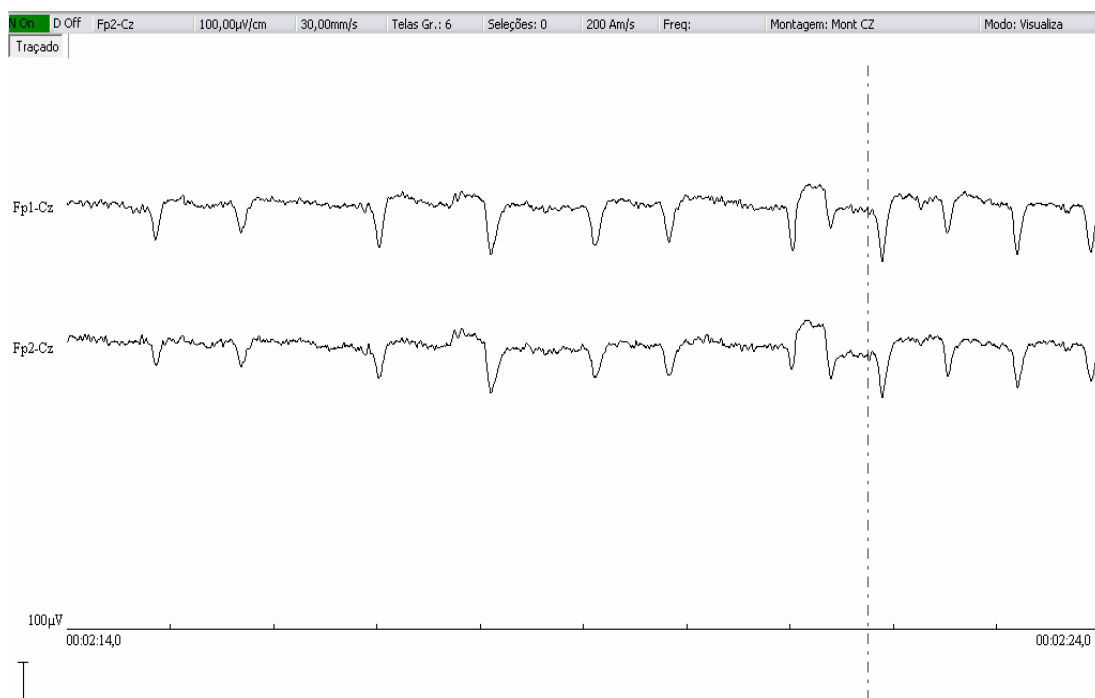


Figura 4. 50 - Movimento ocular (abertura e fechamento ocular – alguns canais).

Trata-se do exame do Paciente 14, sexo feminino, 60 anos, o qual queixa cefaléia de alta intensidade. A configuração do EEG é montagem com referencial em Cz e o intervalo de tempo considerado para análise é de 02:14 a 02:24 minutos. Ocorreu quatro aberturas e fechamentos oculares melhores visualizados nos pares de eletrodos Fp1/Cz e Fp2/Cz, no tempo de 02:16 a 02:20.

O artefato de movimento ocular (piscamento), como demonstrado na Figura 4.50, é gerado pelo fenômeno de Bell, que consiste no desvio do globo ocular para cima durante o ato de piscar. Dado que o olho pode ser considerado um dipolo, a córnea é associada ao pólo positivo. Logo, este desvio determina a captação da positividade da córnea pelos eletrodos Fp1 e Fp2, produzindo uma deflexão da pena para baixo nos canais contendo estes eletrodos.

Analisando espectro de amplitude e fase (Figura 4.51) e densidade espectral de potência (Figura 4.52).

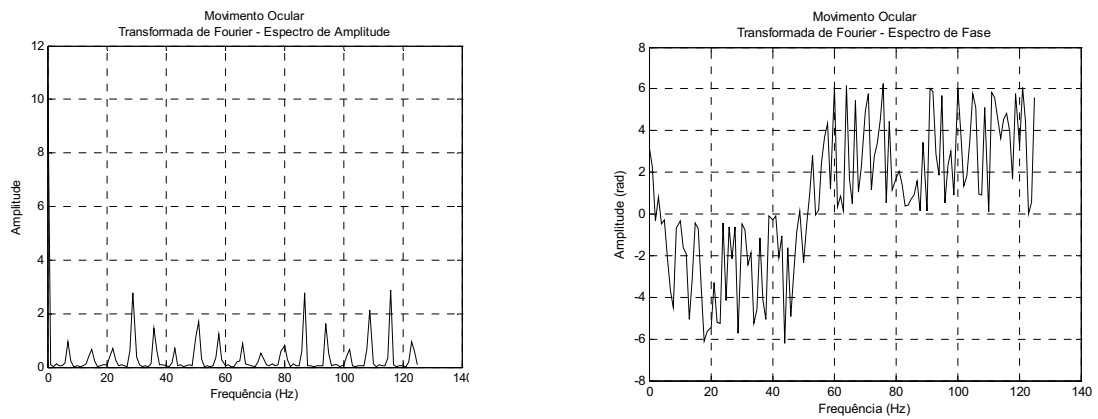


Figura 4. 51 - *Gráfico da Transformada de Fourier do Movimento Ocular. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

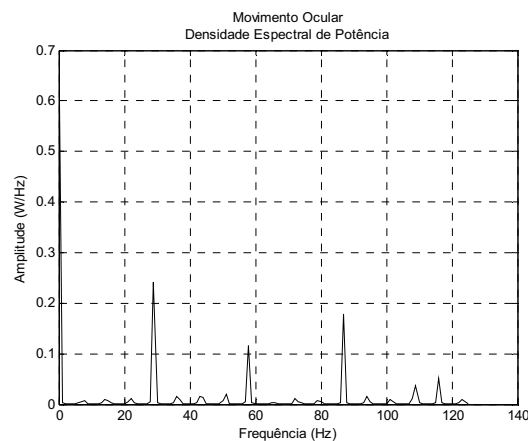


Figura 4. 52 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Movimento Ocular.*

Analisando a Figura 4.51, temos que o sinal apresenta um nível DC bastante significativo, com amplitude de 10 μV . O espectro da amplitude não apresentou nenhuma simetria, sendo que as frequências que mais estão contribuindo para o sinal são as frequências de 30, 90 e 110 Hz. Este sinal apresenta baixas frequências. O sinal está com um atraso de 180° até aproximadamente a frequência de 50 Hz.

A densidade espectral de potência (Figura 4.52) nos informa que o sinal apresenta energia máxima em 30, 60 e 90 Hz.

2 – Artefato de ECG (batimento cardíaco) – (arquivo ecg.mat)

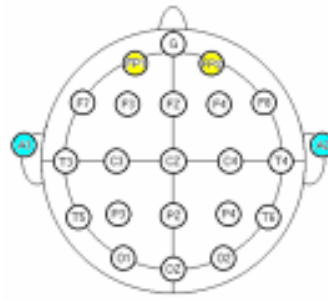


Figura 4. 53 - *Montagem Eletrodos para visualização do artefato de ECG.*

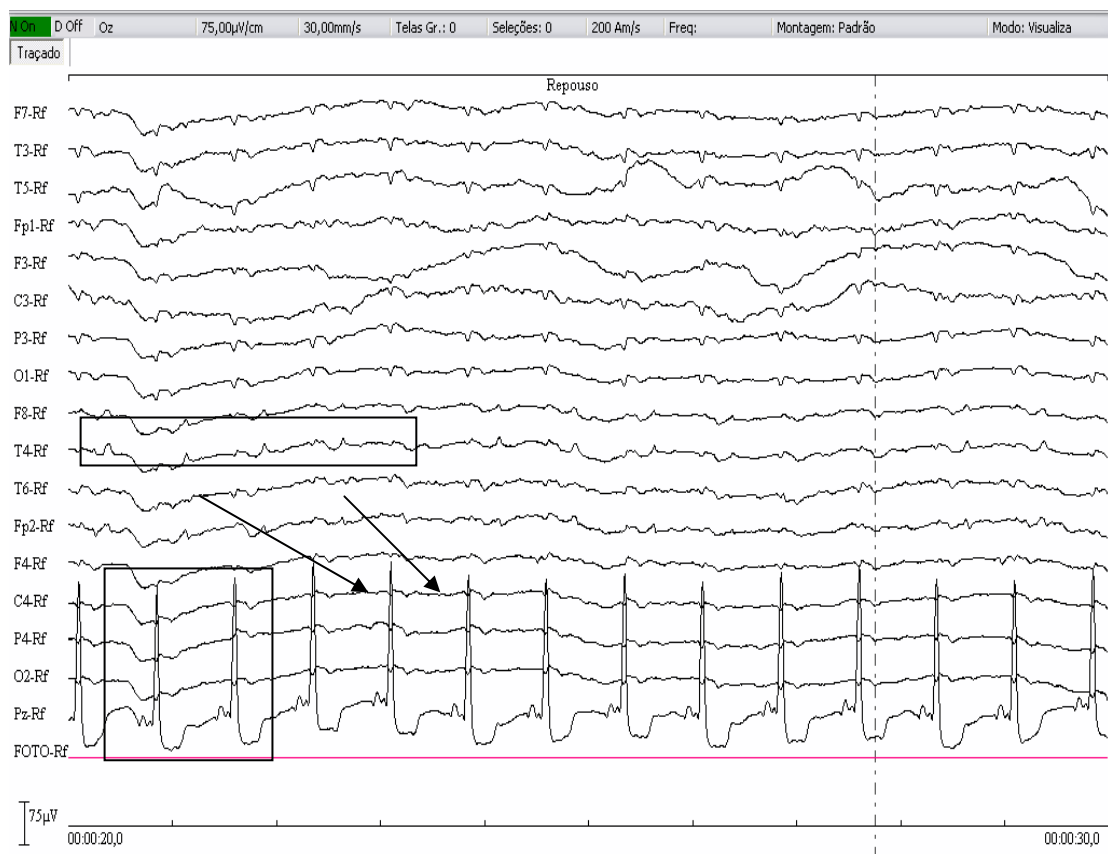


Figura 4. 54 - Artefato de ECG.

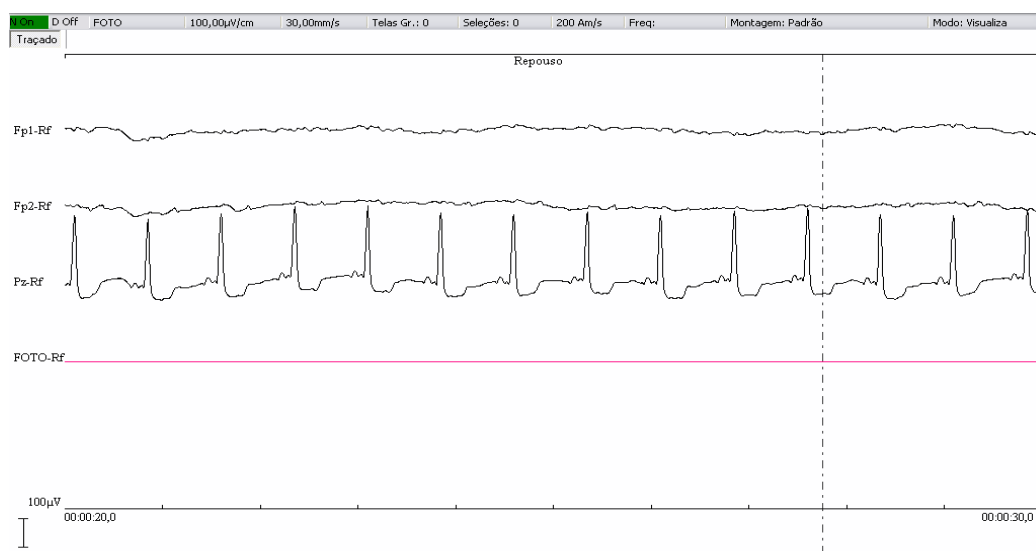


Figura 4.55 - Artefato de ECG.

EEG captado do Paciente 5 preenchendo os critérios clínicos para morte encefálica no momento da realização do EEG. Utilizou-se montagem padrão, com referenciais na orelha. Durante a seção foram retirados os eletrodos Fz, Cz e Oz. O intervalo de tempo para análise foi de 20 a 30 segundos. Observou-se artefato de ECG produzindo interferência, melhor visualizada nos pares de eletrodos Fp1/Rf e Fp2/Rf, nos tempos de 21 a 24 segundos.

Na Figuras 4.454 e 4.55, observa-se traçado característico de eletrocardiograma- ECG (contendo onda P e complexo QRS), captado pelo EEG. A atividade elétrica cardíaca pode ser registrada em qualquer parte do corpo, inclusive no escalpo. Os eletrodos mais afetados são os referenciais A1 e A2.

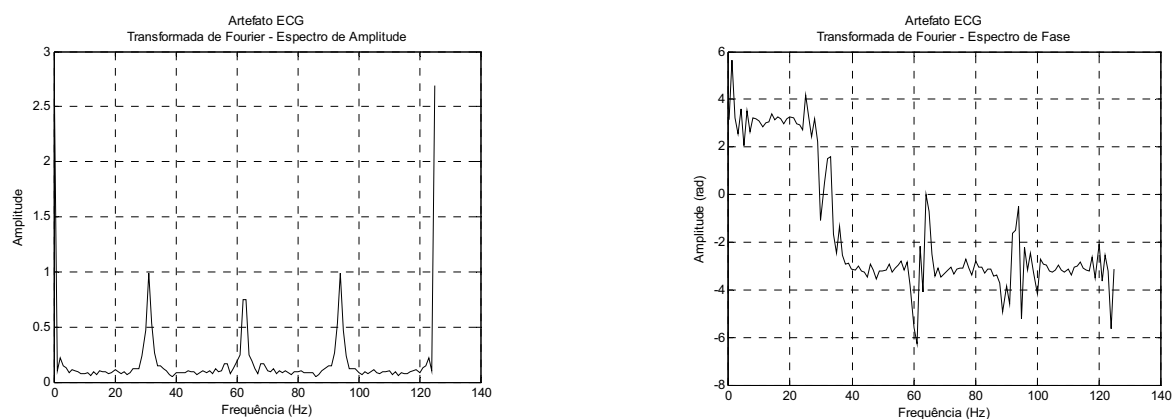


Figura 4.56 – Gráfico da Transformada de Fourier do Artefato ECG. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

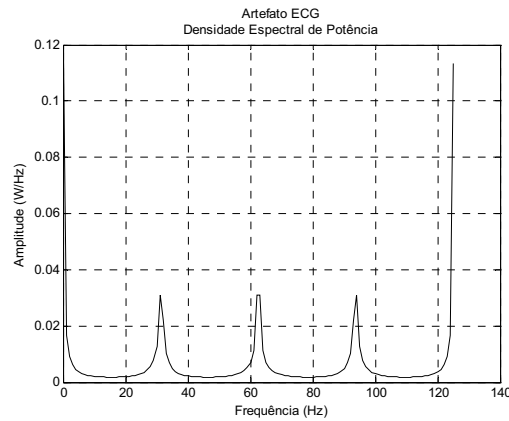
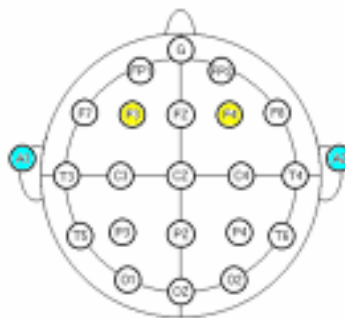


Figura 4. 57 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Artefato de ECG.

Observando a Figura 4.56 podemos notar que o espectro de amplitude apresentou simetria na metade. Sendo esta simetria, par. As harmônicas que mais contribuem para o sinal ficam em torno das frequências de 30, 60 e 90 Hz. O nível DC do sinal apresenta amplitude de aproximadamente 2,55 μ V. No gráfico da fase, podemos observar que o sinal está em fase até aproximadamente a 30ª harmônica, e em relação às outras harmônicas o sinal apresenta-se em fase de 180°.

A Figura 4.57 apresenta o gráfico da função densidade espectral de potência. Esta função fornece o quanto cada componente de frequência está contribuindo de energia para o sinal. Observamos que a energia do sinal está em torno das frequências 30, 60 e 90 Hz.

3 – Artefato de sudorese – (arquivo sudorese.mat)



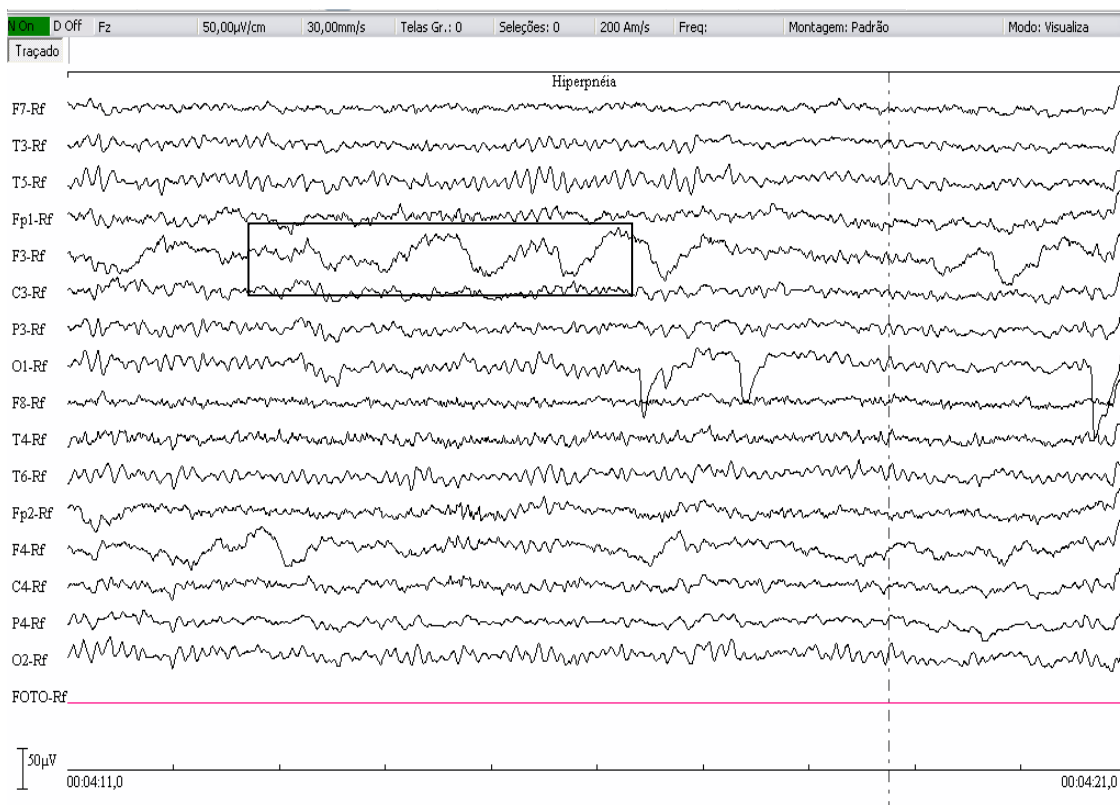


Figura 4. 59 - Artefato de sudorese.

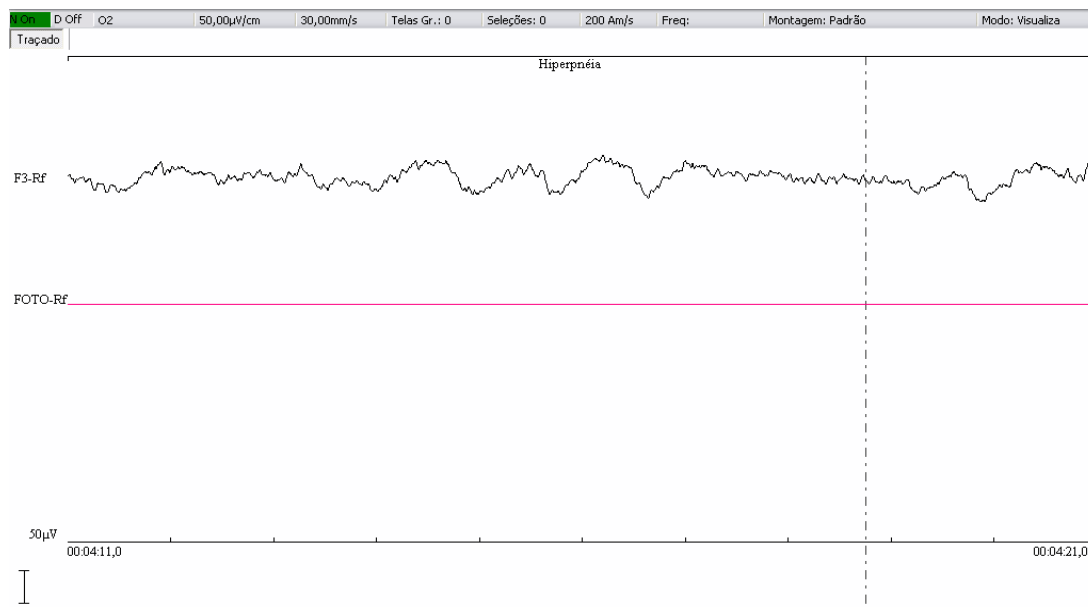


Figura 4. 60 - Artefato de sudorese (alguns canais).

Trata-se do EEG obtido do Paciente 9, sexo masculino, 38 anos com surto psicótico a esclarecer. Paciente sem história de epilepsia. Utilizou-se configuração padrão para este EEG. Foram retirados os eletrodos Fz, Cz, Pz e Oz e o tempo de análise é de 04:11 a 04:21

minutos. Observou-se que o artefato de sudorese é melhor visualizado no eletrodo F3/Rf, no tempo de 04:13 a 04:17.

A sudorese produz uma substância salina, a qual em contato com os eletrodos altera sua impedância, produzindo deflexões lentas, de alta amplitude (Figuras 4.59 e 4.60).

Nas Figuras 4.61 e 4.62, temos os gráficos de espectro de amplitude e fase, e densidade espectral de potência.

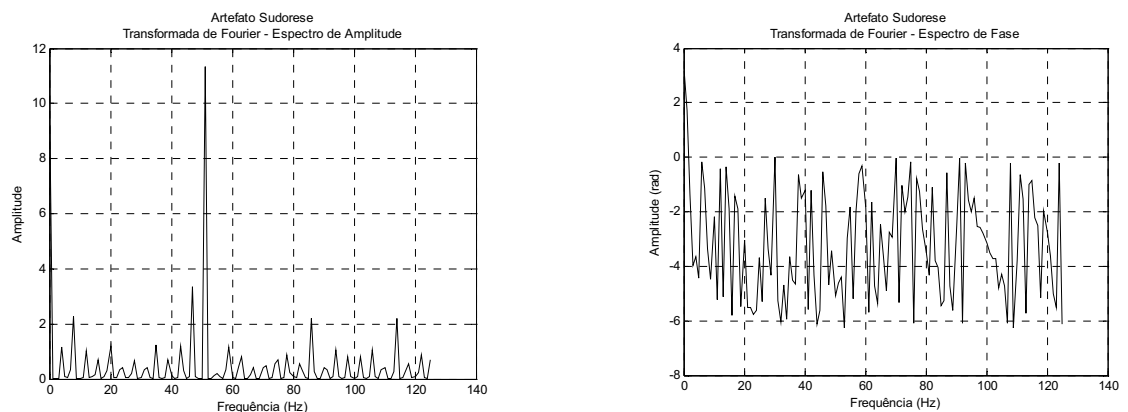


Figura 4. 61 - *Gráfico da Transformada de Fourier do Artefato de Sudorese. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

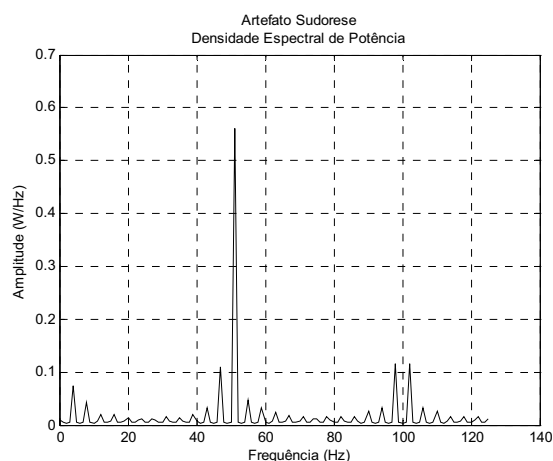


Figura 4. 62 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Artefato de Sudorese.*

Observando a Figura 4.61, podemos notar que o espectro de amplitude não está apresentando nenhuma simetria. Podemos dizer que a frequência que mais contribui no

espectro é a frequência de 50 Hz. O nível DC do sinal tem amplitude igual a 9 μ V. Em relação ao gráfico da fase, notamos que praticamente todo o sinal está com um atraso de 180°.

A Figura 4.62 nos mostra que a energia máxima do sinal está na frequência de componente igual a 50 Hz.

De uma forma geral, o que ocorreu com o espectro de fase para a morfologia de movimento ocular e para o artefato de ECG é q a o sinal está em atraso para algumas frequências e em fase para outras. Analisando o sinal, percebemos que estes apresentaram picos, sendo que para a primeira, picos negativos e para a segunda, picos positivos. O sinal de EEG com artefato de sudorese apresentou frequência rápida, e o que ocorreu com o gráfico da fase, foi um espectro negativo, ou seja, um sinal defasado.

Morfologias associadas à EEG patológicos

1 - Ponta-onda lenta representando atividade epilética interictal – (arquivo pontaondaintericital.mat)

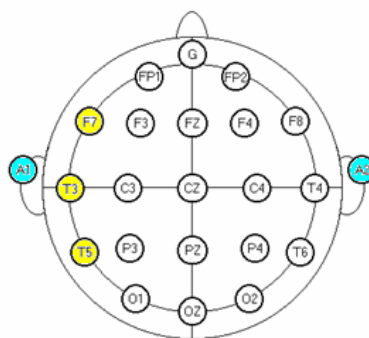


Figura 4. 63 - Montagem Eletrodos para visualização de ponta-onda lenta.

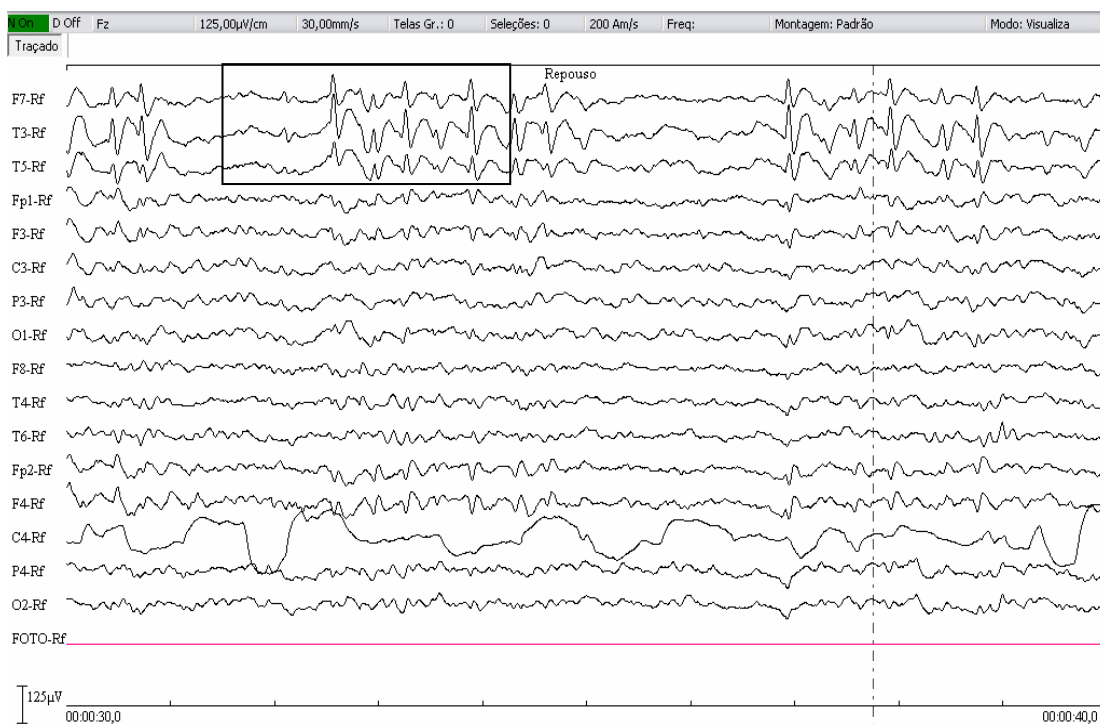


Figura 4. 64 – Ponta- onda lenta representando atividade epiléptica interictal.

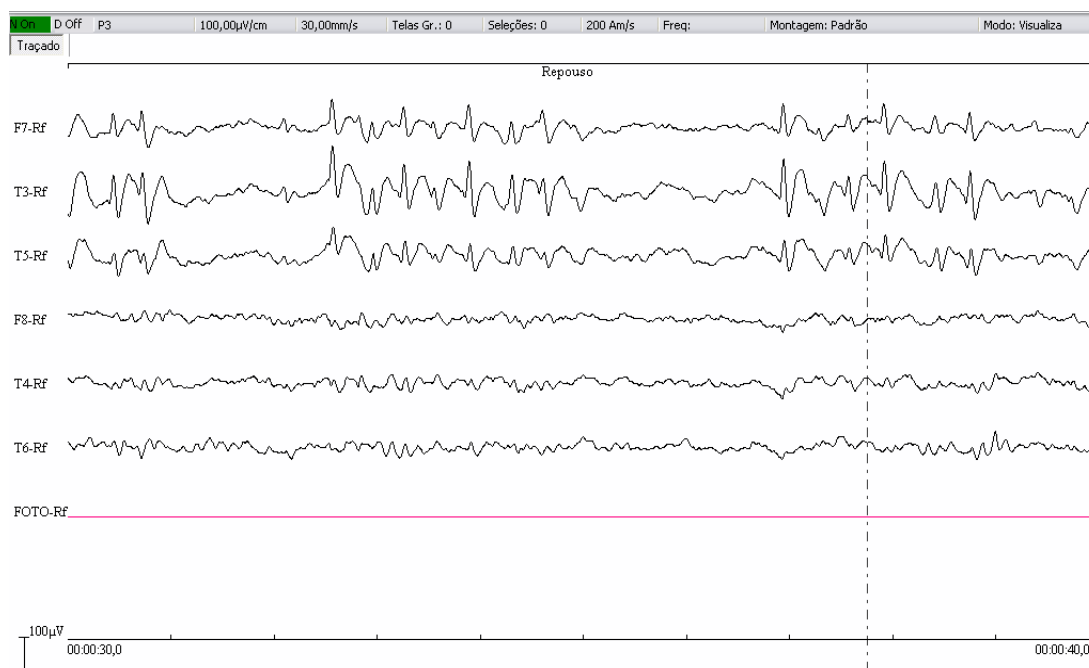


Figura 4. 65 – Ponta- onda lenta representando atividade epiléptica interictal (alguns canais).

EEG retirado do Paciente 17, sexo masculino com 12 anos. Morfologias associadas à EEG patológico – Ponta- onda lenta representando atividade epiléptica interictal. A

configuração utilizada foi montagem padrão. Foram retirados os eletrodos Cz, Pz e Oz. O intervalo de tempo considerado para esta análise foi de 30 a 40 segundos. Observou-se complexo espícula-onda lenta melhor visualizado nos pares de eletrodos F7/Rf, T3/Rf e T5/Rf, no tempo de 32 a 36 segundos.

Espículas e ondas agudas epileptiformes são freqüentemente seguidas por ondas lentas, estas últimas podendo ser de mesma polaridade ou de polaridade oposta, relativamente às duas primeiras morfologias. (No exemplo das Figuras 4.64 e 4.65, mesma polaridade). Ondas agudas não-epileptiformes raramente são seguidas por atividade lenta.

Durante uma descarga epileptiforme, a membrana celular atinge altas voltagens, o que produz uma despolarização relativamente prolongada, gerando um potencial de ação. Nesse momento, os eletrodos de escalpo registram atividade espicular ou paroxismo interictal. Após a despolarização, segue-se a hiperpolarização, que limita o paroxismo, surgindo neste momento uma onda lenta no EEG.

Os critérios de EEG patológico associados às Figuras 4.64 e 4.65 são atividade epiléptica com início e término abrupto, presença de espículas/pontas e presença de campo elétrico no eletrodo T5 (observe figura 4.65).

Análise do espectro de amplitude e fase (Figura 4.66) e densidade espectral de potência (Figura 4.67).

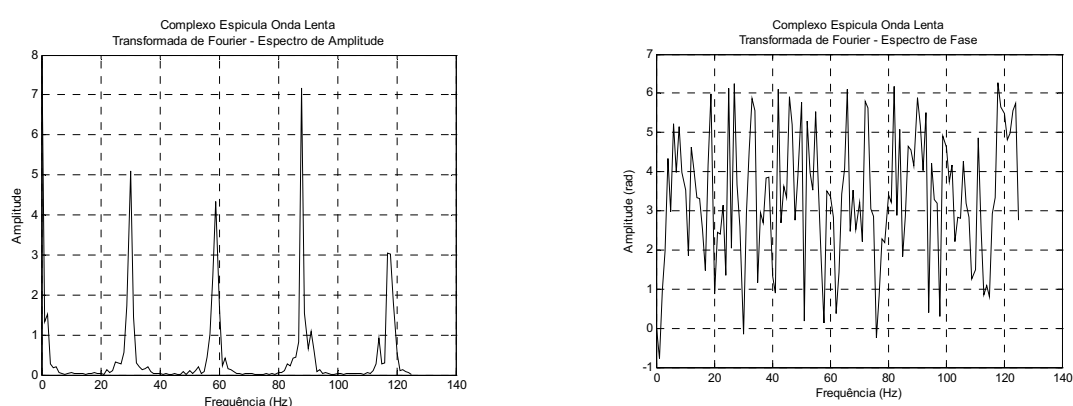


Figura 4. 66 - *Gráfico da Transformada de Fourier do Complexo Espícula Onda Lenta. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

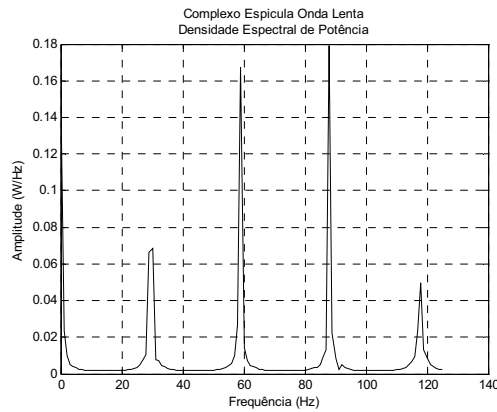


Figura 4. 67 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência do Complexo Espícula Onda Lenta.*

A figura 4.66 nos dá a informação referente ao módulo e fase do espectro de Fourier do Complexo Espícula Onda Lenta. No espectro de amplitude, percebemos que o sinal apresenta um nível DC bastante significativo, tendo o mesmo uma amplitude de $8 \mu\text{V}$. As frequências em torno da 90 Hz são as que estão apresentando maior contribuição para o sinal. Pode-se dizer que todo o sinal está em fase.

As frequências com maior energia dentro do sinal são 60 e 90 Hz, Figura 4.67.

2 – Assimetria (arquivo `assimetria.mat`)

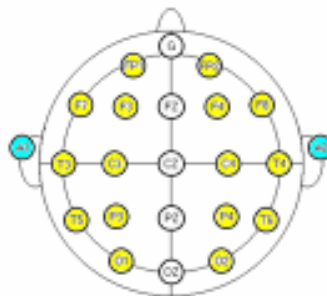


Figura 4. 68 - *Montagem Eletrodos para visualização de assimetria.*

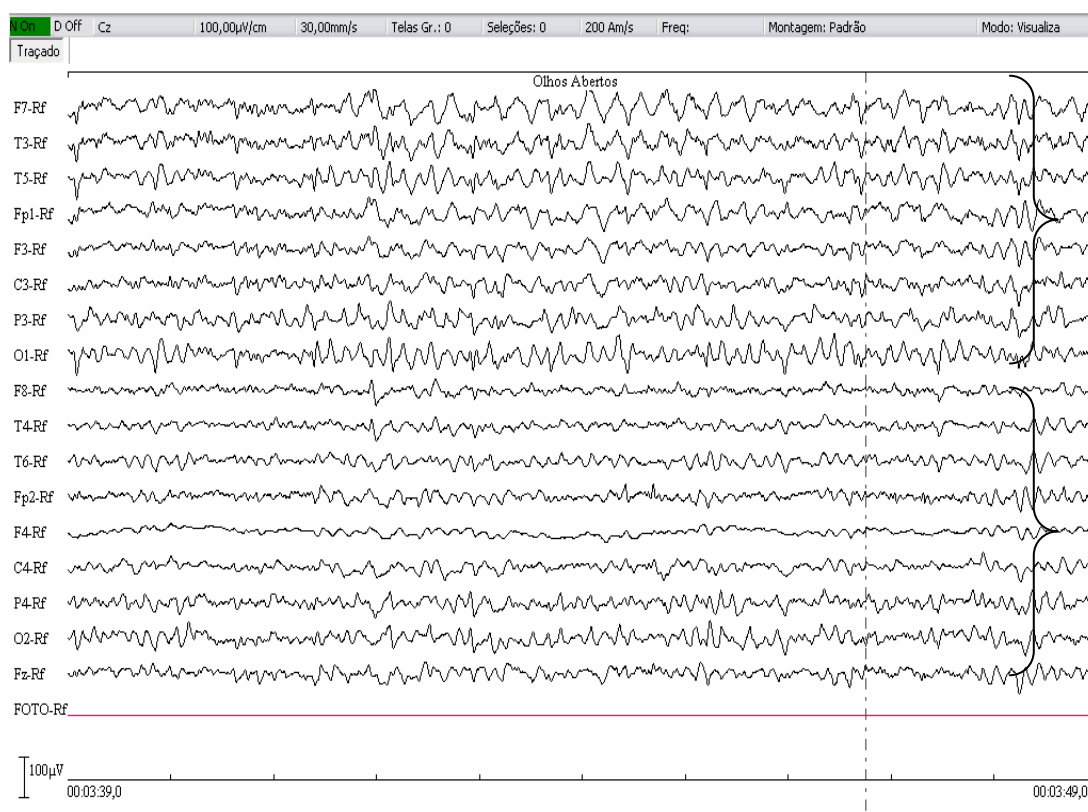


Figura 4. 69 – Assimetria.

Traçado de EEG registrado do Paciente 12, sexo feminino com 38 anos de idade. O paciente se encontrava em controle de epilepsia, com o uso de Fenobarbital 200 mg e Carbamazepina 500 mg. Configuração padrão utilizada neste exame, sendo retirados os eletrodos Cz, Pz e Oz. O intervalo de tempo considerado foi 03:39 a 03:49 minutos. Observou-se que a assimetria é melhor visualizada comparando os pares de eletrodos {F7/Rf, T3/ Rf, T5/ Rf, Fp1/ Rf, F3/ Rf, C3/ Rf, P3/ Rf, O1/ Rf e T5/ Rf} com, respectivamente, o conjunto {F8/Rf, T4/ Rf, T6/ Rf, Fp2/ Rf, F4/ Rf, C4/ Rf, P4/ Rf, O2/ Rf e T6/ Rf }.

A assimetria refere-se à discrepância de amplitude ou de frequência dos ritmos de base observados nos hemisférios. Deve-se observar que geralmente, num EEG normal, estas discrepâncias são muito pequenas, com exceção do ritmo alfa, cuja amplitude é maior no hemisfério direito.

A assimetria é considerada significativa quando esta diferença de amplitude é maior que 30%. A assimetria é frequentemente um sinal de lesão estrutural focal e em geral, a amplitude está diminuída do lado da lesão. Isso é particularmente verdadeiro quando a lesão substitui (“danifica”) o tecido cerebral ou determina condições de registro desfavoráveis (hematoma subdural, perturbando o registro).

Entretanto, a assimetria como única anormalidade presente no EEG (ou anormalidade isolada), não é confiável para a identificação de lesão cerebral.

Os critérios de EEG patológico associados à Figura 4.69 são presença de ondas lentas – comparando o par de eletrodos F7-Rf com o par de eletrodos correspondente F8-Rf, observa-se uma lentificação em F7-Rf.

Para a análise utilizando as ferramentas matemáticas temos os gráficos apresentados nas Figuras 4.70 e 4.71.

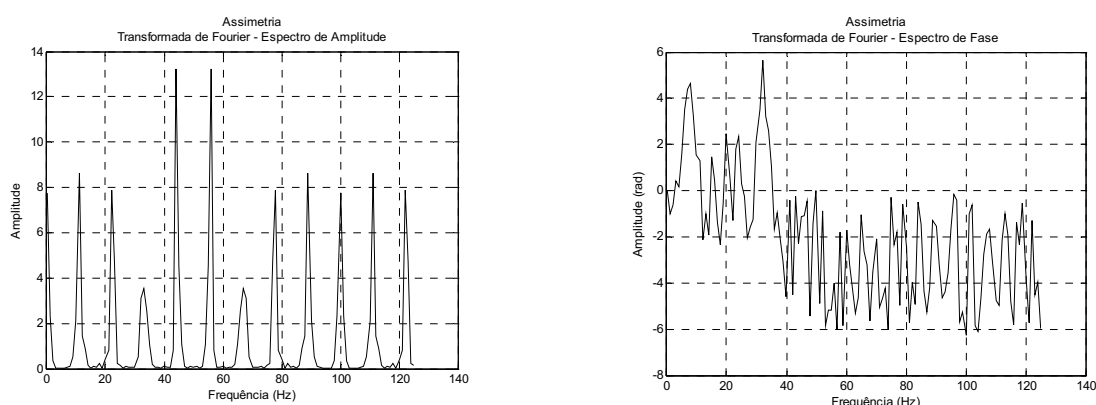


Figura 4. 70 - Gráfico da Transformada de Fourier da Assimetria. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

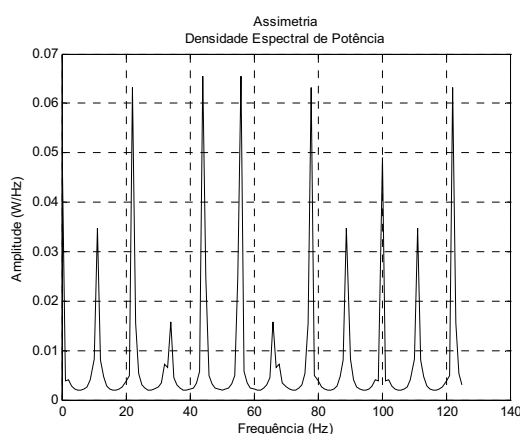


Figura 4. 71 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Assimetria.

Observando a Figura 4.70, podemos notar que o espectro de amplitude não apresentou nenhuma simetria. As frequências que mais contribuem para o sinal são frequências de 45 e

55 Hz. O nível DC fica aproximadamente na amplitude 2,1 μV . Pode-se dizer que a maior parte do sinal apresenta um atraso na fase, isto pode ser verificado no gráfico da fase.

Em relação à densidade espectral de potência, Figura 4.71, observamos que as frequências que apresentam mais energia dentro do sinal são 22, 45, 55, 78, 100 Hz.

3 – Delta fronto-temporal patológico + assimetria – (arquivo deltapatologico.mat)

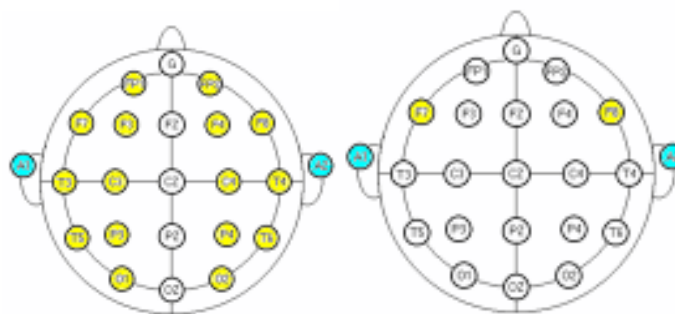


Figura 4. 72 - Montagem Eletrodos para visualização da assimetria (à esquerda) e onda delta fronto-temporal (à direita).

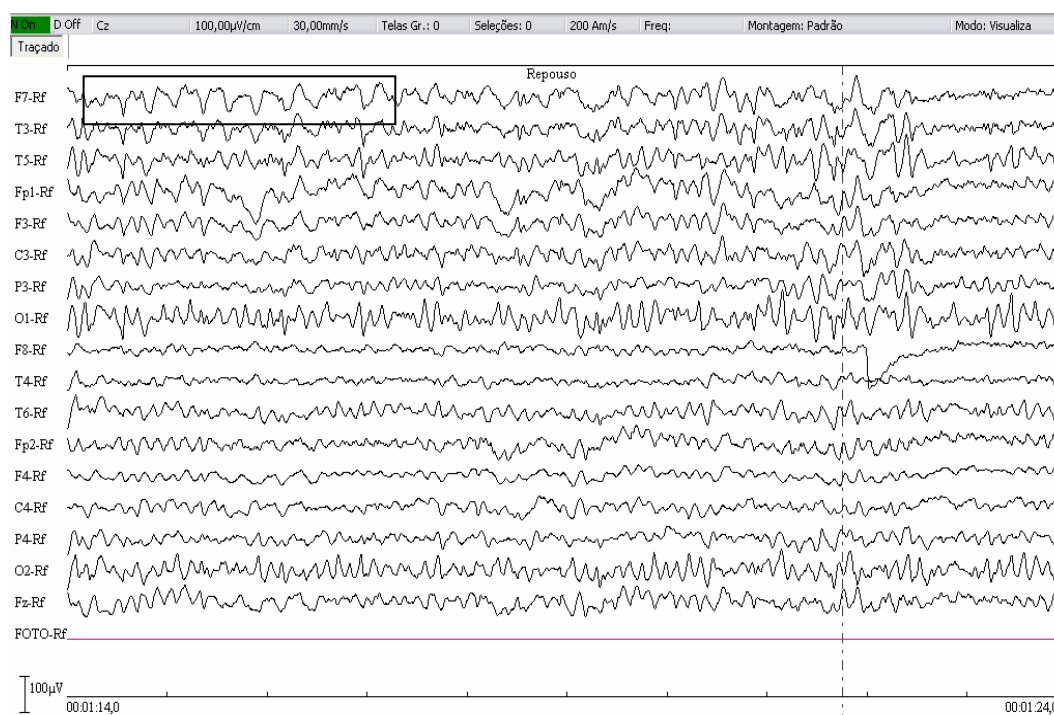


Figura 4. 73 – Delta fronto-temporal patológico + assimetria.

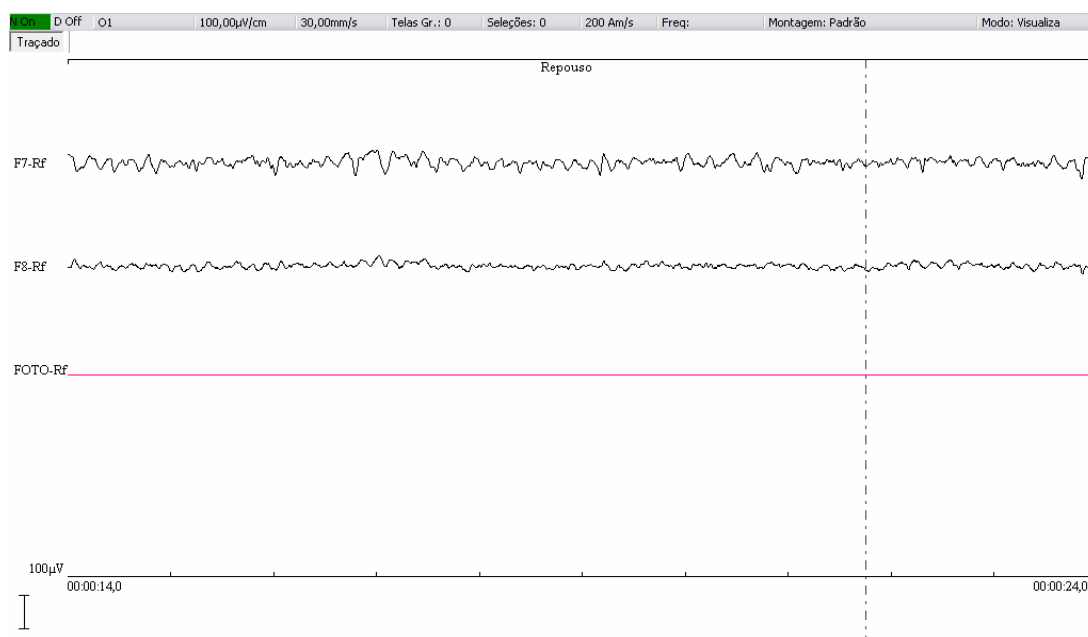


Figura 4. 74 – *Delta fronto-temporal patológico + assimetria (alguns canais).*

EEG retirado do mesmo paciente do caso anterior. Foi considerado o intervalo de tempo de 01:14 a 01:24 minuto. Observou-se que a onda delta patológica é melhor visualizada no eletrodo F7, no tempo de 01:14 a 01:17. Além disso, comparando o conjunto de eletrodos {F7/Rf, T3/ Rf, T5/ Rf, Fp1/ Rf, F3/ Rf, C3/ Rf, P3/ Rf, O1/ Rf e T5/ Rf} com, respectivamente, o conjunto {F8/Rf , T4/ Rf, T6/ Rf, Fp2/ Rf, F4/ Rf, C4/ Rf, P4/ Rf, O2/ Rf e T6/ Rf } observa-se uma assimetria.

A presença de ondas lentas na faixa teta e delta, no EEG do adulto durante a vigília, podem representar atividade patológica. Nesta situação, observa-se focalidade e assimetria das ondas lentas em relação à região homóloga contralateral, ou mesmo atividade lentificada simétrica e generalizada. A exemplo, na Figura 4.73, observa-se atividade delta intermitente, focal (predominante em eletrodos fronto-temporais esquerdos) e assimétrica (não se observa atividade delta nos eletrodos fronto-temporais direitos).

A atividade de ondas lentas deve ser caracterizada quanto à duração (se contínua ou intermitente), simetria e quanto à reatividade mediante abertura ocular, atividade mental e hiperventilação.

Para uma análise quantitativa do EEG, apresentamos os gráficos a seguir.

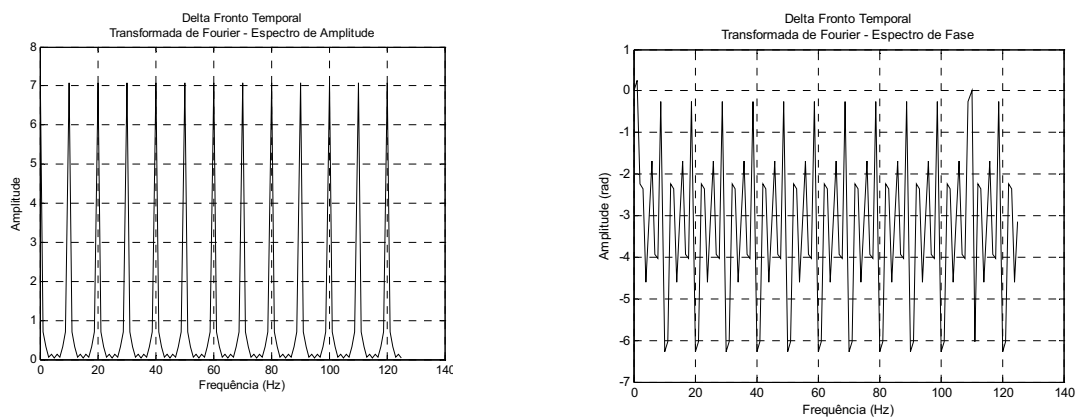


Figura 4. 75 - *Gráfico da Transformada de Fourier da Onda Delta Frontal Temporal. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).*

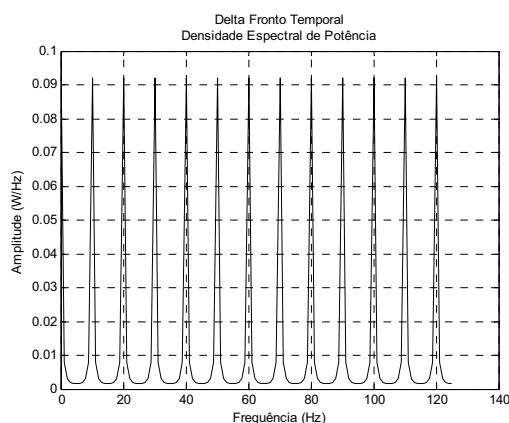


Figura 4. 76 – *Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Onda Delta Frontal Temporal.*

Observando o gráfico da Figura 4.75, espectro de amplitude, temos que este espectro está apresentando simetria par em intervalos de 10 Hz. Sendo assim, dizemos que as frequências que mais contribuem para o sinal são as frequências de 10 Hz e frequências múltiplas desta. O nível DC deste sinal é significativo e apresenta amplitude igual a 7 μ V. O gráfico da fase nos mostra que o sinal não está em fase, ou seja, o sinal está com uma fase atrasada.

A potência está concentrada em torno das frequências 10 Hz e múltiplas desta, Figura 4.76.

4 – Ponta-onda lenta generalizada

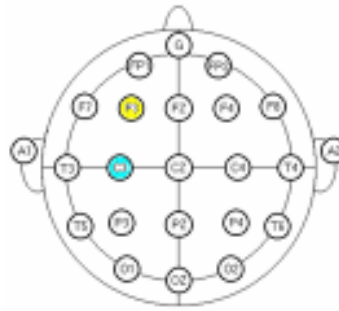


Figura 4. 77 - Montagem Eletrodos para visualização de ponta-onda lenta generalizada.

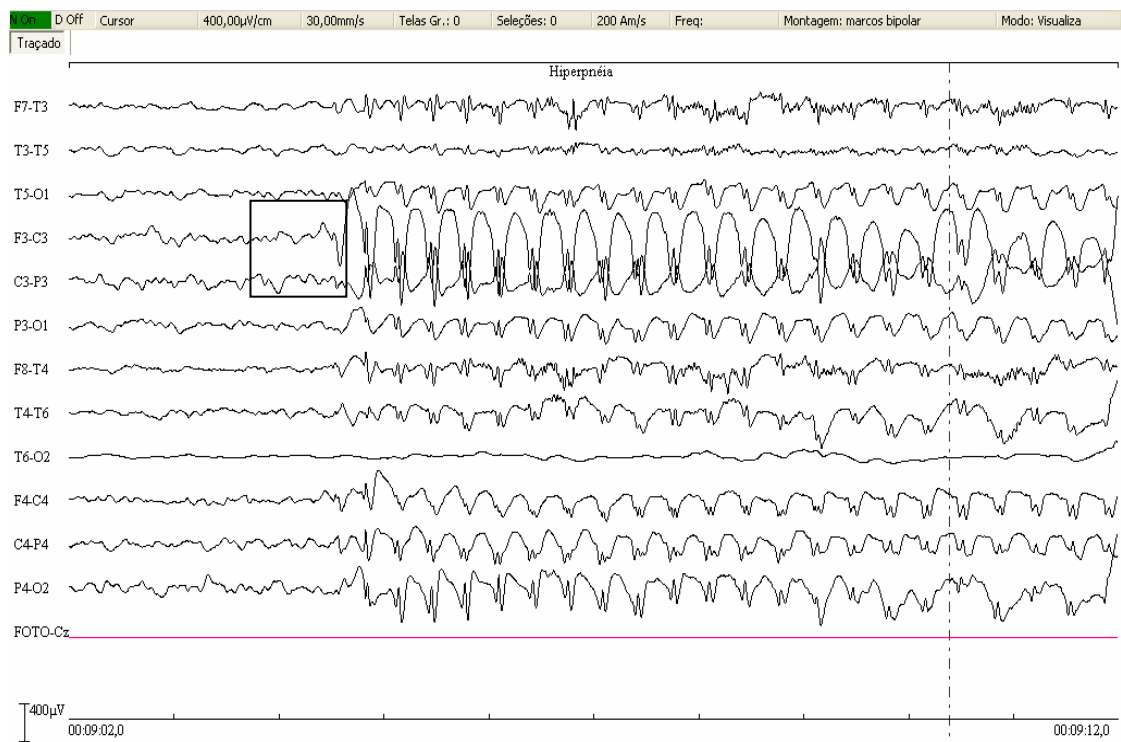


Figura 4. 78 - Ponta-onda lenta generalizada.

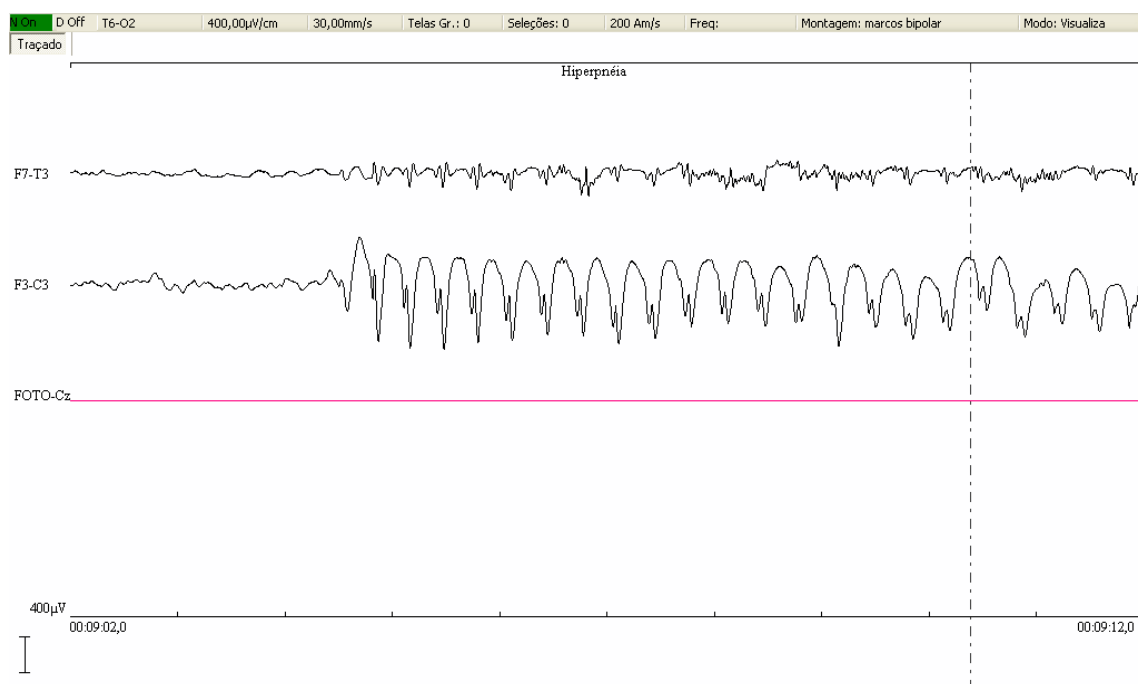


Figura 4. 79 - Ponta-onda lenta generalizada (alguns canais).

Exame retirado do Paciente 19, sexo feminino com 7 anos de idade, apresentando crises de ausência. Utilizou-se a configuração montagem bipolar para este EEG. O intervalo de tempo considerado para esta análise foi de 09:02 a 09:12 minutos e notou-se que a ponta-onda é melhor visualizada no par de eletrodos F3-C3. A velocidade do papel é de 30 mm/s e a amplitude: é 400 μ V.

Predomínio de morfologia na área frontal esquerda (F3-C3), atividade epileptogênica iniciando em 09:04 minutos.

O registro de EEG acima (Figuras 4.78 e 4.79) mostra atividade paroxística tipo espícula-onda lenta generalizada, caracterizando uma crise eletrográfica (atividade epileptiforme no EEG não correlacionada com crise clínica) em uma criança portadora de epilepsia tipo ausência. O complexo espícula-onda lenta apresenta frequência de 3 Hz e atividade máxima nas regiões anteriores (eletrodos F3 e C3).

Analisando quantitativamente este EEG, temos os gráficos apresentados nas Figuras 4.80 e 4.81.

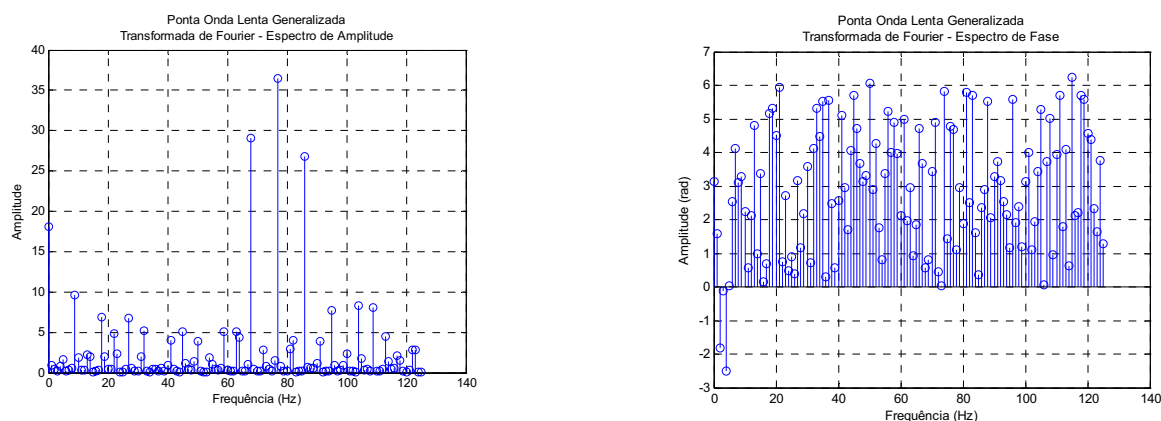


Figura 4. 80 - Gráfico da Transformada de Fourier da Ponta Onda Lenta Generalizada. Módulo (À esquerda) e Fase (à direita).

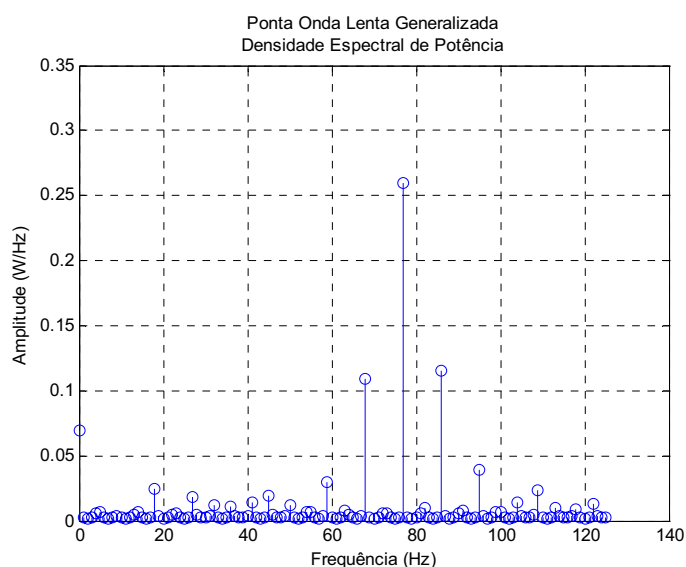


Figura 4. 81 – Gráfico da Densidade Espectral de Potência da Ponta Onda Lenta Generalizada.

A Figura 4.80 apresenta o gráfico do espectro de amplitude e fase para o sinal de ponta onda lenta generalizada. Nota-se que o espectro de amplitude não possui nenhuma simetria e que as frequências que mais contribui para o sinal são 68, 78 e 88 Hz. O nível DC do sinal tem amplitude igual a 18 μV . O espectro de fase nos informa que praticamente todo o sinal está em fase.

Pela Figura 4.81, pode-se dizer que a energia do sinal está concentrada nas frequências de 68, 78 e 88 Hz.

Uma informação a ser notada é que o sinal de EEG para morfologia de assimetria apresentou o espectro de fase praticamente simétrico, ou seja, metade positiva e metade negativa.

4.6.3 Discussões

O espectro de amplitude da transformada de Fourier especifica as amplitudes relativas das componentes de frequência do sinal enquanto que a densidade espectral de potência de um sinal mostra quanta potência o sinal transporta em uma largura de banda unitária em torno de uma dada frequência.

A idéia de utilizar estes dois métodos vem do princípio de que a transformada de Fourier nos oferece uma análise do sinal em módulo e fase, já a densidade espectral de potência retém apenas informações de módulo, desprezando toda e qualquer informação relativa à fase do sinal. A transformada de Fourier descreve com unicidade um sinal em todos os seus pontos de continuidade e a densidade espectral não apresenta esta unicidade, ou seja, muitos sinais diferentes podem apresentar a mesma densidade.

Analisando todos os gráficos apresentados na seção 4.6.2, pode-se perceber que, de um modo geral, para as morfologias apresentadas, o espectro de amplitude e a densidade espectral de potência estão muito próximos, ou seja, a potência está concentrada nas frequências que mais contribuem para o sinal.

O espectro de fase indica o defasamento de cada componente de frequência. Analisando este espectro para as morfologias apresentadas, verifica-se que praticamente a fase tem comportamento semelhante para todas, isto quer dizer que, para quase todas as morfologias, a fase apresenta espectro ou todo negativo, ou todo positivo, implicando que ou todas as frequências do sinal estão em fase, ou todas estão em atraso. Esta característica não se verificou para as morfologias de ritmo delta e onda aguda do vértex com montagem referencial Rf.

4.7 Conclusões

Para entender o sinal de EEG é necessário compreender primeiramente como é formado este sinal, quem são os responsáveis. Diante disto, começamos o Capítulo apresentando de forma sucinta como são gerados os potenciais de ação nos neurônios e como se dá a propagação destes potenciais ao longo dos axônios, relatando também os principais responsáveis pela geração destas ondas.

Foram mostrados também os diferentes tipos de eletrodos, sendo que os mais utilizados são os eletrodos de disco de prata. Para padronizar o EEG criou-se o sistema internacional 10-20, cujo mesmo trata do posicionamento dos eletrodos no escalpo.

Como o EEG é um sinal estocástico, a análise visual pode ser insuficiente para as diversas utilizações experimentais e clínicas que a neurofisiologia hoje em dia compreende. A análise quantitativa do EEG tem se mostrado instrumento clínico importante em neurofisiologia (BLANCO, 1995), possibilitando um apoio aos profissionais especializados, de forma que as análises e interpretações do EEG não sejam apenas visuais.

Neste Capítulo mostramos uma análise clínica dos exames seguida de uma análise via transformada de Fourier e densidade espectral de potência. Podemos concluir que, para a maior parte das morfologias apresentadas, o estudo dos traçados de EEG através das ferramentas matemáticas está em conformidade com o que foi proposto pelo médico, pois a análise computacional nos permitiu verificar algumas características especificadas pela análise clínica. Constatou-se a possibilidade da presença de ruído de rede elétrica em alguns espectros de amplitude para a transformada de Fourier. Também foi possível determinar os outros sub-ritmos presentes no sinal através da transformada de Fourier. E ainda através da informação do espectro de fase consegue-se distinguir sinais, que apesar de diferentes, apresentam uma distribuição de amplitude de coeficientes similar.

A análise do espectro de fase é muito importante, pois ela nos oferece uma informação a respeito do defasamento de cada frequência. Para as morfologias apresentadas neste capítulo, percebemos que para sinais com frequências próximas (ondas lentas, ondas rápidas, etc) apresentam espectros semelhantes para a fase. Então podemos concluir que a fase está relacionada com a frequência de banda do sinal.

Capítulo 5

Conclusão e Trabalhos Futuros

5.1 Conclusões gerais

Este trabalho foi proposto com o objetivo de utilizar ferramentas matemáticas para o estudo de sinais oriundos da atividade elétrica de neurônios registrados a partir de Matrizes Multieletródos (MEAs) e Eletroencefalografia (EEG).

Os sinais neuronais captados através de MEAs foram extraídos de culturas de neurônios do córtex de embrião de ratos com 18 dias de gestação. Estas culturas foram preparadas de acordo com as normas propostas pelo Comitê de Ética de Gênova. O objetivo principal foi estudar culturas inativas, culturas que após alguns dias *in vitro*, verificou-se que não ocorreu conexão entre os neurônios. Apesar da falta de conexão entre estes neurônios registrou-se um sinal durante as gravações. Nosso estudo se dedicou a verificar se estes sinais registrados poderiam ser considerados como ruído de instrumentação. No entanto dois tópicos muito pouco abordados na literatura atual: culturas inativas e ruído de instrumentação de MEA.

Nosso maior interesse ficou focalizado no processamento da amplitude dos sinais, uma vez que não é possível derivar os intervalos inter-spike em séries temporais, devido à baixa amplitude e frequência de spikes destes sinais. Sendo assim, a característica aleatória para este processo estocástico esteve vinculada à amplitude do sinal. Uma atenção particular esteve voltada para a questão da não-estacionariedade, que é típica de sinais biológicos. Para este problema, foi feito uma segmentação dos dados baseada numa estratégia de comprimento fixo

seguida pela aplicação das ferramentas matemáticas função de autocorrelação e densidade espectral de potência.

Com a função de autocorrelação, foi possível obter uma informação do processo no domínio do tempo, e assim chegamos à conclusão que a correlação entre as amostras podem ser descartadas após um tempo superior a 25 milisegundos (ou 250 amostras). Observou-se também que o gráfico da autocorrelação decaiu muito rapidamente para zero, podendo concluir que o sinal apresenta características semelhantes ao ruído branco. Quanto à densidade espectral de potência, obtivemos uma análise espectral no domínio da frequência e chegamos à conclusão que a densidade espectral de potência de culturas inativas tem componentes significativos dentro do intervalo de 0 a 2,5 kHz, ou seja a toda energia está concentrada nesta faixa de frequência.

Portanto este trabalho apresentou uma confirmação experimental de uma hipótese que é usada em quase todas as literaturas no que diz respeito às técnicas de detecção de spikes, cujas mesmas dedicam pouca atenção para o ruído de instrumentação e à questão da não estacionariedade de sinais biológicos em análise. Em se tratando de sinais MEA, estes resultados são úteis para obter modelos estatísticos mais precisos para o ruído de instrumentação de MEA, de modo a contribuir para o desenvolvimento de métodos mais precisos para a detecção de spikes, bem como para uma geração sintética de dados MEA.

A eletroencefalografia (EEG) é uma importante ferramenta para a neurologia, pois auxilia na compreensão de doenças como epilepsia, demência, coma e morte encefálica, apesar de raramente, ser o exame determinante no diagnóstico destas condições. Mediante o reconhecimento da importância do EEG, este trabalho teve como objetivo incrementar a literatura existente sobre ensino de EEG propondo uma análise de traçados de EEGs coletados no setor de eletroencefalografia do Hospital de Clínicas de Uberlândia com o consentimento formal dos pacientes.

Primeiramente os exames de EEGs foram coletados pelas acadêmicas Luana M. Oliveira (Faculdade de Medicina) e Moara L. R. Lime (Faculdade de Enfermagem) e em seguida, estes traçados foram analisados e selecionados pelo Dr. Marcos Campos. Foram selecionadas algumas morfologias associadas à EEGs normais, morfologias associadas à EEGs patológicos e a artefatos. Após análise clínica realizada pelo médico, foi feita uma

análise computacional via ferramentas matemáticas clássicas como a transformada de Fourier e a densidade espectral de potência.

Sob uma análise clínica podemos concluir que o EEG para o ritmo teta de um determinado paciente apresentou atividade teta focal assimétrica constante podendo estar representando uma disfunção em determinada região cerebral, enquanto que uma análise computacional permite concluir que o sinal apresentava baixas frequências. Em relação à morfologia causada por artefato de ECG, concluiu-se que atividade elétrica cardíaca pode ser registrada em qualquer parte do corpo, inclusive no escalpo e para os exames analisados, os eletrodos mais afetados foram os referenciais A1 e A2. Concluiu-se também que a assimetria é um tipo de morfologia que quando considerada como única anormalidade presente no EEG (ou anormalidade isolada) não é confiável para a identificação de lesão cerebral.

Computacionalmente, para todas as morfologias apresentadas, concluímos que os espectros de amplitude (transformada de Fourier) foram muito semelhantes aos espectros gerados pela densidade espectral de potência, significando que as energias dos sinais estão concentradas em torno das frequências mais representativas. E ainda mais, constatou-se a possibilidade da presença de ruído de rede elétrica em alguns espectros de amplitude para a transformada de Fourier.

Em relação ao espectro de fase, concluímos que para as morfologias normais relacionadas ao ritmo alfa e beta, o espectro apresentou valores negativos para todas as frequências. Para ritmos de onda lenta como teta, o espectro apresentou valores positivos para todas as frequências e certa periodicidade para a onda delta, o mesmo foi observado para a onda aguda do vértex com montagem referencial em Rf, sendo que no traçado EEG observou uma onda lenta. Logo, analisando todos os espectros apresentados para a fase, pode-se concluir que ela está relacionada com a frequência de cada ritmo, ou seja, para morfologias com ondas lentas, o espectro foi muito semelhante, assim como para ritmos mais rápidos.

MEA e EEG são duas técnicas distintas para registrar sinais elétricos neuronais. Com a MEA o registro é feito com neurônios em cultura e os eletrodos ficam em contato direto com estes neurônios, enquanto que para EEG (EEG de superfície) os eletrodos são fixados no escalpo e não tem contato direto com os neurônios. De uma maneira geral, estabelecendo uma relação entre os resultados apresentados nesta dissertação para sinais MEA e sinais EEG,

conclui-se que são medidas extremamente complexas, pois são sinais biológicos e, portanto imprevisíveis. Mas para ambos os resultados foram de acordo com o esperado.

5.2 Trabalhos Futuros

Como possível seqüência deste trabalho, podemos propor o estudo de sinais oriundos de culturas neuronais registrados a partir de MEAs:

- ✓ Uma comparação entre os resultados apresentados nesta dissertação com resultados associados à aplicação da mesma metodologia em outros conjuntos de sinais MEA, por exemplo, atividade espontânea ou atividade provocada por estimulações elétricas ou químicas, de culturas ativas.
- ✓ Vários aspectos técnicos devem ser desenvolvidos, como por exemplo, questões ligadas à não-estacionariedade, ou seja, a aplicação da segmentação de comprimento variável como uma pré técnica de processamento. Também um método mais preciso e eficiente para estimação da densidade deve ser aplicado de modo a permitir que o cálculo no tempo-real da variância do ruído, tendo em vista a detecção de spike.

Referente ao estudo do EEG existe muito que se explorar, pois ainda existem várias interrogações a respeito da eletroencefalografia. Dentre elas, podemos propor como seqüência:

- ✓ Uma padronização a respeito das análises dos traçados, definindo escalas de tempo e amplitude.
- ✓ Precisa-se também ter definições precisas para as morfologias.
- ✓ Existe pouca elaboração e pouca informação a respeito, é necessário refletir, debater e obter um aprofundamento bibliográfico.
- ✓ É necessário extrair maiores informações a respeito de transformada de Fourier e densidade espectral de potência.
- ✓ Revisão sobre maiores informações contidas no espectro de fase.

Referências Bibliográficas

- 1 ANGHNAH, R.; KANDA, P. A. M. **Spike: Atlas Interativo de Eletroencefalografia**. 2ª edição São Paulo, 2007. 1 CD-ROM.
- 2 BANKMAN, I. N.; JOHNSON, K. O.; SCHNEIDER, W. **Optimal Detection, Classification, and Superposition Resolution in Neural Waveform Recordings**. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, vol. 40, n.8. August, 1993.
- 3 BERGER, T.W.; et al. **Brain-Implantable biomimetic electronics as the next era in neural prosthetics**. Proceedings of the IEEE, Special Issue on Neural Engineering, vol.89, n.7, p.991-1012. July, 2001.
- 4 BORST, A.; THEUNISSEN, F. E. **Information theory and neural coding**. Nature neuroscience, vol. 2, n. 11, november, 1999.
- 5 BROWN, E. N.; KASS, R. E.; MITRA, P. P. **Multiple neural spike train data analysis: state-of-the-art and future challenges**. Nature Neuroscience, vol. 7, n. 5. May, 2004.
- 6 BUSSAB, W.O.; MORETIN, P.A. **Estatística básica**, São Paulo, Ed. Saraiva, 2002, 448 p.
- 7 CARDOSO, Rogério Ribeiro. **Uma Estratégia de Modelagem Tridimensional para Mapeamento de EEG de Superfície**. Universidade Federal de Uberlândia, 2005.
- 8 CHAPMAN, A. H.; ALMEIDA, Silvana V.; REIS, Marta A. dos. **Leitura e Interpretação de Eletroencefalografia**. Petrópolis: Editora Epub, 2006.
- 9 CHIAPPALONE, M. **Acquisition and Processing of Electrophysiological Signals: a New Perspective towards Brain-Machine Interface**. University of Genova, 2003.
- 10 CHIAPPALONE, M; et al. **Networks of neural coupled to microelectrode arrays: a neural sensory system for pharmacological applications**. Biosensors and Bioelectronics. vol. 18, p. 627-634, May 2003.
- 11 CHIAPPALONE, M; et al. **Burst detection algorithms for the analysis of spatio-temporal patterns in cortical networks of neurons**. Neurocomputing, vol. 65–66, p. 653–662, 2005.
- 12 CHILDERS, D. G. **Probability and Random Processes**. McGraw-Hill, Florida, 1997.

- 13 COCKERELL, O.C.; SANDER, J.W.A.S. **O Custo Econômico da Epilepsia**. In: COSTA, J.C. da et al. (ed). **Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias**. São Paulo: Lemos-Editorial, 1998. p. 21-30.
- 14 DANTAS, C.A.B. **Probabilidade: um curso introdutório**. São Paulo, Edusp, 2004, 252p.
- 15 DeMARSE, T. B. et al. **The Neurally Controlled Animat: Biological Brains Acting with Simulated Bodies**. *Autonomous Robots*, vol. 11, p. 305–310, 2001.
- 16 DURAND, D.M.; BIKSON, M. **Supression and control of Epileptiform Activity by Electrical Stimulation: A Review**. *Proc. of the IEEE*, vol. 89, n. 7, 2001, p. 1065-1082.
- 17 EYTAN, D. e S. MAROM. **Dynamics and Effective Topology Underlying Synchronization in Networks of Cortical Neurons**. *The Journal of Neuroscience*, vol. 26, n.33, p.8465-8476. Aug. 2006.
- 18 FAHY, B. G.; CHAU, D. F.; OWEN, M. D. **The effectiveness of a simple novel approach on Eletroencephalograph intrusion for Anesthesiology Residents**. *International Anesthesia Research Society*. V. 106, N. 1, p. 210-214, 2008.
- 19 FAIRHALL, A. L. et al. **Efficiency and ambiguity in an adaptive neural code**. *Nature*, vol. 412, p. 787-792. August, 2001.
- 20 FREEMAN, W. J. **Neurodynamics: An Exploration in Mesoscopic Brain Dynamics**. London, UK. 2000
- 21 FULLER, G.; BEIRNE, M. O.; MURPHY, P.; OWARE, A. **“EEG happy families”: the fun way to learn about common EEG abnormalities**. *Journal of Neurology, Neurosurgery, psychiatry*, p.13-15, 2005.
- 22 GLASER, E.M. & RUCHKIN, D.S.. **Principles of neurobiological signal analysis**. Academic Press, N York, USA, 471 p., 1976.
- 23 GROSS, G. W. et al. **The use of neuronal networks on multielectrode arrays as biosensors**. *Biosensors & Bioelectronics*, vol. 10, p. 553-567, 1995.
- 24 GUNNING, D.E., CHICHILNISKY, E.J., LITKE, A.M., *et alli*. **Performance of ultra-high-density microelectrode arrays**. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, section A*, vol. 576, p. 215-219, 2007.
- 25 GUYTON, A. C. **Neurociência Básica: Anatomia e Fisiologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 2ª edição, 1993.
- 26 GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 9ª edição, 1997.

- 27 KANDEL, E. R. et al. **Fundamentos da Neurociência e do Comportamento**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, 2000.
- 28 KIM, S. e MCNAMES, J. **Automatic spike detection based on adaptive template matching for extracellular neural recordings**. Journal of Neuroscience Methods, vol. 165, pp. 165-174, 2007.
- 29 LATHI, B.P. **An Introduction to Random Signals**. USA: John Wiley and Sons Inc., 1967.
- 30 LENT, R. **Neurociência Básica: Anatomia e Fisiologia. Cem Bilhões de Neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.
- 31 LEWICKI, M.S. **A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials**. Network-Comput. Neural Systems. 9, R53-R78, 1998.
- 32 LITT, M.D'ALESSANDRO B. et al. **Translating seizure detection, prediction and brain stimulation into implantable devices for epilepsy**. Proc. 1st Int. IEEE EMBS Conf. on Neural Engineering, Capri Island, Italy, 2003, p. 485-492.
- 33 MAGALHÃES, M.N. **Probabilidade e variáveis aleatórias**. São Paulo, IME-USP, 2004, 411p.
- 34 MALMIVUO, J.; PLONSEY, R. **Bioelectromagnetism**. New York, Oxford University Press, 1995.
- 35 MEYER, P. L. **Probabilidade: aplicações à estatística**, 2^a edição, Rio de Janeiro, LTC, 1983, 426 p.
- 36 NAJAFI, K.; WISE, K. D. **An Implantable Multielectrode Array with On-Chip Signal Processing**. IEEE Journal of Solid-State Circuits, vol. 21, n. 6, p. 1045-1044. December, 1986.
- 37 NENADIC, Z and BURDICK, J.W. Spike detection using continuous wavelet transform. **IEEE Trans Biomed Engin**, vol 52, no 1, pp 74-87. Jan 2005.
- 38 NIEDERMEYER, E.; LOPES, F. S. **Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields**. 5 ed, New York: Lippincott Williams & Wilkins, 1309 p., 2004.
- 39 NOACHTAR, S.; BINNIE, C. **A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers and proposal for the report form for the EEG findings: recommendations for the practice of clinical neurophysiology:**

- guidelines of the International Federation of Clinical Physiology.** Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1999; 42:21–41.
- 40 NOVELINO, A.; et al. **Behaviors from an electrically stimulated spinal cord neuronal network cultured on microelectrode arrays.** Neurocomputing, vol. 52, p. 661-669. Fevereiro 2003.
 - 41 GENESER, F. **Histologia com bases biomoleculares.** 3. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2003.
 - 42 GRANADO, A. G. **Estudo de Estimadores de Correlação Baseados no Emprego de Quantização Grosseira e “Dithering”.** Universidade Estadual de Campinas, 1994.
 - 43 OPPENHEIM, A.V.; SHAFER, R. W..**Discrete-Time Signal Processing.** Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1998.
 - 44 PERKEL, D. H., GERSTEIN, G.L., MOORE, G.P. **Neuronal Spike train and stochastic point processes I. The single spike train.** Biophysical Journal, vol. 7, p. 391-418, 1967.
 - 45 PESSOA, R.; MOURA, A. **Saber interpretar um eletroencefalograma.** Andrei editora S.A. SãoPaulo, 1975.
 - 46 PURVES, D. et al. **Neurociências.** Porto Alegre. Artmed, 2005.
 - 47 POTTER, S. M.; DeMARSE, T. B. **A new approach to neural cell culture for long-term studies.** Journal of Neuroscience Methods, vol. 110, p. 17-24, 2001.
 - 48 RANGAYYAN, R. M. **Biomedical signal analysis: a case-study approach.** Piscataway, NJ: Wiley – IEEE Press, 2001, 1st edition, 552 pages.
 - 49 RIBEIRO, J. A. **Modelos de Predição Linear para a Análise de Sinais Eletroencefalográficos (EEG) e de Matrizes Multieletrodo (MEA).** Universidade Federal de Uberlândia, 2006.
 - 50 RIKE, F. et al. **Spikes: exploring the neural code.** N.Y.: The MIT Press, 1997, 234 p.
 - 51 RYAN, J. A. **Introduction to Animal Cell Culture.** Corning Incorporated, Life Sciences, Chelmsford St., 2008.
 - 52 RUTTEN, W. L. C. **Selective Eletrical Interfaces with the Nervous System.** Annu. Rev. Biomed. Eng., v.4, p.407-452, 2002.
 - 53 SHIMAZAKI, H.; SHINOMOTO, S. **A method for selecting the bin size of a time histogram.** *Neural Computation*, vol. 19, p. 1503 – 1527, 2007.

- 54 SOUZA, G.S. **Introdução aos modelos de regressão linear e não linear**. Brasília, EMBRAPA, 1998, 489p.
- 55 TINKLE, C. L. et al. **New insights into cadherin function in epidermal sheet formation and maintenance of tissue integrity**. PNAS, vol. 105, n. 40, p. 15405–15410. October 2008.
- 56 TINTURE, E. C. et al. **Multielectrode arrays with elastomeric microstructured overlays for extracellular recordings from patterned neurons**. Journal of Neural Engineering, vol. 2, p. L1-L7, 2005.
- 57 URL 1: Página oficial do Instituto Francisco Pacheco Dias. Disponível em: <http://www.sogab.com.br/anatomia/sistemanervosojonas.htm> . Acessado em 10 jun. 2008.
- 58 URL 1: Página oficial do Instituto Francisco Pacheco Dias. Disponível em: <http://www.sogab.com.br/anatomia/sistemanervosojonas.htm> . Acessado em 10 jun. 2008.
- 59 URL 2: Página oficial do LPMP. Disponível em: <http://lpmpjogja.diknas.go.id/kc/b/brain/brain.htm>. Acessado em 10 jun. 2008.
- 60 URL 3: Página oficial do Departamento de Morfologia e de Informática em Saúde da UNIFESP. Disponível em: <http://virtual.epm.br/material/histologia/histo/fig33.htm>. Acessado em 13 jun. 2008.
- 61 URL 4: Página oficial de Anatomia Patológica, Neuropatologia e Neuroimagem da Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: <http://anatpat.unicamp.br/bineuhistogeral.html>. Acessado em 13 jun. 2008.
- 62 URL 5: Página oficial da Liga de Neurocirurgia. Disponível em: http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=2&materia_id=450&materiaver=1 . Acessado em 13 jun. 2008.
- 63 URL 6: Página oficial da Prefrontal.org. Disponível em: <http://prefrontal.org/blog/2007/09/>. Acessado em 13 jun. 2008.
- 64 URL 7: Página oficial do World Journal of Surgical Oncology. Disponível em: <http://www.wjso.com/content/1/1/22/figure/F3>. Acessado em 13 jun. 2008.
- 65 URL 8: Página oficial do Núcleo de Aprendizagem. Disponível em: <http://www.nucleodeaprendizagem.com.br/histologia2.htm>. Acessado em 13 jun. 2008.
- 66 URL 9: Página oficial da HSW.com.br. Disponível em: <http://saude.hsw.uol.com.br/nervo4.htm>. Acessado em 13 jun 2008.

- 67 URL 10: Página oficial de Anatomia e Fisiologia Humanas da Profª. Ana Luisa Miranda Vilela. Disponível em: <http://www.afh.bio.br/nervoso/nervoso2.asp>. Acessado em 13 jun 2008.
- 68 URL 11: Página oficial do Object a Curations Creation. Disponível em: <http://www.oobject.com/mind-reading-devices/vision-lab-eeeg-harness/2149/>. Acessado em 13 jun 2008.
- 69 URL 12: Página oficial da Intelegen Inc. Disponível em: <http://www.web-us.com/brainwavesfunction.htm>. Acessado em 13 jun 2008.
- 70 URL 13: Página oficial do Trust Centre for Neuroimaging. Disponível em: <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/~mjoao/TFCRelatorio.pdf>. Acessado em 13 jun 2008.
- 71 URL 14: Página oficial do Alumni DEI/DEE IntraNet – IPT. Disponível em: http://alumni.ipt.pt/~alexrib/index_ficheiros/Page881.htm. Acessado em 13 jun 2008.
- 72 URL 15: Página oficial da LYNX TECNOLOGIA ELETRÔNICA LTDA. Disponível em: <http://www.lynxtec.com.br/medica.htm>. Acessado em 13 jun 2008.
- 73 URL 16: Página oficial do Acta Physiologica Sinica. Disponível em: <http://www.actaps.com.cn/paper/200302/article/17.HTM>. Acessado em 13 jun 2008.
- 74 URL 17: Manual da MEA – Disponível em: http://www.multichannelsystems.com/fileadmin/user_upload/Manuals/MEA_Manual.pdf. Acessado em 26 abr 2009.
- 75 VATO, A., BONZANO, L.; *et al.* **Spike manager: a new tool for spontaneous and evoked neuronal networks activity characterization.** Neurocomputing, v.58, n.60, p.1153-1161, 2004.
- 76 VERNADAKIS, A.; LAMBROPOULOS, H.F. **Cell culture as a model to study cell±cell interactions during development aging and neurodegenerative diseases.** International Journal of Developmental Neurosciense, vol. 18, p. 139-143, 2000.

Anexos

ANEXO I – Código fonte do programa *autocorr.m*.

```
%PROGRAMA QUE CALCULA A FUNÇÃO DE AUTOCORRELAÇÃO

%%%% PARAMETROS DE ENTRADA
% x = vetor linha que representa a função para o calculo da autocorrelação
% talmax = escalar que representa o comprimento do vetor Rx (quantidade de
% amostras)
% Obs: talmax deve ser menor ou igual ao comprimento de x
% Ta = periodo de amostragem (segundos)

%PARAMETROS DE SAIDA
%Rx = vetor que representa a autocorrelação de x

%=====
function Rx = autocorr(x,talmax,Ta)

L = length(x);

if talmax >= L
    disp('talmax deve ser menor ou igual ao comprimento do vetor de dados')
end

Rx(1) = (x * x')/L; % Cálculo do Rx na posição zero
%Ta = 0.0001;
for tal = 1:talmax - 1
    soma = 0;
    for i = 1:L-tal
        soma = soma + x(i)*x(i+tal);
    end
    Rx(tal+1) = soma/((L*Ta)-(tal*Ta));
end

Rx = Rx/max(Rx);
%=====
```

ANEXO II – Código fonte do programa *Rx_and_Sx_geral.m*.

```
%*****
% Este programa calcula a Autocorrelação e Densidade Espectral de Potência
% de um experimento realizado.

% Entrada:
% sinal = contem os dados de um eletrodo da MEA, vetor coluna de dimensão
3010000x1.
% janela = define o comprimento de cada trecho do sinal, escalar medido em
% amostras.
% talmax = número máximo de variação para tal, escalar medido em amostras.
% trecho = matriz de dimensão num x janela, que armazena o sinal dividido
em trechos de
% comprimento = janela.
% Ta = periodo de amostragem, escalar medido em segundos.
% f = vetor que contem as frequencias medida em Hz.
```

```

%Variaveis intermediarias:
% comp_sinal = comprimento do vetor de dados (sinal).
% num = numero de trechos em que o sinal ficou dividido.

% Saida:
% autocorrelação média = matriz de dimensão 60 x talmax.
% densidade espectral de potência média = matriz de dimensão 60 x
length(f).
% autocorrelação media do experimento = vetor linha de dimensão 1 x talmax.
% densidade espectral media do experimento = vetor linha de dimensão
%                                     1 x length(f)

%*****
clear all;
clc;

tic

janela = 20000;
talmax = 3000;
num_canal = 60; %Quantidade de canais analisados da MEA
Ta = 0.0001;
f = 1:3500;
tempo=(1:talmax)*0.0001;
Rxmedio = zeros(num_canal,talmax);
Sxmedio = zeros(num_canal,length(f));
Rx_experimento = zeros(1,talmax);
Sx_experimento = zeros(1,length(f));

for k=1:num_canal
    sinal = carregar(k);

    if k==1
        comp_sinal = length(sinal); %comp_sinal: refere-se a 5 minutos de
medida
        num = fix(comp_sinal/janela); %num: numero de linhas da matriz = 60
    end

    trecho = zeros(num,janela); %trecho: matriz que armazena os sinais
concatenados
    Rx = zeros(num,talmax);

    %Concatenização
    for i = 1:num
        trecho(i,1:janela) = sinal(janela*(i-1)+1:janela*i);
        Rx(i,:) = autocorr(trecho(i,1:janela),talmax);
    end

    Rxmedio(k,:) = mean(Rx);

    for j = 1:length(f)
        Sxmedio(k,j)= 2*sum(Rxmedio(k,:).*cos(2*pi*f(j)*tempo));
    end

    if k == num_canal
        Rx_experimento = mean(Rxmedio);
        Sx_experimento = mean(Sxmedio);
    end
end

```

```

end

save ('Experimento_359_DIV25_Nbasal_4', 'Rxmedio',
'Sxmedio', 'Rx_experimento', 'Sx_experimento')

end

toc
%*****

```

ANEXO III – Termo de consentimento livre e esclarecido.

Termo de consentimento livre e esclarecido

Eu _____, concordo em participar voluntariamente do projeto "Atlas interdisciplinar de eletroencefalografia digital quantitativa (qEEG)", trabalho este que pretende produzir um atlas de eletroencefalografia (EEG), o qual conterá traçados normais e alterados de pacientes. Foi-me explicado que meu traçado de EEG, exame que segue procedimento de rotina, diariamente realizados no HC-UFU, será utilizado no projeto, podendo caso seja selecionado, ser incluído no atlas.

Meu prontuário poderá ser acessado para obtenção de informações médicas relacionadas ao pedido do EEG. Os dados do meu EEG serão analisados e processados no Laboratório da Engenharia Biomédica- FEELT-UFU, gerando representações em função do ritmo cerebral. Também será submetido à análise médica.

Fui devidamente esclarecido de que se trata de um trabalho de estudantes de graduação da UFU, orientados pelos Profs. João Batista Destro Filho, lotado na Faculdade de Engenharia Elétrica / UFU; bem como pelo Prof. Wilson Felipe Pereira, lotado no Instituto de Ciências Médicas /UFU.

Não terei qualquer custo financeiro com a minha participação no projeto, consistindo esta apenas em concessão do traçado de eletroencefalograma para publicação em atlas de EEG. Minha privacidade será preservada e haverá total sigilo a cerca de minha identidade durante as análises médicas e informáticas de meus dados. Além disso, poderei desistir do trabalho no momento em que desejar, independente de justificativa. Poderei ser indenizado caso não sejam respeitadas as disposições deste termo.

Tenho consciência de que minha participação no projeto não implica em qualquer vínculo empregatício ou econômico com a UFU ou o Hospital de Clínicas, bem como que os direitos autorais do referido atlas serão de propriedade intelectual da UFU.

Qualquer esclarecimento poderei obter do orientador responsável, Professor Dr. João Batista Destro, telefone 3432394771, ou do Comitê de Ética e Pesquisa da UFU (CEP), telefone 3239-4331.

Nome do Paciente: _____

Nome do Responsável: _____

Grau de Parentesco: _____

Uberlândia, ____ de _____ de 2008

ANEXO IV – Questionário



1 - Nome: _____

2 - Prontuário – UFU: _____

3 - Sexo: () Masculino () Feminino

4 - Idade: _____

5 - Escolaridade: _____

6 – Indicação no pedido médico (anotar quando não houver indicação):

7 – Queixa do paciente:

8 – Anotar todas as medicações que o paciente faz uso, inclusive as não relacionadas a doenças neurológicas:

9 – Anotar co-morbidades

() hipertensão arterial

() diabetes

- () doenças de tireóide (hipo, hiper)
- () doenças renais
- () doenças hepáticas
- () outras: _____

ANEXO V – Código fonte do programa prog.m.

```
%Cálculo da Transformada de Fourier, Autocorrelação e Densidade Espectral
%p/ um sinal EEG
tic

close all

%Artefato ECG =====
clear all
clc
load Artefato_ECG

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 24;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(1)
stem(freq,abs(ft))
title({'Artefato ECG';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(2)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Artefato ECG';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(4)
stem(freq,abs(psd))
```

```

title({'Artefato ECG'; 'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Artefato Sudorese=====
clear all
clc
load Artefato_Sudorese

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 4*60+15;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(5)
stem(freq,abs(ft))
title({'Artefato Sudorese'; 'Transformada de Fourier - Espectro de
Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(6)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Artefato Sudorese'; 'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(8)
stem(freq,abs(psd))
title({'Artefato Sudorese'; 'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Assimetria =====
clear all
clc
load Assimetria

%Parâmetros:*****

```

```

Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 3*60+45;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(9)
stem(freq,abs(ft))
title({'Assimetria';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(10)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Assimetria';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(12)
stem(freq,abs(psd))
title({'Assimetria';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

% Complexo Espicula Onda Lenta =====
clear all
clc
load Complexo_espicula_Onda_lenta

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 34;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(13)

```

```

stem(freq,abs(ft))
title({'Complexo Espicula Onda Lenta';'Transformada de Fourier - Espectro
de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(14)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Complexo Espicula Onda Lenta';'Transformada de Fourier - Espectro
de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(16)
stem(freq,abs(psd))
title({'Complexo Espicula Onda Lenta';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Delta Fronto Temporal
=====
clear all
clc
load Delta_fronto_Temporal;

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 1*60+15;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(17)
stem(freq,abs(ft))
title({'Delta Fronto Temporal';'Transformada de Fourier - Espectro de
Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(18)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));

```

```

stem(freq,phrad)
title({'Delta Fronto Temporal';'Transformada de Fourier - Espectro de
Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(20)
stem(freq,abs(psd))
title({'Delta Fronto Temporal';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Movimento Ocular =====
clear all
clc
load Movimento_Ocular

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 2*60+18;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(21)
stem(freq,abs(ft))
title({'Movimento Ocular';'Transformada de Fourier - Espectro de
Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(22)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Movimento Ocular';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(24)
stem(freq,abs(psd))

```

```

title({'Movimento Ocular'; 'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Onda Aguda do Vertex Cz =====
clear all
clc
load Onda_aguda_do_Vertex_Cz

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 5*60+30;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(25)
stem(freq,abs(ft))
title({'Onda Aguda do Vertex Cz'; 'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(26)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Onda Aguda do Vertex Cz'; 'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(28)
stem(freq,abs(psd))
title({'Onda Aguda do Vertex Cz'; 'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Onda Aguda do Vertex Rf =====
clear all
clc
load Onda_aguda_do_Vertex_Rf

%Parâmetros:*****

```

```

Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 10*60+50;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(29)
stem(freq,abs(ft))
title({'Onda Aguda do Vertex Rf';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(30)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Onda Aguda do Vertex Rf';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(32)
stem(freq,abs(psd))
title({'Onda Aguda do Vertex Rf';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Reatividade Alfa =====
clear all
clc
load Reatividade_Alfa

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 2*60;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

```

```

figure(33)
stem(freq,abs(ft))
title({'Reatividade Alfa';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(34)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Reatividade Alfa';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(36)
stem(freq,abs(psd))
title({'Reatividade Alfa';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Ritmo Alfa =====
clear all
clc
load RitmoAlfa

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 5*60+6;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(37)
stem(freq,abs(ft))
title({'Ritmo Alfa';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(38)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Ritmo Alfa';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})

```

```

ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(40)
stem(freq,abs(psd))
title({'Ritmo Alfa';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Ritmo Alfa Rolândica =====
clear all
clc
load RitmoAlfaRolandica

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 5*60+6;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(41)
stem(freq,abs(ft))
title({'Ritmo Alfa Rolândica';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(42)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Ritmo Alfa Rolândica';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(44)
stem(freq,abs(psd))
title({'Ritmo Alfa Rolândica';'Densidade Espectral de Potência'})

```

```

ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Ritmo Beta =====
clear all
clc
load RitmoBeta

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 5*60+6;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(45)
stem(freq,abs(ft))
title({'Ritmo Beta';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(46)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Ritmo Beta';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(48)
stem(freq,abs(psd))
title({'Ritmo Beta';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

%Ritmo Delta =====
clear all
clc
load RitmoDelta

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);

```

```

f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 4*60+45;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(49)
stem(freq,abs(ft))
title({'Ritmo Delta';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})
ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(50)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Ritmo Delta';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(52)
stem(freq,abs(psd))
title({'Ritmo Delta';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

% load RitmoTeta
%Ritmo Teta =====
clear all
clc
load RitmoTeta

%Parâmetros:*****
Ta = 0.004;
talmax = length(Matriz_singular);
f_inicial = 0;
incremento = 1;
f_final = 125;
tfinal = 5*20+21;
%*****

freq = f_inicial:incremento:f_final;
t = linspace (0,tfinal,length(Matriz_singular));
ft = transformada3(Matriz_singular,t,Ta,freq);

figure(53)
stem(freq,abs(ft))
title({'Ritmo Teta';'Transformada de Fourier - Espectro de Amplitude'})

```

```

ylabel('Amplitude')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

figure(54)
ph = phase(ft);
phrad = ph-2*pi*fix(ph/(2*pi));
stem(freq,phrad)
title({'Ritmo Teta';'Transformada de Fourier - Espectro de Fase'})
ylabel('Amplitude (rad)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

aut = autocorr(Matriz_singular,talmax,Ta);

psd = transformada3(aut,t,Ta,freq);

figure(55)
stem(freq,abs(psd))
title({'Ritmo Teta';'Densidade Espectral de Potência'})
ylabel('Amplitude (W/Hz)')
xlabel('Frequência (Hz)')
grid on

toc

```