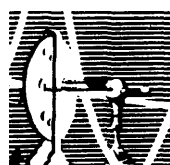


ERIKA DE CARVALHO RODRIGUES

“PLASTICIDADE CEREBRAL APÓS AMPUTAÇÃO DE  
MEMBRO SUPERIOR”

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE  
JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE  
DOUTOR EM CIÊNCIAS



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências da Saúde  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho  
2 0 0 8

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ERIKA DE CARVALHO RODRIGUES

PLASTICIDADE CEREBRAL APÓS  
AMPUTAÇÃO DE MEMBRO  
SUPERIOR

UFRJ

Erika de Carvalho Rodrigues

## **PLASTICIDADE CEREBRAL APÓS AMPUTAÇÃO DE MEMBRO SUPERIOR**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia)

Orientador: Claudia Domingues Vargas

Rio de Janeiro  
2008



Erika de Carvalho Rodrigues

**PLASTICIDADE CEREBRAL APÓS AMPUTAÇÃO DE MEMBRO  
SUPERIOR**

Rio de Janeiro, 22 de Dezembro de 2008

\_\_\_\_\_. Orientadora  
Prof. Dra. Claudia Vargas

\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Eliane Volchan, IBCCF-UFRJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Roberto Lent, ICB-UFRJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. João Pereira Leite, FMRP-USP

*Dedico estas páginas ao Espírito Santo*

## AGRADECIMENTOS

À Tita, meu grande exemplo de inteligência, determinação, ética e amizade ao longo dessa década que se passou desde o meu ingresso como aluna de graduação na UFRJ;

Aos meus pais que me deram todo o suporte e incentivo ao longo de toda minha vida e me permitiram estar aqui hoje;

À minha irmã Fernanda que além de amiga me dá o auxílio “lingüístico” necessário em todas as etapas desse trabalho;

À minha família, avôs, tios e primos pelo estímulo constante e a compreensão nos momentos em que eu não pude estar presente;

A toda a equipe do laboratório de neurobiologia II, pelos exemplos, ensinamentos, carinho, companheirismo e amizade. Especialmente à Laura, Maitê, Ghislain, Tiago, Anaelli e Rubens: sem vocês essa tese jamais estaria pronta! Além disso, eu precisaria pagar um psicólogo... rs

Ao Aurê e Marquinhos que sempre acreditaram em mim, me apresentaram o fascinante mundo da pesquisa e seguem até hoje ao meu lado me ensinando.

À Angela Sirigu, grande cientista e mestre, que desde a primeira vez que me encontrou me acolheu e deu todo o suporte para a execução desses projetos e para que me sentisse em casa no Institut des Sciences Cognitives.

Ao João pelo companheirismo, auxílio nos projetos e cuidado comigo;

A todos os meus amigos de trabalho de Lyon, especialmente Karen, Catherine, Pascal e Antoine.

Aos pacientes que participaram dos projetos inclusos nesse documento e também os que participaram dos outros projetos executados ao longo desse doutorado, eles me ensinaram muito sobre a beleza e a responsabilidade da carreira científica.

A Polícia Militar e o Governo do Estado do Rio de Janeiro que me permitiram permanecer por um ano na França, propiciando assim o meu aprimoramento profissional, especialmente ao Cel Marcio, Cel Moreira, Cel Rabelo e Dr. Líbero que não pouparam esforços para tornar esse sonho possível;

Aos meus companheiros de trabalho no Centro de Fisiatria e reabilitação que sempre me ajudaram a cumprir minhas funções e realizar o doutorado em paralelo;

Aos meus amigos, do colégio, da faculdade, do IBCCF, da Tijuca, forro, fisioterapia... tantas pessoas diferentes que precisaria de algumas páginas para citar todos os nomes. Sempre presentes na minha vida vocês me deram força e me ajudaram a relaxar quando necessário, garantindo condições emocionais para seguir em frente;

Ao Rodrigo pela compreensão, suporte e por me fazer feliz na fase mais difícil desse trabalho, o ano de conclusão;

À banca examinadora, por aceitar o convite e pelas valiosas contribuições. Especialmente ao professor Mario e professora Eliane, pelos ensinamentos ao longo de toda a pós-graduação.

RODRIGUES, Erika de Carvalho. **Plasticidade Cerebral Após Amputação de Membro Superior**. Rio de Janeiro, 2007. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Fisiologia)) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008

## RESUMO

Após a amputação de um membro em humanos ocorrem mudanças na topografia do córtex motor primário (M1), com a expansão da representação cortical de áreas adjacentes somatotopicamente sobre a área do córtex antes devotada à representação do membro perdido. Essas modificações podem ser reversíveis após o transplante de mãos. O primeiro objetivo deste trabalho foi estudar se o transplante bilateral das mãos em um paciente amputado resulta no aparecimento de uma representação cortical em M1 da musculatura intrínseca das mãos. Foi realizado o acompanhamento longitudinal de um paciente amputado, submetido ao transplante bilateral de mãos durante trinta e dois meses. Com o uso de estimulação magnética transcraniana, foi observado que os músculos intrínsecos da mão, provenientes do doador, adquirem uma representação em M1. Esse mapeamento da musculatura intrínseca foi acompanhado de modificações assimétricas nas representações da musculatura proximal nos membro direito e esquerdo e na relação entre as representações da musculatura envolvida nos movimentos da mão e do braço. O segundo objetivo deste trabalho foi estudar se a plasticidade relativa à representação cortical de um membro amputado estende-se além de M1. Medindo o potencial de prontidão, por meio da eletroencefalografia, observou-se que voluntários amputados não apresentaram predição de movimento de outrem baseando-se nos mecanismos de preparação motora quando esse era desempenhado com o membro correspondente ao amputado. A ausência da informação sensorial e dos comandos motores relativos a um membro alteram sua representação em diferentes níveis do sistema motor. Além disso, as modificações em M1 podem ser revertidas, com o retorno das representações da musculatura intrínseca a partir das informações aferentes e eferentes de um membro transplantado.

RODRIGUES, Erika de Carvalho. **Plasticidade Cerebral Após Amputação de Membro Superior**. Rio de Janeiro, 2007. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Fisiologia)) – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008

## ABSTRACT

The somatotopic representation of body maps in the human cortical mantle is modified as a result of a member amputation such as an arm. Different methodologies have revealed that the cortical areal representation of the amputated member diminishes in favor of those representing neighboring counterparts. Nevertheless, these plastic changes are reversible after hand allograft. The goal of the present work was to evaluate if the intrinsic muscles of the transplanted hand become represented in the primary motor cortex (M1) after hand allograft. A longitudinal evaluation of thirty two months was performed in an amputated patient who benefited from bilateral hand allograft. Transcranial magnetic stimulation revealed that the intrinsic hand muscles, pertaining to the donor become represented in the M1 of the grafted patient. The time course of this phenomenon was different for each hand and concomitant with changes in the motor representation from the proximal muscles. The overlap of different muscles representation also differs between both hands. The second goal of the present work was to determine if the cortical plasticity observed in amputated patients extends to other cortical areas beyond M1. The Redness Potential, measured by electroencephalography, in patients with unilateral upper-limb amputation showed that cortical reorganization is not restricted to M1. Control subjects, but not the amputated ones could predict another person movement based on their motor preparation mechanisms. The absence of motor anticipation shown by amputees was observed only when the impending action was performed with a hand corresponding to their amputated one. In conclusion, the absence of sensorial inputs and motor commands related to the hand induces reorganization at multiple levels of the motor system. Furthermore, at least in M1, the map modification can be reverted with the recovery of afferent and efferent inputs related to a grafted hand.

# Sumário

Sumário.....	1
<b>1 Introdução geral .....</b>	<b>2</b>
1.1 Formulação.....	8
<b>2 Plasticidade em M1 após o transplante bilateral de mãos .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
2.1.1 Mapeamento das representações motoras com a TMS.....	12
2.1.2 Sobreposição das representações motoras: .....	14
2.1.3 Objetivo:.....	17
<b>2.2 MÉTODOS: .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Aquisição e análise dos sinais: .....	18
<b>2.3 RESULTADOS: .....</b>	<b>25</b>
2.3.1 Musculatura intrínseca da mão: reaparecimento dos mapas em M1.....	25
2.3.2 Musculatura extrínseca da mão e proximal do membro superior .....	29
2.3.3 Sobreposição das representações motoras: .....	32
2.3.3.1 Relação entre representação da musculatura proximal e as musculaturas extrínseca e intrínseca da mão: .....	32
2.3.3.2 Relação entre musculatura extrínseca de controle da mão (FDS) e musculatura proximal (BB) e intrínseca (OP):.....	34
<b>2.4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
2.4.1 Mapeamento da musculatura intrínseca.....	37
2.4.2 Mapeamento da musculatura extrínseca.....	38
2.4.3 Relações entre representações .....	41
2.4.4 Origem das modificações no córtex motor primário .....	42
<b>3 Antecipação de movimentos em amputados crônicos de membro superior .</b>	<b>44</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>45</b>
3.1.1 Estados de Simulação .....	45
3.1.2 Circuito parieto-frontal e observação de movimentos .....	45
3.1.3 Estados S em pessoas amputadas .....	56
3.1.4 Potencial de prontidão .....	60
3.1.5 Objetivo .....	62
<b>3.2 MÉTODOS .....</b>	<b>63</b>
3.2.1 Amostra e paradigma experimental .....	63
3.2.2 Aquisição e análise dos sinais .....	65
<b>3.3 RESULTADOS .....</b>	<b>68</b>
<b>3.4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>4 Discussão geral.....</b>	<b>75</b>
4.1 Circuito parieto-frontal e as representações de movimento.....	75
4.2 Plasticidade após treinamento com visualização de movimentos.....	79
<b>5 Estado atual dos projetos e perspectivas.....</b>	<b>83</b>

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

Até os anos 80, acreditava-se que, uma vez estabelecidas durante o desenvolvimento, as representações sensório-motoras no cérebro de mamíferos tornavam-se estáveis, permanecendo fixas por toda a vida adulta. Mais recentemente, tem se demonstrado que essas representações são dinâmicas e estão em constante mudança, em função do aprendizado e da experiência individual (Buonomano & Merzenich, 1998).

Assim, ao longo da vida do animal modificações estruturais e/ou funcionais das conexões neurais permitem a aquisição de novos padrões comportamentais. A plasticidade neural consiste no conjunto de mecanismos pelos quais estas modificações são implementadas (Buonomano & Merzenich, 1998; Kaas, 1991). É hoje consenso de que os mecanismos de plasticidade constituem a base fisiológica para o funcionamento normal do encéfalo humano (Buonomano & Merzenich, 1998; Garraghty & Kaas, 1992).

No domínio da fisiologia do movimento, a compreensão do modo de operar dos sistemas somato-motores, assim como dos mecanismos que subjazem a capacidade de reorganização que acompanham lesões encefálicas ou da periferia corporal em mamíferos (Nudo et al., 1996; Nudo & Milliken, 1996; Nudo, 1999; Pons et al., 1991; Sanes et al., 1990) pode trazer benefícios diretos à sociedade com o surgimento e a implementação de estratégias de reabilitação mais eficientes no tratamento de alterações comportamentais induzidas por lesões centrais (Chollet et al., 1991) e periféricas (Lundborg, 2003).

A chamada “reorganização” na topografia das representações corticais sensitivas e motoras primárias vem sendo amplamente demonstrada após amputação de um membro em humanos. As áreas corticais que perdem a aferência



da parte do corpo a ela relacionada não permanecem silenciosas, elas passam a responder a estimulação sensorial de partes do corpo com a expansão da representação cortical de áreas adjacentes somatotopicamente sobre a área do córtex deaferentada após a amputação (PascualLeone et al., 1996; Flor et al., 1995).

A análise das reorganizações motoras ligadas à amputação foi feita, inicialmente, através de estimulações elétricas da superfície cortical na ocasião de algumas raras cirurgias cerebrais executadas em pacientes amputados (Ojemann & Silbergeld, 1995; Woolsey et al., 1952). A estimulação elétrica cortical de áreas do córtex motor primário previamente devotadas ao controle da mão amputada produz movimento ou contração muscular de partes do corpo representadas em posição adjacente à região corporal agora inexistente no mapa somatotópico cortical (Ojemann & Silbergeld, 1995). Esse resultado sugere que o córtex privado passou a se destinar ao controle dos músculos proximais remanescentes.

Mais recentemente, estudos empregando técnicas não-invasivas como a estimulação magnética transcraniana (TMS) (Cohen et al., 1991; Dettmers et al., 1999; PascualLeone et al., 1996; Roricht et al., 1999); Tomografia por emissão de positrons (TEP) (Kew et al., 1994a) e ressonância magnética funcional IRMf (Lotze et al., 1999) apontam na mesma direção, com uma expansão da representação motora do coto em direção à do segmento do membro amputado e, mais raramente, uma expansão do rosto em direção à representação da mão amputada.

Após a retirada do membro, o paciente freqüentemente experimenta uma sensação vívida da presença do mesmo, fenômeno denominado de membro fantasma. Essas sensações têm sido entendidas como um indício da reorganização cortical e podem estar associadas a sensações mecânicas térmicas e dolorosas, sendo que alguns pacientes são capazes até mesmo de mover voluntariamente seu

membro fantasma (Knecht et al., 1998; Ramachandran et al., 1992; Ramachandran & Hirstein, 1998).

Esses movimentos do membro fantasma foram estudados por Mercier e colaboradores (2006) empregando a TMS. Os autores analisaram as sensações de movimento deflagradas pela estimulação do córtex motor. Esse estudo tinha como objetivo testar se a expansão da representação dos músculos remanescentes, amplamente descrita conforme resumido anteriormente, pode coexistir no córtex motor primário (M1) com a representação da mão amputada. Todos os voluntários eram amputados com nível acima do cotovelo e reportaram movimentos involuntários da mão fantasma quando tiveram estimulada a região de representação da mão contralateral ao seu membro amputado em M1. Além disso, os sítios de estimulação que evocaram movimentos fantasmas dos dedos apresentaram grande grau de sobreposição com os que evocaram respostas na musculatura do coto. Juntos, esses dados são indicativos de que a representação motora da mão ausente persiste em M1 após amputação, na mesma região cortical originalmente relacionada aos seus comandos eferentes e que essa mesma região também é relacionada à representação expandida dos músculos do coto (Mercier et al., 2006).

Além de modificar as representações de movimentos, em macacos, a amputação crônica também é capaz de modificar a conectividade cortical. Florence e colaboradores (1998) em um estudo anatômico, injetaram traçadores bidirecionais na representação da mão pertencente à área 1 do córtex somato-sensorial de animais normais e com amputação traumática crônica (1 a 10 anos de lesão). A análise dos neurônios marcados revelou que os animais amputados apresentaram

expansão das conexões laterais no córtex somato-sensorial nas áreas 1 e 3 (Florence et al., 1998) .

Wu e Kaas (1999) estudaram, com o auxílio de marcadores retrógrados, a distribuição de neurônios córtico-espinhais em dois macacos que sofreram amputação traumática unilateral de um membro superior. Nesse estudo, traçadores foram injetados bilateralmente nos segmentos cervicais baixos (a partir de C6) da medula, tipicamente relacionados aos movimentos da mão. A análise da localização cortical dos neurônios marcados no córtex mostrou um padrão semelhante nos dois hemisférios: as células marcadas eram neurônios piramidais de vários tamanhos, localizadas na camada 5 do córtex, sugerindo a manutenção da integridade da conexão direta do córtex com a medula após a amputação (Wu & Kaas, 1999).

O mesmo grupo de pesquisadores realizou também a injeção de traçadores retrógrados nos músculos remanescentes do coto em primatas não humanos. A análise dos neurônios marcados revelou que os motoneurônios medulares privados, que antes supriam músculos da mão, não degeneraram após a amputação de um membro e encontram novos alvos, passando a inervar músculos proximais. Essas mudanças nas conexões dos motoneurônios medulares com os músculos podem contribuir para a reorganização cortical, já que o recrutamento de neurônios corticais que outrora foi responsável pelo recrutamento de motoneurônios relacionados ao movimento da mão passa a evocar uma contração proximal e o conseqüente feedback somático e visual a ela pertinentes (Wu & Kaas, 2000).

Além disso, a perda do membro induz redução do tamanho celular e da arborização dos motoneurônios alfa medulares no grupo de neurônios que controlavam músculos distais, não afetando os motoneurônios gama (Wu & Kaas, 2000). Essa atrofia pode ser similar à que ocorre no envelhecimento e após lesão

nervosa periférica (Hashizume et al., 1988; Mittal & Logmani, 1987; Vanden et al., 1993) e pode explicar a redução no volume do corno anterior, observada após perda crônica do membro (Wu & Kaas, 2000).

No ser humano o registro da atividade elétrica dos nervos periféricos de pacientes amputados mostra que, ao tentarem mover voluntariamente a mão fantasma, eles continuam gerando atividade nas fibras nervosas lesionadas do coto que anteriormente supriam os músculos do membro faltante (Dhillon et al., 2004; Dhillon et al., 2005). De fato, já em 1993, Ramachandran havia descrito contrações dos músculos do coto de amputados enquanto os mesmos buscavam movimentar os dedos fantasmas (Ramachandran, 1993). Esse relato foi confirmado recentemente por Reilly e colaboradores (2006) que registraram a atividade eletromiográfica de músculos pertencentes ao coto de amputados do membro superior enquanto os mesmos eram instruídos a realizar uma série estabelecida contendo diversos movimentos voluntários da mão fantasma (Reilly et al., 2006). Os autores mostraram que a intenção de realizar movimentos distintos da mão está associada com padrões de atividade eletromiográfica de diferentes músculos do coto de amputados com nível de amputação tanto acima como abaixo do cotovelo. Com base nesses resultados, foi proposto que a aparente invasão da região cortical do membro ausente não elimina a representação desse membro (Reilly & Sirigu, 2008). Além disso, é possível que os circuitos corticais motores envolvidos no controle da mão, e as projeções descendentes relacionadas a esses circuitos, sejam distintamente ativados durante a produção de diferentes movimentos com o membro fantasma (Reilly et al., 2006).

Além das amputações traumáticas ou cirúrgicas que ocorrem na infância ou vida adulta, após o desenvolvimento do membro, existe outra categoria de pacientes

que não possuem um membro: os portadores de agenesia. Nesses pacientes o membro não se formou ou teve sua formação incompleta durante o desenvolvimento embrionário. Ou seja, embora as características físicas externas desses pacientes sejam semelhantes às de amputados, no caso da agenesia os nervos não foram seccionados, o que houve foi uma alteração do desenvolvimento do membro.

Hall e colaboradores (1990) mostraram que, assim como na amputação tardia, pacientes com agenesia também apresentam menor limiar de estimulação, além de um aumento de representação dos músculos do coto quando examinados com TMS (Hall et al. 1990). Contudo, Montoya e colaboradores (1998) não identificaram com EEG diferenças entre os hemisférios no córtex somato-sensorial em amputados congênitos unilaterais (Montoya et al., 1998). De acordo com o último achado descrito está o resultado de Flor e colaboradores (1998) que, através da técnica de magnetoencefalografia (MEG), identificaram uma reorganização mínima, não significativa no córtex somatossensorial desses pacientes (Flor et al., 1998).

Outro estudo empregou as técnicas de PET e TMS para explorar as representações dos músculos envolvidos no movimento do ombro em pacientes com agenesia unilateral de membro superior. Os autores identificaram uma pequena diferença entre os dois hemisférios nos três pacientes examinados, caracterizada por um pequeno aumento, porém não significativo, da ativação dos córtices somato-sensorial e motor primários (Kew et al., 1994b). Sendo assim, os estudos sobre a plasticidade relacionada à agenesia de um membro ainda não são conclusivos tornando ainda mais difícil responder qual a importância da informação sensorial e dos comandos motores para a construção e manutenção das representações sensório-motoras.

## **1.2 Formulação**

A presente tese de doutorado tem como objetivo contribuir para o entendimento da re-organização funcional das representações motoras de humanos adultos. Mais especificamente, foram exploradas as conseqüências de modificações nas informações sensório-motoras decorrentes de alterações periféricas referentes ao membro superior. Dois estudos diferentes foram realizados. O primeiro teve como objetivo testar se o córtex motor de amputados crônicos de membro superior é capaz de representar novamente os músculos da mão. O segundo estudo teve como objetivo verificar se outras instâncias de representação de movimentos são afetadas após a amputação, além de M1. Esses dois projetos serão descritos e contextualizados em detalhes separadamente nos próximos capítulos.

## **2. Plasticidade em M1 após o transplante bilateral de mãos**

## 2.1 INTRODUÇÃO

Como exposto na introdução geral, a amputação de um membro está associada a modificações nas representações daquele membro no sistema nervoso central. Esse fato remete ao questionamento sobre a reversibilidade dessa reorganização. O transplante de mãos em humanos é uma oportunidade ímpar para estudar essa possibilidade. Esse tipo de transplante é uma cirurgia complexa, que consiste em conectar músculos, tendões, vasos sanguíneos e nervos de um doador às mesmas estruturas de um paciente amputado (Dubernard et al., 1999; Dubernard et al., 2003). O implante da mão de um doador ofereceu pela primeira vez a oportunidade de se estudar se o membro transplantado adquire representação em M1, assim como os seus efeitos sobre as reorganizações provocadas pela amputação.

Para facilitar o entendimento das conseqüências da amputação de mãos, assim como da cirurgia de transplante, adotaremos a divisão dos músculos do membro superior de humanos em três grupos, dependendo de sua localização anatômica e função. O primeiro grupo, o proximal, inclui os músculos localizados no braço, responsáveis primariamente por movimentar as articulações do ombro e cotovelo. Esse grupo não sofre influência direta da amputação. O segundo grupo, que corresponde ao grupo extrínseco de controle dos movimentos da mão, inclui os músculos que possuem o ventre localizado na região do antebraço (abaixo do cotovelo), e que são responsáveis primariamente por movimentos do punho e da mão. Esse grupo está parcialmente preservado no caso da amputação de mão, no entanto, não se encontrando com função normal, haja vista que seu objeto de ação, a mão, não está presente. Já o terceiro, e último grupo, é o dos músculos intrínsecos da mão, constituído por músculos que possuem seu ventre e ação na mão (figura 1).





**Figura 1.** Desenho de um membro superior humano mostrando os diferentes grupamentos musculares. Intrínsecos: músculos com ventre muscular localizado na mão e ação sobre a mesma; extrínsecos: músculos com ventre muscular no antebraço e ação sobre punho e mão e proximais: músculos com ventre no braço e ação sobre o ombro e cotovelo. Figura adaptada de [http://www.voxel-man.de/3d-navigator/upper\\_limb/images/arm\\_colored.jpg](http://www.voxel-man.de/3d-navigator/upper_limb/images/arm_colored.jpg)

Estudos empregando a técnica de Imagem por ressonância magnética funcional (IRMf), no exame de pacientes transplantados, haviam mostrado a reversibilidade das modificações plásticas decorrentes da amputação de um membro em M1 (Brenneis et al., 2005; Giroux et al., 2001). Por exemplo, Giroux e colaboradores (2001) relataram que seis meses após a cirurgia, as representações referentes às mãos de um paciente submetido ao transplante bilateral voltaram a ocupar a área devotada ao seu controle. No entanto, esse estudo empregou os movimentos do cotovelo e a flexão e extensão dos dedos, que envolvem tanto a musculatura intrínseca como extrínseca da mão. Além disso, a técnica de IRMf evidenciou uma ativação na área correspondente à representação da mão em M1,

porém nessa região também estão sobrepostas as representações de músculos extrínsecos e intrínsecos (Giroux et al., 2001; Schieber & Hibbard, 1993). Sendo assim, esse estudo não possibilitou responder especificamente se os músculos intrínsecos da mão, provenientes do doador, adquirem uma representação funcional em M1, pergunta que pretendemos responder no presente projeto.

Para abordar essa questão, iremos empregar a técnica de TMS, uma técnica não invasiva que permite realizar o mapeamento da representação motora dos músculos individuais no córtex, inclusive os intrínsecos da mão (Barker et al., 1985).

### ***2.1.1 Mapeamento das representações motoras com a TMS***

A TMS opera a partir do princípio da indução eletromagnética de Faraday, que postula que uma corrente elétrica, ao passar em uma bobina, induz um campo magnético, que, por sua vez, é capaz de induzir uma corrente elétrica em um meio condutor. Durante o exame, uma corrente (cujas intensidade máxima é de cerca de 8000 Amperes) passa rapidamente por uma bobina posicionada sobre o escalpo do voluntário. O campo elétrico gerado por essa passagem promove a indução de um campo magnético, com linhas de fluxo perpendiculares à bobina e intensidade entre 1,5-2,5 Tesla, nas proximidades da bobina. A intensidade máxima do campo é atingida em cerca de 100  $\mu$ s, caindo rapidamente após este intervalo de tempo. Esse campo magnético promove, dentro do crânio do voluntário, a indução de um novo campo elétrico, também perpendicular ao campo magnético. Como o crânio e o couro cabeludo apresentam alta resistência elétrica, a corrente que flui nestas estruturas é mínima, diminuindo o desconforto que poderia ser causado por excitação de terminações nociceptivas. No córtex, os meios condutores são estruturas neurais localizadas em direção aproximadamente paralela à da bobina, a uma profundidade de 1,5-2 cm abaixo da superfície. O campo induzido no tecido

cerebral é de cerca de 100 mV/mm. Desta forma, são geradas correntes elétricas no córtex cerebral (Conforto et al., 2003; Walsh & Cowey, 2000).

Para o mapeamento, inicialmente é necessário localizar o “*hot spot*”, ou local preferencial, que é o ponto no couro cabeludo onde a estimulação magnética evoca resposta de amplitude máxima no músculo-alvo. Em seguida, estimulam-se pontos adjacentes, se afastando progressivamente do local preferencial até que não se encontre mais potenciais evocados motores (PEMs) (Brasil-Neto et al., 1992; Cohen et al., 1998; Hallett, 2000).

A resolução espacial do mapa dependerá, entre outros fatores, do formato da bobina empregada. A bobina “em forma de 8” é a mais amplamente utilizada para estimulação focal do córtex, com resolução espacial de cerca de 0,5 cm. Em voluntários normais, a área, o volume e o centro de gravidade, ou ponto da média ponderada, desses mapas de ativação, obtidos para músculos envolvidos no movimento da mão, não variam de forma significativa se testados repetidamente ao longo do tempo (Mortiffee et al., 1994). Sendo assim, o mapeamento com a TMS pode ser empregado para definir o efeito de diferentes intervenções na representação cortical de músculos individuais em humanos. Para realizar esse mapeamento de M1 a bobina é colocada no couro cabeludo, na região correspondendo grosseiramente ao giro pré-central. A estimulação ativa, predominantemente, interneurônios, situados a uma pequena distância da superfície cortical, que por sua vez, mantêm conexões sinápticas com o feixe córtico-espinhal (Ziemann et al., 1998).

Dependendo da angulação da bobina sobre o couro cabeludo, é possível que os neurônios de cujos axônios compõem o feixe córtico-espinhal sejam estimulados diretamente (Mills, 1999). A estimulação indireta (“trans-sináptica”) ou direta do feixe

córtico-espinal promove excitação de circuitos motores medulares e, finalmente, de unidades motoras. Através de eletrodos de superfície colocados sobre músculos contralaterais ao hemisfério estimulado, registra-se o PEM, que representa a despolarização de fibras musculares pertencentes às unidades motoras estimuladas.

No presente estudo, foi realizado o mapeamento de diferentes músculos no quadro de um acompanhamento pré e pós-operatório prolongado em um paciente submetido ao transplante bilateral de mãos empregando a TMS em ambos os hemisférios cerebrais para verificar se, anos após a amputação, a musculatura intrínseca da mão proveniente do doador adquire uma representação em M1. Foi realizado, ainda, o acompanhamento longitudinal das alterações nas representações motoras da musculatura proximal do membro superior e da musculatura extrínseca de controle da mão do paciente.

### ***2.1.2 Sobreposição das representações motoras:***

Desde os estudos de John Hughlings Jackson (1884), que sugeriram que o controle de movimentos de diferentes regiões corporais era organizado em territórios corticais específicos, até os estudos mais sistemáticos e detalhados com estimulação cortical ao longo do giro pré-central, sabe-se que M1 contém um mapa motor somatotopicamente organizado (revisão em Woolsey et al., 1952).

No entanto, após o desenvolvimento de técnicas mais sofisticadas de microestimulação (Stoney, Jr. et al., 1968), e de estudos detalhados utilizando modelos animais, principalmente de primatas não humanos, tem sido sugerido que não existe uma organização somatotópica tão rígida. Embora tenha sido demonstrado que em M1 existem territórios bastante distintos para as grandes regiões do corpo, como para a cabeça, os membros e o tronco, hoje se sabe que no seio dessas sub-regiões existe uma representação em mosaico com múltiplas

representações de movimentos individualizados repetidas e interdigitadas (entrelaçadas) com outras representações (Schieber, 2001). Isso pode explicar, por exemplo, porque lesões restritas em M1 raramente afetam um único segmento corporal (Schieber, 1999), reforçando a hipótese de que as representações em M1 não se ocupam do controle específico de pequenas porções da periferia corporal.

Além disso, no modelo primata, mostrou-se haver uma alta divergência das projeções córtico-espinais, com neurônios corticais projetando-se simultaneamente para motoneurônios proximais e distais (Shinoda et al., 1979). Registros eletrofisiológicos revelam que esses neurônios raramente controlam uma única articulação (Schieber & Hibbard, 1993). Músculos intrínsecos e extrínsecos envolvidos no movimento da mão devem agir em paralelo possibilitando interagir com diferentes objetos e realizar atividades de vida diária (Santello & Fuglevand, 2004; Weiss & Flanders, 2004; Schieber, 1995). Mesmo os componentes de alcance, relacionados ao movimento de partes proximais do braço e do tronco, e de preensão, diretamente relacionados aos músculos da mão, não são independentes (Soechting & Flanders, 1993). Em conclusão, nos sujeitos normais os movimentos estão organizados de modo a comporem as chamadas “sinergias motoras” (Santello et al., 1998; Weiss & Flanders, 2004), que constituem os módulos elementares para a execução de um movimento coordenado.

Estudos utilizando a IRMf e a TMS têm revelado uma sobreposição importante nas representações de movimentos distais e proximais em M1 (Grafton et al., 1993; Wassermann et al., 1992). Técnicas de neuroimagem indicam que embora os picos de ativação encontrados para movimentos diferentes sejam organizados somatotopicamente existe uma grande sobreposição nas ativações individuais (Kleinschmidt et al., 1997; Lotze et al., 1999).

As representações em M1 são dinâmicas. O aumento do uso de determinado músculo aumenta sua área de representação cortical em humanos (Pascual-Leone & Torres, 1993). Uma evidência de que a reorganização dos mapas motores está relacionada ao aprendizado de habilidades motoras é que a remoção das entradas colinérgicas que chegam ao córtex motor antes do treinamento motor impede tanto as modificações dos mapas motores associadas ao aprendizado como o próprio aprendizado de habilidades (Conner et al., 2003).

Uma habilidade motora se forma através da seleção e repetição de sinergias motoras bem sucedidas, a partir de um grande número de sinergias potenciais. Esse mosaico existente em M1 facilita a formação de novas sinergias musculares com o treinamento, através de modificações no padrão de interconectividade neuronal. Mais especificamente, esse processo deve ocorrer através de modificações de conectividade entre grupos específicos de neurônios e modificações nas eficiências sinápticas (Hess & Donoghue, 1994).

McNamara e colaboradores (2007) empregaram a técnica IRMf para investigar as modificações em M1 relacionadas ao aprendizado de uma nova sinergia. Os voluntários foram examinados antes e após o treinamento de uma nova sinergia motora, a co-contração entre o abdutor do polegar e deltóide, e os autores mostraram modificações na conectividade entre as representações dos dois grupos musculares em M1 (McNamara et al., 2007). O mesmo estudo revelou, ainda, um deslocamento da representação do músculo da mão (abdutor do polegar) com o treinamento. De grande relevância foi o achado que especialmente no grupo que teve uma melhora gradativa no desempenho motor, caracterizando um aprendizado dependente do treinamento executado, esse deslocamento ocorreu na direção da representação do outro músculo envolvido na tarefa, o deltóide.

Baseados nas características das representações motoras em M1 e nos seus resultados, os autores propuseram que um aumento da sobreposição entre os mapas motores ocorre como consequência do aumento do uso de diferentes músculos de forma sinérgica em humanos.

### **2.1.3 Objetivo:**

No presente estudo, foi empregada, pela primeira vez, a TMS no exame de um paciente submetido ao transplante de mãos, com o registro simultâneo de vários músculos. Essa técnica foi escolhida por permitir investigar os mapas dos músculos individualmente em M1. O objetivo do presente estudo é verificar se a musculatura intrínseca, proveniente do doador, passa a ser representada no córtex do paciente amputado, receptor do transplante bilateral de mãos e qual o curso temporal desse fenômeno. Investigamos ainda a relação e o grau de sobreposição entre as representações da musculatura intrínseca com a extrínseca e a proximal do paciente e entre a extrínseca e a proximal ao longo do tempo com o retorno do paciente às suas atividades de vida diária de forma independente.

## **2.2 MÉTODOS:**

O paciente BY, destro, de 23 anos, foi vítima de amputação bilateral das mãos em um acidente com máquina agrícola aos 19 anos. O nível da amputação foi o terço médio do antebraço direito, atingindo o terço distal do antebraço esquerdo (figura 2). O paciente usou uma prótese mioelétrica por 03 anos à direita e por 01 ano à esquerda. Em maio de 2003, submeteu-se à cirurgia de transplante em Lyon na França. Durante o procedimento ocorreu uma trombose da artéria ulnar direita e, aproximadamente 02 meses após a cirurgia, o paciente apresentou osteomielite na

ulna esquerda que regrediu completamente após 06 meses de tratamento com antibióticos (Petruzzo et al., 2006).

A.



B.



**Figura 2.** A) Foto do paciente BY antes de receber o transplante com os antebraços pronados para evidenciar o nível de amputação. B) Foto do paciente após o transplante.

Foram realizados os mapeamentos das representações dos músculos do braço e do antebraço antes e após do transplante bilateral de mãos, além do mapeamento pós-operatório das representações dos músculos da mão em M1, com auxílio da TMS. Os testes foram realizados 11 meses antes e 2, 10, 17 e 26 meses depois do transplante no Instituto de Ciências Cognitivas, CNRS, Lyon, França. Um grupo controle composto por 05 voluntários saudáveis pareados em idade foi também testado.

### **2.2.1 Aquisição e análise dos sinais:**

Os voluntários se sentaram confortavelmente em uma cadeira de palha e madeira com os membros superiores apoiados e relaxados. Todos os voluntários usaram uma touca contendo uma marcação em grade que definia um conjunto de pontos intervalados de 1 em 1 cm, cobrindo uma área de 10 x 10 cm em torno do vértex (definido como a interseção de uma linha ligando o meato acústico externo



de uma orelha a outra com uma segunda linha , antero-posterior, ligando a região entre as sobrancelhas ao occipital). De forma a permitir uma melhor localização espacial, com o objetivo de identificar a região específica do córtex de cada voluntário sobre a qual estava localizado cada um dos sítios de aplicação dos pulsos da TMS, a partir do exame de 10 meses após a cirurgia foi empregado um sistema de co-registro desenvolvido por Noirhomme e colaboradores (2004). Esse sistema permite, com auxílio de um dispositivo magnético, (Polhemus Isotrack II ®), mapearmos o escalpo do sujeito de modo a possibilitar a localização dos sítios estimulados em tempo real sobre a imagem de ressonância magnética nuclear anatômica do próprio sujeito, obtida previamente.

Nesse sistema, o registro entre pontos do espaço físico do escalpo digitalizado e a ressonância magnética do indivíduo é realizado através de uma variação do algoritmo de reconhecimento de Pelizzari, que tem como finalidade encontrar a transformação rígida que minimize a distância média entre os pontos adquiridos e a superfície. Para a transformação, foram digitalizados 200 pontos com o auxílio do sistema Polhemus Isotrack II ®, um digitalizador de campo magnético que permite medir as coordenadas em 3D e as orientações em um espaço físico. Um emissor foi posicionado perto do crânio do voluntário e dois receptores foram empregados. O primeiro, fixado na testa do voluntário, servia como referência da posição da cabeça no espaço e permitia sua movimentação, dispensando o uso de apoiadores durante o exame. O segundo receptor era uma caneta com a qual o experimentador determinava os pontos de interesse. Para o registro, os pontos marcados com o auxílio do receptor em forma de caneta formavam 4 linhas se cruzando a um ângulo de 45° no topo do escalpo e uma linha horizontal localizada

logo acima da linha das sobrancelhas, com alguns pontos localizados sobre a parte óssea do nariz, conforme demonstrado na figura 3A.

Após o registro, durante o exame de TMS, a posição e orientação da bobina de estimulação foram definidas para cada ponto de estimulação (figura 3 B). Com esse objetivo, foi realizada a digitalização de 3 pontos no espaço: um no centro e outros dois nas laterais da bobina, definindo, assim, seu plano, sendo que o eixo do pulso TMS é perpendicular ao plano definido (figura 4).

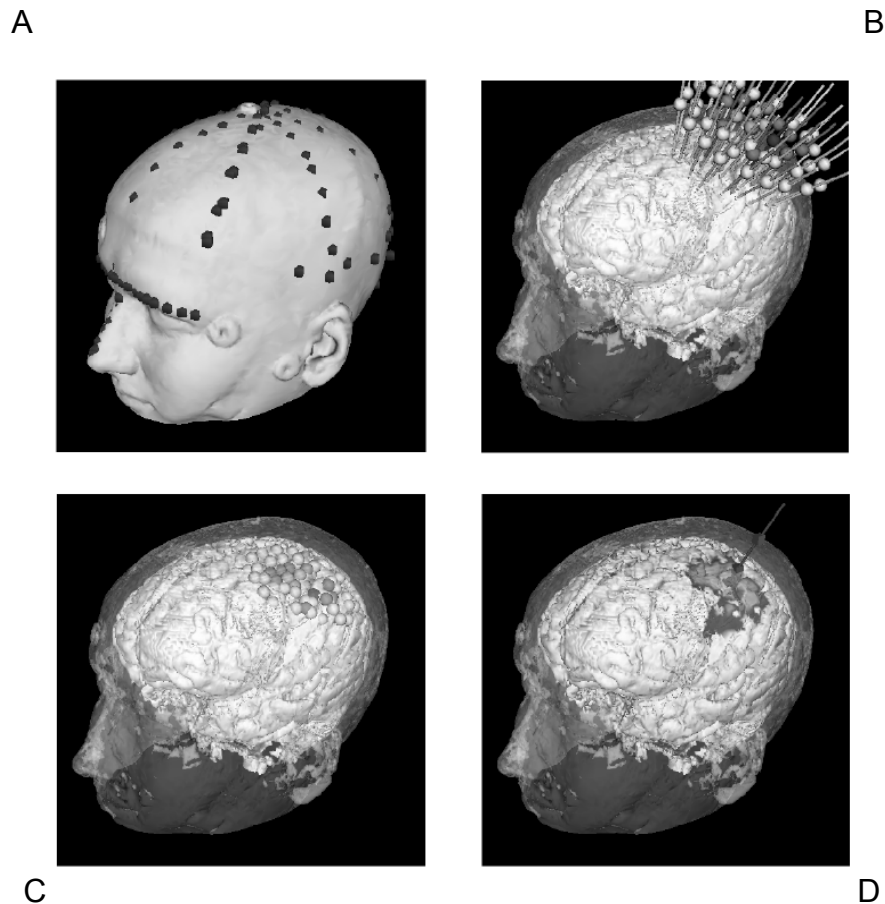
O estímulo foi aplicado no escalpo dos sujeitos por intermédio de um estimulador magnético, marca Magstim 200®, equipado por uma bobina na forma de oito de 70mm. A aplicação dos estímulos foi realizada com a bobina posicionada tangencialmente ao escalpo do voluntário com o cabo apontado lateralmente. PEMs foram adquiridos por intermédio de eletródios de superfície Ag-AgCl posicionados sobre o ventre dos músculos de interesse. O sinal eletromiográfico (EMG) foi amplificado e filtrado com um filtro passa banda 20 -1000 Hz (Neurolog Instruments; Digitimer Ltd). O sinal foi, então, digitalizado a uma frequência de 2000 Hz (CED 1401 interface; CED Ltd) e armazenado em um computador para posterior análise.

Inicialmente, o ponto craniano de maior resposta do músculo de interesse e o limiar de estimulação foram estabelecidos. O limiar foi determinado como a intensidade de estimulação que, aplicada ao ponto de maior ativação, o “*hotspot*”, foi capaz de gerar PEMs maiores que 50  $\mu$ V em 50% das estimulações. O mapeamento da representação de cada músculo foi realizado estimulando-se aleatoriamente os pontos ao redor do ponto de maior resposta até que não fossem encontrados mais PEMs. Durante o mapeamento, cada ponto foi estimulado seis vezes a 110 % do limiar motor, como estabelecido por Rossini e colaboradores (Rossini et al., 1994). A análise dos sinais eletromiográficos foi realizada off-line e o

valor pico a pico do potencial evocado por cada estimulação foi calculado com o auxílio de um programa desenvolvido em Matlab (Mathworks, USA). Posteriormente, foi estabelecida a amplitude média dos PEMs de cada ponto no escalpo estimulado, através do cálculo da média aritmética das amplitudes medidas nas seis estimulações realizadas.

Para melhor visualização dos resultados, a amplitude média dos PEM em cada um dos pontos de estimulação foi projetada sobre a imagem tridimensional do cérebro do voluntário (figura 3 C). Foi realizada ainda uma interpolação dos valores de PEM entre os pontos de estimulação para gerar o mapa de representação de cada músculo no córtex. Para cada novo ponto foram levados em consideração os 04 pontos de estimulação mais próximos ponderados pelo inverso da distância até o ponto em questão (figura 3 D), conforme método desenvolvido por Noirhomme e colaboradores (Noirhomme et al., 2004; Petruzzo et al., 2006; Rossini et al., 1994). Já os resultados do exame pré-transplante e do primeiro teste após a cirurgia, realizados antes da implantação do sistema de co-registro, foram representados na forma de mapas de representação cortical construídos em duas dimensões no programa Matlab®. Os resultados obtidos no mapeamento da musculatura intrínseca de controle da mão e da musculatura extrínseca e proximal do membro superior serão apresentados separadamente.

Durante o acompanhamento longitudinal do paciente, procurou-se manter a mesma intensidade de estimulação para o mapeamento dos músculos de interesse de forma a obter mapas comparáveis ao longo do tempo. No entanto, em alguns casos o limiar do músculo sofreu uma alteração de grande magnitude, deixando este de ser recrutado com intensidades de estimulação definidas nos primeiros exames. Nesse caso, um novo limiar foi definido.



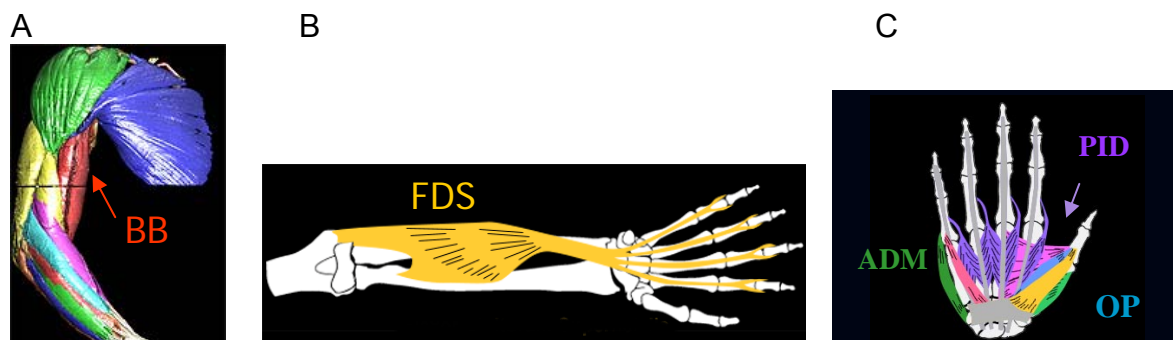
**Figura 3.** Construção dos mapas de representação de um músculo em M1. A) Superfície do escalpo com os pontos digitalizados usados para o registro; B) Localizações e orientações das estimulações realizadas com a bobina; C) projeção das estimulações na superfície do cérebro do indivíduo; D) Mapa de ativação interpolado. Retirado de Noirhomme e colaboradores (2004).

Foram analisados os seguintes músculos: abdutor do dedo mínimo (ADM), oponente do polegar (OP), primeiro interósseo dorsal (PID), bíceps braquial (BB) e flexor superficial dos dedos (FDS) (figura 5). Os sinais EMG de até 4 músculos diferentes foram registrados simultaneamente. Sendo assim, durante o mapeamento do bíceps braquial foram sempre concomitantemente coletadas a atividade eletromiográfica do FDS e OP (exemplo na figura 6) e ao longo do mapeamento do FDS, do PID e do ADM.

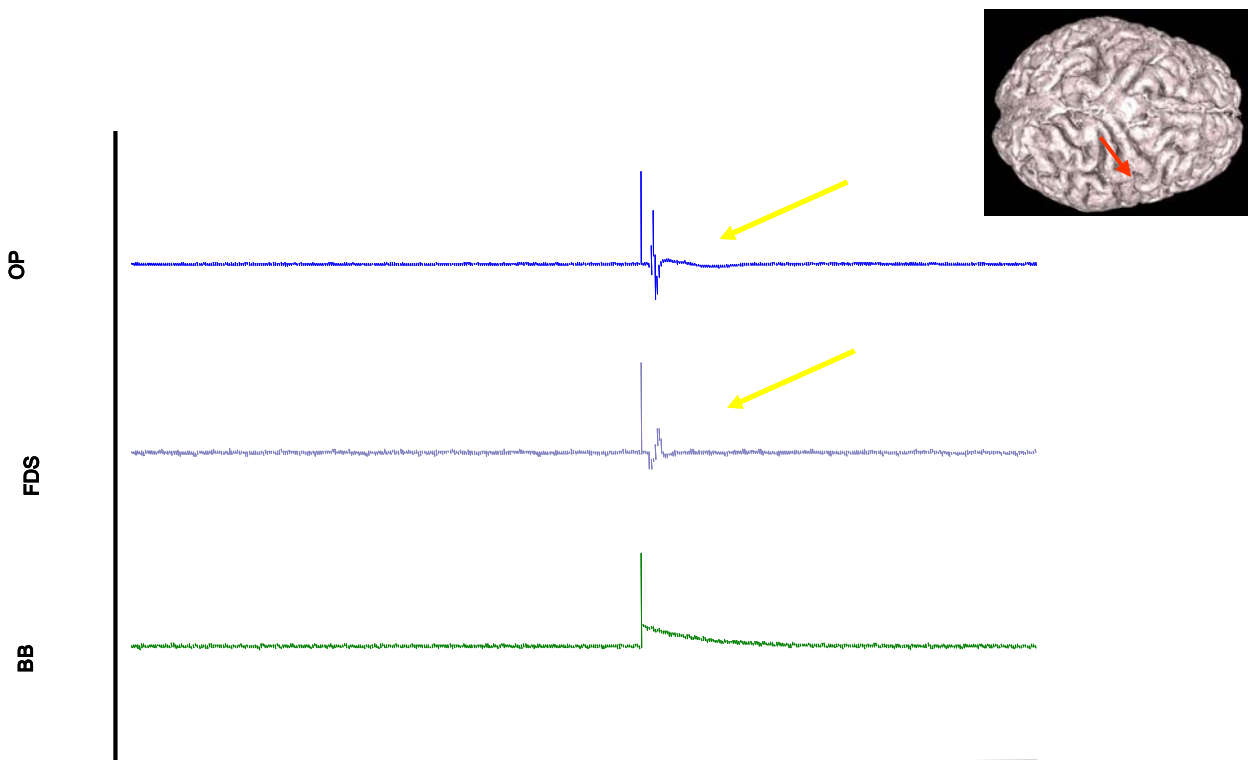
Durante todo o experimento, os sinais de EMG eram inspecionados visualmente para garantir que não existia atividade elétrica oriunda de uma contração muscular voluntária antes de cada pulso aplicado. No caso de suspeita do experimentador da existência de contração voluntária, a tentativa era descartada e uma nova estimulação do ponto do escalpo era realizada.



**Figura 4.** Bobina de estimulação destacando em azul os três pontos (1,2 e 3) digitalizados com o auxílio do sistema magnético de localização espacial para permitir identificar o plano de colocação da bobina. O número 1 corresponde ao foco da estimulação transcraniana.



**Figura 5.** Desenho identificando a posição anatômica dos músculos mapeados: A) Bíceps braquial (BB); B) Flexor superficial dos dedos (FDS) e C) Abdutor do dedo mínimo (ADM), primeiro interósseo dorsal (PID) e oponente do polegar (OP). Retirado de [http://www.voxel-man.de/3d-navigator/upper\\_limb/images](http://www.voxel-man.de/3d-navigator/upper_limb/images)



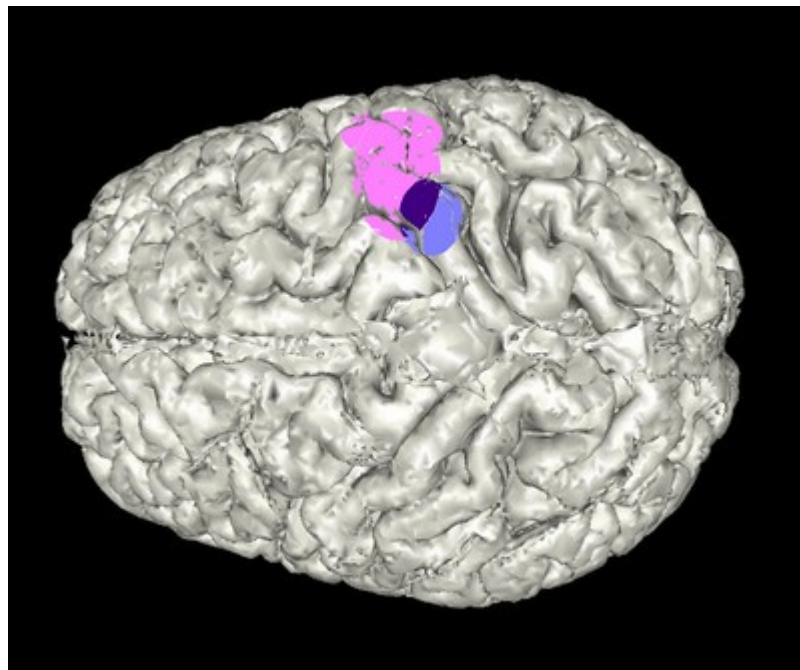
**Figura 6.** Vista dorsal da Reconstrução tridimensional do cérebro de um indivíduo com a projeção de uma estimulação em sua superfície (seta vermelha) e sinal eletromiográfico registrado simultaneamente em três músculos do membro superior: bíceps braquial (BB), flexor superficial dos dedos (FDS) e oponente do polegar (OP) durante a estimulação do ponto no escalpo do indivíduo. A linha vertical presente em todos os registros é o artefato de estimulação e as setas amarelas indicam o PEM registrado após a estimulação em dois dos três músculos.

O registro simultâneo dos PEMs coletados em vários músculos permite verificar a relação e o grau de sobreposição entre suas representações. Uma análise de co-ativação pode, então, ser definida como o percentual de pontos de estimulação envolvidos na representação de um determinado músculo que também esteve associado a um PEM em um segundo músculo.

Assim, por exemplo, se durante o mapeamento de um dado músculo X todos os pontos do escalpo que, quando estimulados, geraram um PEM no referido músculo também evocavam resposta no músculo Y, o índice de sobreposição entre X e Y, em relação à representação de X, seria de 100%. Por outro lado, se apenas 1/3 dos pontos que evocaram resposta no músculo X evocassem também uma

resposta no músculo Z, então o índice de sobreposição entre X e Z, em relação à representação de X, seria de 33% (figura 7). Essa análise permitiu observar as relações entre as representações da musculatura proximal do membro superior, preservada após a amputação, com as da musculatura relacionada ao controle extrínseco dos movimentos da mão, parcialmente preservada após o trauma, e com as da musculatura de controle intrínseco dos movimentos da mão, perdida no caso do paciente BY e proveniente do doador após o transplante. As relações encontradas para o paciente foram comparadas às dos voluntários normais.

Todos os voluntários envolvidos no estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e o protocolo foi aprovado pelo comitê de ética local (Centre Léon Berard, Lyon, França).



**Figura 7.** Vista dorsal da reconstrução tridimensional do cérebro de um indivíduo com um esquema para exemplificar a análise de sobreposição. Em azul representação do músculo X, em rosa representação do músculo Z e em roxo a sobreposição entre as duas.

## **2.3 RESULTADOS:**

### ***2.3.1 Musculatura intrínseca da mão: reaparecimento dos mapas em M1***

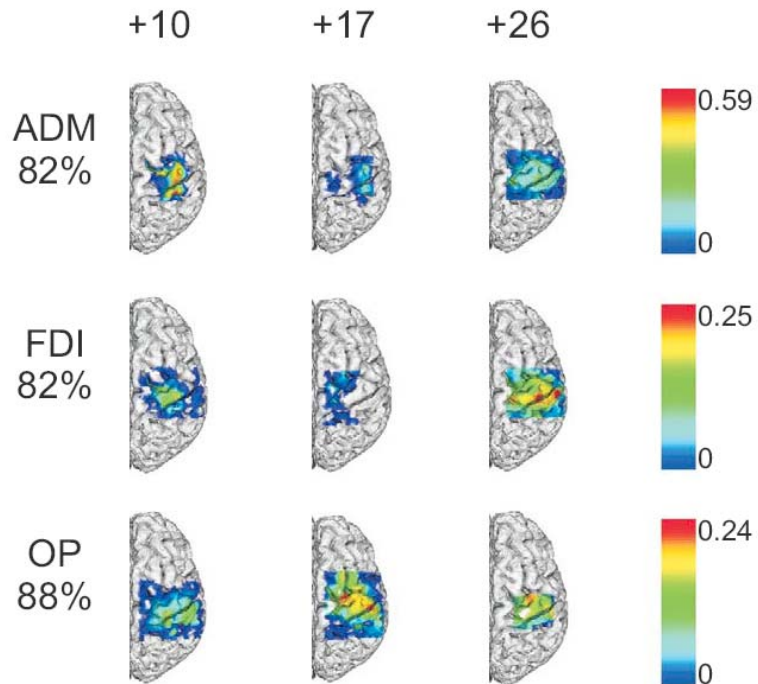
No primeiro exame pós-operatório, não foram identificados PEMs em nenhum dos músculos das mãos mesmo a 99% da capacidade do estimulador. Porém, nos exames subseqüentes pode-se constatar que a musculatura intrínseca, pertencente à mão do doador, adquiriu representação no córtex do paciente transplantado, sendo que esse processo ocorreu com um curso temporal distinto nos dois membros (Vargas et al., submetido). No membro esquerdo, a representação dos três músculos analisados, OP, ADM e PID, já pôde ser identificada no segundo exame após o transplante, 10 meses após a cirurgia, sendo que entre +17 e +26 meses o número de pontos, para os quais a estimulação gerou um PEM, aumentou nos três músculos analisados, sugerindo que essas representações se estabeleceram em M1 entre 2 e 10 meses. O membro superior direito, contudo, apresentou um curso temporal mais lento. Dez meses após a cirurgia, somente o ADM tinha uma pequena representação, enquanto as representações do OP e PID só puderam ser observadas 26 meses após o transplante (figura 8; tabela 1).

Esses resultados revelam que músculos transplantados adquirem uma representação no córtex motor do receptor e que, no caso estudado, esse processo teve um curso temporal distinto para as duas mãos. A assimetria na reaparição dos mapas motores foi acompanhada por diferenças também na recuperação sensorial e das habilidades motoras. A avaliação clínica do paciente, um ano após o transplante, mostrou que a discriminação de dois pontos, propriocepção e manipulação de objetos eram melhores para a mão esquerda em relação à direita (Parmentier 2007). Isso ocorreu apesar do paciente em questão ser destro e ter

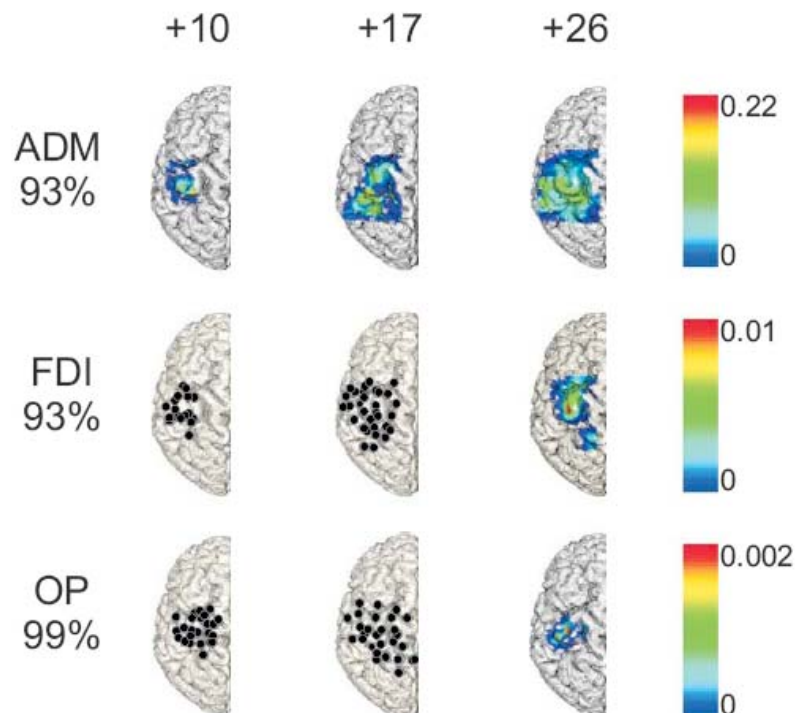


utilizado após a amputação, com maior frequência e por um período maior (3 anos), a prótese no membro superior direito.

### A) Mão esquerda



### B) Mão direita



**Figura 8.** A- Progressão longitudinal das representações dos músculos abductor do dedo mínimo (ADM), primeiro interósseo dorsal (PID) e oponente do polegar (OP) do membro superior esquerdo 10, 17 e 26 meses após o transplante (+10, +17 e +26 respectivamente), projetada sobre uma imagem tridimensional do hemisfério direito do cérebro do paciente BY; B- Progressão longitudinal dos mesmos músculos indicados em A, mas do membro superior direito, projetados sobre o hemisfério esquerdo. Os pontos pretos representam ausência de potencial evocado no sítio de estimulação. A intensidade de estimulação adotada durante o exame está representada em percentual da capacidade da máquina de TMS à esquerda da imagem. A barra de cores à direita da imagem mostra a intensidade da resposta (PEM) registrada no músculo de interesse e varia entre 0 (azul escuro) até a resposta máxima obtida durante o mapeamento (vermelho), valores em mV (retirado de Vargas e colaboradores, submetido).

OP	Mão esquerda				Mão direita			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
Tempo (meses)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
% da capacidade da máquina	95	88	88	88	99	99	93	99
Número de pontos estimulados que geraram MEPs	n.r.	25	27	25	n.r.	n.r.	n.r.	2
PID	Mão esquerda				Mão direita			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
Tempo (meses)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
% da capacidade da máquina	95	82*	82	82	99	93	93	93
Número de pontos estimulados que geraram MEPs	n.r.	12	8	26	n.r.	n.r.	n.r.	7
ADM	Mão esquerda				Mão direita			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
Tempo (meses)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26
% da capacidade da máquina	95	82*	82	82	99	93	93	93
Número de pontos estimulados que geraram MEPs	n.r.	12	9	28	n.r.	9	6	31

**Tabela 1.** Número de pontos no escalpo que ao serem estimulados geraram um Potencial evocado motor (PEM) nos músculos oponente do polegar (OP), primeiro interósseo dorsal (PID) e abductor do dedo mínimo (ADM) ao longo do tempo com a intensidade de estimulação dada em percentual da capacidade da máquina. As tentativas de mapeamento que não foram capazes de evocar nenhuma resposta motora estão identificadas pela sigla n.r.

De fato, após o transplante, o paciente gradualmente passou a utilizar preferencialmente a mão esquerda na realização das atividades de vida diária, principalmente as que exigiam habilidades motoras complexas como a manipulação

de pequenos objetos, empregando o membro direito como auxiliar em tarefas bimanuais (Petruzzo et al., 2006).

### ***2.3.2 Musculatura extrínseca da mão e proximal do membro superior***

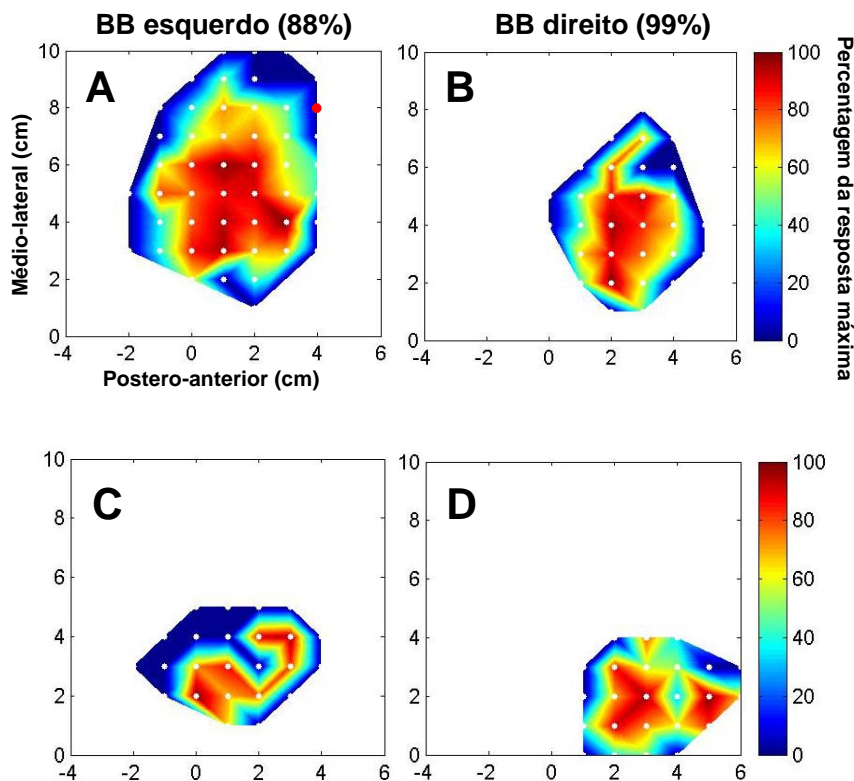
Uma questão importante é se o aparecimento das representações dos músculos intrínsecos é acompanhado de uma reorganização das representações vizinhas correspondentes aos músculos do membro superior.

O mapeamento do músculo BB, completamente preservado bilateralmente após a amputação, realizado 11 meses antes da cirurgia de transplante, revelou que o limiar motor do músculo pertencente ao dimídio esquerdo era menor em relação ao direito (88 vs. 99 % da capacidade máxima da máquina de produzir campo magnético). Além do menor limiar, a representação cortical desse músculo era maior para o lado esquerdo (figura 9). No exame realizado dois meses após a cirurgia, nenhum PEM foi identificado usando a mesma intensidade de estimulação estabelecida antes da cirurgia (88%). Somente com 95% da capacidade de estimulação da máquina foi possível realizar o mapeamento desse músculo e, ainda assim, o número de pontos do mapa foi menor do que o encontrado antes do transplante (tabela 2, figura 9). Nos exames posteriores, o mapeamento voltou a ser possível com a intensidade de estimulação empregada antes da cirurgia, porém o número de pontos que geraram um PEM foi progressivamente menor, culminando com poucos MEPs no exame de 26 meses (tabela 2, figura 10). Esses resultados indicam que a representação do BB pertencente ao membro esquerdo diminuiu progressivamente após a cirurgia.

Em relação ao FDS, o músculo extrínseco da mão escolhido para o mapeamento, foi verificada uma diminuição do número de pontos que evocaram

MEPs entre os exames de 2 e 10 meses no dimídio esquerdo, e no exame de 17 meses, verificou-se apenas 3 pontos com resposta. Porém, no último exame o FDS voltou a apresentar um mapa similar com o encontrado no exame de 10 meses (tabela 2, figura 10).

Em contraste, o membro superior direito não apresentou diferença no número de pontos que evocaram MEP, quando se comparou o exame realizado antes e dois meses após o transplante (tabela 2, figura 9). No exame de 10 meses esse número permaneceu próximo ao encontrado no pré-transplante. No exame de 17 meses não foram observados PEM a 80% da capacidade da máquina. Porém, no último exame, esse voltou a possuir um mapa similar ao encontrado no exame de 10 meses. (tabela 2 figura 10).



**Figura 9.** Mapa bidimensional ilustrando a distribuição espacial do percentual em relação aos valores máximos de amplitude dos PEMs do biceps brachialis (BB) esquerdo e direito 11 meses antes do transplante (A e B) e 2 meses após a cirurgia (C e D). Nos eixos x e y estão as coordenadas da grade da touca posicionada sobre a região de M1 do voluntário. A barra de cores à direita mostra a intensidade da

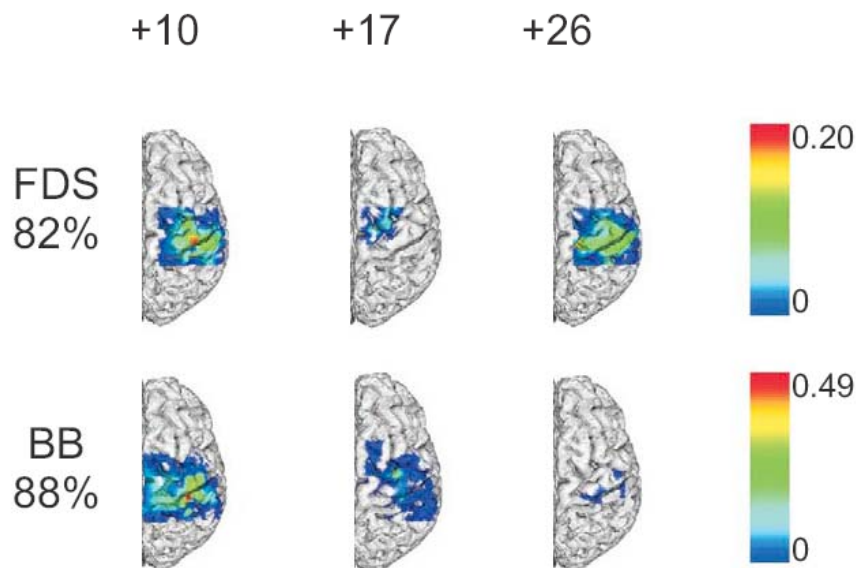
resposta registrada no músculo de interesse e varia entre 0 (azul escuro) até a resposta máxima obtida durante o mapeamento (vermelho). A intensidade de estimulação para cada teste está indicada sobre cada mapa obtido em percentual da capacidade máxima do estimulador magnético usado nos exames.

<b>BB</b>	<b>Membro superior esquerdo</b>					<b>Membro superior direito</b>				
Tempo (meses)	-11	+2	10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26
% da capacidade da máquina	88	95	88	88	88	99	99	99	99	99
Número de pontos estimulados que geraram MEPs	33	9	22	20	4	17	17	14	21	18
<b>FDS</b>	<b>Membro superior esquerdo</b>					<b>Membro superior direito</b>				
Tempo (meses)	-11	+2	+10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26
% da capacidade da máquina	n.t.	82	82	82	82	n.t.	80	80	80	80
Número de pontos estimulados que geraram MEPs	n.t.	36	20	3	22	n.t.	24	13	0	12

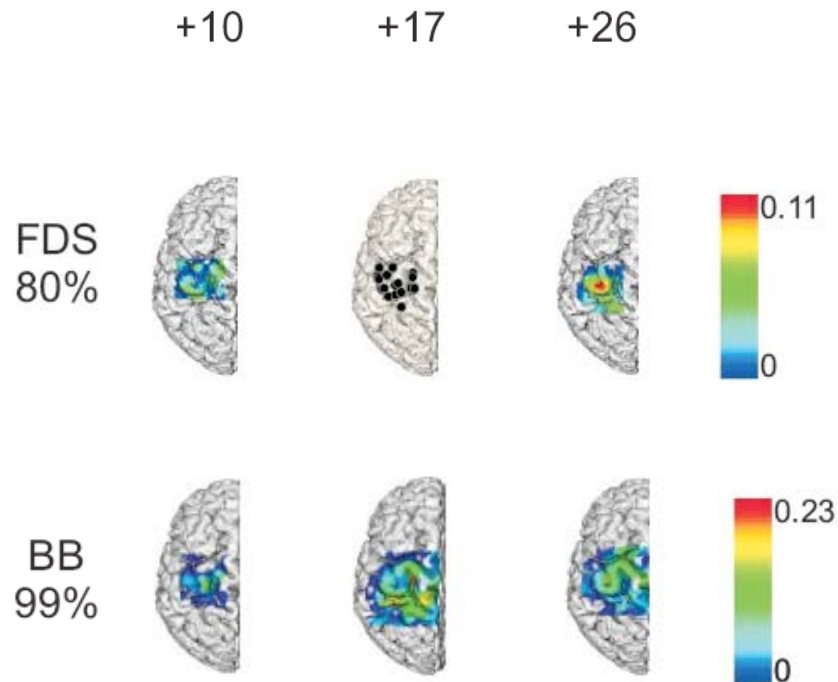
**Tabela 2.** Número de pontos no escalpo que ao serem estimulados geraram um Potencial evocado motor (PEM) nos músculos bíceps braquial (BB) e flexor superficial dos dedos (FDS) ao longo do tempo com a intensidade de estimulação dada em percentual da capacidade da máquina.

#### Membro superior esquerdo

A)



## B) Membro superior direito



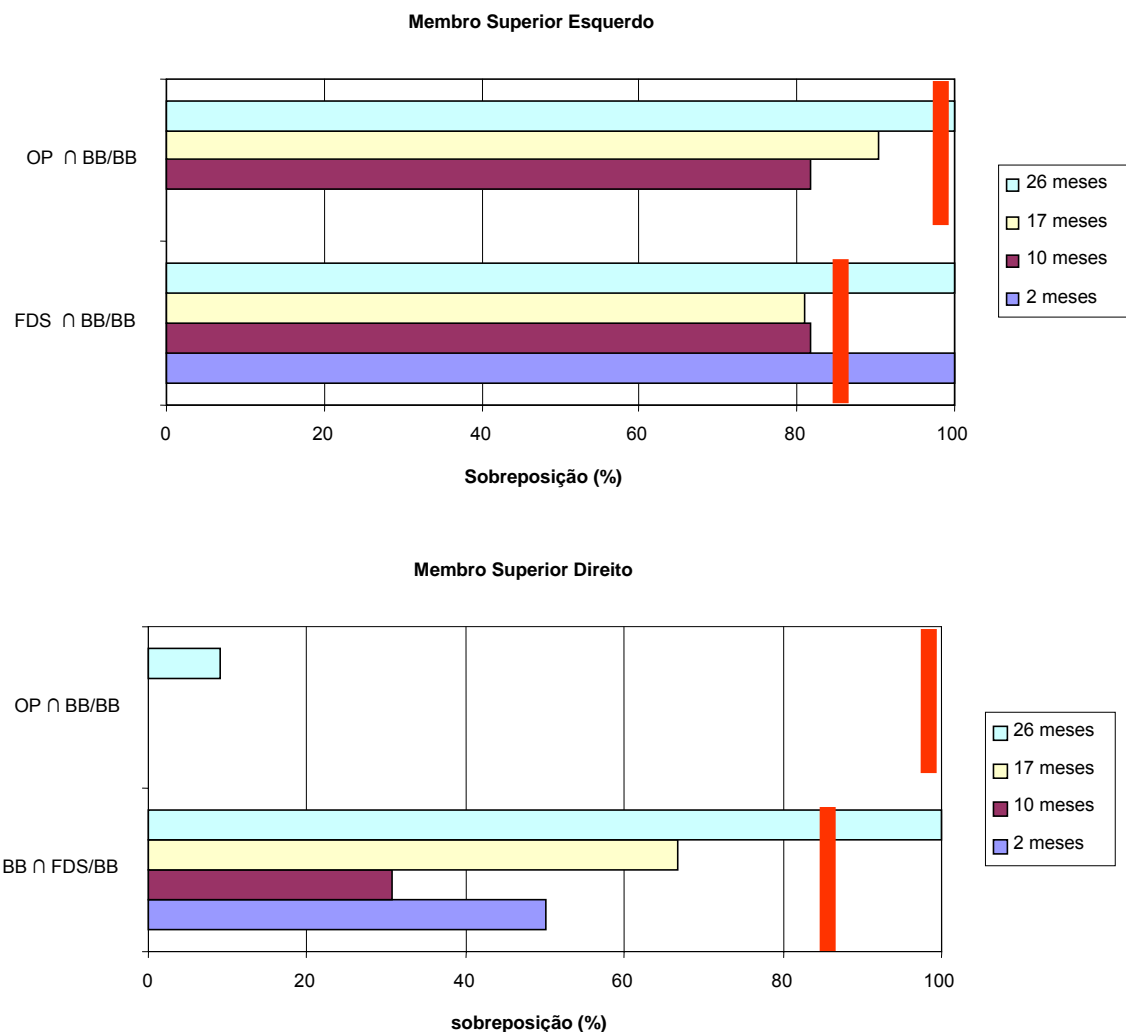
**Figura 10.** A- Progressão longitudinal da representação dos músculos flexor superficial dos dedos (FDS) e bíceps braquial (BB) do dimídio esquerdo 10, 17 e 26 meses após o transplante, projetada sobre uma imagem tridimensional do hemisfério direito do cérebro do paciente BY; B- Progressão longitudinal dos mesmos músculos indicados em A, mas do dimídio direito, projetados sobre o hemisfério esquerdo. Os pontos pretos representam ausência de potencial evocado no sitio de estimulação. A intensidade de estimulação adotada durante o exame está representada em percentual da capacidade da máquina de TMS à esquerda da imagem. A barra de cores à direita da imagem mostra a intensidade da resposta registrada no músculo de interesse e varia entre 0 (azul escuro) até a resposta máxima obtida durante o mapeamento (vermelho), com valores em milivolts (mV) (retirado de Vargas e colaboradores, submetido).

### 2.3.3 Sobreposição das representações motoras:

#### 2.3.3.1 Relação entre representação da musculatura proximal e as musculaturas extrínseca e intrínseca da mão:

Durante o mapeamento do BB, os voluntários saudáveis apresentaram também um PEM nos músculos responsáveis por movimentos da mão, caracterizando-se uma sobreposição entre os dois. Isso ocorreu tanto para o músculo extrínseco testado (FDS) como para um dos músculos intrínsecos testados, o OP. No paciente

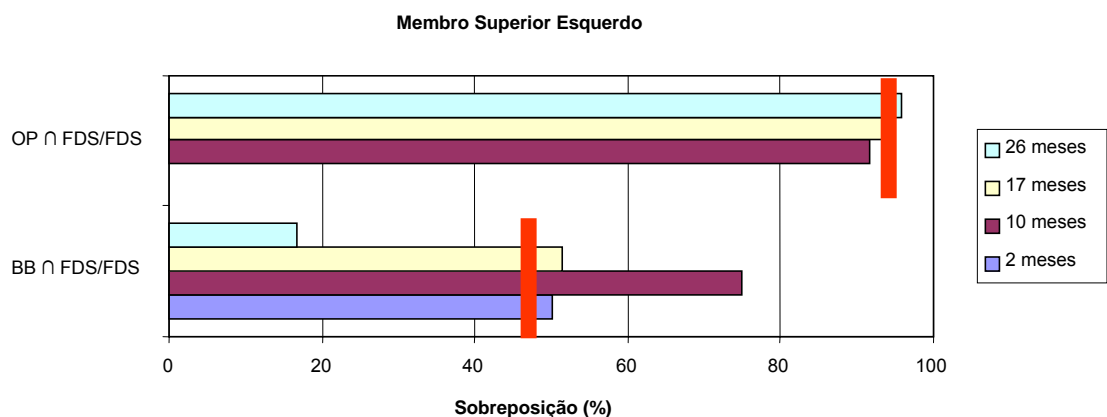
BY, dois meses após o transplante, esse índice de sobreposição já era semelhante ao encontrado nos voluntários saudáveis (média= 86,61 e DP=18,26) para o membro esquerdo, mas o mesmo não ocorreu para o membro direito, que nos primeiros exames teve valores de 50%, 31% e 67%, e só atingiu a relação próxima à dos normais 26 meses após o transplante. O índice de sobreposição do BB com musculatura intrínseca, OP, que tem média de 98% nos normais, foi crescente a partir do segundo exame, com valores de 82%, 90% e, finalmente, 100%, a 26 meses após a cirurgia para o membro esquerdo. No entanto, para o membro direito só foi observada uma pequena sobreposição de 9% no último exame (figura 11).



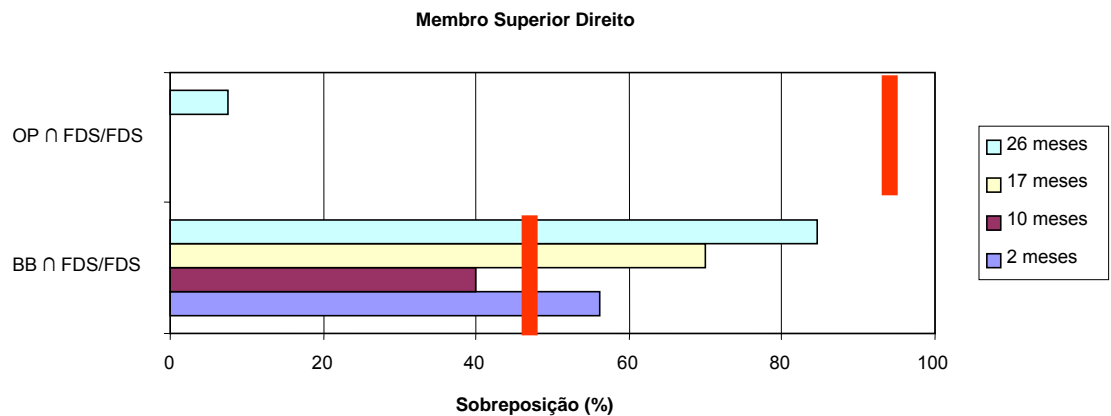
**Figura 11.** Acompanhamento longitudinal do índice de sobreposição, representando o percentual de sobreposição entre os músculos bíceps braquial (BB) e oponente do polegar (OP) e entre BB e flexor superficial dos dedos (FDS) em relação ao mapeamento do BB para membro superior esquerdo e direito ao longo do tempo (em vermelho estão as médias observadas no grupo controle).

### 2.3.3.2 Relação entre musculatura extrínseca de controle da mão (FDS) e musculatura proximal (BB) e intrínseca (OP):

A sobreposição entre FDS e BB para o membro esquerdo (50% no primeiro exame, 02 meses após a cirurgia), foi comparável à encontrada nos voluntários saudáveis (média=46,65%, DP= 17,24). Essa relação aumentou ainda mais 10 meses após a cirurgia, chegando a 75%. No entanto, ao longo do tempo, os valores caíram, atingindo 17% no último exame, enquanto a co-ativação entre FDS e OP foi compatível com a do grupo controle (média=93,79%, DP=9,35) a partir de 10 meses após o transplante, quando atingiu 92%. Por outro lado, no membro direito a relação entre BB e FDS, que inicialmente estava próxima dos voluntários saudáveis (40%, 10 meses após a cirurgia) se afasta dos normais e tem valores crescentes a partir do exame realizado 17 meses após a cirurgia. Para esse mesmo membro, a sobreposição entre FDS e OP só surge no último exame, com 7,7%, mas ainda muito menor do que a encontrada nos voluntários saudáveis (Figura 12).







**Figura 12.** Acompanhamento longitudinal do percentual de sobreposição entre os músculos oponente do polegar (OP) e flexor superficial dos dedos (FDS) e entre bíceps braquial (BB) e FDS em relação ao mapa do FDS para membro superior esquerdo e direito ao longo do tempo (em vermelho estão as médias observadas no grupo controle).

## 2.4 DISCUSSÃO

A avaliação longitudinal do paciente amputado bilateral crônico que recebeu o transplante de mãos revelou que os músculos intrínsecos, provenientes do doador, adquirem uma representação no córtex motor primário do paciente. Esse fenômeno foi acompanhado por uma diminuição no tamanho da representação do BB esquerdo. O quadro do membro superior direito foi diferente, com um aparecimento mais tardio da musculatura intrínseca, concomitante com a presença de uma representação expandida do BB.

O comportamento do FDS foi semelhante nos dois dimídios, com uma diminuição do número de pontos para os quais houve um PEM entre o exame de 2 e 10 meses, uma drástica redução da representação no exame de 17 meses e voltando aproximadamente à condição de 10 meses no último exame.

Estudos anteriores, que realizaram o mapeamento longitudinal das representações motoras com TMS em voluntários saudáveis (Malcolm et al., 2006;

Uy et al., 2002), em pacientes que sofreram um acidente vascular encefálico (Malcolm et al., 2006) amputados do membro superior (Mercier C, em preparação), encontraram uma estabilidade da área, volume e dos centros de gravidade dos mapas em M1, sugerindo que as alterações verificadas no presente estudo em relação aos mapas dos músculos do membro superior em M1 ao longo do tempo estão relacionadas à introdução das mãos transplantadas.

O substrato neural para a plasticidade cortical em M1 após a amputação de um membro tem sido amplamente investigado nas últimas duas décadas. Estudos empregando modelos animais têm demonstrado o papel das conexões horizontais intrínsecas nesse processo. Essas conexões córtico-corticais seriam formadas por colaterais dos neurônios piramidais que, em condições normais, seriam suprimidas por interneurônios inibitórios (Jones, 1993; Kew et al., 1997). Assim, a plasticidade dos mapas corticais poderia ser implementada através da retirada da inibição efetuada por esses interneurônios locais (Calford & Tweedale, 1991; Jones, 1993; Toldi et al., 1996). De fato, a plasticidade do córtex motor em ratos adultos pode ser evocada pela injeção intracortical de um antagonista do receptor de GABA, a bicuculina, que bloqueia os interneurônios inibitórios e permite a ligação funcional de pontos corticais separados em M1, desmascarando conexões horizontais pré-existentes. (Jacobs & Donoghue, 1991).

Chen (1998), com auxílio do paradigma de pulsos pareados de TMS, capaz de revelar inibição e facilitação intracorticais (Kujirai et al., 1993; Ziemann et al., 1996a) investigou os mecanismos dessas modificações plásticas em M1 nos humanos. Essa técnica mede a influência da aplicação de um pulso condicionante sobre a amplitude do PEM. Esse primeiro pulso ativa circuitos corticais com uma intensidade de estimulação menor do que o limiar motor antes do pulso de

estimulação propriamente dito. Os autores identificaram uma redução da inibição intracortical na região de representação do quadríceps em amputados unilaterais de membro inferior, quando comparados a voluntários saudáveis. A inibição intracortical testada por meio da TMS (Kujirai et al., 1993) está relacionada a mecanismos gabaérgicos (Ziemann et al., 1996b; Ziemann et al., 1996a). Por esse motivo, os autores atribuíram os resultados obtidos a uma redução da inibição mediada pelo GABA, o mais importante neurotransmissor inibitório do sistema nervoso (Jones, 1993). Resultados semelhantes foram descritos para a musculatura proximal de amputados de membro superior (Schwenkreis et al., 2000). Ambos os estudos sugerem que essa retirada de inibição seja o substrato para a expansão do tamanho dos mapas dos músculos remanescentes após a amputação, por favorecer o desmascaramento de conexões que normalmente encontram-se abaixo do limiar. De forma coerente com os resultados obtidos em humanos, uma rápida desinibição em regiões deeferençadas do córtex motor foi observada em ratos testados com microestimulação elétrica pareada em M1 (Farkas et al., 2000).

#### ***2.4.1 Mapeamento da musculatura intrínseca***

Mostramos que os músculos intrínsecos transplantados passam a apresentar uma representação cortical do paciente. Apesar das modificações nas inibições intra-corticais, em primatas, os motoneurônios relacionados a músculos amputados sobrevivem e permanecem funcionais, passando a inervar músculos remanescentes do coto. (Wu & Kaas, 2000). Sendo assim, o circuito sensório-motor estaria preservado e, ao menos em teoria, poder-se-ia reverter às modificações plásticas e reativar as representações dos músculos da mão assim que as conexões periféricas fossem restabelecidas.

Porém, o quadro não é tão simples. Em camundongos, a reconexão do nervo facial (responsável pelos movimentos das vibrissas) após lesão completa desse nervo está associada a modificações nas representações em M1 mesmo 6 meses após a cirurgia. A área que quando estimulada por uma corrente de baixa intensidade evoca movimento das vibrissas é menor no hemisfério contralateral à lesão do que no ipsilateral. Além disso, ocorre uma expansão da representação da pata anterior e da musculatura de controle dos olhos (adjacentes somatotopicamente à da vibrissa, alterada pela lesão nervosa) (Franchi, 2000).

Já no caso do transplante de mãos, o desafio imposto é ainda maior, pois a implementação dos mapas dos músculos intrínsecos do doador no córtex motor do paciente não corresponde a simples um retorno a uma condição pré-existente, como ocorre na sutura dos segmentos de um nervo periférico pertencentes a um animal. No transplante de mãos, o córtex tem o desafio de controlar uma mão com características físicas diferentes das apresentadas pela mão do paciente amputado, tornando ainda mais complexas as operações necessárias para mapear e tornar funcional essa parte corporal. Provavelmente participam desse processo as informações sensoriais que se estabelecem (Farne et al., 2002) e a visão do movimento das mãos, conforme será discutido na última sessão da presente tese.

#### ***2.4.2 Mapeamento da musculatura extrínseca***

Em pacientes com amputação crônica, ocorre um aumento do mapa de representação, e diminuição dos limiares para evocar PEM nos músculos do coto ao se estimular M1 contralateral à amputação (Cohen et al., 1991; Roricht et al., 1999). Esses fenômenos estão associados a um maior recrutamento direto e indireto dos neurônios piramidais presentes nessa região o que, conseqüentemente, gera

maiores potenciais pós sinápticos excitatórios nos motoneurônios alfa localizados no corno anterior da medula espinhal (Cohen et al, 1991). Portanto, seria esperado que com a mudança da excitabilidade cortical provocada pelo ressurgimento das representações da mão após a cirurgia houvesse uma diminuição do mapa do músculo BB. No entanto, esse efeito só foi observado para o BB esquerdo, ocorrendo o oposto disso (isto é, uma expansão da representação) para o lado direito.

A razão para a assimetria nas modificações dos mapas encontrada no paciente examinado não é clara. Uma primeira possibilidade para explicar esse fenômeno seria a existência de uma assimetria nas reconexões periféricas. De fato, durante a cirurgia ocorreu uma trombose da artéria ulnar direita (Petruzzo et al., 2006).

No entanto, um segundo paciente amputado bilateral que foi submetido ao transplante de mãos no mesmo hospital, e que não apresentou as mesmas complicações do paciente examinado no presente estudo, também apresentou uma assimetria entre o dimídio esquerdo e direito. Nesse segundo paciente a assimetria também era caracterizada por três fatores: 1) maior limiar de estimulação, 2) uma representação incompleta da musculatura intrínseca da mão (que incluía ausência de PEM no OP) e 3) maiores representações do bíceps do membro direito em relação ao esquerdo (Vargas et al, submetido).

Ambos os pacientes eram destros, portanto, embora novos casos sejam necessários para tirar conclusões mais definitivas, é possível que a dominância manual tenha influência sobre os mecanismos plásticos. De fato, alguns estudos indicam diferenças interhemisféricas nas representações da mão dominante e não dominante. A representação dos músculos da mão e interconectividade sináptica,

por exemplo, são maiores no córtex motor do hemisfério dominante, esquerdo, em relação ao não-dominante, direito, em voluntários destros (Hammond, 2002). Além disso, a inibição tônica na ausência de lesão é menor no hemisfério dominante do que no não dominante (Ilic et al., 2004).

Outro fator que pode influenciar as modificações nas representações em M1 é o uso de prótese mioelétrica, que foi mais freqüente e realizado por um período maior no membro superior direito. A prótese mioelétrica usada pelo paciente examinado nesse estudo realizava o movimento de preensão, com uma pinça distal de acordo com a atividade de músculos proximais. Sendo assim, o uso contínuo desse dispositivo para realizar as atividades diárias estabelece um aprendizado motor baseado nos comandos eferentes capazes de controlar a prótese, e no feedback visual do membro em movimento (Lotze et al, 1999; Sherman, R., 1997).

É possível que esse aprendizado modifique as representações corticais de forma a tornar mais difícil o mapeamento de novos músculos como os intrínsecos. De fato, já foi demonstrado que o uso de prótese mioelétrica altera o padrão natural de reorganização nos córtices motor e sensorial primários (lotze et al, 1999). É importante ressaltar, ainda, que mesmo antes da cirurgia já era possível identificar uma assimetria na representação do BB nos dois hemisférios, sendo a representação do membro direito no hemisfério esquerdo do paciente reduzida em relação a do dimídio esquerdo, que possuía o padrão mais clássico descrito em pacientes amputados (Cohen et al, 1991, Roricht et al, 1999) com uma grande representação da musculatura proximal.

### **2.4.3 Relações entre representações**

As relações entre as representações do OP, tanto com o FDS como com o BB do membro esquerdo parecem se dar de maneira semelhante às encontradas nos voluntários saudáveis, para os quais a estimulação desses músculos do antebraço e braço evoca concomitantemente uma resposta na musculatura da mão. Isso ocorre porque os músculos da mão possuem um menor limiar de estimulação, sendo obrigatoriamente recrutados durante o mapeamento dos músculos proximais (Chen et al., 1998; Mercier et al., 2006). Sendo assim, a análise de sobreposição é mais um indício de que a representação dos músculos intrínsecos realmente se estabelece de forma adequada nesse membro. No membro direito, contudo, a representação do OP só aparece no último exame, não sendo possível, dessa maneira, tirar conclusões definitivas sobre suas relações com a representação dos músculos proximais.

Já a relação do FDS com a musculatura proximal é mais difícil de interpretar, tanto quando tomamos como referência o músculo extrínseco, como quando utilizamos o proximal. A sobreposição das representações parece flutuar ao redor da média dos normais. Essas relações também parecem variar bastante em voluntários normais. Sendo assim, torna-se necessário examinar uma população maior de voluntários saudáveis para estabelecer melhor os limites para a comparação com o paciente e também para entender possíveis fatores comportamentais que interferem nessas relações. Um estudo recente publicado por Melgari e colaboradores (2008) realizou o mapeamento simultâneo de 12 músculos com a TMS em 10 voluntários saudáveis. No entanto, a comparação direta dos resultados deste trabalho com o estudo supracitado não pode ser realizada, tendo em vista que os autores fizeram o mapeamento com 110% do limiar do OP, que é menor que o necessário para

mapeamento do bíceps ou FDS enquanto o presente estudo empregou como referência o limiar desses dois músculos (Melgari et al., 2008).

#### ***2.4.4 Origem das modificações no córtex motor primário***

Em relação à origem das modificações em M1, foi proposto que a mesma poderia ser secundária a reorganização de S1, baseado na alta concordância encontrada entre a plasticidade no córtex somato-sensorial e motor primário (Karl et al., 2001). Os autores sugerem que as projeções de S1 para as camadas II/III de M1 poderiam fornecer o substrato anatômico para o fenômeno. Essas camadas, por sua vez, estão fortemente conectadas a camada V, onde estão localizadas as células piramidais, responsáveis pela eferência dessa região cortical (Sakamoto et al., 1987). Somada a essa evidência está o fato que as projeções de S1 para M1 são importantes para a aquisição de habilidades motoras (Pavlidis et al., 1993).

Contudo, outro estudo, envolvendo a representação das vibrissas em camundongos, ressalta a importância dos próprios comandos motores nesse processo (Franchi & Veronesi, 2006). Os autores mostraram que modificações nas representações em M1 ocorrem após lesão do nervo facial (responsável pela inervação motora das vibrissas de ratos) e também após a aplicação de toxina botulínica (TB) nos músculos responsáveis pelos movimentos das vibrissas dos animais. A TB induz um padrão de denervação química, com o impedimento da liberação de acetilcolina na placa motora, prejudicando o movimento, assim como a lesão do nervo. No entanto, modificações nas representações motoras não acompanham a privação sensorial causada pela secção do nervo infraorbital, responsável somente pelas aferências sensoriais das vibrissas (Franchi, 2001; Franchi & Veronesi, 2006). Logo, mais do que a desafferentação sensorial, a



ausência dos comandos motores parece ser fundamental para esse processo de reorganização.

### **3. Antecipação de movimentos em amputados crônicos de membro superior**

## **3.1 INTRODUÇÃO**

Se por um lado, conforme descrito na introdução geral, vários estudos abordaram as modificações existentes no córtex motor e sensorial primários em decorrência de lesão na periferia corporal, o mesmo não ocorre em relação à outras regiões cerebrais relacionadas às representações do movimento. Pouco se sabe sobre se e como, a perda de um membro afeta essas representações. O segundo projeto da presente tese pretende testar a integridade das representações relacionadas ao circuito parieto-frontal em pacientes com amputação crônica unilateral de membro superior, utilizando como instrumento a medida da atividade eletroencefalográfica durante a simulação implícita do movimento da mão amputada.

### **3.1.1) Estados de Simulação**

O ser humano é capaz de produzir diversos estados mentais que envolvem o conteúdo das ações, nos quais o cérebro realiza uma imitação ou simulação dos diferentes aspectos da execução de ações, na ausência da produção do movimento real em si. Esses estados, descritos como estados de simulação ou estados S (do inglês *simulation states*), incluem imaginação de ações, movimentos realizados em sonhos, julgamento prospectivo de ações e a observação de movimentos de outrem, sendo que todos eles acarretam o recrutamento de representações sensoriais e motoras (Jeannerod, 1994; Jeannerod, 2001; Nico et al., 2004).

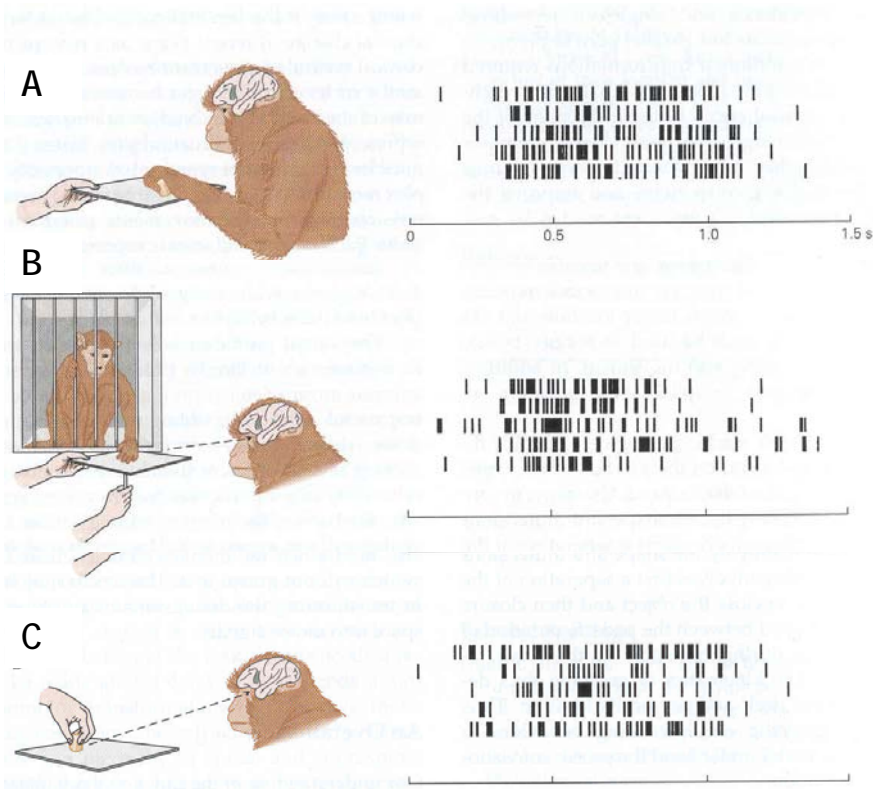
### **3.1.2 Circuito parieto-frontal e observação de movimentos**

Em 1996, um grupo de pesquisadores italianos mostrou que uma parte dos neurônios na área F5, ou córtex pré-motor ventral de macacos, envolvidos na execução de movimentos também se apresenta ativa durante a observação de

outro macaco, ou até mesmo de um ser humano, que realiza um movimento dirigido a um objeto (Gallese et al., 1996)(Figura 13). Esses neurônios foram chamados neurônios espelho, porque funcionam como se as ações observadas fossem refletidas, como em um espelho, nas representações motoras do observador.

Kohler e colaboradores (2002) mostraram, posteriormente, que nessa mesma área, existem neurônios que são ativos quando o macaco ouve um som relacionado a uma ação como, por exemplo, o som de uma casca de amendoim sendo quebrada, que implica a ação de abrir o amendoim, mesmo que o macaco não veja a ação sendo executada (Kohler et al., 2002). A existência desses neurônios indica que a área F5 dos macacos contém um vocabulário motor que não é formado apenas por esquemas de execução da ação, mas sim por seus objetivos (Rizzolatti et al., 2001).

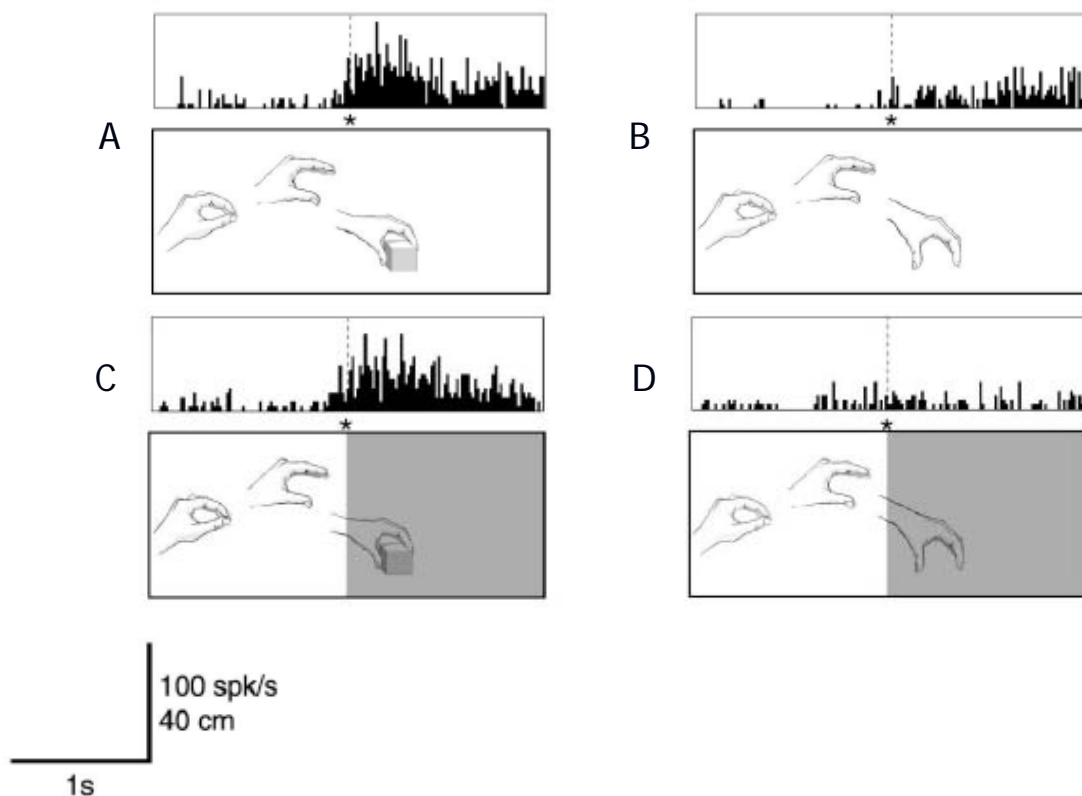
Se esses neurônios codificam o objetivo da ação, será que podem refletir a intenção da ação realizada? Para responder essa pergunta, Umiltà e colaboradores (2001) registraram neurônios no córtex pré-motor de macacos enquanto os mesmos realizavam quatro tarefas diferentes: na primeira, o macaco observava o experimentador realizar uma ação direcionada a um objeto. Como em todos os experimentos anteriormente descritos a tarefa levava a um aumento da resposta de neurônios espelho no córtex pré-motor ventral (Umiltà et al., 2001).



**Figura 13.** Exemplo de um neurônio espelho. Desenho de um primata não humano destacando em seu córtex a área F5 ou córtex pré-motor ventral em verde. Foi registrada a atividade neuronal em três condições experimentais: A) O animal pega um objeto; B) Observa outro animal pegar o objeto e C) observa um ser humano pegar o objeto. Os gráficos à direita representam a resposta do neurônio durante a realização das tarefas. Cada traço vertical indica um potencial de ação. Note que a célula registrada encontra-se ativa nas três condições. Retirado de Kandel (2000)

Em outra condição, o experimentador fazia o movimento com a mão, mas não havia objeto para ser pego e, nesse caso, a resposta neuronal era significativamente menor. Em uma terceira condição, era permitido ao macaco que detectasse visualmente a presença do objeto. Porém, depois da observação, uma tela era posicionada de forma a cobrir o objeto e a parte final, crítica da ação, correspondente ao momento em que a mão interage fisicamente com o objeto para realizar a sua apreensão. Note que, nesse caso, mesmo que o macaco não pudesse observar o experimentador pegar o objeto, o animal possuía pistas suficientes para

inferir qual era a ação que estava sendo realizada e isso era suficiente para fazer com que os neurônios se ativassem. Já na última condição experimental, se o animal tivesse visto previamente que por trás do anteparo não existia objeto, o neurônio em F5 não modificava sua atividade (figura 14). Logo, esses neurônios são capazes de representar uma ação observada mesmo que o macaco não veja a sua parte mais crucial (se esse for capaz de prever o que irá acontecer). Ou seja, esses neurônios estão codificando a intenção do movimento e não somente seus aspectos cinemáticos (Umiltà et al., 2001). Neurônios com características espelho também são encontrados no córtex parietal de primatas (Fogassi et al., 2005), sabidamente fundamental para a representação de movimentos e fortemente conectado ao córtex pré-motor (Borra et al., 2008; Hermsdorfer et al., 2007; Wise et al., 1997).

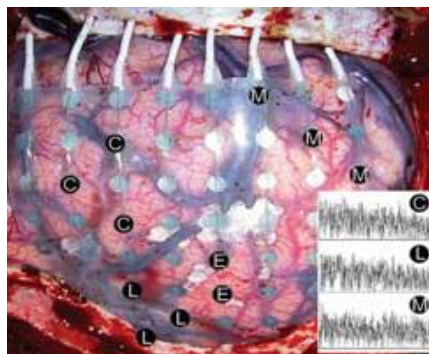


**Figura 14.** Exemplo de um neurônio que responde à observação de movimento tanto na visão plena como parcialmente encoberta (A e C, respectivamente), mas não nas condições onde o objeto não está presente (B e D). A parte de baixo de cada painel ilustra a ação do experimentador do ponto de vista do macaco que

observa a ação e a tela cinza representa o painel que encobria o final da ação nas condições C e D; Os histogramas representam a resposta média do neurônio em 10 tentativas consecutivas. Retirado de Umiltà e colaboradores (2001).

Diversos estudos comportamentais e empregando medidas fisiológicas remetem à existência de um circuito espelho em humanos, envolvendo as regiões parietal e pré-motora. A primeira evidência neurofisiológica veio em 1995, com Fadiga e colaboradores. Utilizando a TMS, os autores encontraram uma facilitação córtico-espinhal, com o aumento do PEM do primeiro interósseo dorsal, um músculo intrínseco da mão, durante a observação do movimento de pegar um objeto em relação a diversas situações controle: observação de uma mão, do objeto e de um ponto luminoso que variava de intensidade, dando a impressão de um deslocamento espacial não associado a nenhum movimento biológico (Fadiga et al., 1995).

Tremblay e colaboradores (2004) registraram a atividade elétrica cortical em um paciente epilético que foi submetido ao implante cirúrgico de 64 eletrodos subdurais. Essa rede de eletrodos foi posicionada de forma a incluir o córtex pré-motor e a região da área motora primária correspondente a movimentos da mão. Foram observadas ativações nessas duas áreas tanto durante a execução como durante a observação de movimentos (Tremblay et al., 2004) (figura 15).



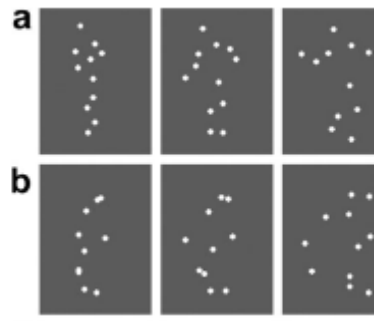
**Figura 15.** Fotografia do posicionamento da grade de eletrodos sobre a superfície do córtex, os eletrodos de interesse são os posicionados sobre o córtex pré-motor identificados pela letra (L) e o córtex motor associado ao movimento da mão (M). Retirada de Tremblay e colaboradores (2004).

Medidas da atividade cerebral com o auxílio da IRMf durante a observação de vídeos contendo ações realizadas com a boca, como morder uma maçã, por exemplo; com a mão, como pegar um copo, e com o pé, como chutar uma bola, revelaram a ativação dos córtices pré-motor e parietal de forma somatotópica, com o pé estando representado na região mais medial e a boca, mais lateral. Esses resultados indicam um recrutamento específico em relação ao movimento que está sendo realizado, como ocorre em M1 durante a execução de movimentos (Buccino et al., 2001). Todos os resultados apresentados nessa revisão sugeriram que esse sistema fosse implicado no reconhecimento das ações e até mesmo na identificação das intenções de outrem (Rizzolatti et al., 2001).

De fato, diferentes grupos de pesquisadores defendem que a percepção dos movimentos biológicos envolve o sistema motor. Uma das evidências em favor dessa hipótese foi encontrada por Saygin e colaboradores (2004). Os autores realizaram um estudo no qual os voluntários tinham a tarefa de observar uma série de pontos luminosos que se deslocavam dentro da máquina de ressonância magnética. Esses pontos foram posicionados sobre as articulações de um ator e filmados enquanto o mesmo realizava uma série de movimentos. Em parte das animações, era apresentada ao voluntário a cinemática da ação, mostrando os pontos exatamente como gravados quando o corpo do ator encontrava-se em movimento. Nas animações restantes, o perfil cinemático dos pontos localizados sobre as articulações eram embaralhados (figura 16). Os resultados obtidos indicam que o córtex pré-motor é ativado pela observação de representações visuais abstratas de ações (formadas por pontos animados) quando as mesmas estão de acordo com as leis cinemáticas que regem as ações humanas, enquanto que a



observação do movimento de pontos embaralhados não ativa o sistema motor (Saygin et al., 2004).



**Figura 16.** Exemplos dos estímulos utilizados por Saygin e colaboradores (2004). Em (a) uma seqüência de uma ação biológica e em (b) uma seqüência não biológica.

A relação direta entre a ativação das próprias representações motoras com a observação de movimento foi testada por Calvo-Merino e colaboradores (2005), com o auxílio da IRMf. Os autores examinaram dois grupos de praticantes de esportes que exigem o aprendizado de um repertório motor específico: o balé clássico e a capoeira. Os praticantes de ambos os grupos deveriam observar movimentos pertencentes ao esporte que treinam e ao outro esporte. Os autores observaram uma maior ativação bilateral do córtex parietal e pré-motor nos dois grupos de voluntários durante a observação de vídeos relativos ao próprio esporte, em relação à observação dos vídeos do esporte no qual não eram treinados. Esses resultados sugerem que a observação de ações realizadas por outrem está baseada nos repertórios motores do próprio indivíduo, e que o grau de atividade do sistema espelho é dependente da expertise motora do observador (Calvo-Merino et al., 2005).

No entanto, os dois trabalhos citados não permitem descartar a possibilidade da ativação do sistema espelho estar relacionada à experiência visual. Isso porque tanto movimentos biológicos como movimentos de um esporte praticado com grande

freqüência são visualmente mais familiares do que movimentos embaralhados ou pertencentes a um esporte não praticado. Para esclarecer essa questão, o mesmo grupo realizou um outro estudo com profissionais de balé clássico usando novamente a técnica de IRMf (Calvo-Merino et al., 2006). A dança foi escolhida porque alguns movimentos do balé são específicos de um gênero, embora tanto homens quanto mulheres tenham que treiná-los juntos. Sendo assim, a familiaridade com os aspectos visuais desses passos é similar em ambos os sexos, enquanto o treinamento motor é diferente. Nesse estudo, também foi evidenciada uma maior atividade do córtex pré-motor e parietal quando os dançarinos estavam observando ações que pertenciam ao seu próprio repertório em relação às ações do gênero oposto, que eram vistas, mas não executadas freqüentemente. Os autores propõem que a resposta do sistema espelho em humanos está relacionada à ativação das representações motoras do próprio indivíduo (Calvo-Merino et al., 2006).

Não só a observação de movimentos como também a capacidade de antecipação durante a visualização de um movimento biológico parece estar ancorada nas representações motoras do indivíduo. Para testar essa premissa Pozzo e colaboradores (2006) usaram um paradigma de predição visual, no qual voluntários deveriam prever a posição final de um ponto luminoso que descrevia a trajetória do dedo indicador durante o movimento do braço para cima ou para baixo. O perfil de velocidade do deslocamento desse ponto no eixo vertical poderia seguir as leis cinemáticas que regem movimentos biológicos ou a uma velocidade constante. Em todas as condições a parte final da trajetória era ocluída da visão do observador.

Os voluntários foram mais precisos na estimativa de estímulos que seguiam uma cinemática biológica, pertencente ao repertório motor do observador, sugerindo

que a antecipação também está relacionada às representações motoras do próprio indivíduo (Pozzo et al., 2006).

Um segundo estudo envolvendo a predição de movimentos observados foi o de Craighero e colaboradores (2008). Voluntários deveriam observar o movimento de um experimentador e prever o momento do toque do membro com um objeto. O tempo de resposta dos voluntários foi menor que o encontrado em paradigmas de tempo de reação simples. Esse resultado indica que os voluntários eram capazes de prever esse momento usando um modelo preditivo da ação observada. O mesmo trabalho comparou ainda predição do momento do toque do experimentador com duas configurações manuais diferentes que permitiriam interagir com o objeto apresentado. Nesse caso os resultados foram ainda mais interessantes: o tempo de reação foi menor ao prever o movimento considerado mais comum para pegar o objeto. Assim, os autores sugerem que a capacidade de prever o instante em que uma mão observada irá tocar um objeto alvo depende da congruência entre a ação observada e a representação motora interna ativada pelo observador pela visão do objeto (Craighero et al., 2008).

Uma possível crítica aos trabalhos supracitados é que seus resultados podem estar sendo influenciados pela familiaridade dos voluntários testados com o estímulo visual do movimento biológico. Um estudo recente de Aglioti e colaboradores 2008 testou essa hipótese. Através de um teste comportamental, esse estudo mostrou que jogadores de basquete profissionais são capazes de identificar se um arremesso será bem sucedido ou não baseados na observação de um outro atleta executando o movimento de arremessar. Isso ocorre mesmo antes do momento que a bola saia da mão do atleta no vídeo. O mesmo não é verdade para um grupo de jornalistas e técnicos do esporte, que observam o esporte o mesmo número de horas por semana

dos atletas, mas não treinam o mesmo. Esses últimos só conseguem prever adequadamente as ações quando lhes é permitido observar a trajetória da bola (Aglioti et al., 2008).

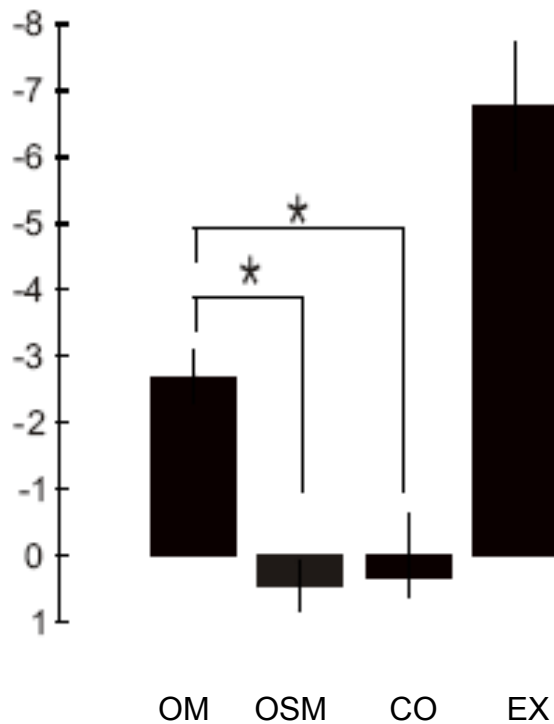
Além disso, através da técnica de TMS, constatou-se que no caso de um arremesso que teria um erro em sua direção, os atletas possuem uma facilitação córtico-espinhal, interpretada pelos autores como uma tentativa de correção do movimento observado do atleta. Os autores também concluem que a capacidade de antecipar o desfecho de uma ação também depende de uma ressonância entre os aspectos da ação observada e o repertório motor do observador (Aglioti et al., 2008).

Kilner e colaboradores (2004) investigaram se a capacidade de prever o movimento de uma outra pessoa também envolve um sistema de ressonância com o processo de preparação motora que antecede a execução de movimentos voluntários auto-gerados em humanos. A hipótese dos autores era que seríamos capazes de gerar um modelo antecipatório das ações de outra pessoa, o que tornaria o nosso cérebro capaz de prever ações mesmo antes da sua realização (Kilner et al., 2004). Para tal finalidade, os pesquisadores mediram o potencial de prontidão em voluntários normais durante a observação de ações dirigidas a um objeto. Durante a preparação motora, a atividade cerebral que precede um movimento voluntário gera uma onda de negatividade que pode ser registrada através de eletrodos de superfície posicionados no escalpo. Os potenciais de prontidão são estes potenciais corticais obtidos através do registro eletroencefalográfico (EEG) e relacionados aos movimentos (Babiloni et al., 1999; Ikeda et al., 1997; Jahanshahi et al., 1995). No estudo, os voluntários observavam vídeos contendo a mão de um ator e um objeto colorido e poderiam prever, com base na cor do objeto, se a mão do ator iria pegar esse objeto ou não. Como tarefa

controle, para descartar a hipótese de o potencial estar sendo gerado por uma atividade preparatória inespecífica, relacionada à expectativa de uma mudança no contexto, os autores introduziram outra condição experimental. Nesse bloco, os voluntários assistiam a filmes que também apresentavam a mão do ator e um objeto colorido, mas era a cor do objeto que se modificava em um momento previsível, enquanto a mão permanecia estacionária.

A comparação estatística entre as condições experimentais mostrou uma negatividade típica do potencial de prontidão quando os voluntários podiam prever o movimento da mão do ator, mas não quando o voluntário sabia que não existiria o movimento ou na condição onde a previsão de mudança não estava relacionada ao gesto e sim ao objeto (Kilner et al., 2004) (figura 17).

Essa correspondência entre a preparação motora em humanos e a predição de movimentos de outrem torna o paradigma empregado por Kilner e colaboradores (2004) uma ferramenta para identificar aspectos representacionais de mais alta ordem. Um estudo confirmou o papel do córtex parietal nessa tarefa de predição de movimentos. Foram testados pacientes com lesão dessa área cortical secundária a acidente vascular e os mesmos não apresentaram o potencial de prontidão mesmo quando poderiam prever o movimento do ator no vídeo (Fontana e colaboradores, em preparação).



**Figura 17.** Inclinação média da reta ajustada aos pontos da curva do potencial de prontidão construída a partir da média de 5 eletrodos de interesse localizados sobre o córtex somatomotor contralateral a mão do ator no vídeo observado pelos voluntários testados. Condições experimentais: observação de movimento (OM), na qual o voluntário podia prever o movimento do ator no vídeo; observação sem movimento (OSM), na qual a mão do ator permanecia estacionária; predição não relacionada ao movimento da mão, tarefa controle, na qual o voluntário podia prever que ocorreria uma mudança de cor no objeto apresentado no vídeo (CO) e, finalmente, movimento ativo do voluntário para apertar um botão com o índice (EX). Barras indicam erro padrão e \*diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). Retirada de Kilner e colaboradores (2004).

### 3.1.3 Estados S em pessoas amputadas

Apesar do grande número de estudos abordando as modificações sensório-motoras primárias na ausência de um membro, pouco se conhece sobre seus possíveis impactos sobre outros níveis representacionais do movimento. Um dos estudos que abordou essa questão foi o de Gazzola e colaboradores (2007). Esse trabalho, através da técnica de IRMf, examinou os voluntários durante a observação de movimentos. Os autores mostraram que pacientes com agenesia de membro

exibem uma ativação mais distribuída da atividade em áreas como córtices frontal, parietal e temporal durante a observação de ações de manipulação manual de objetos em relação a um grupo controle, composto por indivíduos com desenvolvimento típico. Sendo assim, pelo menos em indivíduos nascidos sem o membro, modificações funcionais que vão além das áreas primárias podem ser observadas (Gazzola et al., 2007).

Até o momento, não identificamos estudos semelhantes com pacientes que sofreram amputação tardia de um membro. No entanto, alguns trabalhos indicam a existência de diferenças nas representações ou no acesso às mesmas também nessa condição (Ramachandran 1998). Nico e colaboradores (2004) realizaram um estudo comportamental envolvendo os estados de simulação com tempo de reação. A tarefa empregada foi de julgamento de lateralidade manual, na qual desenhos de uma mão direita ou esquerda são apresentados ao voluntário em varias orientações diferentes e o mesmo deve decidir qual mão está sendo observada. Voluntários normais, para responder ao teste, usam transformações mentais muito semelhantes às empregadas durante o movimento da própria mão (Mercier et al., 2006), de forma que o tempo de reação aumenta de acordo com o ângulo de rotação da figura apresentada e os resultados também são influenciados pela posição do membro do voluntário no momento do teste (Parsons, 1987). Amputados de membro superior são mais lentos e erram mais nesse tipo de tarefa, especialmente os que tiveram o membro dominante amputado (Nico et al., 2004).

A mesma tarefa de julgamento de lateralidade foi empregada para testar o comportamento de um grupo de indivíduos com agenesia, ou seja, uma alteração na formação do membro superior ao longo do desenvolvimento embrionário. Foram testados 14 pacientes com transtorno unilateral de desenvolvimento do membro e os

resultados foram semelhantes aos encontrados em amputados tardios, com um maior tempo de reação para a mão ausente (Lotze et al., 2001; Lotze et al., 1999).

Outros estudos indicam a importância das informações sensoriais relativas ao membro durante o acesso às representações motoras. Eles empregaram a simulação de movimentos, ou imagética motora, que pode ser definida como um processo dinâmico no qual a pessoa acessa conscientemente um plano motor de uma dada ação enquanto monitora ativamente seu desdobramento (Lotze et al., 2001). Estudos utilizando medidas metabólicas mostraram que regiões cerebrais similares são ativadas durante a simulação e a execução de um mesmo movimento (Roland et al., 1980; Decety et al., 1994; Lotze et al., 1999; Gerardin et al., 2000; Stippich et al., 2002). Além disso, a imagética motora de um movimento promove o recrutamento da sua representação motora, com a conseqüente facilitação específica no córtex motor primário dos músculos envolvidos na ação simulada mentalmente. Vargas e colaboradores (2004) mostraram, em adultos saudáveis, que a postura do membro interfere com a facilitação da via córtico-espinal, promovida pela simulação mental de movimentos. Dessa forma, quando o movimento simulado era compatível com a postura corrente do membro do voluntário a facilitação córtico-espinal era maior do que quando a postura adotada não era compatível ao movimento simulado (Vargas et al., 2004).

O mesmo grupo, posteriormente, testou uma paciente com deafferentação completa e verificou que na ausência da informação sensorial não existe o efeito modulatório da posição do membro. Esse resultado indica que as aferências relativas ao membro, perdidas no caso dos amputados, são levadas em conta no processo de simulação mental (Mercier et al., 2008).



Sendo assim, ocorrem modificações em regiões relacionadas ao controle motor com a perda de informação aferente e eferente de um membro. Além disso, alguns estudos apontam, ainda, para a possibilidade de existirem subgrupos com comportamento distintos entre os pacientes amputados e agenésicos. Por exemplo, Funk e colaboradores (2005) descreveram um paciente com agenesia de membro que possuía sensação de movimento fantasma e apresentou desempenho similar a voluntários com desenvolvimento convencional em uma tarefa perceptual relacionada ao movimento do corpo humano. Porém, um segundo paciente, também agenésico, mas que não apresentava sensações fantasmas, teve seu desempenho alterado (Funk & Brugger, 2008).

A presença de dor também está relacionada às modificações nas representações em M1 estudadas com IRMf. Existe uma correlação inversa entre uso de prótese mioelétrica e reorganização cortical das representações motoras. Igualmente, pacientes amputados que fazem uso freqüente e intensivo de uma prótese mioelétrica apresentam menor dor fantasma. Além disso, a implementação da prótese em pacientes com dor foi correlacionada positivamente com a diminuição do quadro álgico (Lotze et al., 1999).

O mesmo grupo de pesquisadores, empregando novamente a IRMf, testou amputados de um membro superior e um grupo controle para investigar a relação entre representações da boca e da mão. Todos os voluntários deveriam realizar movimentos do lábio, mão e movimento imaginário do coto no caso dos amputados, ou do membro esquerdo no grupo controle. Somente os pacientes com dor fantasma apresentaram um deslocamento da representação da boca na direção da área correspondente à representação da mão em M1 e S1 e os movimentos imaginários

da mão ativaram a área da face. Além disso, esse deslocamento exibiu uma correlação positiva com a intensidade da dor fantasma (Lotze et al., 2001).

### **3.1.4 Potencial de prontidão**

O presente estudo tem como objetivo estudar a predição de movimentos de outrem, a qual envolve o recrutamento de representações motoras do próprio indivíduo em pacientes adultos com amputação unilateral crônica do membro superior. Para tal, o presente estudo irá empregar um paradigma modificado a partir do estabelecido por Kilner e colaboradores (2004) que o usa o potencial de prontidão como medida fisiológica de interesse. Por essa razão será realizada uma revisão sobre esse potencial evocado.

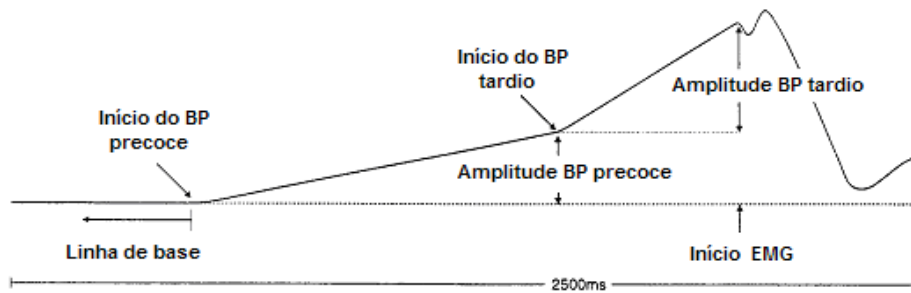
O sinal eletroencefalográfico resulta da somação temporal e espacial de muitos potenciais pós-sinápticos inibitórios e excitatórios gerados no córtex cerebral. O EEG encontra-se na faixa entre 10 e 300  $\mu\text{V}$ , o que o torna facilmente influenciado por vários ruídos fisiológicos e elétricos, e ao mesmo tempo mostrando uma grande aleatoriedade e não-estacionariedade do sinal (Chiappa, 1997). Um potencial cortical relacionado a evento, como o potencial de prontidão, é o resultado de uma manifestação elétrica da atividade cerebral em resposta a um estímulo. Devido às baixas amplitudes do sinal, à presença de artefatos e à constante atividade de fundo das ondas cerebrais (por exemplo: alfa (8-13 Hz) e beta (14-40 Hz), somente após várias apresentações do mesmo estímulo é possível reduzir a variação da atividade aleatória não sincronizada aos estímulos e melhorar a relação sinal-ruído (Chiappa, 1997).

A análise dos potenciais relacionados a eventos é baseada no pressuposto de que formas de ondas características são manifestações da atividade de

populações de neurônios em determinadas áreas cerebrais. Esta atividade pode ser registrada, pois os tecidos entre as prováveis fontes e o escalpo agem como um volume condutor. Entretanto, como a atividade elétrica associada com qualquer neurônio particular é pequena, no escalpo somente é possível registrar a atividade integrada de um grande número de neurônios. Assim, é necessário que: (1) neurônios sejam recrutados de forma sincronizada e (2) os campos elétricos gerados por cada neurônio individualmente estejam orientados para que seus efeitos no escalpo sejam acumulados (Fabiani et al., 2000).

O potencial de prontidão (“Bereitschaftspotential, BP”) é um potencial cortical negativo que tem início em torno de 1,5s antes do início do movimento, e vem sendo utilizado como um índice da preparação motora. Este potencial foi primeiramente descrito por Kornhuber e Deecke em 1964 (Jahanshahi et al., 1995). Posteriormente, Libet e colaboradores (1983) propuseram que esse potencial reflete a intenção para a ação, que permanece inconsciente durante certo período de tempo (Libet et al., 1983).

Os potenciais de prontidão podem ser caracterizados pela identificação de dois componentes principais anteriores à realização do movimento (figura 18), que fazem parte da antecipação motora. O primeiro componente lento negativo – também chamado BP precoce – reflete a atividade cortical associada à preparação inicial para o ato motor, e o segundo componente, mais tardio – chamado inclinação negativa (“negative slope”, NS) ou BP tardio - está associado com o planejamento específico e a fase final da execução da atividade motora planejada (Fang et al., 2004; Shibasaki & Hallett, 2006).



**Figura 18.** Identificação dos principais componentes dos potenciais de prontidão que acontecem previamente ao início dos movimentos (indicados pelo início do EMG). O primeiro componente negativo é chamado de “Bereitschaftspotential” ou BP precoce, e o componente mais tardio que corresponde a uma maior inclinação do potencial, chamado de BP tardio ou “negative slope” (extraído de Jahanshahi *et al.*, 1995).

O potencial de prontidão foi estudado extensivamente com registros no escalpo e intra-cranianos, entretanto há ainda controvérsia sobre sua descrição exata e a sua origem (Neshige *et al.*, 1988; Shibasaki & Hallett, 2006). Com o auxílio da técnica de IRMf, Cunnington e colaboradores (2003) investigaram as redes implicadas na sua geração. Os autores relataram uma ativação bilateral da área motora suplementar e córtex cingulado, além de uma ativação do córtex motor primário contralateral (Cunnington *et al.*, 2003).

### 3.1.5 Objetivo

Testar se a capacidade de antecipação do movimento de outrem é alterada pela amputação crônica unilateral de um membro superior. Para essa finalidade, será analisada a predição do movimento de um ator com o membro correspondente ao amputado nos pacientes, e também a observação do membro correspondente ao preservado. Nossa hipótese é que a amputação irá alterar a capacidade de antecipação durante a observação do membro correspondente ao amputado.

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Amostra e paradigma experimental

Foram testados quatro voluntários, homens, com amputação do membro superior, 02 com amputação à direita e 02 à esquerda, com média de idade de 60 anos e desvio padrão 5,2 anos (informações clínicas, tabela 3).

Voluntário	Ano do Nascimento	Nível da amputação	Ano da amputação	Membro amputado	Etiologia	Movimento fantasma	Dor fantasma
MP	1938	Abaixo do cotovelo (1/3 distal)	1992	Esquerdo	Traumática	Sim	Sim
GP	1949	Acima do cotovelo (1/3 proximal)	2002	Direito	Traumática	Sim	Sim
JJM	1950	Acima do cotovelo (1/3 proximal)	2000	Esquerdo	Traumática	Sim	Sim
RD	1941	Acima do cotovelo (1/3 proximal)	1998	Direito	Traumática	Sim	Sim

**Tabela 3.** Dados clínicos dos pacientes testados no experimento. Todos os pacientes foram avaliados no ano de 2004.

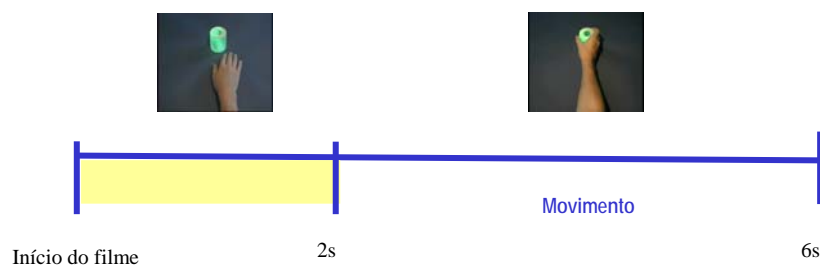
O grupo controle foi constituído por 09 voluntários saudáveis (06 homens, média de idade: 54.8 anos, variando entre 47-72). Todos os voluntários envolvidos no estudo eram destros, com visão normal ou corrigida, sem histórico de patologias que tenham acometido o sistema nervoso e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes do teste. O protocolo foi aprovado pelo comitê de ética local (Centre Léon Berard, Lyon, França).

O protocolo experimental utilizado nesse estudo foi modificado a partir do desenvolvido por Kilner e colaboradores (2004). Os voluntários sentavam confortavelmente em uma sala com controle de iluminação e temperatura de frente para um monitor. Os sujeitos assistiam a 04 blocos de 60 filmes, cada um com 6s de duração, sendo que, antes de cada filme, era apresentada uma tela preta com uma

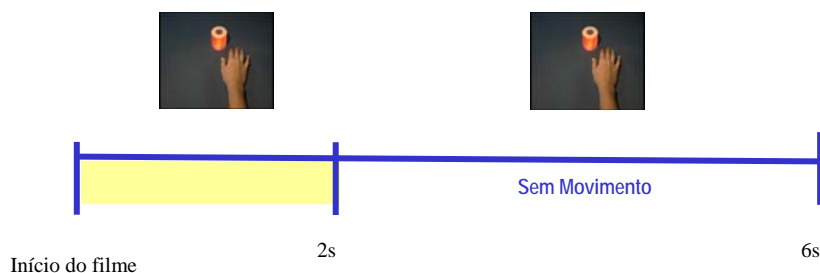
cruz de fixação central de duração de 01 segundo. Todos os vídeos apresentados continham uma mão e um cilindro colorido. Em dois blocos a mão apresentada era a esquerda, e em outros dois, a direita. Em cada um dos blocos, na metade dos vídeos, o cilindro era verde e, nesse caso, dois segundos após o início do filme, ocorria o movimento da mão do ator em direção ao objeto, seguida pela apreensão do mesmo (condição denominada observação de movimento). Nos 30 vídeos restantes, o objeto apresentado era vermelho e, nesse caso, a mão permanecia imóvel (condição denominada observação sem movimento) (figura 19). A ordem de apresentação dos blocos e vídeos foi aleatória.

A regra de cores era explicada ao voluntário na instrução da tarefa, antes do início do experimento. Sendo assim, durante todo o teste o voluntário era capaz de saber se o movimento do ator no vídeo ocorreria ou não, com base na cor do objeto apresentado. Para manter o voluntário engajado na observação dos vídeos, após cada bloco o voluntário deveria responder a algumas perguntas a respeito de variações da posição inicial da mão e da maneira como o ator pegava o cilindro.

#### Observação de Movimento



#### Observação sem Movimento



**Figura 19.** Na condição observação de movimento (A) o vídeo apresentado contém a mão do ator e um objeto verde. Dois segundos após o início do filme a mão do ator se desloca e pega o objeto. Já na condição observação sem movimento, o vídeo tem início com a apresentação da mão do ator e do objeto vermelho, mas a mão permanece estacionária.

### **3.2.2 Aquisição e análise dos sinais**

Para a aquisição dos sinais eletroencefalográficos (EEG) utilizou-se um sistema de 64 canais (Geodesic Sensor Net) e eletrodos de prata-cloreto de prata (Ag/AgCl) com amplificadores de alta impedância ( $200\text{ M}\Omega$ , Net Amps, Electrical Geodesics Inc., Eugene, OR, USA). Um eletrodo posicionado no processo mastóide e outro no vertex (Cz) foram empregados como terra e referência, respectivamente. A frequência de amostragem dos sinais coletados foi de 500 Hz e todos os canais foram filtrados analogicamente com frequência de corte de 0,01 e 200 Hz (filtro passa-banda). Durante todo o experimento, a impedância dos eletrodos era mantida abaixo de 30 k $\Omega$ .

A análise dos dados de EEG foi realizada “off-line” em MATLAB (Mathworks, USA) e consistiu no cálculo da média coerente (promediação) dos segmentos de EEG alinhados pelo início do filme, resultando nos potenciais de prontidão em cada tarefa para cada indivíduo. O trecho promediado tinha início 500 ms antes da apresentação do vídeo e duração total de 3000 ms. Os primeiros 200 ms de cada segmento foram usados para realizar a correção da linha de base e tentativas contendo artefatos por movimentos oculares foram eliminadas antes da análise. Os sinais de todos os eletrodos foram re-referenciados em relação ao eletrodo posicionado sobre o processo mastóide, foram filtrados digitalmente com um filtro passa-baixa com frequência de corte de 45Hz e re-amostrados a 100 Hz.

A grande média coerente foi calculada para todos os casos individuais em cada situação experimental (observação de movimento e observação sem movimento para mão esquerda e direita) dentro dos grupos de pacientes amputados e em cada situação experimental para a mão direita no grupo controle. Assim, para cada caso, o sinal promediado dos eletrodos 16, 17, 21, 22 e 25 (que correspondem à Fc5, C3, Cp3, C5, Cp5 no sistema 10-20) e 47, 50, 53, 54, 57 (que correspondem à Fc6, C4, Cp4, C6, Cp6 no sistema 10-20) foi calculado a partir da equação:

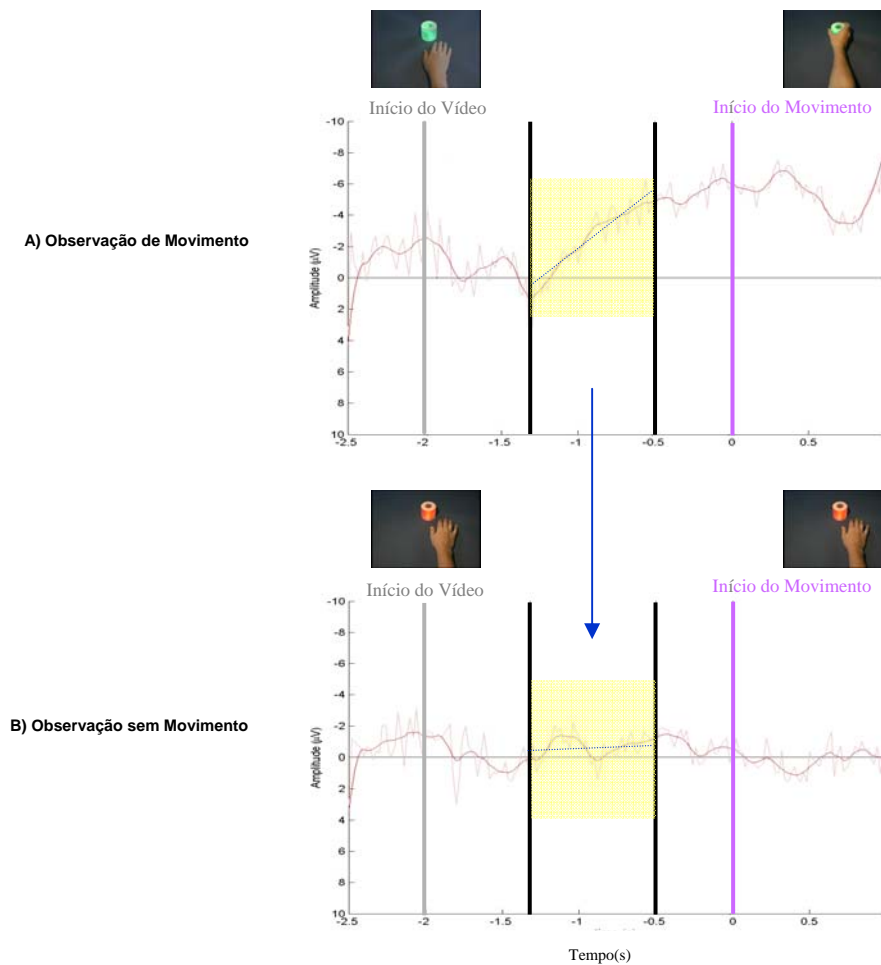
$$\bar{x}[t] = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M x_m[t], \quad (2)$$

onde M é o número de eventos promediados,  $x_m[t]$  é o sinal de EEG durante o m-ésimo evento, iniciando 500ms antes do começo da apresentação do vídeo até 2500 ms após o início do filme, o que corresponde a 500ms depois do início do movimento da mão na condição de observação de movimento. Dessa forma, esses sinais promediados contêm os potenciais de prontidão calculados para cada tarefa.

Usando regressão linear foram calculadas duas retas distintas para o potencial de prontidão precoce e tardio (os componentes clássicos do potencial de prontidão para movimentos executados auto-iniciados). A janela de análise para cada um dos componentes foi definida individualmente em relação à condição de observação do movimento, como aquela relacionada ao maior coeficiente angular da equação da reta ajustada aos pontos do sinal. Dessa forma, o primeiro componente do potencial de prontidão deveria ter início entre 2 segundos e 1 segundo antes do movimento no filme e terminava 500 ms antes do mesmo e o segundo deveria ter início entre 500ms e 400ms antes do início do movimento e terminava no momento que a mão do ator começava a mover-se. A mesma janela estabelecida na condição de observação de movimento (vídeos com o objeto verde) foi empregada na análise



da condição observação sem movimento (objeto vermelho) para cada voluntário (figura 20). Para cada componente dos potenciais de prontidão foi analisado o coeficiente angular da equação da reta ajustada.



**Figura 20.** Sinal promediado de um paciente amputado para as condições observação de movimento do ator com o membro correspondente ao preservado no paciente (A) e observação sem movimento (B). Note que a janela estabelecida na condição A foi utilizada para selecionar o trecho correspondente do sinal em B. Sendo assim, nas duas condições experimentais a reta da regressão linear foi ajustada aos pontos do sinal pertencentes ao intervalo temporal identificado pela janela amarela.

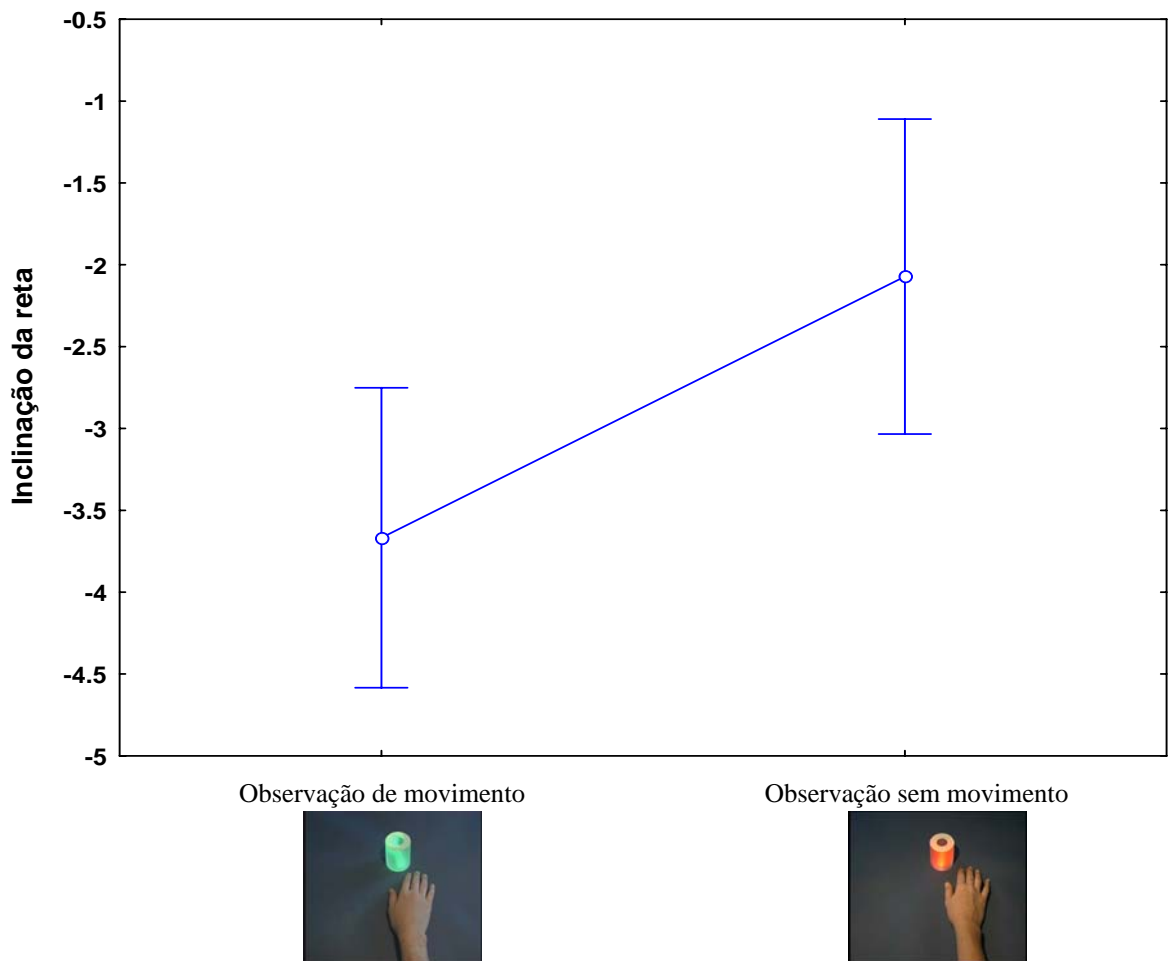
A análise estatística foi realizada com o teste de análise de variância (ANOVA) com dois fatores (two-way). Foram incluídos na análise os dois hemisférios cerebrais de cada voluntário amputado, já que não foi observada diferença

estatística entre eles ( $F(1, 50)=.33263$ ,  $p=.56$ ) para o primeiro componente do potencial de prontidão e ( $F(1, 50)=.12225$ ,  $p=.72$ ) para o segundo componente.

O primeiro fator da análise de variância, entre os grupos, estava relacionado à lateralidade do movimento observado e possuía três níveis: amputados observando a mão do ator com o membro correspondente ao seu amputado, amputados observando a mão do ator correspondente ao seu membro intacto e grupo controle observando o movimento. O segundo fator, relacionado à predição de ações, intra-grupos, com medidas repetidas, possuía dois níveis: observação de movimento e observação sem movimento. A análise *post-hoc* foi realizada com o teste de Fisher LSD.

### 3.3 RESULTADOS

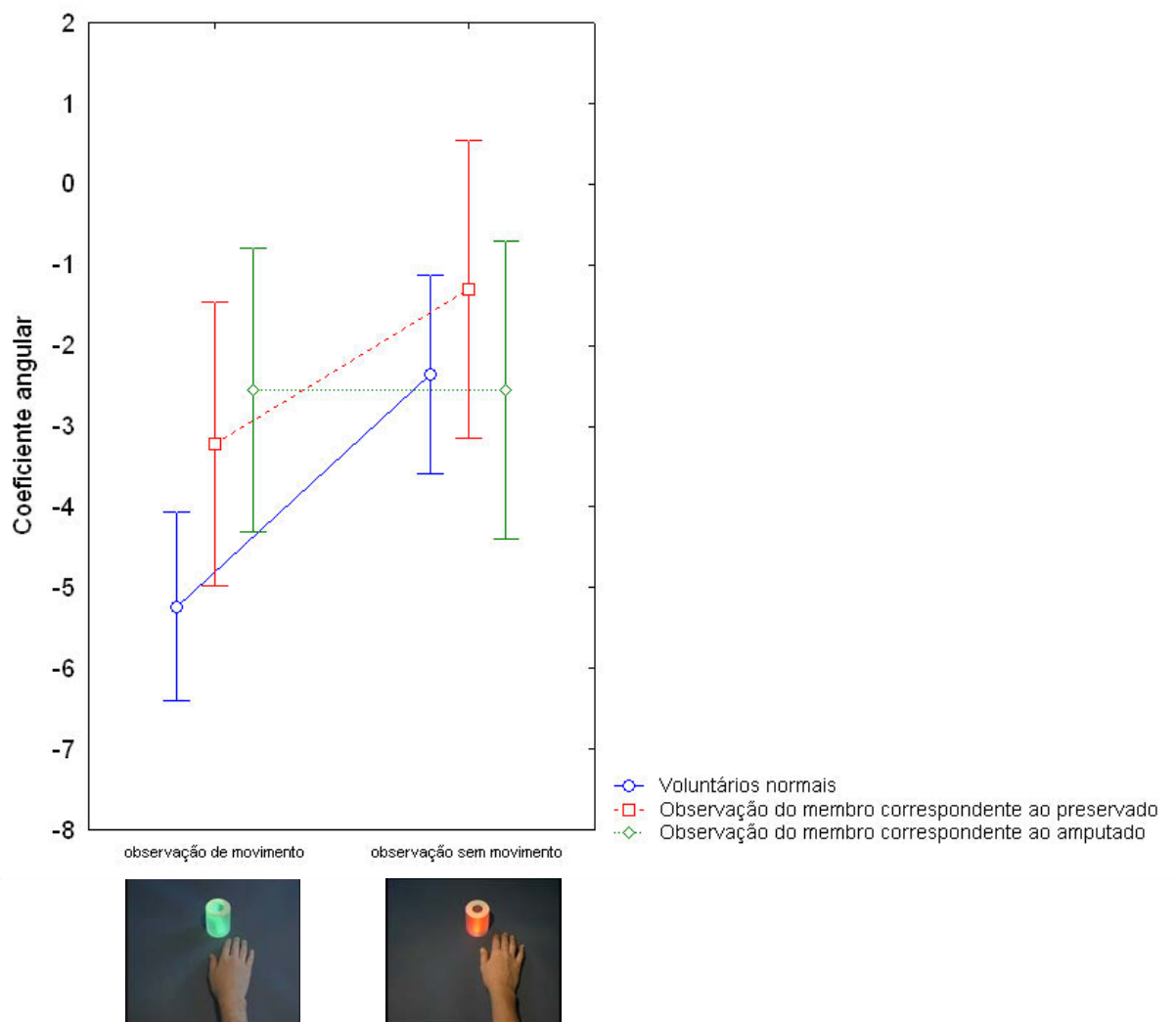
A análise do coeficiente angular da reta ajustada ao primeiro componente do potencial de prontidão (até 500 ms antes do movimento) mostrou efeito principal para as condições experimentais. Conforme esperado, baseando-se no trabalho de Kilner e colaboradores (2004) foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre a condição observação de movimentos, quando o voluntário poderia prever o movimento do ator no vídeo, e observação sem movimento, quando o voluntário sabia que não haveria movimento ( $F(1,31)=10,188$ ;  $p<0,01$ ). Na condição observação de movimento os voluntários apresentaram uma maior negatividade, indicativa do potencial de prontidão (figura 21).



**Figura 21.** Média da inclinação da reta ajustada aos pontos do primeiro componente do potencial de prontidão nas condições observação de movimento e observação sem movimento, mostrando maior negatividade quando os voluntários sabiam que ocorreria o movimento do ator no filme. Barras de erro indicam intervalo de confiança de 0,95.

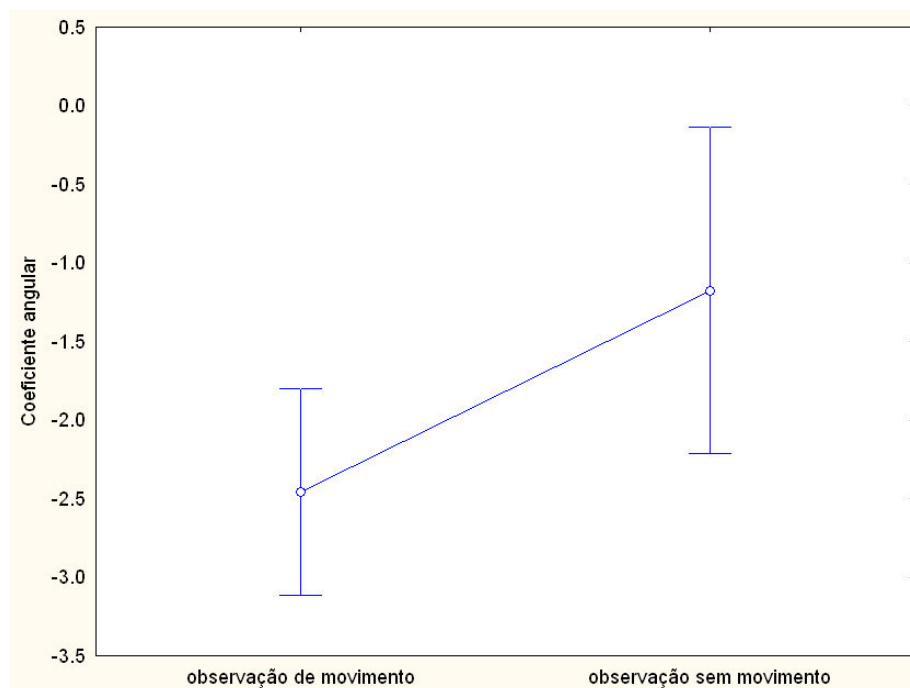
Foi observada, ainda, uma interação significativa entre os fatores grupo e condição experimental ( $F(2, 31)=3,12$ ;  $p=0,05$ ). A análise *post-hoc* mostrou que a diferença entre a condição de observação de movimento, em relação à observação sem movimento ocorre no grupo de voluntários normais e para a observação da mão correspondente a mão íntegra dos voluntários com amputação do membro superior ( $p<0,01$  e  $p=0,05$  respectivamente). Essa diferença entre as condições experimentais,

no entanto, não foi observada quando os voluntários amputados estavam observando a mão do ator correspondente à sua mão amputada ( $p=0.99$ ) (figura 22). Além disso, a condição observação de movimento nos voluntários normais difere das condições observação de movimento e observação sem movimento do membro correspondente ao amputado nos voluntários amputados ( $p= 0,04$  e  $0,01$ ), porém, difere apenas da condição observação sem movimento no lado correspondente ao preservado dos voluntários amputados ( $p<0,01$ ), não diferindo, nesse caso, da condição de observação de movimento ( $p=0,12$ ).



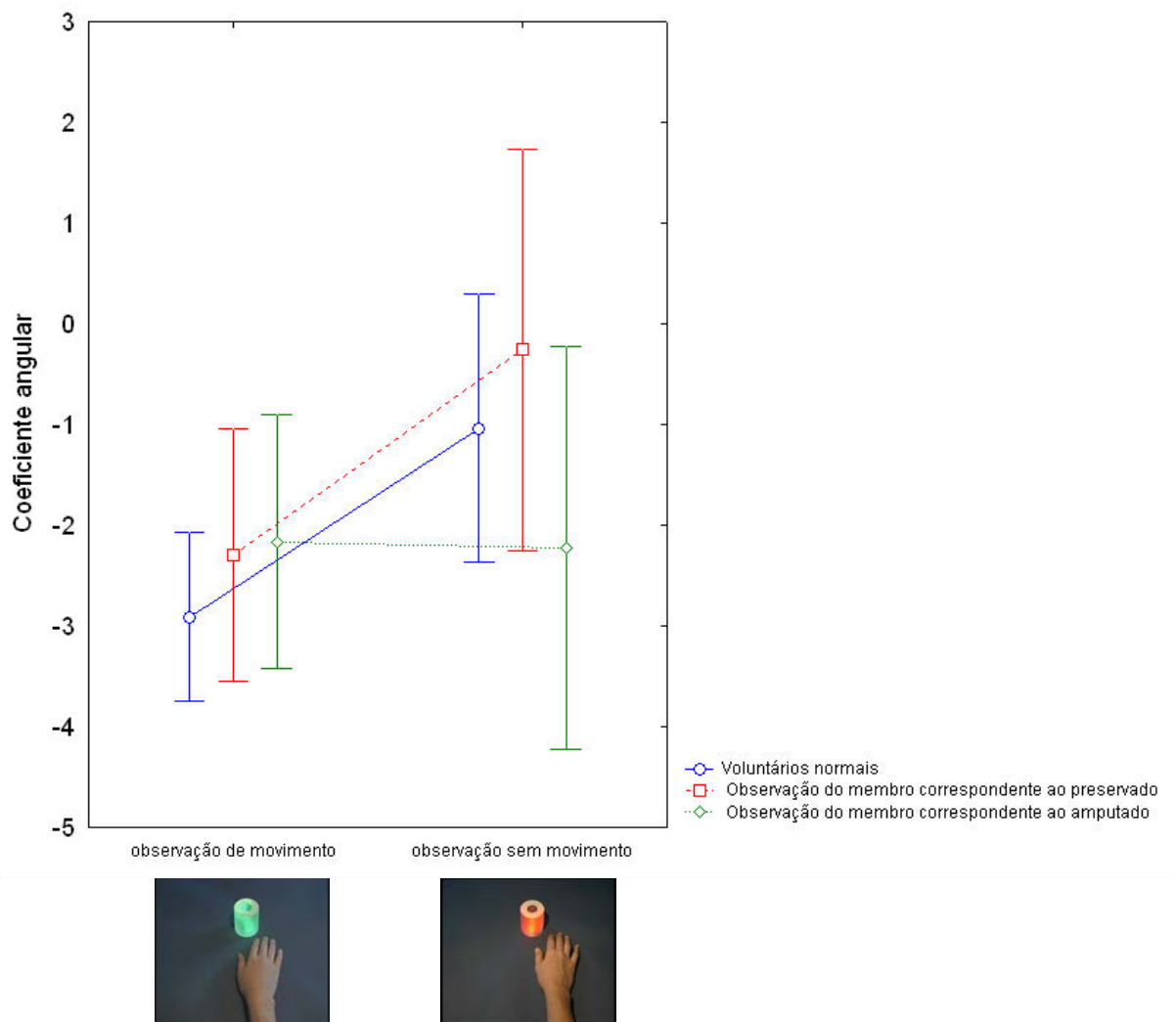
**Figura 22.** Média da inclinação da reta ajustada aos pontos do primeiro componente do potencial de prontidão na condição observação de movimento e observação sem movimento nos voluntários saudáveis (linha azul), amputados observando a mão do ator correspondente à sua mão sadia (linha vermelha) e amputados observando a mão do ator correspondente a sua mão amputada (linha verde). Barras verticais indicam intervalo de confiança de 0,95.

A análise do coeficiente angular da reta ajustada ao segundo componente do potencial de prontidão (a partir de 500ms antes do movimento) mostrou, assim como a análise do primeiro componente do potencial, efeito principal para a condição experimental, com uma diferença estatisticamente significativa entre a condição observação de movimentos, quando o voluntário poderia prever o movimento do ator no vídeo, e observação sem movimento, quando o voluntário sabia que não haveria movimento ( $F(1,31)=4,166$ ;  $p=0,049$ ) (Figura 23).



**Figura 23.** Média da inclinação da reta ajustada aos pontos do segundo componente do potencial de prontidão na condição observação de movimento e observação sem movimento, mostrando maior negatividade quando os voluntários sabiam que ocorreria o movimento do ator no filme. Barras de erro indicam intervalo de confiança de 0,95.

No entanto, no caso do segundo componente a interação entre condições experimentais e amputação não foi significativa ( $F(2,31)=1,042$ ;  $p=0,364$ ) (Figura 24).



**Figura 24.** Média da inclinação da reta ajustada aos pontos do segundo componente do potencial de prontidão na condição observação de movimento e observação sem movimento nos voluntários saudáveis (linha azul), amputados observando a mão do ator correspondente à sua mão sadia (linha vermelha) e amputados observando a mão do ator correspondente a sua mão amputada (linha verde). Barras verticais indicam intervalo de confiança de 0,95.

O sinal promediado de cada paciente está apresentado no anexo 01. Não foram observadas diferenças significativas na análise do segundo componente do potencial de prontidão.

### **3.4 DISCUSSÃO**

Os resultados do presente estudo mostram que amputados unilaterais de membro superior perdem a capacidade de antecipação das ações de outrem, conforme demonstrado pela ausência da negatividade característica do potencial de prontidão quando o voluntário poderia prever o movimento do ator com a mão correspondente a mão amputada.

Rizzolatti e colaboradores (2001, 2002) propõem a existência de correspondência direta entre a percepção e ação. Essa teoria postula que a observação de uma ação possui uma ressonância direta com a ativação da representação motora da mesma. Esse mecanismo de ressonância seria automático, e não implicaria em uma análise perceptual visual sofisticada (Rizzolatti et al., 2001; Rizzolatti et al., 2002).

De fato, como descrito na introdução do presente projeto, a percepção dos movimentos biológicos realizados por outrem está baseada nos repertórios motores do próprio indivíduo, e que o grau de atividade do sistema espelho é dependente da ativação dos repertórios motores do observador (Calvo-Merino et al., 2005; Calvo-Merino et al., 2006). A antecipação durante a observação do movimento de outrem também envolve uma ressonância entre os aspectos da ação observada e as representações motoras ativadas pelo observador (Aglioti et al., 2008; Craighero et al., 2008; Pozzo et al., 2006). Kilner e colaboradores expandiram essa idéia mostrando que não apenas durante a observação de movimento de outra pessoa,

mas também durante a preparação motora ocorre a ativação do sistema motor em indivíduos saudáveis.

No presente estudo, amputados unilaterais do membro superior não apresentaram resposta antecipatória para movimentos da mão de um ator quando era correspondente à amputada no paciente. Esse resultado indica que ou os repertórios motores do indivíduo amputado ou o acesso a esses repertórios estão alterados. Esse fenômeno pode ser explicado tanto pela ausência de informações sensoriais em relação ao membro quanto pela modificação das transformações sensório-motoras impostas pela amputação.

Além disso, é possível que a presença de dor fantasma também tenha uma influência no resultado. O grau de reorganização do córtex somato-sensorial está correlacionado positivamente com a dor fantasma em pacientes após amputação unilateral do membro superior (Flor et al., 1995). Soma-se a isso o fato de que o uso de prótese mioelétrica não só diminui as reorganizações em M1 após a amputação, como também está relacionado com a diminuição da dor fantasma (Lotze et al., 1999).

Além dessas modificações plásticas descritas em amputados, sabe-se que a dor pode alterar a excitabilidade cortico-espinhal (Farina et al., 2001; Romaniello et al., 2000; Svensson et al., 2003), modificar o centro de gravidade e volume da representação de músculos (Tsao et al., 2008) e gerar até mesmo modificações estruturais no córtex humano, como, por exemplo, a redução da espessura de M1 no hemisfério contralateral a dor neuropática (DaSilva et al., 2008). Portanto, não podemos descartar o fato de que a presença do membro fantasma doloroso nos pacientes examinados no presente estudo possa ser, ao menos parcialmente, responsável pela supressão da antecipação motora encontrada.



## **4 DISCUSSÃO GERAL**

Amputação, lesão nervosa periférica ou isquemia (capaz de induzir uma deafferentação transitória) geram reorganizações no córtex motor em um prazo de horas ou até mesmo minutos (Huntley, 1997; Sanes et al., 1990; Ziemann et al., 1998). Essas modificações provavelmente são mediadas por uma retirada da inibição intracortical e o conseqüente desmascaramento de sinapses latentes (Jacobs & Donoghue, 1991). Somam-se a essas alterações de curto prazo outras modificações de médio e longo prazo. Entre elas estão: mecanismos de potenciação de longo prazo e depressão de longo prazo (Garraghty & Muja, 1996; Hess & Donoghue, 1994), brotamento axonal (rian-Smith & Gilbert, 1994a), aumento da distância das conexões córtico-corticais dentro dos circuitos pré-existentes e além deles (Kaas, 1991; rian-Smith & Gilbert, 1994b). Além disto, os resultados aqui apresentados, referentes à perda da capacidade de antecipação do movimento de outrem quando realizada em relação ao membro correspondente ao amputado, são um indício de que essas alterações não devem estar restritas aos córtices primários, afetando também outras instâncias relacionadas à representação de movimentos.

### ***4.1 Circuito parieto-frontal e as representações de movimento***

Os córtices parietal e pré-motor possuem neurônios capazes de responder a diferentes modalidades sensoriais. Esses neurônios são, por essa razão, denominados neurônios multi-modais. São eles que permitem construir uma resposta motora apropriada em relação a um objeto externo (Duhamel et al., 1998). Para representar o espaço em torno do nosso corpo e, principalmente, nos permitir atuar sobre este espaço, precisamos integrar as informações provenientes da visão, propriocepção, tato, sensações vestibulares e auditivas. Essa rede, principalmente o

córtex parietal, possui um papel fundamental na transformação das coordenadas espaciais, provenientes das informações sensoriais, em coordenadas centradas nos efetores (Cohen & Andersen, 2002), através da computação dos chamados “sistemas de referência” (reference frames). Um sistema de referência pode ser definido como um conjunto de eixos que descreve a localização de um determinado objeto. O cálculo dos diferentes sistemas de referência não é trivial e envolve freqüentemente a transformação de um determinado sistema de coordenadas espaciais, por exemplo, o sistema retinotópico, em coordenadas apropriadas para a realização do ato motor, centradas no efector. Além da transformação das coordenadas sensoriais, o cálculo do sistema de referências leva também em consideração os modelos internos do movimento, que consistem em um mecanismo capaz de prever as conseqüências de nossos próprios movimentos (Wolpert & Miall, 1996).

Diferentes abordagens computacionais podem ser encontradas na literatura para explicar o funcionamento do sistema capaz de gerar e gerenciar esse tipo de modelo. Porém, de forma geral, trata-se de uma modelização da interação entre os sistemas sensório-motores e o mundo físico (Kawato et al., 1987; Wolpert & Ghahramani, 2000). Existem dois tipos de modelos internos: o inverso e o preditivo. O papel do modelo inverso é o de gerar o comando motor adaptado a partir do estado atual do sistema e do movimento desejado. O termo inverso se aplica para indicar que a relação causal entre o comando motor e o movimento é invertida. Para exemplificar, podemos imaginar que precisarmos pegar um copo que está posicionado sobre uma mesa a nossa frente. Para atingir esse objetivo o modelo inverso deverá transformar as representações sensoriais das posições relativas do

membro superior e do objeto em comandos motores com o intuito de realizar adequadamente a ação (Wolpert & Miall, 1996).

O segundo tipo de modelo interno, o modelo preditivo, simula as conseqüências de nossos movimentos sobre os sensores corporais e o ambiente (Wolpert e Miall, 1996). Para esse objetivo, o conteúdo do modelo preditivo usa uma cópia eferente dos comandos enviados para o controle do sistema músculo-esquelético. Assim, o modelo preditivo usa uma cópia da eferência motora para prever suas conseqüências sensoriais (Wolpert et Miall, 1996).

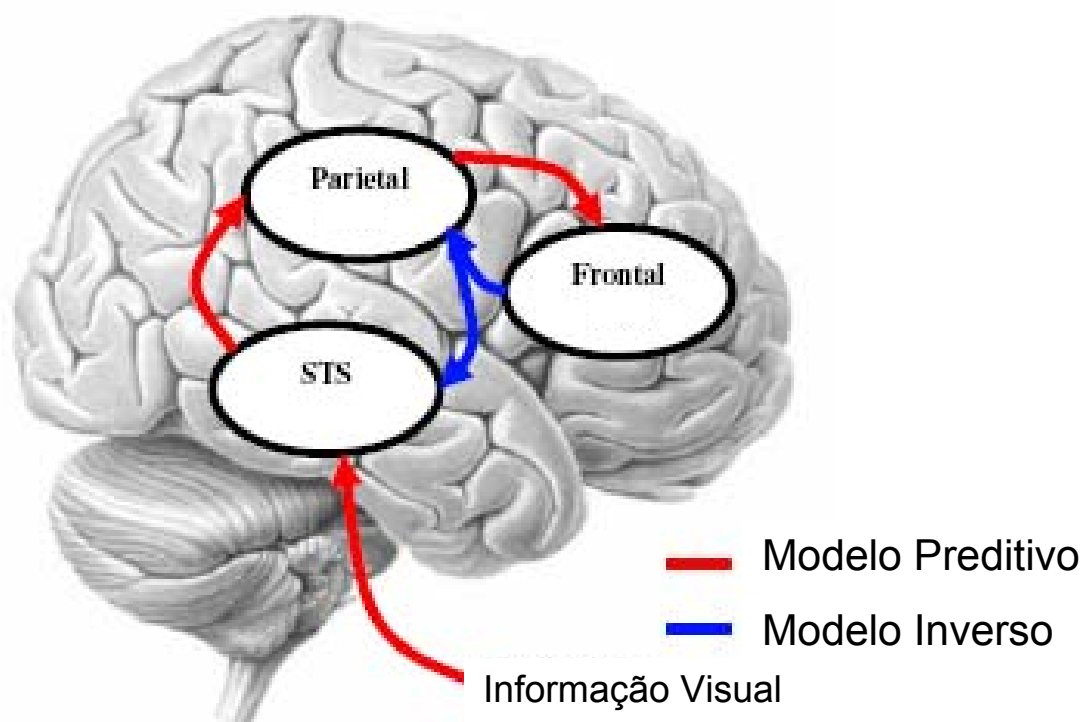
O aprendizado dentro desse sistema poderia ocorrer tanto pela aquisição de novos modelos de predição (preditivo) como de novos comandos motores (inverso), a partir do uso de mecanismos tais como: a imitação de movimentos, o reforço dos resultados, a punição dos erros a partir dos sistemas de recompensa, e os mecanismos de aprendizado “não supervisionado” (Wolpert & Flanagan, 2001), que se encontram na interface entre a intenção e os sistemas motivacionais.

A utilização desses modelos, inicialmente restrita ao controle dos próprios movimentos no ser humano, foi posteriormente proposta dentro da compreensão dos mecanismos ligados à observação das ações, incorporando a descoberta do sistema espelho.

Conforme descrito na introdução, a inferência sobre um movimento biológico não está ligada somente a mecanismos de extrapolação visual (Nijhawan, 2008). Os modelos internos da ação contendo os detalhes cinemáticos específicos dos movimentos podem participar da interpretação das ações realizadas por outrem (Wolpert et al., 2003).

Mas de que forma o sistema espelho está integrado ao conceito de modelos internos?

Marco Iacoboni e seus colaboradores sugerem que os neurônios espelho do córtex pré-motor são uma interface crucial que permite a passagem de um modelo inverso a um modelo preditivo.(Iacoboni et al., 2005) A informação necessária a gênese de um modelo inverso compreende o sulco temporal superior (STS), que não está ligado à execução de movimentos, mas responde ao movimento biológico humano (Rizzolatti & Craighero, 2004) . As evidências anatômicas de conexões córtico-corticais diretas e indiretas dessa área com o córtex parietal e pré-motor (Borra et al., 2008; Catani et al., 2005) suportam essa hipótese. Dentro desse esquema, o STS teria o papel de fornecer uma descrição visual de alto nível da ação observada e o circuito espelho fronto-parietal converteria a informação visual em informação motora (figura 25). As conexões recíprocas entre essas áreas permitiriam, então, a gênese de um modelo preditivo, capaz de prever as consequências sensoriais da ação percebida. Esse processo teria como base a cópia eferente ligada ao movimento observado (Kilner et al., 2007; Miall, 2003).



**Figura 24.** Representação esquemática das relações entre os modelos internos inversos e preditivo com o sistema espelho incluindo o córtex pré-motor, o lobo parietal inferior e o sulco temporal superior de acordo com Kilner e colaboradores (2007).

Wolpert e colaboradores (1998), no entanto, possuem um ponto de vista diferente do proposto por Iacoboni e colaboradores (2001) em relação à área cortical responsável pela elaboração da passagem entre o modelo inverso e o preditivo. Enquanto o grupo de Iacoboni acredita que o córtex pré-motor seja o responsável pela elaboração da predição (2001), o de Wolpert et al. (1998) propõe que esse papel seja desempenhado pelo córtex parietal.

Apesar das discussões em relação ao papel específico de cada uma das áreas, o esquema geral, compreendendo as áreas fronto-parietais além do STS, tornou-se recorrente na literatura (Iacoboni et al., 2005; Miall, 2003; Oztop & Arbib, 2002; Rizzolatti & Craighero, 2004). Um número crescente de autores defende o sistema espelho como substrato fundamental da existência de modelos internos (Fabbri-Destro & Rizzolatti, 2008). A capacidade de imitação ilustra a importância desse circuito no meio dos modelos internos, pois a imitação é um mecanismo que necessita da transformação de informações sensoriais em comandos motores (modelo inverso) com o objetivo de reproduzir (modelo preditivo) a ação observada. A existência dos neurônios espelho permite tais transformações sensório-motoras (Iacoboni et al., 1999). Assim, a observação de movimento pode ser usada como modelo para a execução desse mesmo movimento.

#### ***4.2 Plasticidade após treinamento com visualização de movimentos***

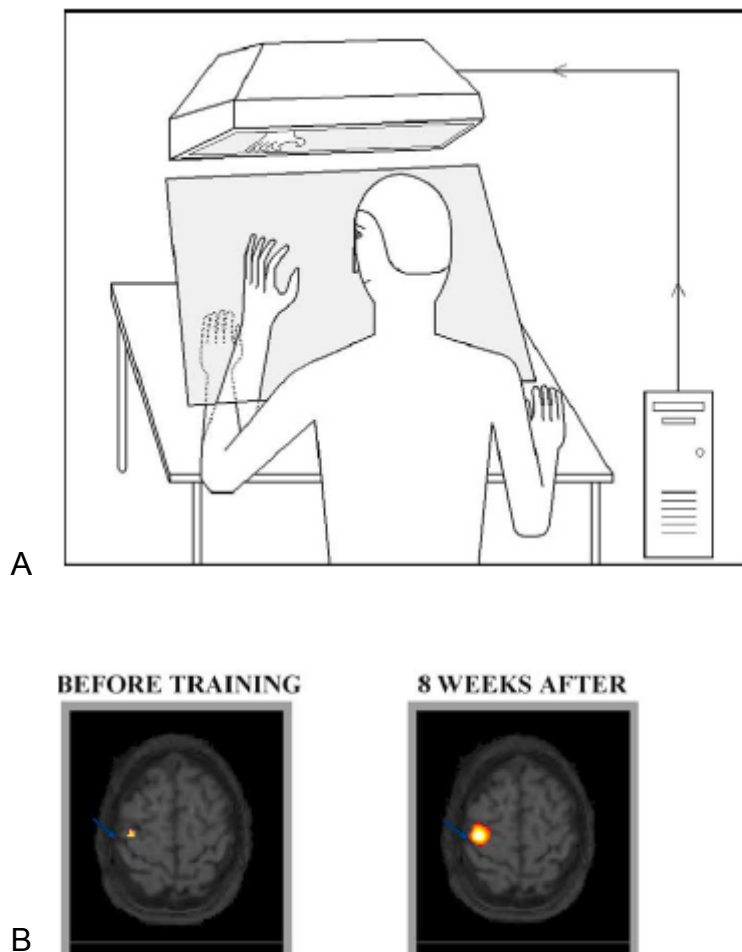
Pacientes com alteração crônica do controle motor devido a acidente vascular isquêmico, quando treinados com a observação de movimentos, apresentam uma melhora no desempenho e independência nas atividades de vida diária. Essa

melhora funcional está relacionada a um aumento da ativação na rede parieto-frontal do hemisfério ipsilateral à alteração motora durante a exploração de objetos. Esse aumento é significativamente maior em um grupo de pacientes que praticaram a observação além da terapia convencional, com a execução de movimentos, em relação a um grupo controle, que realizou a terapia convencional e uma tarefa de observação de figuras geométricas, não motoras (Ertelt et al., 2007).

A observação de movimentos também pode modificar as representações centrais do membro após lesão nervosa periférica (Giroux & Sirigu, 2003). Pacientes com lesão completa do plexo braquial, que acarreta imobilidade e anestesia do membro superior, possuem uma diminuição da representação da mão no córtex motor primário. Giroux e colaboradores (2003) aplicaram um treinamento baseado na observação de movimentos nesses pacientes. Para preparar os vídeos a serem empregados, os autores filmaram a mão sadia do paciente realizando movimentos, e reverteram esses vídeos no eixo vertical. Durante o treinamento, o vídeo revertido foi apresentado em uma tela plana posicionada acima do indivíduo. Essa tela era refletida por um espelho localizado sobre o braço imobilizado do paciente, de forma que o movimento observado do ponto de vista do paciente gerava a ilusão de pertencer ao membro imóvel (Figura 26 A) (Giroux & Sirigu, 2003).

Antes e após o treinamento os pacientes foram submetidos a um exame de fMRI enquanto tentavam movimentar o membro fantasma. Três pacientes com dor fantasma crônica realizaram a observação de movimentos por 8 semanas e, desses, 2 apresentaram sinais de plasticidade em M1, medida através da técnica de IRMf, associada a diminuição da dor. Nesses pacientes, foi identificado um aumento da representação da mão em M1 em relação à encontrada em um primeiro exame, realizado antes do início do protocolo experimental. Esses resultados indicam que a

visualização de movimentos é capaz de modificar as representações no córtex motor primário (Figura 26 B). Os autores relacionam os resultados à ativação da rede parieto-frontal pelo feedback visual da ação associado a tentativa do movimento voluntário do membro (Giraux & Sirigu, 2003).



**Figura 26.** A) condições do treinamento empregadas por Giraux e colaboradores mostrando o posicionamento do paciente e a projeção dos vídeos em uma tela plana posicionada sobre um espelho localizado à frente do indivíduo. Durante a execução dos filmes o paciente recebia a informação visual da sua mão plégica (no caso do exemplo a mão esquerda) em movimento. B) IRMf de um pacientes antes (esquerda) e depois (direita) do período de treinamento evidenciando um aumento da representação da mão nesse indivíduo em M1.

Na presente tese os pacientes amputados não apresentaram predição de movimentos baseada nos mecanismos da preparação motora. Logo, pode-se

concluir que amputados crônicos desenvolvem alterações das diversas áreas envolvidas com representações motoras.

Sendo assim, uma possível explicação para as modificações nos mapas de M1 após o transplante de mãos seria uma influência direta e/ou indireta do circuito parietal-pré-motor. O restabelecimento das representações em M1 após o transplante de mãos pode ter sido potencializado pela visão dos movimentos, capaz de ativar o circuito parieto-frontal, aliado aos comandos motores e intenção de movimento do membro.



## 5 ESTADO ATUAL DOS PROJETOS E PERSPECTIVAS

### **Experimento 01:**

- Artigo mostrando reaparecimento da musculatura intrínseca da mão submetido para a revista PNAS (anexo 2);
- Testaremos na UFRJ mais voluntários para o grupo controle da análise de sobreposição, com o objetivo de estabelecer melhor as relações e a variabilidade delas em seres humanos sem nenhuma alteração periférica.

### **Experimento 02:**

- Artigo em preparação;
- Avaliação da Possibilidade de testar mais voluntários na UFRJ para estabelecer melhor o efeito da presença de movimento fantasma e/ou dor fantasma sobre a capacidade de antecipação.
- Está sendo realizado na UFRJ um estudo comportamental para avaliar a capacidade de antecipação no decorrer de uma ação motora em amputados.

### **Plasticidade na conectividade córtico-medular (DTI, feixografia):**

- Esse projeto não foi incluído na presente tese por estar em fase final da análise dos dados. Foi realizado o exame de 04 pacientes com agenesia unilateral de membro superior, 05 controles e 02 pacientes com transplante bilateral de mãos em Lyon, França. A análise está sendo realizada em colaboração com a Unidade de Pesquisa do Labs D'or.

## Referências

- AGLIOTI, S. M., CESARI, P., ROMANI, M., & URGESI, C. Action anticipation and motor resonance in elite basketball players. **Nat.Neurosci.**, Aug. 2008.
- BABILONI, C., CARDUCCI, F., CINCOTTI, F., ROSSINI, P. M., NEUPER, C., PFURTSCHELLER, G. et al. Human movement-related potentials vs desynchronization of EEG alpha rhythm: A high-resolution EEG study. **Neuroimage**, v. 10, n. 6, p. 658-665, Dec. 1999.
- BARKER, A. T., JALINOUS, R., & FREESTON, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. **Lancet**, v. 1, n. 8437, p. 1106-1107, May 1985.
- BORRA, E., BELMALIH, A., CALZAVARA, R., GERBELLA, M., MURATA, A., ROZZI, S. et al. Cortical connections of the macaque anterior intraparietal (AIP) area. **Cereb.Cortex**, v. 18, n. 5, p. 1094-1111, May 2008.
- BRASIL-NETO, J. P., MCSHANE, L. M., FUHR, P., HALLETT, M., & COHEN, L. G. Topographic mapping of the human motor cortex with magnetic stimulation: factors affecting accuracy and reproducibility. **Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.**, v. 85, n. 1, p. 9-16, Feb. 1992.
- BRENNEIS, C., LOSCHER, W. N., EGGER, K. E., BENKE, T., SCHOCKE, M., GABL, M. F. et al. Cortical motor activation patterns following hand transplantation and replantation. **J.Hand Surg.[Br.]**, v. 30, n. 5, p. 530-533, Oct. 2005.
- BUCCINO, G., BINKOFSKI, F., FINK, G. R., FADIGA, L., FOGASSI, L., GALLESE, V. et al. Action observation activates premotor and parietal areas in a somatotopic manner: an fMRI study. **European Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 2, p. 400-404, Jan. 2001.
- BUONOMANO, D. V. & MERZENICH, M. M. Cortical plasticity: from synapses to maps. **Annu.Rev.Neurosci.**, v. 21, p. 149-186, 1998.
- CALFORD, M. B. & TWEEDALE, R. Acute changes in cutaneous receptive fields in primary somatosensory cortex after digit denervation in adult flying fox. **J.Neurophysiol.**, v. 65, n. 2, p. 178-187, Feb. 1991.
- CALVO-MERINO, B., GLASER, D. E., GREZES, J., PASSINGHAM, R. E., & HAGGARD, P. Action observation and acquired motor skills: an FMRI study with expert dancers. **Cereb.Cortex**, v. 15, n. 8, p. 1243-1249, Aug. 2005.

CALVO-MERINO, B., GREZES, J., GLASER, D. E., PASSINGHAM, R. E., & HAGGARD, P. Seeing or doing? Influence of visual and motor familiarity in action observation. **Curr.Biol.**, v. 16, n. 19, p. 1905-1910, Oct. 2006.

CATANI, M., JONES, D. K., & FFYTCH, D. H. Perisylvian language networks of the human brain. **Ann.Neurol.**, v. 57, n. 1, p. 8-16, Jan. 2005.

CHEN, R., CORWELL, B., YASEEN, Z., HALLETT, M., & COHEN, L. G. Mechanisms of cortical reorganization in lower-limb amputees. **J.Neurosci.**, v. 18, n. 9, p. 3443-3450, May 1998.

CHIAPPA, K.H. Evoked potentials in clinical medicine. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997.

CHOLLET, F., DIPIERO, V., WISE, R. J., BROOKS, D. J., DOLAN, R. J., & FRACKOWIAK, R. S. The functional anatomy of motor recovery after stroke in humans: a study with positron emission tomography. **Ann.Neurol.**, v. 29, n. 1, p. 63-71, Jan. 1991.

COHEN, L. G., BANDINELLI, S., FINDLEY, T. W., & HALLETT, M. Motor Reorganization After Upper Limb Amputation in Man - A Study with Focal Magnetic Stimulation. **Brain**, v. 114, p. 615-627, Feb. 1991.

COHEN, L. G., ZIEMANN, U., CHEN, R., CLASSEN, J., HALLETT, M., GERLOFF, C. et al. Studies of neuroplasticity with transcranial magnetic stimulation. **J.Clin.Neurophysiol.**, v. 15, n. 4, p. 305-324, July 1998.

COHEN, Y. E. & ANDERSEN, R. A. A common reference frame for movement plans in the posterior parietal cortex. **Nat.Rev.Neurosci.**, v. 3, n. 7, p. 553-562, July 2002.

CONFORTO, A. B., MARIE, S. K., COHEN, L. G., & SCAFF, M. [Transcranial magnetic stimulation]. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 61, n. 1, p. 146-152, Mar. 2003.

CONNER, J. M., CULBERSON, A., PACKOWSKI, C., CHIBA, A. A., & TUSZYNSKI, M. H. Lesions of the Basal forebrain cholinergic system impair task acquisition and abolish cortical plasticity associated with motor skill learning. **Neuron**, v. 38, n. 5, p. 819-829, June 2003.

CRAIGHERO, L., BONETTI, F., MASSARENTI, L., CANTO, R., FABBRI, D. M., & FADIGA, L. Temporal prediction of touch instant during observation of human and robot grasping. **Brain Res.Bull.**, v. 75, n. 6, p. 770-774, Apr. 2008.

CUNNINGTON, R., WINDISCHBERGER, C., DEECKE, L., & MOSER, E. The preparation and readiness for voluntary movement: a high-field event-related fMRI study of the Bereitschafts-BOLD response. **Neuroimage.**, v. 20, n. 1, p. 404-412, Sept. 2003.

DASILVA, A. F., BECERRA, L., PENDSE, G., CHIZH, B., TULLY, S., & BORSOOK, D. Colocalized structural and functional changes in the cortex of patients with trigeminal neuropathic pain. **PLoS.ONE.**, v. 3, n. 10, p. e3396, 2008.

DETTMERS, C., LIEPERT, J., ADLER, T., RZANNY, R., RIJNTJES, M., VAN SCHAYCK, R. et al. Abnormal motor cortex organization contralateral to early upper limb amputation in humans. **Neuroscience Letters**, v. 263, n. 1, p. 41-44, Mar. 1999.

DHILLON, G. S., KRUGER, T. B., SANDHU, J. S., & HORCH, K. W. Effects of short-term training on sensory and motor function in severed nerves of long-term human amputees. **J.Neurophysiol.**, v. 93, n. 5, p. 2625-2633, May 2005.

DHILLON, G. S., LAWRENCE, S. M., HUTCHINSON, D. T., & HORCH, K. W. Residual function in peripheral nerve stumps of amputees: implications for neural control of artificial limbs. **J.Hand Surg.[Am.]**, v. 29, n. 4, p. 605-615, July 2004.

DUBERNARD, J. M., OWEN, E., HERZBERG, G., LANZETTA, M., MARTIN, X., KAPILA, H. et al. Human hand allograft: report on first 6 months. **Lancet**, v. 353, n. 9161, p. 1315-1320, Apr. 1999.

DUBERNARD, J. M., PETRUZZO, P., LANZETTA, M., PARMENTIER, H., MARTIN, X., DAWAHRA, M. et al. Functional results of the first human double-hand transplantation. **Annals of Surgery**, v. 238, n. 1, p. 128-136, July 2003.

DUHAMEL, J. R., COLBY, C. L., & GOLDBERG, M. E. Ventral intraparietal area of the macaque: congruent visual and somatic response properties. **J.Neurophysiol.**, v. 79, n. 1, p. 126-136, Jan. 1998.

ERTELT, D., SMALL, S., SOLODKIN, A., DETTMERS, C., MCNAMARA, A., BINKOFSKI, F. et al. Action observation has a positive impact on rehabilitation of motor deficits after stroke. **Neuroimage.**, v. 36 Suppl 2, p. T164-T173, 2007.

FABBRI-DESTRO, M. & RIZZOLATTI, G. Mirror neurons and mirror systems in monkeys and humans. **Physiology.(Bethesda.)**, v. 23, p. 171-179, June 2008.

FABIANI, M., STADLER, M. A., & WESSELS, P. M. True but not false memories produce a sensory signature in human lateralized brain potentials. **J.Cogn Neurosci.**, v. 12, n. 6, p. 941-949, Nov. 2000.

FADIGA, L., FOGASSI, L., PAVESI, G., & RIZZOLATTI, G. Motor facilitation during action observation: a magnetic stimulation study. **J.Neurophysiol.**, v. 73, n. 6, p. 2608-2611, June 1995.

FANG, Y., SIEMIONOW, V., SAHGAL, V., XIONG, F., & YUE, G. H. Distinct brain activation patterns for human maximal voluntary eccentric and concentric muscle actions. **Brain Res.**, v. 1023, n. 2, p. 200-212, Oct. 2004.

FARINA, S., VALERIANI, M., ROSSO, T., AGLIOTI, S., TAMBURIN, S., FIASCHI, A. et al. Transient inhibition of the human motor cortex by capsaicin-induced pain. A study with transcranial magnetic stimulation. **Neurosci.Lett.**, v. 314, n. 1-2, p. 97-101, Nov. 2001.

FARKAS, T., PERGE, J., KIS, Z., WOLFF, J. R., & TOLDI, J. Facial nerve injury-induced disinhibition in the primary motor cortices of both hemispheres. **Eur.J.Neurosci.**, v. 12, n. 6, p. 2190-2194, June 2000.

FARNE, A., ROY, A. C., GIRAUX, P., DUBERNARD, J. M., & SIRIGU, A. Face or hand, not both: perceptual correlates of reafferentation in a former amputee. **Curr.Biol.**, v. 12, n. 15, p. 1342-1346, Aug. 2002.

FLOR, H., ELBERT, T., KNECHT, S., WIENBRUCH, C., PANTEV, C., BIRBAUMER, N. et al. Phantom-limb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation. **Nature**, v. 375, n. 6531, p. 482-484, June 1995.

FLOR, H., ELBERT, T., MUHLNICKEL, W., PANTEV, C., WIENBRUCH, C., & TAUB, E. Cortical reorganization and phantom phenomena in congenital and traumatic upper-extremity amputees. **Experimental Brain Research**, v. 119, n. 2, p. 205-212, Mar. 1998.

FLORENCE, S. L., TAUB, H. B., & KAAS, J. H. Large-scale sprouting of cortical connections after peripheral injury in adult macaque monkeys. **Science**, v. 282, n. 5391, p. 1117-1121, Nov. 1998.

FOGASSI, L., FERRARI, P. F., GESIERICH, B., ROZZI, S., CHERSI, F., & RIZZOLATTI, G. Parietal lobe: From action organization to intention understanding. **Science**, v. 308, n. 5722, p. 662-667, Apr. 2005.

FRANCHI, G. Persistence of vibrissal motor representation following vibrissal pad deafferentation in adult rats. **Exp.Brain Res.**, v. 137, n. 2, p. 180-189, Mar. 2001.

FRANCHI, G. Changes in motor representation related to facial nerve damage and regeneration in adult rats. **Exp.Brain Res.**, v. 135, n. 1, p. 53-65, Nov. 2000.

FRANCHI, G. & VERONESI, C. Short-term reorganization of input-deprived motor vibrissae representation following motor disconnection in adult rats. **J.Physiol**, v. 574, n. Pt 2, p. 457-476, July 2006.

FUNK, M. & BRUGGER, P. Mental rotation of congenitally absent hands. **J.Int.Neuropsychol.Soc.**, v. 14, n. 1, p. 81-89, Jan. 2008.

GALLESE, V., FADIGA, L., FOGASSI, L., & RIZZOLATTI, G. Action recognition in the premotor cortex. **Brain**, v. 119, p. 593-609, Apr. 1996.

GARRAGHTY, P. E. & KAAS, J. H. Dynamic features of sensory and motor maps. **Curr.Opin.Neurobiol.**, v. 2, n. 4, p. 522-527, Aug. 1992.

GARRAGHTY, P. E. & MUJA, N. NMDA receptors and plasticity in adult primate somatosensory cortex. **J.Comp Neurol.**, v. 367, n. 2, p. 319-326, Apr. 1996.

GAZZOLA, V., VAN DER, W. H., MULDER, T., WICKER, B., RIZZOLATTI, G., & KEYSERS, C. Aphasics born without hands mirror the goal of hand actions with their feet. **Curr.Biol.**, v. 17, n. 14, p. 1235-1240, July 2007.

GIRAUX, P. & SIRIGU, A. Illusory movements of the paralyzed limb restore motor cortex activity. **Neuroimage.**, v. 20 Suppl 1, p. S107-S111, Nov. 2003.

GIRAUX, P., SIRIGU, A., SCHNEIDER, F., & DUBERNARD, J. M. Cortical reorganization in motor cortex after graft of both hands. **Nature Neuroscience**, v. 4, n. 7, p. 691-692, July 2001.

GRAFTON, S. T., WOODS, R. P., & MAZZIOTTA, J. C. Within-arm somatotopy in human motor areas determined by positron emission tomography imaging of cerebral blood flow. **Exp.Brain Res.**, v. 95, n. 1, p. 172-176, 1993.

HALLETT, M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain. **Nature**, v. 406, n. 6792, p. 147-150, July 2000.

HAMMOND, G. Correlates of human handedness in primary motor cortex: a review and hypothesis. **Neurosci.Biobehav.Rev.**, v. 26, n. 3, p. 285-292, May 2002.

HASHIZUME, K., KANDA, K., & BURKE, R. E. Medial gastrocnemius motor nucleus in the rat: age-related changes in the number and size of motoneurons. **J.Comp Neurol.**, v. 269, n. 3, p. 425-430, Mar. 1988.

HERMSDORFER, J., TERLINDEN, G., MUHLAU, M., GOLDENBERG, G., & WOHLSCHLAGER, A. M. Neural representations of pantomimed and actual tool use: Evidence from an event-related fMRI study. **Neuroimage**, v. 36, p. T109-T118, 2007.

HESS, G. & DONOGHUE, J. P. Long-term potentiation of horizontal connections provides a mechanism to reorganize cortical motor maps. **J.Neurophysiol.**, v. 71, n. 6, p. 2543-2547, June 1994.

HUNTLEY, G. W. Correlation between patterns of horizontal connectivity and the extent of short-term representational plasticity in rat motor cortex. **Cerebral Cortex**, v. 7, n. 2, p. 143-156, Mar. 1997.

IACOBONI, M., MOLNAR-SZAKACS, I., GALLESE, V., BUCCINO, G., MAZZIOTTA, J. C., & RIZZOLATTI, G. Grasping the intentions of others with one's own mirror neuron system. **PLoS.Biol.**, v. 3, n. 3, p. e79, Mar. 2005.

IACOBONI, M., WOODS, R. P., BRASS, M., BEKKERING, H., MAZZIOTTA, J. C., & RIZZOLATTI, G. Cortical mechanisms of human imitation. **Science**, v. 286, n. 5449, p. 2526-2528, Dec. 1999.

IKEDA, A., SHIBASAKI, H., KAJI, R., TERADA, K., NAGAMINE, T., HONDA, M. et al. Dissociation between contingent negative variation (CNV) and Bereitschaftspotential (BP) in patients with parkinsonism. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 102, n. 2, p. 142-151, Feb. 1997.

ILIC, T. V., JUNG, P., & ZIEMANN, U. Subtle hemispheric asymmetry of motor cortical inhibitory tone. **Clin.Neurophysiol.**, v. 115, n. 2, p. 330-340, Feb. 2004.

JACOBS, K. M. & DONOGHUE, J. P. Reshaping the cortical motor map by unmasking latent intracortical connections. **Science**, v. 251, n. 4996, p. 944-947, Feb. 1991.

JAHANSHAH, M., JENKINS, H., BROWN, R. G., MARSDEN, C. D., PASSINGHAM, R. E., & BROOKS, D. J. Self-Initiated Versus Externally Triggered Movements .1. An Investigation Using Measurement of Regional Cerebral Blood-Flow with Pet and Movement-Related Potentials in Normal and Parkinsons-Disease Subjects. **Brain**, v. 118, p. 913-933, Aug. 1995.

JEANNEROD, M. Neural simulation of action: a unifying mechanism for motor cognition. **Neuroimage.**, v. 14, n. 1 Pt 2, p. S103-S109, July 2001.

JEANNEROD, M. The hand and the object: the role of posterior parietal cortex in forming motor representations. **Can.J.Physiol Pharmacol.**, v. 72, n. 5, p. 535-541, May 1994.

JONES, E. G. GABAergic neurons and their role in cortical plasticity in primates. **Cereb.Cortex**, v. 3, n. 5, p. 361-372, Sept. 1993.

KAAS, J. H. Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. **Annu.Rev.Neurosci.**, v. 14, p. 137-167, 1991.

KARL, A., BIRBAUMER, N., LUTZENBERGER, W., COHEN, L. G., & FLOR, H. Reorganization of motor and somatosensory cortex in upper extremity amputees with phantom limb pain. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 10, p. 3609-3618, May 2001.

KAWATO, M., FURUKAWA, K., & SUZUKI, R. A hierarchical neural-network model for control and learning of voluntary movement. **Biol.Cybern.**, v. 57, n. 3, p. 169-185, 1987.

KEW, J. J., HALLIGAN, P. W., MARSHALL, J. C., PASSINGHAM, R. E., ROTHWELL, J. C., RIDDING, M. C. et al. Abnormal access of axial vibrotactile input to deafferented somatosensory cortex in human upper limb amputees. **J.Neurophysiol.**, v. 77, n. 5, p. 2753-2764, May 1997.

KEW, J. J., RIDDING, M. C., ROTHWELL, J. C., PASSINGHAM, R. E., LEIGH, P. N., SOORIAKUMARAN, S. et al. Reorganization of cortical blood flow and transcranial magnetic stimulation maps in human subjects after upper limb amputation. **J.Neurophysiol.**, v. 72, n. 5, p. 2517-2524, Nov. 1994a.

KEW, J. J. M., RIDDING, M. C., ROTHWELL, J. C., PASSINGHAM, R. E., LEIGH, P. N., SOORIAKUMARAN, S. et al. Reorganization of Cortical Blood-Flow and Transcranial Magnetic Stimulation Maps in Human-Subjects After Upper-Limb Amputation. **Journal of Neurophysiology**, v. 72, n. 5, p. 2517-2524, Nov. 1994b.

KILNER, J. M., FRISTON, K. J., & FRITH, C. D. Predictive coding: an account of the mirror neuron system. **Cogn Process**, v. 8, n. 3, p. 159-166, Sept. 2007.

KILNER, J. M., VARGAS, C., DUVAL, S., BLAKEMORE, S. J., & SIRIGU, A. Motor activation prior to observation of a predicted movement. **Nat.Neurosci.**, v. 7, n. 12, p. 1299-1301, Dec. 2004.

KLEINSCHMIDT, A., NITSCHKE, M. F., & FRAHM, J. Somatotopy in the human motor cortex hand area. A high-resolution functional MRI study. **Eur.J.Neurosci.**, v. 9, n. 10, p. 2178-2186, Oct. 1997.



KNECHT, S., HENNINGSEN, H., HOHLING, C., ELBERT, T., FLOR, H., PANTEV, C. et al. Plasticity of plasticity? Changes in the pattern of perceptual correlates of reorganization after amputation. **Brain**, v. 121 ( Pt 4), p. 717-724, Apr. 1998.

KOHLER, E., KEYSERS, C., UMILTA, M. A., FOGASSI, L., GALLESE, V., & RIZZOLATTI, G. Hearing sounds, understanding actions: Action representation in mirror neurons. **Science**, v. 297, n. 5582, p. 846-848, Aug. 2002.

KUJIRAI, T., CARAMIA, M. D., ROTHWELL, J. C., DAY, B. L., THOMPSON, P. D., FERBERT, A. et al. Corticocortical inhibition in human motor cortex. **J.Physiol**, v. 471, p. 501-519, Nov. 1993.

LIBET, B., WRIGHT, E. W., Jr., & GLEASON, C. A. Preparation- or intention-to-act, in relation to pre-event potentials recorded at the vertex. **Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.**, v. 56, n. 4, p. 367-372, Oct. 1983.

LOTZE, M., FLOR, H., GRODD, W., LARBIG, W., & BIRBAUMER, N. Phantom movements and pain - An MRI study in upper limb amputees. **Brain**, v. 124, p. 2268-2277, Nov. 2001.

LOTZE, M., GRODD, W., BIRBAUMER, N., ERB, M., HUSE, E., & FLOR, H. Does use of a myoelectric prosthesis prevent cortical reorganization and phantom limb pain? **Nat.Neurosci.**, v. 2, n. 6, p. 501-502, June 1999.

LUNDBORG, G. Richard P. Bunge memorial lecture. Nerve injury and repair--a challenge to the plastic brain. **J.Peripher.Nerv.Syst.**, v. 8, n. 4, p. 209-226, Dec. 2003.

MALCOLM, M. P., TRIGGS, W. J., LIGHT, K. E., SHECHTMAN, O., KHANDEKAR, G., & GONZALEZ ROTH, L. J. Reliability of motor cortex transcranial magnetic stimulation in four muscle representations. **Clin.Neurophysiol.**, v. 117, n. 5, p. 1037-1046, May 2006.

MCNAMARA, A., TEGENTHOFF, M., DINSE, H., BUCHEL, C., BINKOFSKI, F., & RAGERT, P. Increased functional connectivity is crucial for learning novel muscle synergies. **Neuroimage.**, v. 35, n. 3, p. 1211-1218, Apr. 2007.

MELGARI, J. M., PASQUALETTI, P., PAURI, F., & ROSSINI, P. M. Muscles in "concert": study of primary motor cortex upper limb functional topography. **PLoS.ONE.**, v. 3, n. 8, p. e3069, 2008.

MERCIER, C., ABALLEA, A., VARGAS, C. D., PAILLARD, J., & SIRIGU, A. Vision without proprioception modulates cortico-spinal excitability during hand motor imagery. **Cereb.Cortex**, v. 18, n. 2, p. 272-277, Feb. 2008.

MERCIER, C., REILLY, K. T., VARGAS, C. D., ABALLEA, A., & SIRIGU, A. Mapping phantom movement representations in the motor cortex of amputees. **Brain**, v. 129, p. 2202-2210, Aug. 2006.

MIALL, R. C. Connecting mirror neurons and forward models. **Neuroreport**, v. 14, n. 17, p. 2135-2137, Dec. 2003.

MILLS, K. R. Magnetic brain stimulation: a review after 10 years experience. **Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.Suppl**, v. 49, p. 239-244, 1999.

MITTAL, K. R. & LOGMANI, F. H. Age-related reduction in 8th cervical ventral nerve root myelinated fiber diameters and numbers in man. **J.Gerontol.**, v. 42, n. 1, p. 8-10, Jan. 1987.

MONTOYA, P., RITTER, K., HUSE, E., LARBIG, W., BRAUN, C., TOPFNER, S. et al. The cortical somatotopic map and phantom phenomena in subjects with congenital limb atrophy and traumatic amputees with phantom limb pain. **Eur.J.Neurosci.**, v. 10, n. 3, p. 1095-1102, Mar. 1998.

MORTIFEE, P., STEWART, H., SCHULZER, M., & EISEN, A. Reliability of transcranial magnetic stimulation for mapping the human motor cortex. **Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.**, v. 93, n. 2, p. 131-137, Apr. 1994.

NESHIGE, R., LUDERS, H., & SHIBASAKI, H. Recording of movement-related potentials from scalp and cortex in man. **Brain**, v. 111 ( Pt 3), p. 719-736, June 1988.

NICO, D., DAPRATI, E., RIGAL, F., PARSONS, L., & SIRIGU, A. Left and right hand recognition in upper limb amputees. **Brain**, v. 127, n. Pt 1, p. 120-132, Jan. 2004.

NIJHAWAN, R. Visual prediction: psychophysics and neurophysiology of compensation for time delays. **Behav.Brain Sci.**, v. 31, n. 2, p. 179-198, Apr. 2008.

NOIRHOMME, Q., FERRANT, M., VANDERMEEREN, Y., OLIVIER, E., MACQ, B., & CUISENAIRE, O. Registration and real-time visualization of transcranial magnetic stimulation with 3-D MR images. **Ieee Transactions on Biomedical Engineering**, v. 51, n. 11, p. 1994-2005, Nov. 2004.

NUDO, R. J. Recovery after damage to motor cortical areas. **Curr.Opin.Neurobiol.**, v. 9, n. 6, p. 740-747, Dec. 1999.

NUDO, R. J. & MILLIKEN, G. W. Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. **J.Neurophysiol.**, v. 75, n. 5, p. 2144-2149, May 1996.

NUDO, R. J., WISE, B. M., SIFUENTES, F., & MILLIKEN, G. W. Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. **Science**, v. 272, n. 5269, p. 1791-1794, June 1996.

OJEMANN, J. G. & SILBERGELD, D. L. Cortical Stimulation Mapping of Phantom Limb Rolandic Cortex - Case-Report. **Journal of Neurosurgery**, v. 82, n. 4, p. 641-644, Apr. 1995.

OZTOP, E. & ARBIB, M. A. Schema design and implementation of the grasp-related mirror neuron system. **Biol.Cybern.**, v. 87, n. 2, p. 116-140, Aug. 2002.

PARSONS, L. M. Imagined spatial transformations of one's hands and feet. **Cognit.Psychol.**, v. 19, n. 2, p. 178-241, Apr. 1987.

PASCUAL-LEONE, A. & TORRES, F. Plasticity of the sensorimotor cortex representation of the reading finger in Braille readers. **Brain**, v. 116 ( Pt 1), p. 39-52, Feb. 1993.

PASCUALLEONE, A., PERIS, M., TORMOS, J. M., PASCUAL, A. P. L., & CATALA, M. D. Reorganization of human cortical motor output maps following traumatic forearm amputation. **Neuroreport**, v. 7, n. 13, p. 2068-2070, Sept. 1996.

PAVLIDES, C., MIYASHITA, E., & ASANUMA, H. Projection from the sensory to the motor cortex is important in learning motor skills in the monkey. **J.Neurophysiol.**, v. 70, n. 2, p. 733-741, Aug. 1993.

PETRUZZO, P., BADET, L., GAZARIAN, A., LANZETTA, M., PARMENTIER, H., KANITAKIS, J. et al. Bilateral hand transplantation: Six years after the first case. **American Journal of Transplantation**, v. 6, n. 7, p. 1718-1724, July 2006.

PONS, T. P., GARRAGHTY, P. E., OMMAYA, A. K., KAAS, J. H., TAUB, E., & MISHKIN, M. Massive Cortical Reorganization After Sensory Deafferentation in Adult Macaques. **Science**, v. 252, n. 5014, p. 1857-1860, June 1991.

POZZO, T., PAPAXANTHIS, C., PETIT, J. L., SCHWEIGHOFER, N., & STUCCHI, N. Kinematic features of movement tunes perception and action coupling. **Behav.Brain Res.**, v. 169, n. 1, p. 75-82, Apr. 2006.

RAMACHANDRAN, V. S. Behavioral and magnetoencephalographic correlates of plasticity in the adult human brain. **Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.**, v. 90, n. 22, p. 10413-10420, Nov. 1993.

RAMACHANDRAN, V. S. & HIRSTEIN, W. The perception of phantom limbs. The D. O. Hebb lecture. **Brain**, v. 121 ( Pt 9), p. 1603-1630, Sept. 1998.

RAMACHANDRAN, V. S., ROGERS-RAMACHANDRAN, D., & STEWART, M. Perceptual correlates of massive cortical reorganization. **Science**, v. 258, n. 5085, p. 1159-1160, Nov. 1992.

REILLY, K. T., MERCIER, C., SCHIEBER, M. H., & SIRIGU, A. Persistent hand motor commands in the amputees' brain. **Brain**, v. 129, p. 2211-2223, Aug. 2006.

REILLY, K. T. & SIRIGU, A. The motor cortex and its role in phantom limb phenomena. **Neuroscientist.**, v. 14, n. 2, p. 195-202, Apr. 2008.

RIAN-SMITH, C. & GILBERT, C. D. Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. **Nature**, v. 368, n. 6473, p. 737-740, Apr. 1994a.

RIAN-SMITH, C. & GILBERT, C. D. Axonal sprouting accompanies functional reorganization in adult cat striate cortex. **Nature**, v. 368, n. 6473, p. 737-740, Apr. 1994b.

RIZZOLATTI, G. & CRAIGHERO, L. The mirror-neuron system. **Annu.Rev.Neurosci.**, v. 27, p. 169-192, 2004.

RIZZOLATTI, G., FOGASSI, L., & GALLESE, V. Motor and cognitive functions of the ventral premotor cortex. **Curr.Opin.Neurobiol.**, v. 12, n. 2, p. 149-154, Apr. 2002.

RIZZOLATTI, G., FOGASSI, L., & GALLESE, V. Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 9, p. 661-670, Sept. 2001.

ROMANIELLO, A., CRUCCU, G., MCMILLAN, A. S., RENDT-NIELSEN, L., & SVENSSON, P. Effect of experimental pain from trigeminal muscle and skin on motor cortex excitability in humans. **Brain Res.**, v. 882, n. 1-2, p. 120-127, Nov. 2000.

RORICHT, S., MEYER, B. U., NIEHAUS, L., & BRANDT, S. A. Long-term reorganization of motor cortex outputs after arm amputation. **Neurology**, v. 53, n. 1, p. 106-111, July 1999.

ROSSINI, P. M., BARKER, A. T., BERARDELLI, A., CARAMIA, M. D., CARUSO, G., CRACCO, R. Q. et al. Noninvasive Electrical and Magnetic Stimulation of the Brain, Spinal-Cord and Roots - Basic Principles and Procedures for Routine Clinical-Application - Report of An Ifcn Committee. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 91, n. 2, p. 79-92, Aug. 1994.

SAKAMOTO, T., PORTER, L. L., & ASANUMA, H. Long-lasting potentiation of synaptic potentials in the motor cortex produced by stimulation of the sensory cortex in the cat: a basis of motor learning. **Brain Res.**, v. 413, n. 2, p. 360-364, June 1987.

SANES, J. N., SUNER, S., & DONOGHUE, J. P. Dynamic Organization of Primary Motor Cortex Output to Target Muscles in Adult-Rats .1. Long-Term Patterns of Reorganization Following Motor Or Mixed Peripheral-Nerve Lesions. **Experimental Brain Research**, v. 79, n. 3, p. 479-491, 1990.

SANTELLO, M., FLANDERS, M., & SOECHTING, J. F. Postural hand synergies for tool use. **J.Neurosci.**, v. 18, n. 23, p. 10105-10115, Dec. 1998.

SANTELLO, M. & FUGLEVAND, A. J. Role of across-muscle motor unit synchrony for the coordination of forces. **Exp.Brain Res.**, v. 159, n. 4, p. 501-508, Dec. 2004.

SAYGIN, A. P., WILSON, S. M., HAGLER, D. J., Jr., BATES, E., & SERENO, M. I. Point-light biological motion perception activates human premotor cortex. **J.Neurosci.**, v. 24, n. 27, p. 6181-6188, July 2004.

SCHIEBER, M. H. Muscular production of individuated finger movements: the roles of extrinsic finger muscles. **J.Neurosci.**, v. 15, n. 1 Pt 1, p. 284-297, Jan. 1995.

SCHIEBER, M. H. Constraints on somatotopic organization in the primary motor cortex. **J.Neurophysiol.**, v. 86, n. 5, p. 2125-2143, Nov. 2001.

SCHIEBER, M. H. & HIBBARD, L. S. How somatotopic is the motor cortex hand area? **Science**, v. 261, n. 5120, p. 489-492, July 1993.

SCHWENKREIS, P., WITSCHER, K., JANSSEN, F., DERTWINKEL, R., ZENZ, M., MALIN, J. P. et al. Changes of cortical excitability in patients with upper limb amputation. **Neurosci.Lett.**, v. 293, n. 2, p. 143-146, Oct. 2000.

SHIBASAKI, H. & HALLETT, M. What is the Bereitschaftspotential?  
**Clin.Neurophysiol.**, v. 117, n. 11, p. 2341-2356, Nov. 2006.

SHINODA, Y., ZARZECKI, P., & ASANUMA, H. Spinal branching of pyramidal tract neurons in the monkey. **Exp.Brain Res.**, v. 34, n. 1, p. 59-72, Jan. 1979.

SOECHTING, J. F. & FLANDERS, M. Parallel, interdependent channels for location and orientation in sensorimotor transformations for reaching and grasping.  
**J.Neurophysiol.**, v. 70, n. 3, p. 1137-1150, Sept. 1993.

STONEY, S. D., Jr., THOMPSON, W. D., & ASANUMA, H. Excitation of pyramidal tract cells by intracortical microstimulation: effective extent of stimulating current.  
**J.Neurophysiol.**, v. 31, n. 5, p. 659-669, Sept. 1968.

SVENSSON, P., MILES, T. S., MCKAY, D., & RIDDING, M. C. Suppression of motor evoked potentials in a hand muscle following prolonged painful stimulation.  
**Eur.J.Pain**, v. 7, n. 1, p. 55-62, 2003.

TOLDI, J., LASKAWI, R., LANDGREBE, M., & WOLFF, J. R. Biphasic reorganization of somatotopy in the primary motor cortex follows facial nerve lesions in adult rats.  
**Neurosci.Lett.**, v. 203, n. 3, p. 179-182, Jan. 1996.

TREMBLAY, C., ROBERT, M., PASCUAL-LEONE, A., LEPORE, F., NGUYEN, D. K., CARMANT, L. et al. Action observation and execution: intracranial recordings in a human subject. **Neurology**, v. 63, n. 5, p. 937-938, Sept. 2004.

TSAO, H., GALEA, M. P., & HODGES, P. W. Reorganization of the motor cortex is associated with postural control deficits in recurrent low back pain. **Brain**, v. 131, n. Pt 8, p. 2161-2171, Aug. 2008.

UMILTA, M. A., KOHLER, E., GALLESE, V., FOGASSI, L., FADIGA, L., KEYSERS, C. et al. I know what you are doing: A neurophysiological study. **Neuron**, v. 31, n. 1, p. 155-165, July 2001.

UY, J., RIDDING, M. C., & MILES, T. S. Stability of maps of human motor cortex made with transcranial magnetic stimulation. **Brain Topography**, v. 14, n. 4, p. 293-297, 2002.

VANDEN, N. S., WALLACE, N., MUCCIO, D., TURTZ, A., & PINTER, M. J. Adult spinal motoneurons remain viable despite prolonged absence of functional synaptic contact with muscle. **Exp.Neurol.**, v. 123, n. 1, p. 147-156, Sept. 1993.

VARGAS, C. D., OLIVIER, E., CRAIGHERO, L., FADIGA, L., DUHAMEL, J. R., & SIRIGU, A. The influence of hand posture on corticospinal excitability during motor imagery: a transcranial magnetic stimulation study. **Cereb.Cortex**, v. 14, n. 11, p. 1200-1206, Nov. 2004.

WALSH, V. & COWEY, A. Transcranial magnetic stimulation and cognitive neuroscience. **Nat.Rev.Neurosci.**, v. 1, n. 1, p. 73-79, Oct. 2000.

WASSERMANN, E. M., MCSHANE, L. M., HALLETT, M., & COHEN, L. G. Noninvasive mapping of muscle representations in human motor cortex. **Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.**, v. 85, n. 1, p. 1-8, Feb. 1992.

WEISS, E. J. & FLANDERS, M. Muscular and postural synergies of the human hand. **J.Neurophysiol.**, v. 92, n. 1, p. 523-535, July 2004.

WISE, S. P., BOUSSAOUD, D., JOHNSON, P. B., & CAMINITI, R. Premotor and parietal cortex: corticocortical connectivity and combinatorial computations. **Annu.Rev.Neurosci.**, v. 20, p. 25-42, 1997.

WOLPERT, D. M., DOYA, K., & KAWATO, M. A unifying computational framework for motor control and social interaction. **Philos.Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.**, v. 358, n. 1431, p. 593-602, Mar. 2003.

WOLPERT, D. M. & FLANAGAN, J. R. Motor prediction. **Curr.Biol.**, v. 11, n. 18, p. R729-R732, Sept. 2001.

WOLPERT, D. M. & GHARAMANI, Z. Computational principles of movement neuroscience. **Nat.Neurosci.**, v. 3 Suppl, p. 1212-1217, Nov. 2000.

WOLPERT, D. M. & MIALL, R. C. Forward Models for Physiological Motor Control. **Neural Netw.**, v. 9, n. 8, p. 1265-1279, Nov. 1996.

WOOLSEY, C. N., SETTLAGE, P. H., MEYER, D. R., SENCER, W., PINTO, H. T., & TRAVIS, A. M. Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area. **Res.Publ.Assoc.Res.Nerv.Ment.Dis.**, v. 30, p. 238-264, 1952.

WU, C. W. H. & KAAS, J. H. Spinal cord atrophy and reorganization of motoneuron connections following long-standing limb loss in primates. **Neuron**, v. 28, n. 3, p. 967-978, Dec. 2000.

WU, C. W. H. & KAAS, J. H. Reorganization in primary motor cortex of primates with long-standing therapeutic amputations. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 17, p. 7679-7697, Sept. 1999.

ZIEMANN, U., LONNECKER, S., STEINHOFF, B. J., & PAULUS, W. Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: a transcranial magnetic stimulation study. **Ann.Neurol.**, v. 40, n. 3, p. 367-378, Sept. 1996a.

ZIEMANN, U., ROTHWELL, J. C., & RIDDING, M. C. Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. **J.Physiol**, v. 496 ( Pt 3), p. 873-881, Nov. 1996b.

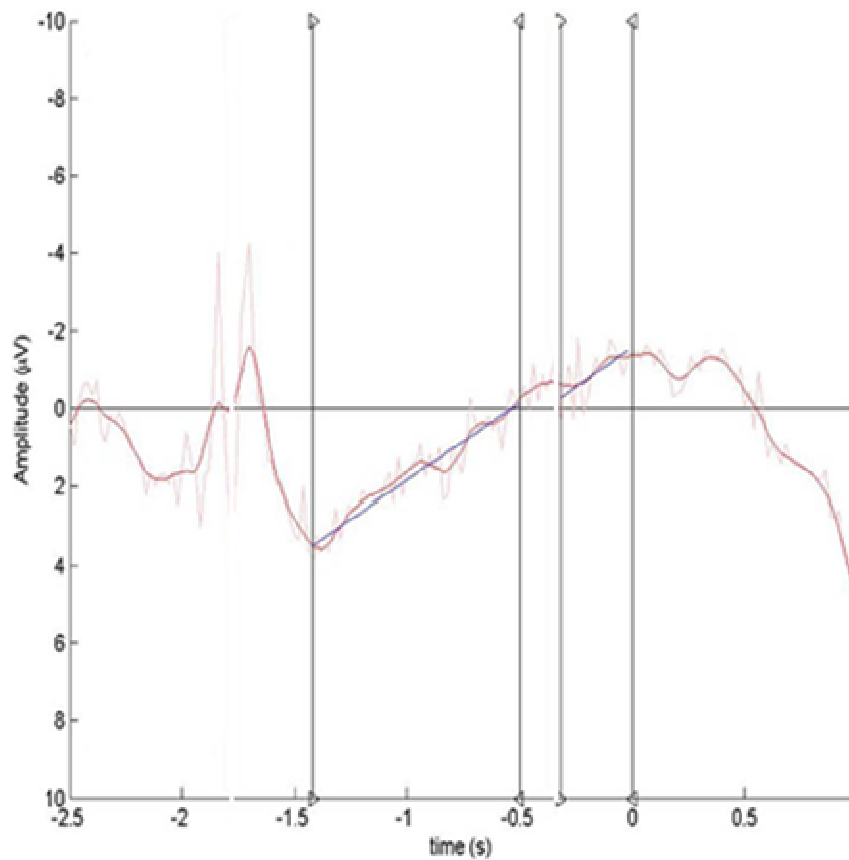
ZIEMANN, U., TERGAU, F., WASSERMANN, E. M., WISCHER, S., HILDEBRANDT, J., & PAULUS, W. Demonstration of facilitatory I wave interaction in the human motor cortex by paired transcranial magnetic stimulation. **J.Physiol**, v. 511 ( Pt 1), p. 181-190, Aug. 1998.



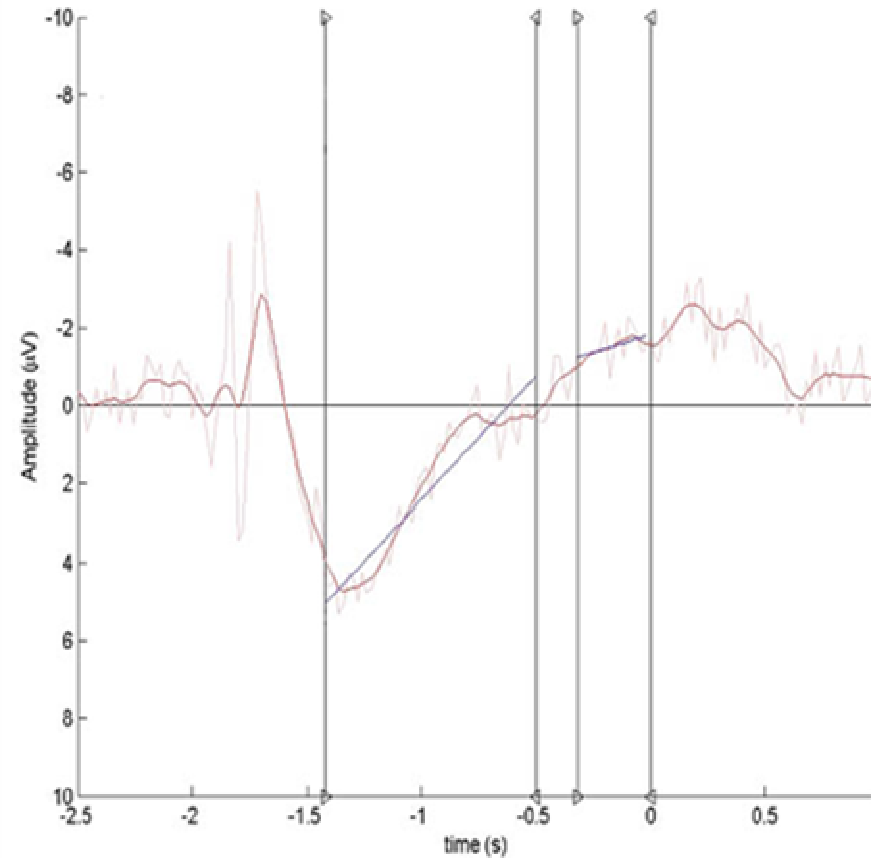
# **Anexo 1**

# JJM hemisfério direito

**Observação do movimento da  
mão amputada**

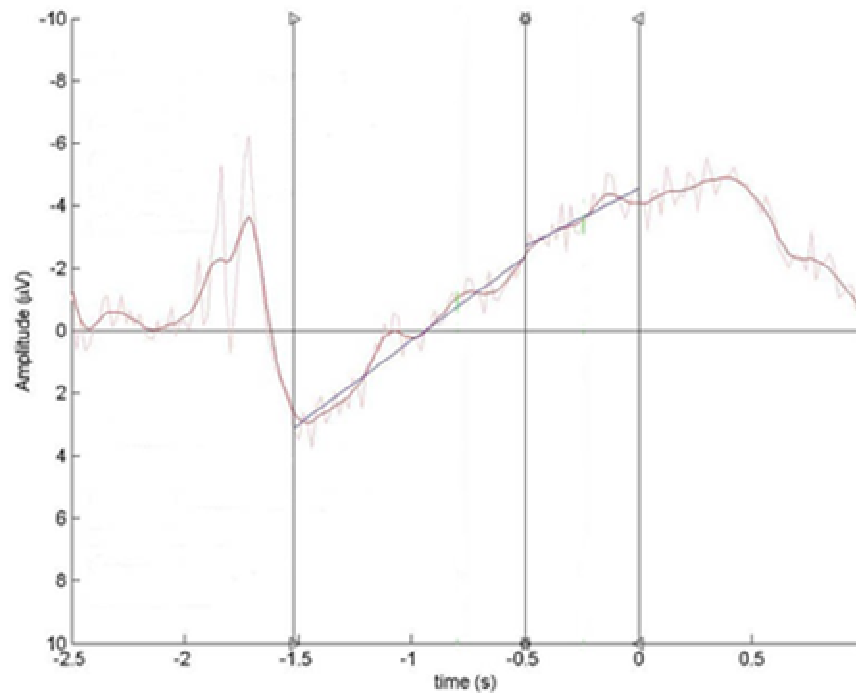


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

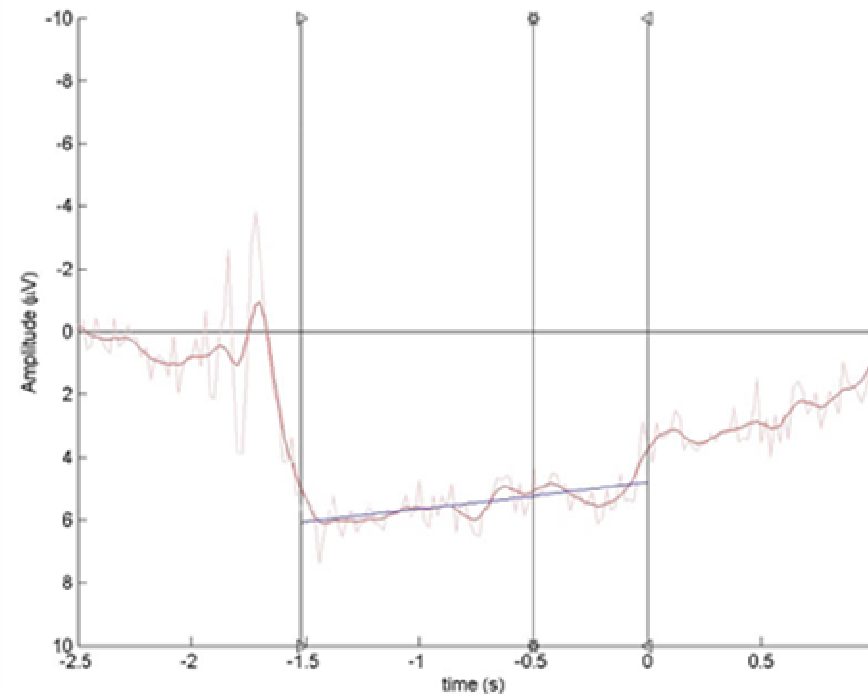


# JJM hemisfério direito

Observação do movimento da  
mão sadia

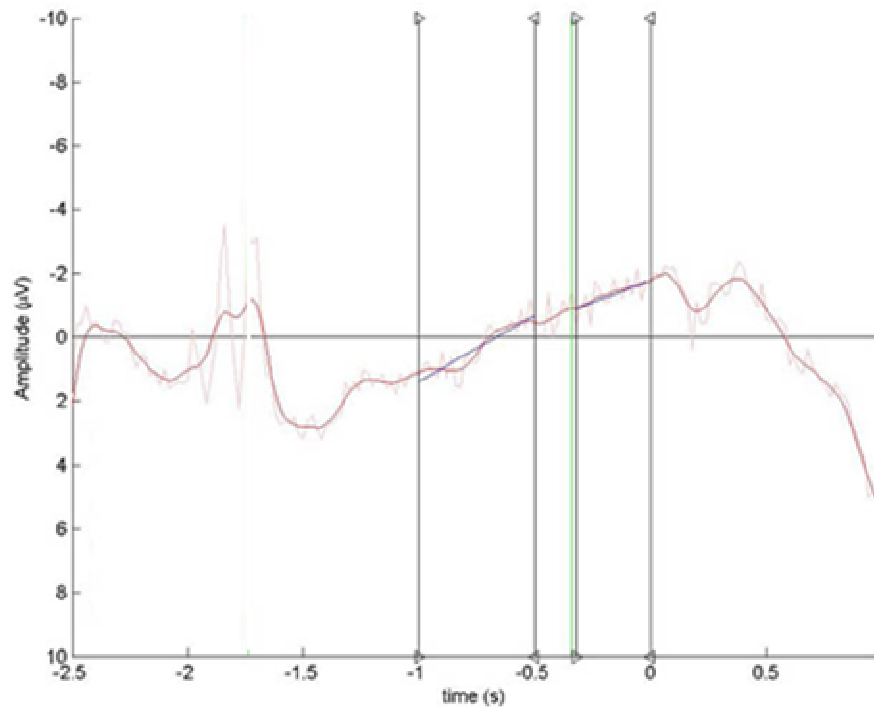


Observação SEM movimento da  
mão sadia

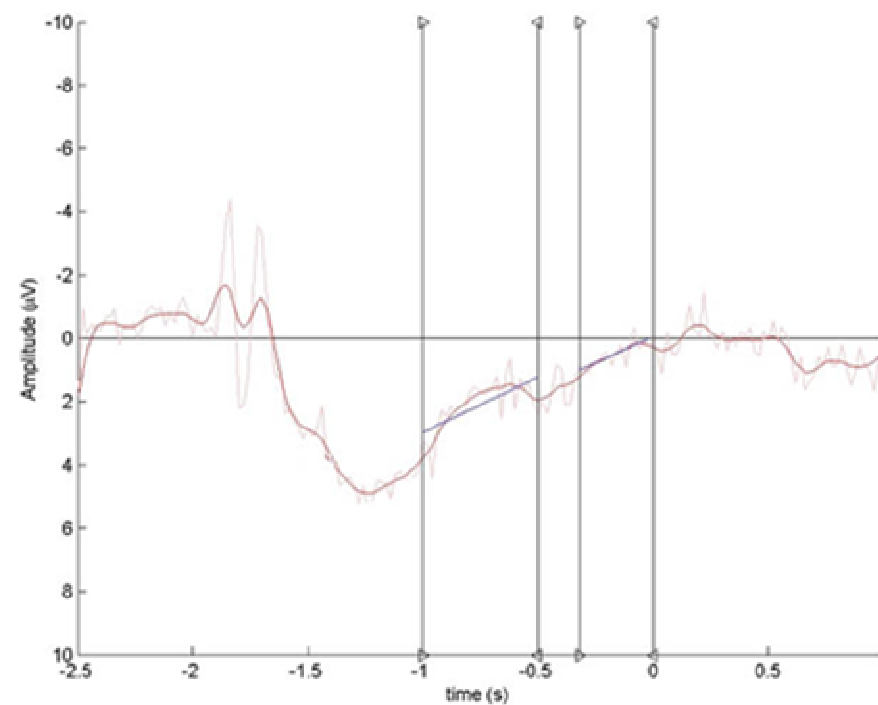


# JJM hemisfério esquerdo

**Observação do movimento da  
mão amputada**

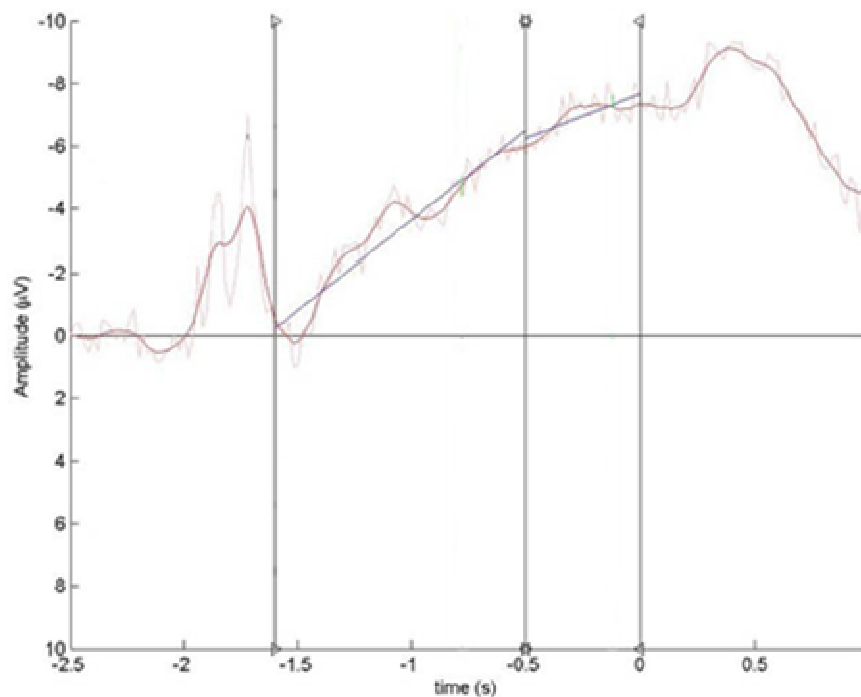


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

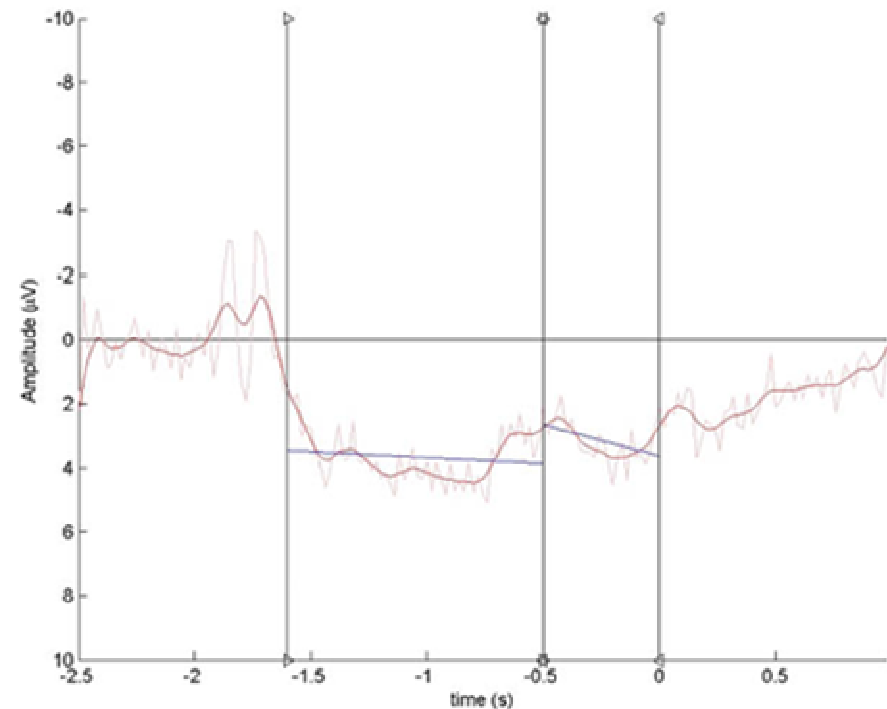


# JJM hemisfério esquerdo

Observação do movimento da  
mão sadia

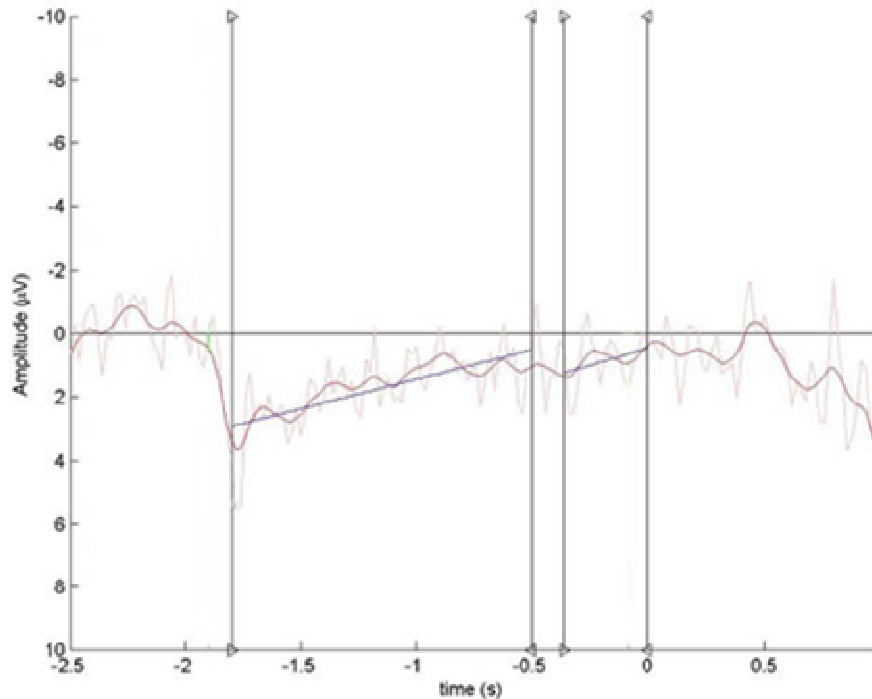


Observação SEM movimento da  
mão sadia

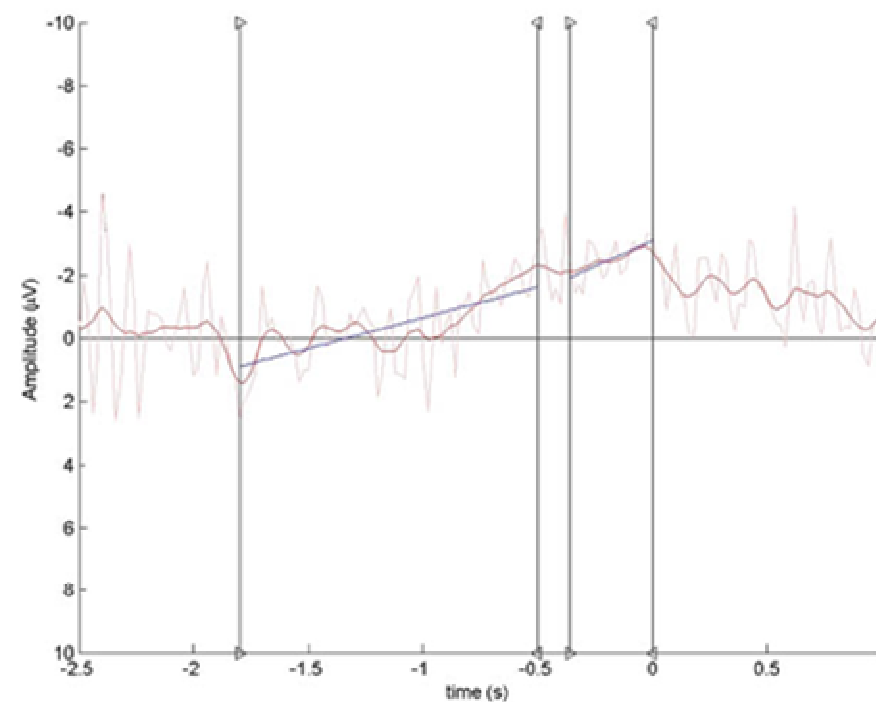


# GP hemisfério direito

**Observação do movimento da  
mão amputada**

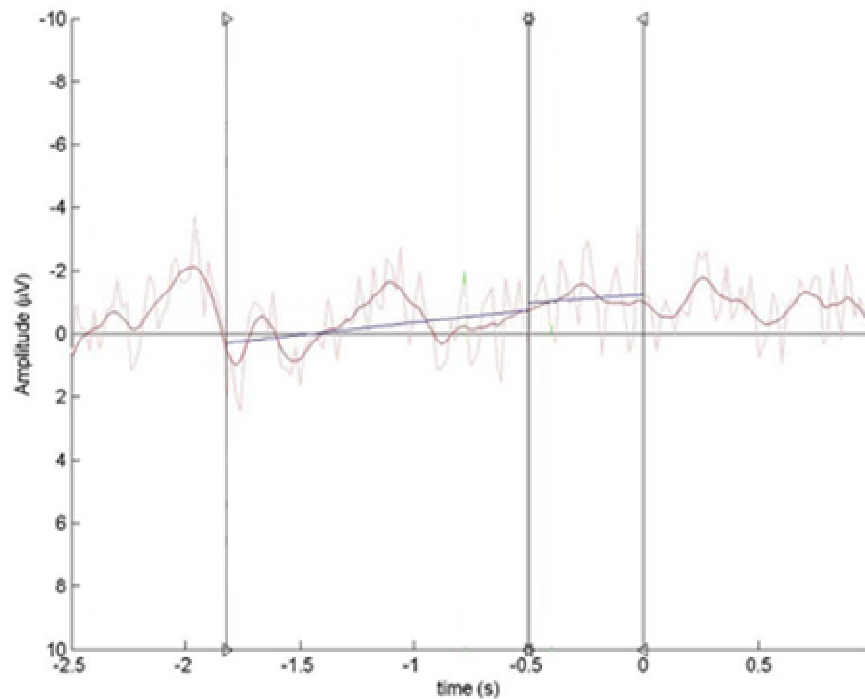


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

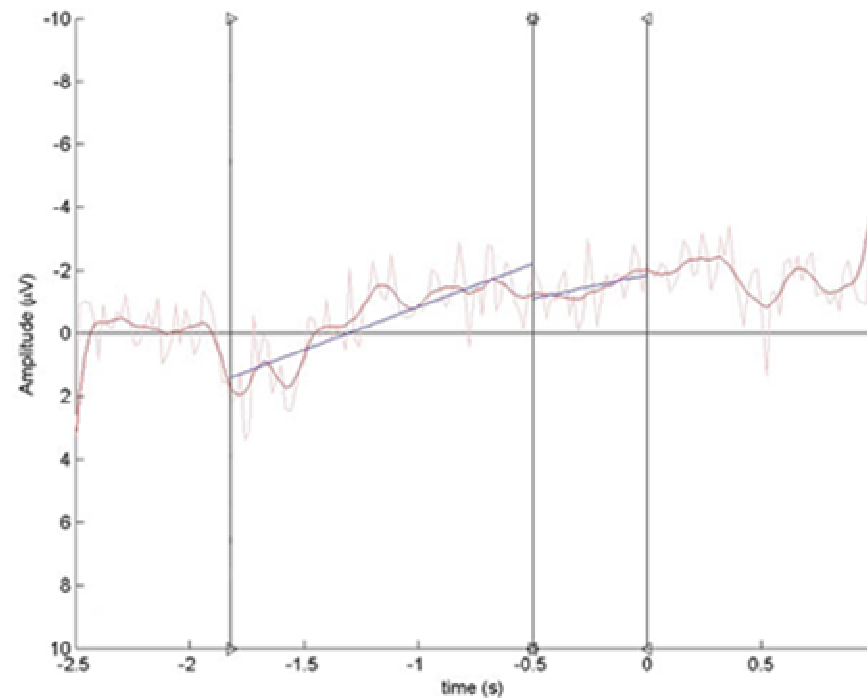


# GP hemisfério direito

**Observação do movimento da  
mão sadia**

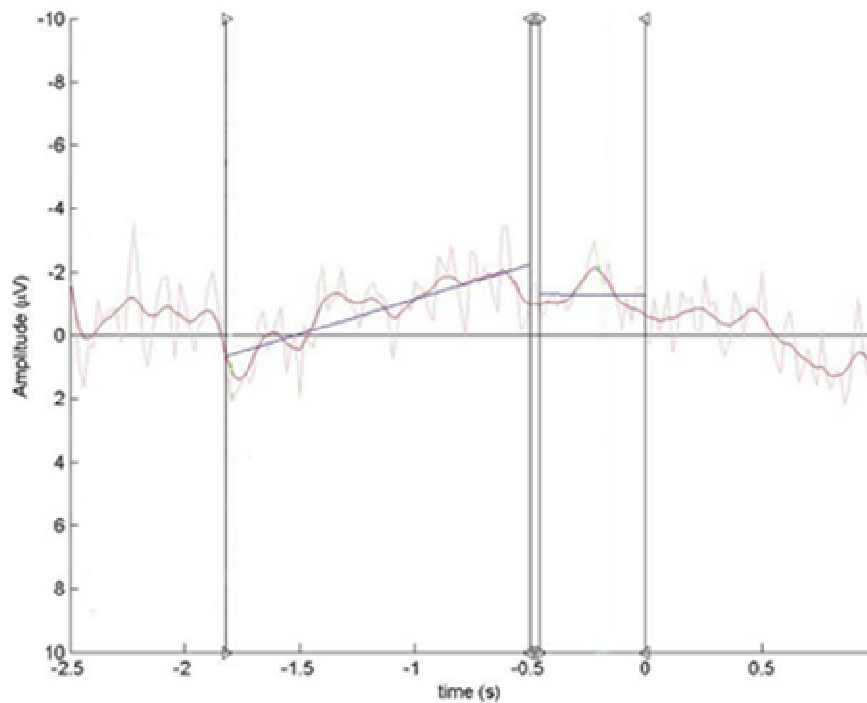


**Observação SEM movimento da  
mão sadia**

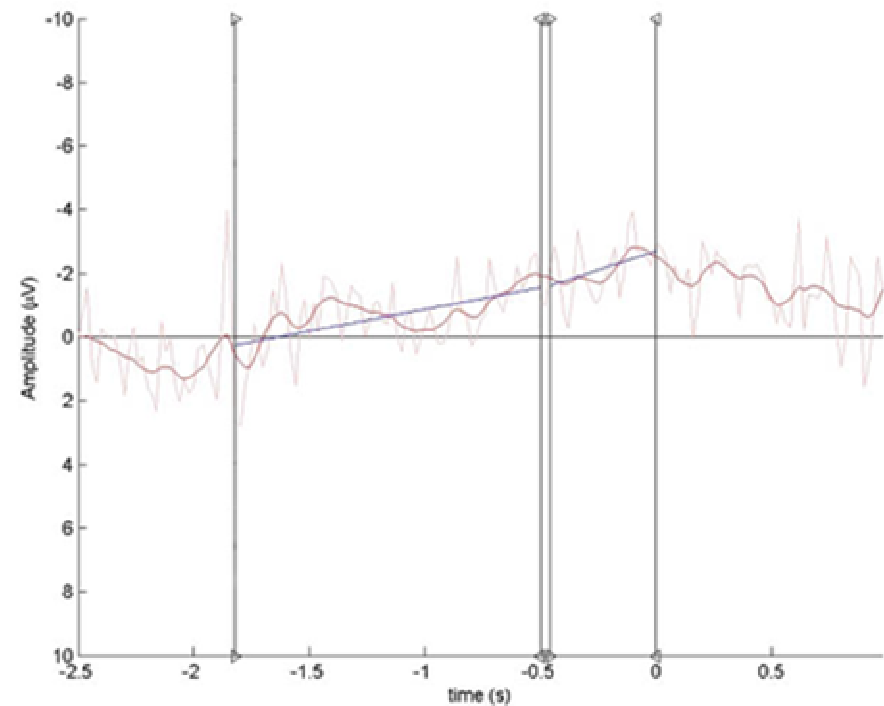


# GP hemisfério esquerdo

**Observação do movimento da  
mão amputada**



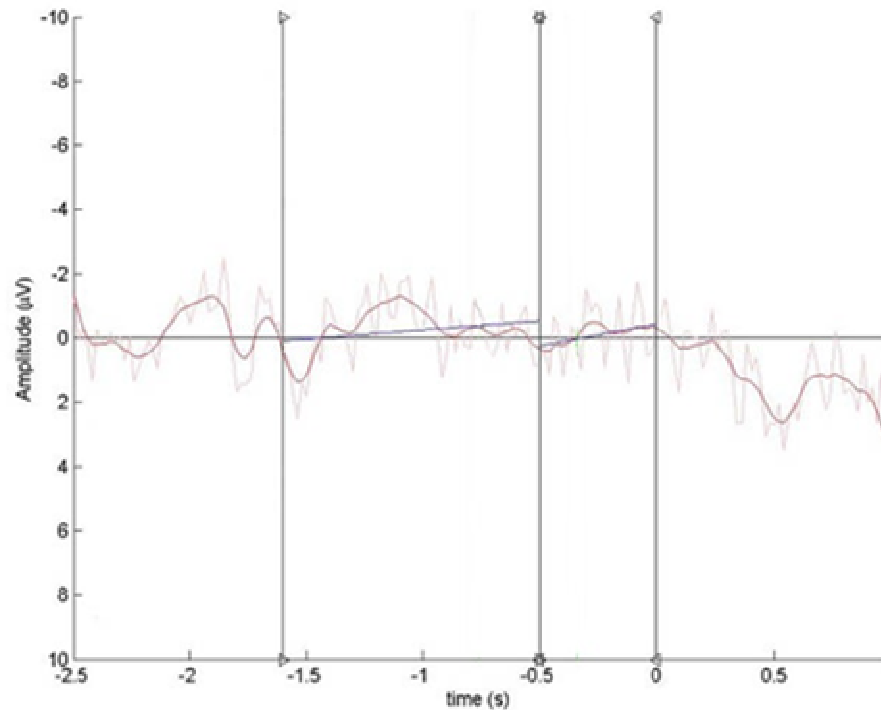
**Observação SEM movimento da  
mão amputada**



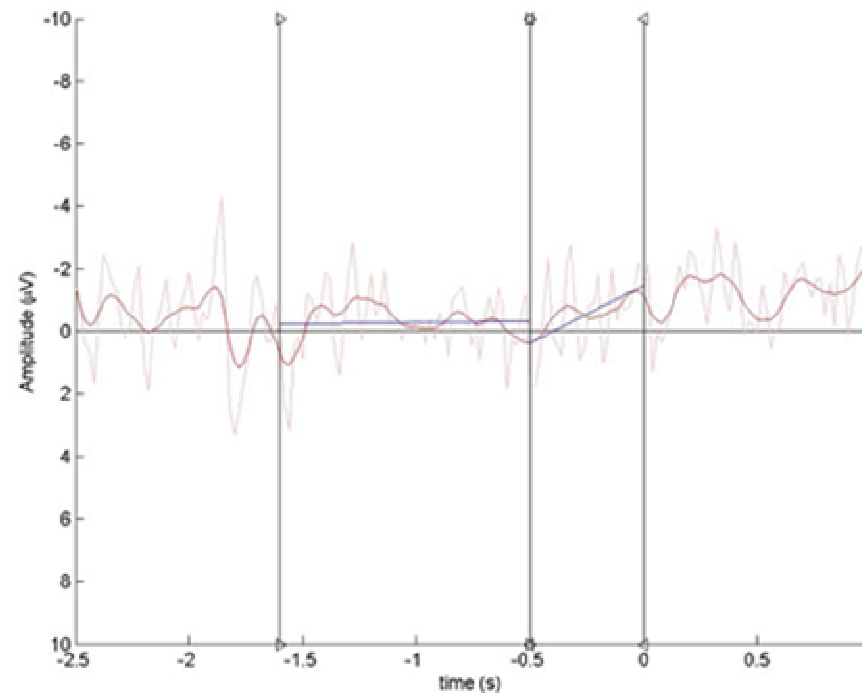


# GP hemisfério esquerdo

**Observação do movimento da  
mão sadia**

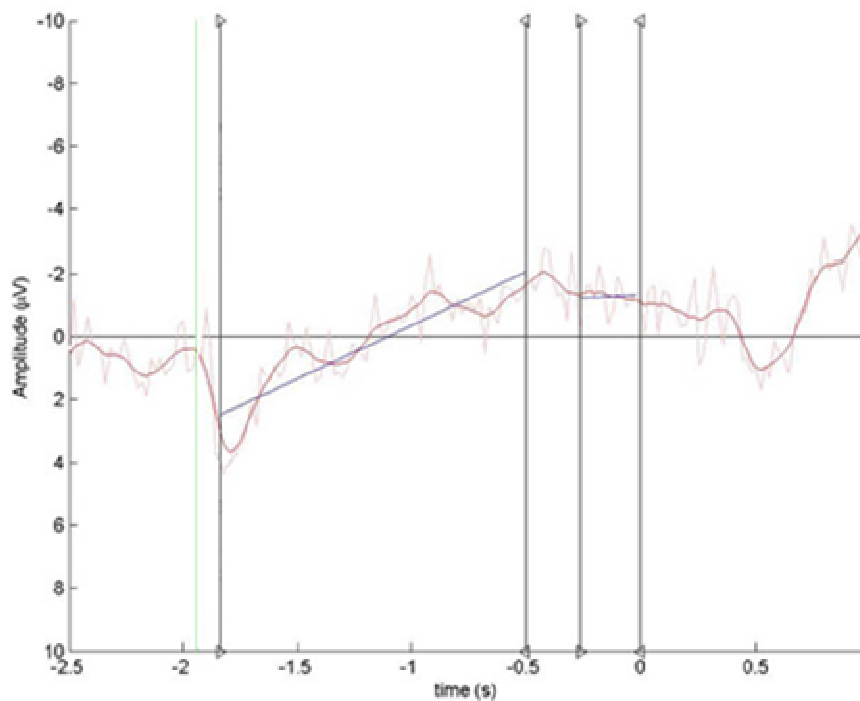


**Observação SEM movimento da  
mão sadia**

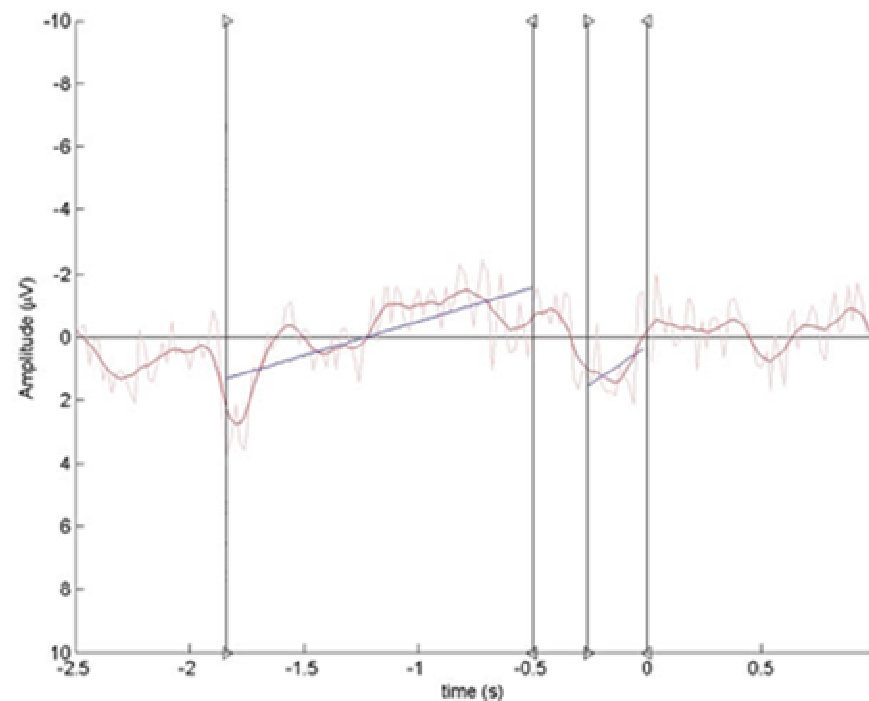


# MP hemisfério direito

**Observação do movimento da  
mão amputada**

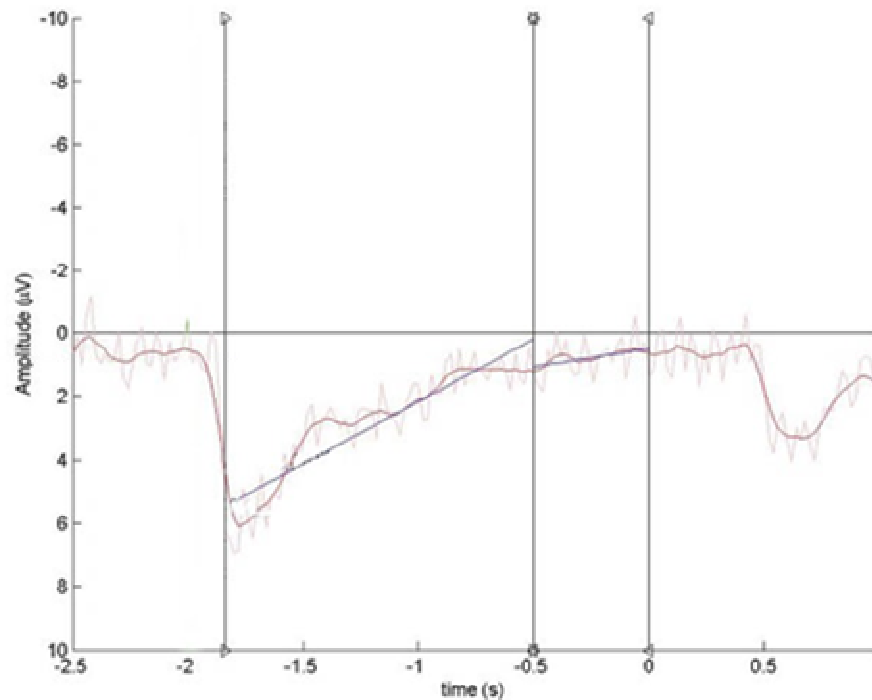


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

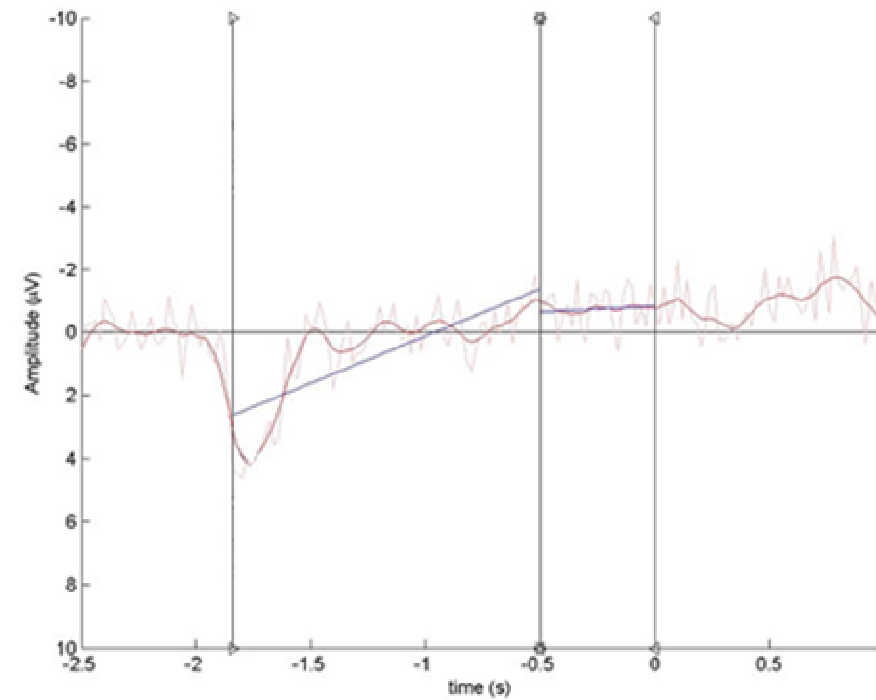


# MP hemisfério direito

Observação do movimento da  
mão sadia

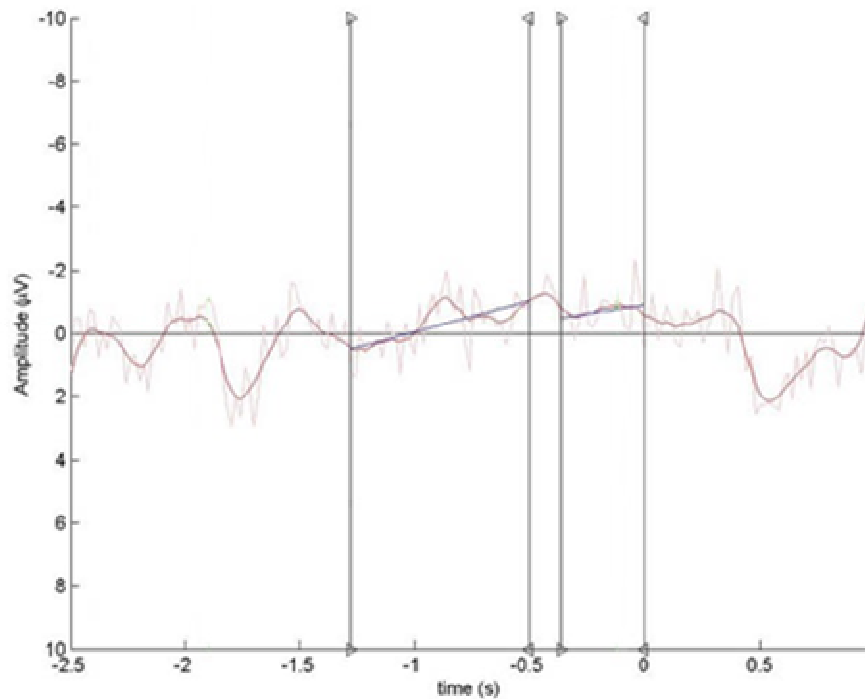


Observação SEM movimento da  
mão sadia

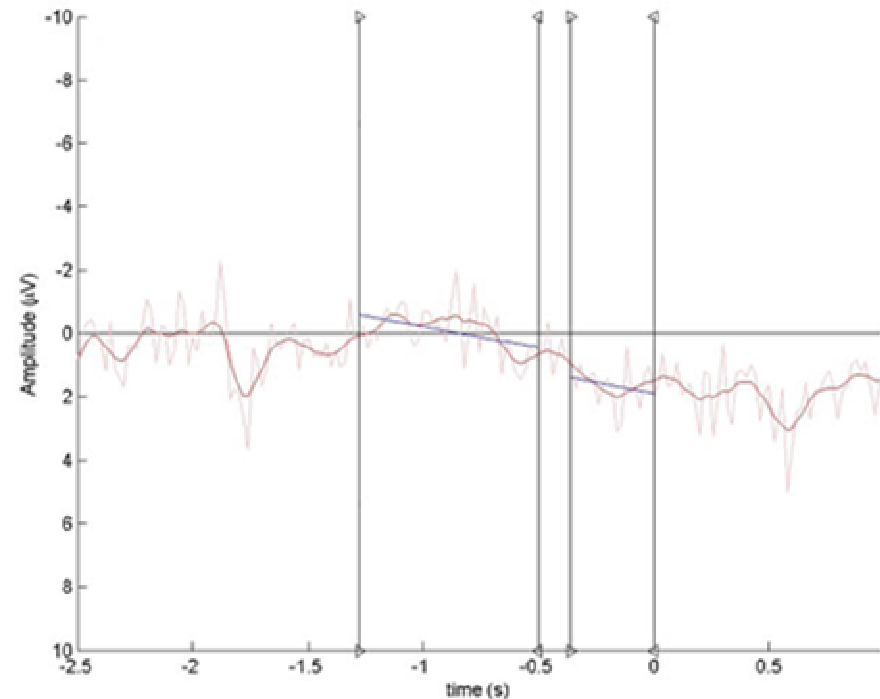


# MP hemisfério esquerdo

**Observação do movimento da  
mão amputada**

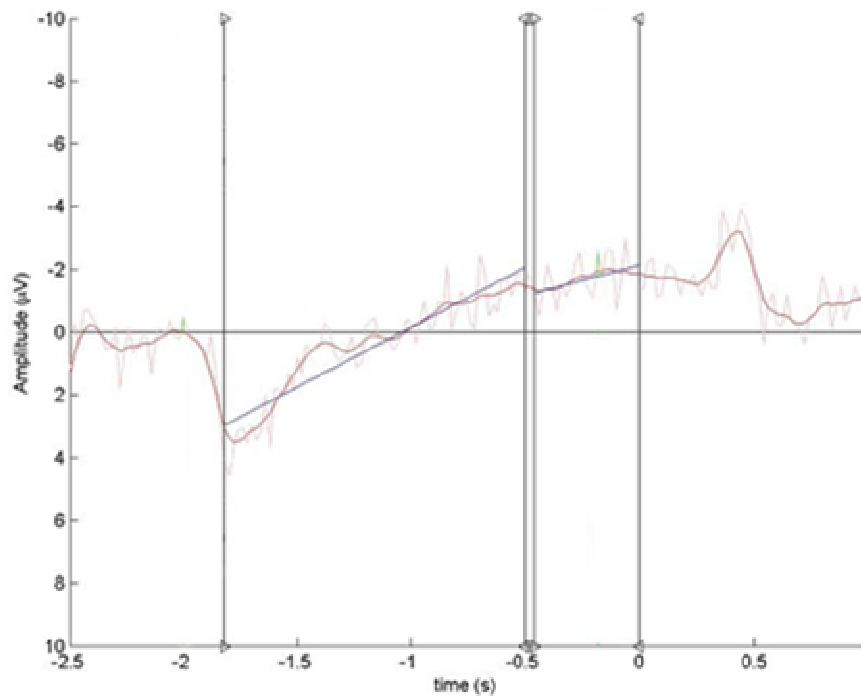


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

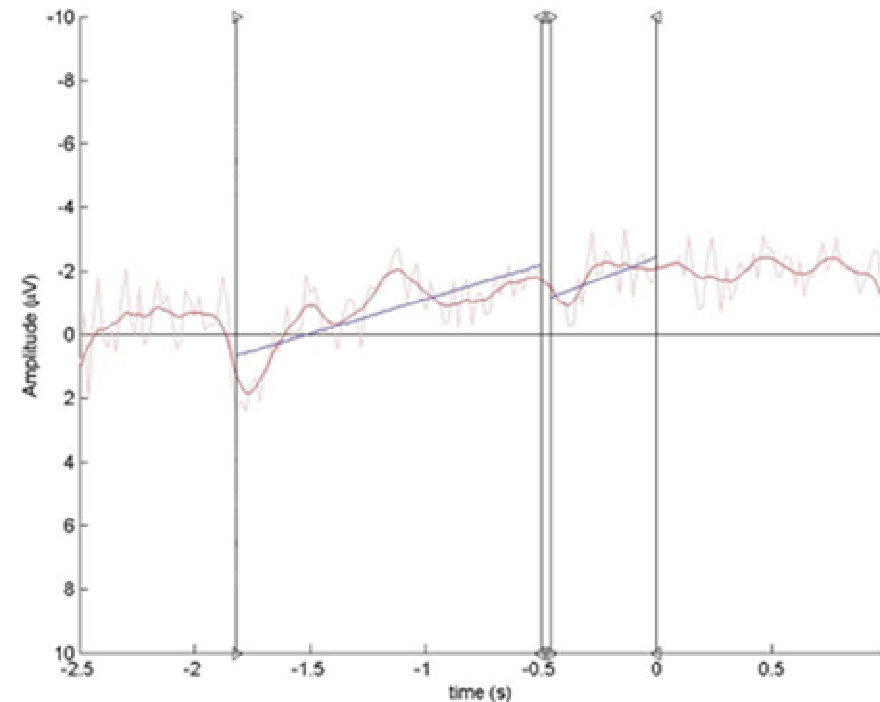


# MP hemisfério esquerdo

Observação do movimento da  
mão sadia

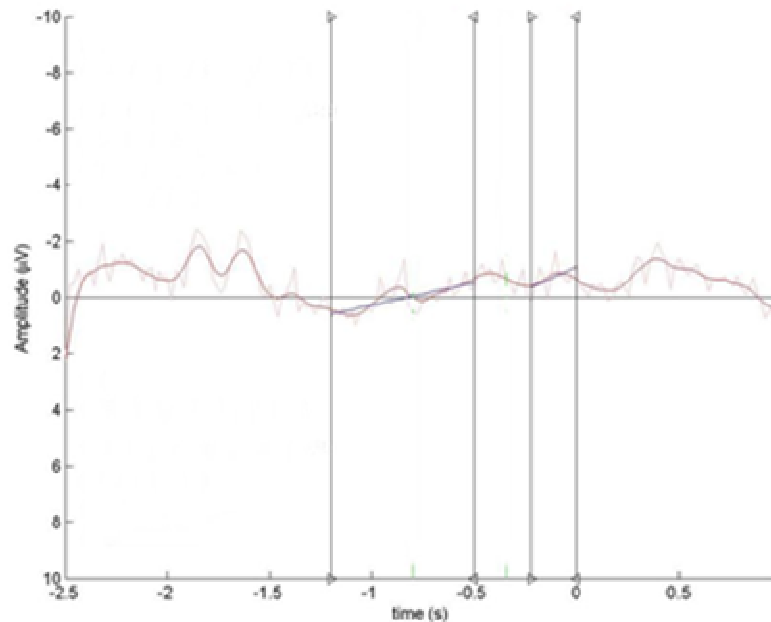


Observação SEM movimento da  
mão sadia

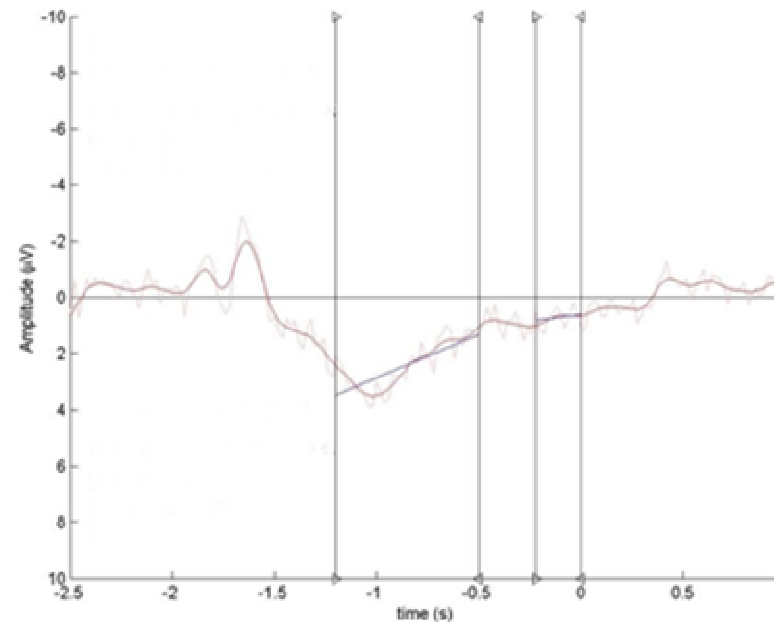


# RD hemisfério direito

**Observação do movimento da  
mão amputada**

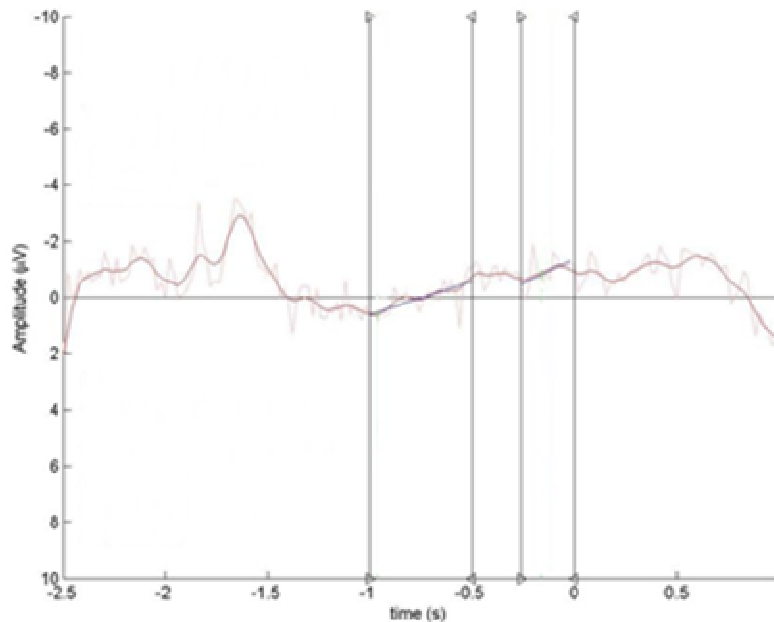


**Observação SEM movimento da  
mão amputada**

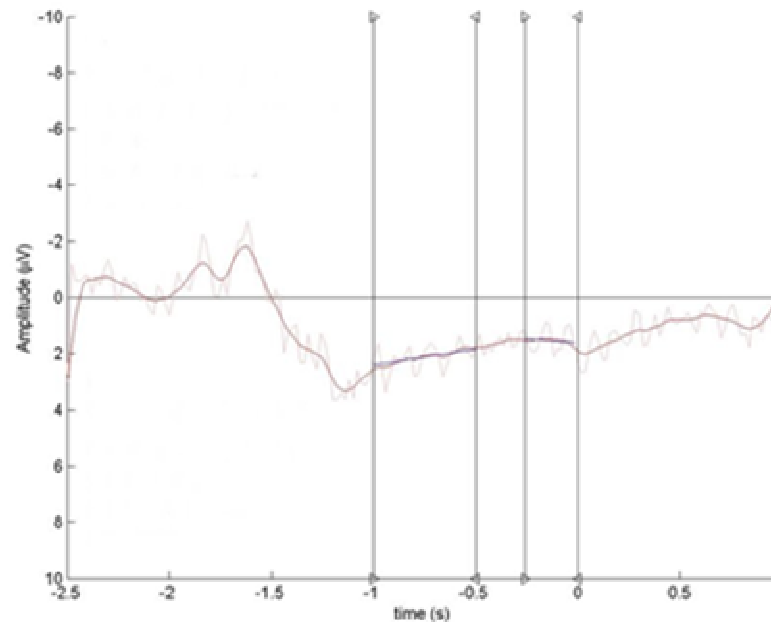


# RD hemisfério direito

Observação do movimento da  
mão sadia

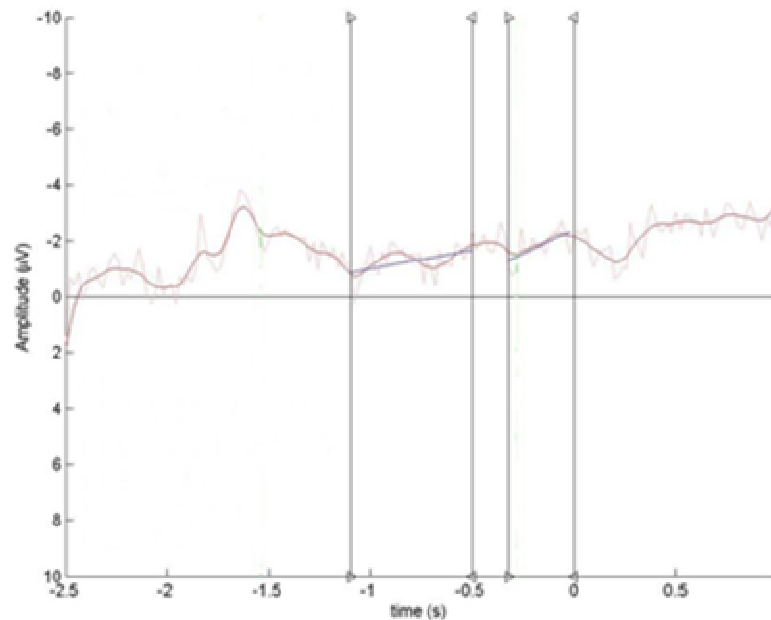


Observação SEM movimento da  
mão sadia

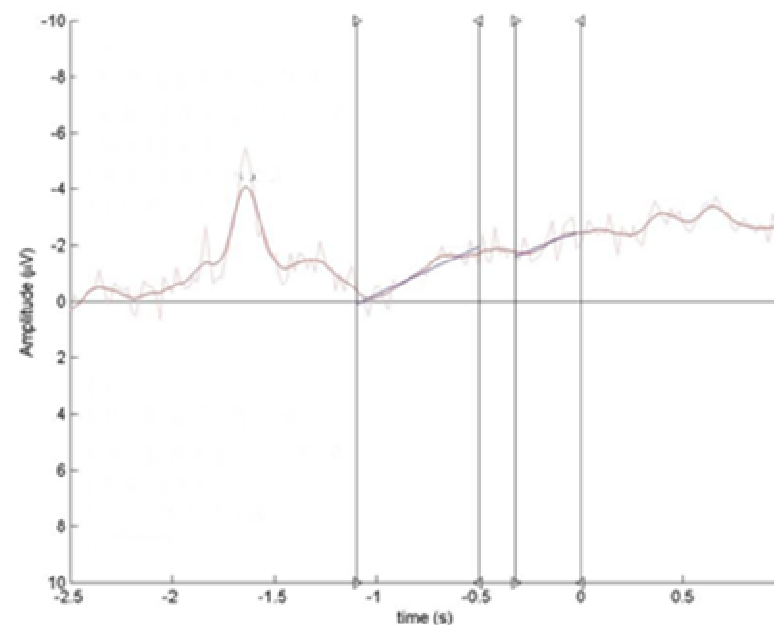


# RD hemisfério esquerdo

**Observação do movimento da  
mão amputada**



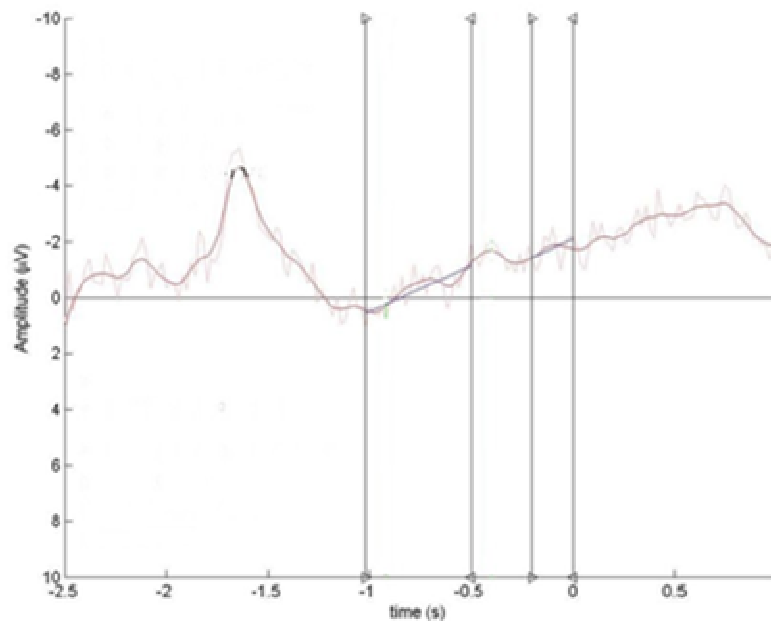
**Observação SEM movimento da  
mão amputada**



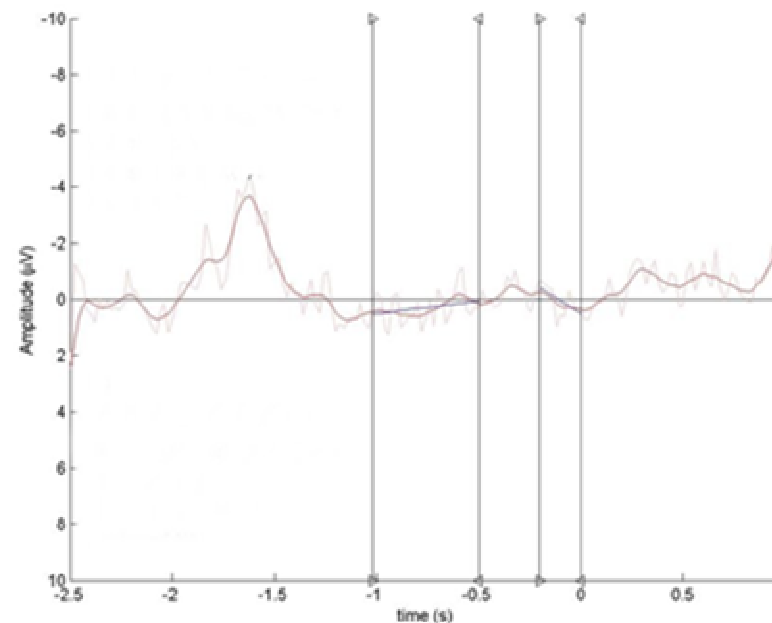


# RD hemisfério esquerdo

Observação do movimento da  
mão sadia



Observação SEM movimento da  
mão sadia



## **Anexo 2**

## **Biological Sciences**

### **Neuroscience**

#### **Re-Emergence of Hand Muscle Representations in Human Motor Cortex after Hand Allograft**

Claudia D. Vargas <sup>1,\*</sup>, Antoine Aballéa<sup>1</sup>, Érika C. Rodrigues<sup>1,\*</sup>, Karen T. Reilly<sup>1</sup>,  
Catherine Mercier<sup>1,\*\*</sup>, Palmira Petruzzo<sup>2</sup>, Jean M. Dubernard<sup>2</sup>, Angela Sirigu<sup>1</sup>

1) Centre de Neurosciences Cognitives, CNRS, 67, Blv. Pinel, 69675, Bron, Université Lyon  
1, Lyon, France

2) Department of Transplantology, Hôpital Edouard Herriot, HCL, 5, place d'Arsonval –  
69437, Lyon, France.

Correspondence to: Dr. Angela Sirigu

Centre de Neurosciences Cognitives, CNRS

67, Blv. Pinel

69675 Bron

FRANCE

E-mail: [sirigu@isc.cnrs.fr](mailto:sirigu@isc.cnrs.fr)

Telephone +33 0437911231

Fax +33 0437911212

\*Present address: IBCCF<sup>o</sup>, UFRJ, Ilha do Fundão 21 949 900, Rio de Janeiro, Brazil.

\*\* Present address: Centre interdisciplinaire de recherche en réadaptation et en intégration  
sociale, 525, boul. Hamel, Québec (QC) G1M 2S8, Canada

Running head: Motor Plasticity after Hand Allograft

Keywords: amputation, plasticity, reorganization, TMS

Number of figures: 3, Number of Tables: 3

## **Abstract**

The human primary motor cortex (M1) undergoes considerable reorganization in response to traumatic upper limb amputation. The representations of the preserved arm muscles expand, invading portions of M1 previously dedicated to the hand, suggesting that former hand neurons are reassigned to the control of remaining proximal upper limb muscles. Hand allograft offers a unique opportunity to study the reversibility of such long-term cortical changes.

We used transcranial magnetic stimulation (TMS) in patient LB, who underwent bilateral hand transplantation three years after a traumatic amputation, to longitudinally track both the emergence of intrinsic (from the donor) hand muscles in M1 as well as changes in the representation of stump (upper-arm and forearm) muscles. The same muscles were also mapped in patient CD, the first bilateral hand allograft recipient.

Newly transplanted intrinsic muscles acquired a cortical representation in LB's M1 at ten months post-graft for the left hand and at twenty six months for the right hand. The appearance of a cortical representation of transplanted hand muscles in M1 coincided with the shrinkage of stump muscle representations for the left but not for the right side. In patient CD, TMS performed at fifty one months post-graft revealed a complete set of intrinsic hand muscle representations for the left but not the right hand. Our results show that newly transplanted muscles can be recognized and integrated into the patient's motor cortex.

## Introduction

It is now well established that the adult brain is highly influenced by changes occurring at the body's periphery. Evidence from human and animal models show that, when deprived of its afferent sensory input and/or its motor effectors, the primary sensory (S1) and motor (M1) cortical regions undergo plastic modifications (1-10).

Traumatic upper limb amputation in humans produces life-long consequences. Patients often report a global feeling that the missing body part is still present. This feeling is frequently associated with specific sensory and kinesthetic sensations and pain in the missing limb. Many patients further describe that the phantom limb can be moved voluntarily (review in 11, 12).

Functional investigation of human M1 reorganization after amputation has demonstrated that instead of becoming inactive, the hand area is now activated during proximal limb movements (5, 13, 14), and that cortical stimulation of this region evokes contraction of proximal upper-limb muscles (4, 9, 15, 16). In addition, face and forearm motor representations which surround the representation of the missing hand have also been shown to expand into the de-efferented cortex (16, 17), with the expansion of lip movements into the former hand area correlating positively with the amount of phantom limb pain (18). Studies employing TMS paired-pulse protocols have shown less intracortical inhibition in the region corresponding to the amputated limb when compared with the intact limb's region (19, 20), suggesting that modulation of inhibitory cortical circuits might play a fundamental role in M1 representational changes that follow amputation. Much less, however, is known about the reversibility of such plastic changes years after amputation.

Transplantation to replace the amputated body part (21) offers the opportunity to study if and how grafted muscle representations are reintegrated in M1 and their effects on

the long term cortical changes provoked by the amputation. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) results from bilateral hand transplanted patients indicate that a reversal of the long-standing amputation-induced reorganization is possible (14, 22). In these studies, however, cortical reorganization was documented for hand movements involving mostly non-transplanted (extrinsic hand) muscles. Thus, it is difficult to ascertain whether and how the newly transplanted intrinsic hand muscles reacquire a truly functional status in M1.

Precision hand movements depend on the ability to individuate movements of particular fingers from a more fundamental multidigit grasping plan, a capacity provided by motor synergies between intrinsic and extrinsic hand muscles that appears relatively late, both in evolution and in individual development (review in 23). Without any possibility to produce “real” fingers movements during the months or years following their amputation, allograft recipients have to relearn the motor synergies between extrinsic and intrinsic hand muscles underlying the individuated finger movements that are used in activities of daily life. It remains unknown, however, if intrinsic hand muscles, so important for fine and skillful hand movements, can be directly activated from M1 after allograft.

In the present study we used TMS over both hemispheres of two bilateral hand allograft recipients (LB and CD) to examine the M1 representational maps of intrinsic hand muscles (transplanted from the donor: *Abductor Digiti Minimi*, ADM, *Opponens Pollicis* OP, *First Dorsal Interosseous* FDI), and those remaining in the patient’s upper limb after amputation (*Biceps Brachii* BB, *Flexor Digitorum Superficialis* FDS). We also mapped the superior border of the face muscle (*Zygomatic Major*, ZYG) because of its neighboring representation with upper limb muscles in M1. In patient LB we further investigated the re-emergence in time of these muscle representations and their spatial changes along the central sulcus.

We used a fixed stimulation intensity design, which meant that the representation of a given muscle was always examined using the same intensity of stimulator output. This intensity was set during the first testing session at 110% of the threshold to evoke motor potentials in that muscle after stimulating M1. In addition to the two allograft patients, three normal subjects and one bilateral hand amputee (AD) whose laterality, age, and height were matched with LB were also tested. For each studied muscle, motor evoked potential (MEP) latencies and mean amplitudes were recorded using standard electromyographic (EMG) techniques. To evaluate reorganization of muscle representations, mean MEP amplitude values were used to build representational maps in M1 (24). The center of gravity (CoG) of each map was also calculated and the distance of the CoGs with respect to the midline was compared for different muscles at each testing session and for the same muscle across time.

## **Results**

### **Patient LB**

LB was a 20-year-old right handed man when he suffered a traumatic amputation of both hands in 2000 at the middle third of the right forearm and at the distal end of the left forearm. He wore a right-side myoelectric prosthesis for three years and a bilateral one during the last year before allograft, which was performed in April 2003. LB was tested once before (-11 months), and four times after the graft (+2, +10, +17, and +26 months).

### **Representation of left arm and face muscles in patient LB**

Left OP, ADM, and FDI representations, absent at +2 (at 99% of stimulator output, data not shown), were observed for the first time in LB's M1 at +10 (Figure 1). The CoGs of the ADM and FDI representations shifted laterally between +10 and +26 months, while the OP representation was slightly displaced in a medial direction over the same time period (Table 1). Between +17 and +26 months and for all three intrinsic hand muscles there was an increase in the number of scalp points from which larger mean MEP amplitude values could be obtained, suggesting that intrinsic hand muscle representations were robust in M1 from +10 onwards (Figure 1 and supplementary Figure 1). MEP latencies were longer compared with those observed in normal subjects for these muscles at +10, and although they shortened throughout time, they did not reach normal values until +26 (Supplementary Table 1). Taken together, these results indicate that the transplanted muscles on the left hand progressively regained a representation in LB's motor cortex.

One important issue is whether the cortical reactivation of intrinsic muscle representations was paralleled by a reorganization of those muscles with neighboring cortical representations, namely, proximal arm and face muscles. Before the graft, MEPs were evoked in the left BB from a greater number of scalp sites than at +2, when no MEP responses could be obtained in this muscle using the pre-graft stimulation intensity of



88%. MEPS could only be evoked at 95% of the maximal stimulator output (Supplementary Table 2). The decrease in the number of scalp points from which stimulation was able to evoke MEPs in BB even at a stimulation intensity of 95 % indicates that the left BB's representation shrank considerably after the graft, even before responses could be evoked in any of the tested intrinsic muscles (Supplementary Table 1). This suggests that even though peripheral connections to the intrinsic muscles were absent or incomplete the cortex was undergoing plastic modifications as a consequence of the newly present hand. Latency measurements further revealed that cortico-spinal conduction time to the left BB was significantly shortened before (-11) and at +2 after the graft compared with control subject latencies, but then returned to control values from +10 onwards (Supplementary Table 2).

Post graft longitudinal evaluation of the left arm and face muscle representations tested from +10 to +26 and plotted onto LB's anatomical MRI are illustrated in Figure 1. The left BB representation shrank over time, culminating with almost no MEP responses at +26. The CoGs for the left BB shifted medially from +10 to +17, moving again laterally at +26 (Table 2; note however that in the latter case the CoG was calculated from very few MEPs). From +10 onwards, BB latency values were equivalent to those of normal subjects. The left FDS representation was reduced in extent from +10 to +17 months, regaining its original size at +26. FDS latencies at +2 were shorter than those observed in control subjects (Supplementary Table 2). Finally, the border of the left ZYG representation appeared to shift laterally from +10 to +17 and could no longer be mapped at +26 using the same intensity as that used in the previous testing sessions (Figure 1 and Supplementary Figure 1).

### **Representation of right arm and face muscles in patient LB**

Figure 2 shows the evolution across time of LB's right muscle representations. The right intrinsic hand muscle ADM was first mapped in M1 at +10 while FDI and OP

representations were only detected at +26 (Figure 2 and Supplementary Figure 2). As for the left hand, MEP latencies for the right ADM were slower than those of control subjects (Supplementary Table 1). For this muscle, however, a clear medial-lateral shift in the CoG was observed across time (Supplementary Table 1).

Longitudinal changes in proximal arm and face muscle representations were also tracked for right side muscles. Before the graft (-11), right BB mapping was performed at 99% of the machine output (Supplementary Table 1). No significant change in threshold intensity or number of MEP points occurred for the right BB at +2 compared with -11 (Supplementary Table 2). In contrast to the clear reduction in the size of the left BB cortical map across time, the right BB representation expanded between +10 and +17 (Figure 2), but showed little change between +17 and +26 either in the area from which responses could be evoked, or in the medio-lateral position of the CoG (Supplementary Table 2). The right FDS representation had a threshold change at +17, when MEPs in this muscle could only be evoked at 88% of the machine output, but it regained its previous form at +26. In contrast with the left forearm and upper arm muscle representations, latency values were stable for BB and FDS both when comparing pre- and post-graft values and when comparing across post-graft evaluations (Supplementary Table 2). Finally, there was no sign of a lateral displacement of the border of the ZYG representation, maximal MEP values did, however, decline from +17 to +26 (Figure 2 and Supplementary Figure 2).

Taken together, these results confirm that intrinsic hand muscle representations were reintegrated into LB's M1, with this reappearance occurring later for the right than for the left hand. Interestingly, despite the fact that LB was right-handed before the amputation, and that after his amputation he used his prosthetic device mostly with his right hand, hand preference shifted from right to left after the graft (Supplementary Video 1).

## Patient CD

We had the opportunity to test CD, a 42-year-old right handed man who lost both hands above the wrist level in 1996. He wore a bilateral myoelectric prosthesis for 3 years, and received a bilateral hand allograft in January 2000. CD was tested in April 2004, 51 months post-graft.

Left intrinsic hand muscle representations were found in CD's M1 for ADM, FDI, and OP (Figure 3). Despite the presence of a representation of these muscles within M1, in FDI and OP the average latency of the MEP responses was significantly slower than that recorded in control subjects (Supplementary Table 1). For the right hand, as for LB, MEPs in ADM and FDI could only be obtained with high stimulation intensity (98 % of the stimulator output, Supplementary Table 1). Notwithstanding, no MEP responses were ever observed in OP. Latency values for FDI and ADM were similar to those recorded in control subjects (Supplementary Table 1).

The BB and FDS muscle representations in CD's M1 were mapped at the same stimulation intensity as that used to map the intrinsic hand muscles. For the left side, mean latencies for both muscles were similar to those of control subjects (Supplementary Table 2). For the right side, however, reduced latency values were observed for both BB and FDS (Supplementary Table 2). Finally, for both sides, the border of the ZYG representation was clearly evident at +51 (Figure 3).

The results from CD confirm that transplanted intrinsic hand muscles can reacquire a representation in the brain. Interestingly, in both patients LB and CD much higher stimulation intensities were necessary in order to evoke motor potentials in right than in left hand muscles, with the right OP representation showing a delayed re-emergence in M1 (LB) or an inaccessibility with standard TMS intensities at more than 4 years post-graft (CD). CD's hand motor performance can be viewed in Supplementary Video 2.

We wondered whether the asymmetrical upper limb and hand muscle representational trend observed in both allograft patients (and present pre-graft in LB, see

Supplementary Table 1) was also present in a bilateral hand amputee. To address this issue we tested patient AD.

### **Patient AD**

AD was a 27-year-old right handed man who suffered from a traumatic bilateral transmetacarpian amputation in April 2003. On both sides he lost his fingers and thumb but part of his palm was preserved, including the intrinsic muscles ADM and OP. He was tested in June 2006, 38 months post-amputation.

MEPs were recorded from left and right BB, FDS, ADM, and OP. No differences in stimulation threshold, latency, or CoG values were observed between the left and right sides, nor did this patient show any significant differences with respect to values obtained from the dominant hand of control subjects (Supplementary Tables 1 and 2).

## **Discussion**

### **Cortical reorganization after allograft**

Longitudinal evaluation of intrinsic hand muscle re-emergence using a fixed stimulation intensity design revealed that transplanted hand muscles acquired a representation in LB's M1. This co-occurred with shrinkage in the size of the left BB representation and was also accompanied by a lengthening of the latencies for MEPs evoked in this muscle. The picture was different for LB's right side muscles, however, for which higher stimulation intensities than those employed to map muscles of the left hemibody were required to obtain MEPs. In addition, the re-emergence of right intrinsic muscle representations was slower in time than for the left side, and the distance of the CoG from the midline and MEP latency values for the right BB muscle representation remained stationary. Similar to what was found for LB, TMS in patient CD revealed a left-right asymmetry characterized by a much higher stimulation threshold for right compared with left intrinsic hand muscles, an incomplete representation of right intrinsic hand muscles, and a larger representation of right BB and FDS compared with the same muscles on the left side of the body. In summary, in this study we were able to track in time the appearance and stability of intrinsic hand muscle representations in M1 for patient LB, and confirmed their accessibility in patient CD.

One may question whether the representational changes we observed in LB's motor cortex reflect true functional changes resulting from hand allograft. Previous experiments in control subjects designed to specifically test the stability of representational map parameters in longitudinal TMS designs indicate that most parameters are reliable across time. In one early study Wilson et al. (25) found no significant difference in mean location, area, and extent of the adductor pollicis brevis (APB) and the ADM representations when mapping was repeated at intervals up to 181 days. Using a digital positioning system, Mortifee et al. (26) showed that map area, size, and volume were reproducible when

plotted twice over a period of several weeks. Later, Uy et al. (27) also showed that area, volume, and centre of gravity of maps of three intrinsic hand muscles tested four times do not change significantly over time. No significant difference in motor threshold was found when a large cohort of healthy subjects was reexamined over various time points ranging from 19 min to 1867 days (28). In stroke patients (29), moderate to good test–retest reliability for TMS measurements of motor threshold, map area, location, and stimulus–response curves were reported for FDI, APB, extensor digitorum communis (EDC), and flexor carpi radialis (FCR) muscles, although with higher consistency for forearm than for intrinsic hand muscles. Finally, centre of gravity, latency, and threshold measurements are also stable upon retesting in upper-limb amputees, with map volume being the least reliable of the tested parameters (C. Mercier, personal communication), possibly due to the known variability of MEP amplitude at the perimeter of the map (26). Taken together, these experiments indicate that the TMS parameter changes observed to occur longitudinally in the present study could plausibly be associated with plastic reorganization induced by allograft.

TMS studies of M1 reorganization following peripheral injury have clearly established that the stimulation intensities required to evoke MEP responses are strongly affected by amputation-induced deafferentation (4, 9). MEP latency reduction has also been described for stump muscles in amputees, correlating inversely with the extent of a given muscle’s representation in M1 (4, 19). The decreases in threshold observed for stump muscles are associated with a greater recruitment, either direct (D) or indirect (I), of pyramidal neurons, which results in larger excitatory postsynaptic potentials in spinal motoneurons, thus explaining both the enlargement of the motor map and the decrease in latency values (4). Conversely, a reduction in the size of representational maps (associated with an increased mapping threshold) coincides with increased latencies and

greater cortico-cortical inhibition (and thus fewer D and I waves), leading to less summation of excitatory postsynaptic potentials at spinal motoneurons.

Chen et al. (19) used a TMS paired pulse paradigm to show that lower limb amputees have significantly less intracortical inhibition in the cortex contralateral to the amputated side when compared with the intact side. Similar results were observed by Schwenkreis et al. (20) in forearm amputees. Both authors suggested that these changes might underlie the expansion of map size that occurs for those muscles that remain after amputation. Likewise, the latency effects and the representational extent dynamics observed in the present study for intrinsic hand, upper arm, and face muscle representations might be correlated with changes in intracortical inhibition that followed hand allograft. In conclusion, reinforcing the consensus from classical studies conducted in animal models that part of the activity-dependent representational plasticity might arise by some combination of 'unmasking' of widespread, but normally sub-threshold connections (30), TMS studies performed in humans suggest that inhibitory modulation of cortical circuits might play a fundamental role in M1 representational changes like those observed here after hand allograft. Further studies in allograft patients employing paired pulse techniques might shed more light on the exact mechanisms underlying the M1 reorganization described here.

### **Intrinsic hand muscle reorganization**

Results obtained in patients LB and CD indicate that left intrinsic muscles (from the donor), which are extremely important for fine and skilful hand movements, can be directly activated from M1 after allograft. Interestingly, mapping of the right intrinsic hand muscles was only possible with high stimulation values. For patient LB, right FDI and OP muscle representations were only observed at 26 months after the graft, and for CD, there was a complete absence of MEP response in the right OP at 51 months after the graft.

A straightforward hypothesis to explain the lack of TMS corticospinal activation in LB and CD's right intrinsic hand muscles might be the partial sensory and motor re-innervation of the transplanted hands. It has been shown in primates that complete peripheral nerve section followed by reconnection results in a reshuffling of primary somato-sensory cortex (S1) digit representations, suggesting that the re-growth of severed peripheral sensory nerves is often an imprecise process (1). Therapeutic amputation of the hand in monkeys is followed by a large-scale reorganization of the somato-sensory pathways (6), and an extensive sprouting of cortico-cortical connections is observed in S1 after peripheral injury (7), indicating that the somato-sensory system is engaged in a massive reorganization after a peripheral lesion. Previous studies in human unilateral upper-limb replant recipients suggest that sensory re-innervation often remains incomplete even after many years (31). However, fMRI results indicate that the restoration of afferent input (albeit incomplete) leads to activation in the region corresponding to the hand representation in S1 (14, 32, 33). Likewise, results gathered in patient CD (34) and in upper-limb amputees whose arm nerves were redirected to chest muscles (35) indicate that peripheral and central pathways remain viable even after prolonged periods of amputation-induced disuse, and that somatosensory circuits of the human brain readily reintegrate peripheral information pending its availability.

From the motor side, once again the lack of a precise reconnection in the periphery after a hand allograft could seriously impair the emergence of plastic changes at the cortex associated with functional skill reacquisition. For instance, in monkeys with amputated segments, de-efferented motoneurons preserve their functional efficacy by innervating more proximal muscles (36). If central pathways survive de-efferentation and de-afferentation, the latent sensory-motor circuit might be functionally ready for the graft so that the intrinsic hand muscle representations could be reactivated in the recipient's brain as soon as some portion of the peripheral connections are reestablished (12, 16, 37).



Accordingly, fMRI studies indicate that hand allograft results in changes in movement-related cortical areas (14, 22, 32, 38). In patient CD hand allograft has been shown to overthrow the long-standing amputation-induced reorganization in M1 (14). However, in this study cortical reorganization was documented for flexion and extension movements mostly involving extrinsic hand musculature, and there was no clear data related to cortical plastic changes specifically associated with intrinsic hand muscle function. Recording from intrinsic muscles of a unilateral hand transplanted patient, Lanzetta et al. (39) reported the first signs of voluntarily driven electromyographic (EMG) activity in the ADM at eleven months post-transplant. One month later, a first motor unit train was also identified in APB and OP muscles, and after 15 and 24 months, in the FDI and the first lumbrical muscles, respectively. A similar time course was found by Schneeberger et al. (40) in a bilateral hand transplanted subject: six months after transplantation electromyographic signs of reinnervation were observed in the left ADM. One year after transplantation, reinnervation was also seen on the right hand in ADM and bilaterally in APB. Furthermore, stimulation of the ulnar nerve produced compound motor action potentials in left side muscles earlier than in right side muscles. These results are similar to ours in time scale, and in light of our findings we suggest that intrinsic hand muscle representations in M1 can be voluntarily accessed as soon as the sensory-motor loop is reactivated.

The relearning of finger movements is most likely another major factor influencing re-expansion and stabilization of the M1 hand representation. Finger movements that transplant recipients can perform immediately after graft are very different from the movements of an intact hand, and motor function gains are slow and require the subject to actively retrain fine hand movements. LB and CD were submitted to intense (twice a day) and varied rehabilitation training during the first year after the graft, continuing twice a week subsequently (41). Thus, intensive physical rehabilitation for the grafted muscles probably influenced the degree and range of reorganization found in M1, expanding the

plastic possibilities of the hand allograft. Finally, another factor that could influence sensori-motor plasticity after allograft is feedback provided by vision. Severely deafferented patients rely almost exclusively on visual feedback to control their hand movements (42). Moreover, in long standing amputees, the vision of a virtual image of the missing limb that goes along with voluntarily driven phantom movements can induce plastic changes in M1 and reduce phantom pain (43). Since patients had continuous visual access to their transplanted hands, viewing the hands moving probably helped to improve hand motor function after allograft and this in turn may have had an impact on motor cortex reactivation.

### **Upper arm muscle reorganization**

In both LB and CD MEPs were obtained from the left BB with lower stimulation intensities than those needed to obtain MEPs in the right BB, with this left/right asymmetry present in LB even *before* the graft. These results are intriguing, since in normal subjects stimulation levels necessary to evoke MEP responses are generally lower for the dominant hand (44, 45) but see (46). Furthermore, we observed no such asymmetry in the bilateral amputee AD, suggesting that in LB and CD it was not due to the bilateral amputation *per se*. A possible explanation for this left-right asymmetry in LB even before the graft might be that the reorganization of the right side non transplanted muscles was limited by prolonged and frequent use of a myoelectric prosthesis with the dominant right arm. It has been shown that prosthesis use is associated less reorganization in amputees (47). Since amputation-induced reorganization is often characterized by a disinhibition of existing circuits, the use of a prosthesis with the right arm might have reduced reorganization of the left motor cortex, thereby resulting in a higher stimulation threshold for right than the left upper limb muscle representations both before and after the graft.

Although no TMS testing was performed before the graft in CD, one could suppose that, being right handed, he had also developed a preference for the right prosthesis. Thus, for both patients, left–right asymmetry after bilateral allograft could be the result of asymmetric prosthesis use before the graft, which reduced post-graft reorganization within the hemisphere contralateral to the dominant hand. Before the amputation both CD and LB had one limb slightly shorter than the other, but in both cases the muscles used to drive the left and right myoelectric prostheses were the extensor digitorum communis (to open the hand) and the FDS (to close the fingers), ruling out an asymmetry in the M1 plastic response to allograft as a result of distinct left-right differences in prosthesis control. After the transplant, differential use of the two hands might also have contributed to the asymmetric hand representation found in M1 for both patients. Functional evaluations performed in LB revealed that two point discrimination, proprioception, and grasping improved more on the left than the right hand during the first year after the graft, but sensori-motor performance was considered symmetric at two years post graft, despite a clear preference for use of the left hand (41). In patient CD, however, sensitivity recovered slightly more on the right side and this was accompanied by better global sensori-motor function when compared with the left hand at 6 years after the graft (41). Thus, hand performance after the graft was clearly biased asymmetrically towards the left side for LB but not so for CD. As such, we cannot rule out the possibility that the hemisphere contralateral to the dominant hand is more ‘hard wired’ (and thus less plastic) in the context of a bilateral hand allograft. Left-right asymmetries observed post graft could, therefore, reflect the sum of lateralized use of the prosthesis and a possible reduced plasticity for the hemisphere contralateral to the dominant hand.

Based on the results from both the longitudinal evaluation of patient LB and the one-off testing performed in patient CD, we propose that in both patients there was a tendency for the left arm muscle representations that remained after the amputation to

approach normal physiological values after the graft. The reduced MEP latencies and expanded maps for the left intrinsic hand muscles suggested to us that for this arm the reversal of the expansion of the proximal muscle representations (induced by amputation) occurred in parallel with the reinstallation of hand motor repertoires throughout the course of post graft rehabilitation. On the right side, the failure of the proximal muscle representations to return to control values after transplantation coincided with an incomplete reinstallation of intrinsic hand muscle representations in M1, maybe reflecting a dysfunction in the reestablishment of this hand's sensori-motor loop. Whether the left-right asymmetry that we observed is due to a superior peripheral reconnection for the left compared with the right hand, to other plastic factors intrinsic to brain reorganization processes induced by hand transplant, or to preexisting laterality differences, remains an open question.

### **Conclusion**

Using TMS in two former amputees who received double hand allograft, in patient LB we observed the gradual reappearance of intrinsic hand muscle representations in the motor cortex with distinct time courses for left and right muscle representations. We also observed a set of intrinsic hand muscles in patient CD with a left/right asymmetry similar to that observed in LB. Although it is not yet possible to precisely define how the quality of the peripheral reconnection interacted with central factors in determining the degree and extent of functional gain after hand allograft, we conclude that the process of motor cortical plasticity extends to the recognition of newly transplanted muscles in order to build novel limb motor synergies.

### **Material and Methods**

This protocol was approved by the local ethical committee (CPP, Centre Léon Berard, Lyon, France). Subjects sat comfortably in a chair and wore an EEG 10/20 cap (Electrocap International Inc.) with a set of predefined stimulation points while surface electromyographic (EMG) activity was simultaneously recorded through independent channels from a combination of up to four of the muscles of interest (BB, FDS, OP, FDI, ADM, and ZYGO). Before each testing session, we identified the scalp point corresponding to that of the central zero (CZ) electrode from the International 10-20 system which was used to position the cap on the subject's skull. TMS pulses were delivered to scalp points overlying M1 using a Magstim 200® stimulator with a 70mm figure-of-eight coil placed tangential to the skull, oriented sagittally, and with the handle pointing downwards. This coil orientation was used systematically in all the testing sessions and together with the co-registration system ensured between-session reliability of stimulation sites. All the stimulation intensity values used to map each of the tested muscles are indicated in Tables 1 and 2 (see also supporting information). Before mapping, the optimal location for stimulation of the muscle of interest was found by stimulating the scalp region overlying the pre-central sulcus. Motor threshold (MT) for that muscle was defined as the minimal intensity of stimulation at the optimal location that elicited motor evoked potentials (MEPs) larger than 50  $\mu$ V in at least 50% of trials. Stimulation intensity was then set at 110% of the intensity threshold to evoke MEPs in that muscle and each scalp point was stimulated 6 times. Mapping was performed by stimulating each point on the grid overlying the sensori-motor cortex until no responses were elicited in any of the four muscles.

After the stimulation, the mean MEP amplitudes were measured (see supporting information) and used to create a functional map plotted onto the 3-dimensional brain image. MEP values between stimulation points were interpolated and the position of the center of gravity (CoG) of the interpolated map was computed with respect to the midline

with weights given by the MEP values (24). We compared patients' MEP latencies with those recorded in normal subjects using a Z-score analysis with the p value set at 0.05.

### **Acknowledgement**

This work was supported by a NSF grant (BCS-0225611) and by CNRS to AS. CDV and ECR received financial support from CAPES-COFECUB and IBRO. KR was supported by the Fondation pour la Recherche Médicale, CM by Fonds de la recherche en santé du Québec, and AA by Région Rhône-Alpes. We are grateful to LB, CD, and AD for their patience and collaboration during testing. We thank Dr. Pascal Giroux for his participation in developing the experimental design and in LB's first TMS evaluation.

## References

1. Wall JT et al. (1986) Functional reorganization in somatosensory cortical areas 3b and 1 of adult monkeys after median nerve repair: possible relationships to sensory recovery in humans. *J Neurosci* 6, 218-233.
2. Merzenich MM et al. (1983) Topographic reorganization of somatosensory cortical areas 3b and 1 in adult monkeys following restricted deafferentation. *Neuroscience* 8, 33-55.
3. Sanes JN, Suner S, Lando JF, Donoghue JP (1988) Rapid reorganization of adult rat motor cortex somatic representation patterns after motor nerve injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 2003-2007.
4. Cohen LG, Bandinelli S, Findley TW, Hallett M (1991) Motor reorganization after upper limb amputation in man. A study with focal magnetic stimulation. *Brain* 114, 615-627.
5. Kew JJ et al. (1994) Reorganization of cortical blood flow and transcranial magnetic stimulation maps in human subjects after upper limb amputation. *Journal of Neurophysiology* 72, 2517-2524.
6. Florence SL, Kaas JH (1995) Large-scale reorganization at multiple levels of the somatosensory pathway follows therapeutic amputation of the hand in monkeys. *Journal of Neuroscience* 15, 8083-8095.
7. Florence SL, Taub HB, Kaas JH (1998) Large-scale sprouting of cortical connections after peripheral injury in adult macaque monkeys. *Science* 282, 1117-1121.
8. Flor H et al. (1998) Cortical reorganization and phantom phenomena in congenital and traumatic upper-extremity amputees. *Experimental Brain Research* 119, 205-212.
9. Roricht S, Meyer BU, Niehaus L, Brandt SA (1999) Long-term reorganization of motor cortex outputs after arm amputation. *Neurology* 53, 106-111.
10. Wu CW, Kaas JH (1999) Reorganization in primary motor cortex of primates with long-standing therapeutic amputations. *Journal of Neuroscience* 19, 7679-7697.
11. Flor H, Nikolajsen L, Staehelin Jensen T (2006) Phantom limb pain: a case of maladaptive CNS plasticity? *Nat Rev Neurosci* 7, 873-881.
12. Reilly KT, Sirigu A (2008) The motor cortex and its role in phantom limb phenomena. *Neuroscientist* 14, 195-202.
13. Dettmers C et al. (1999) Abnormal motor cortex organization contralateral to early upper limb amputation in humans. *Neuroscience Letters* 263, 41-44.
14. Giraux P, Sirigu A, Schneider F, Dubernard, JM (2001) Cortical reorganization in motor cortex after graft of both hands. *Nature Neuroscience* 4, 691-692.
15. Ojemann, JG, Silbergeld, DL (1995) Cortical stimulation mapping of phantom limb rolandic cortex. Case report. *Journal of Neurosurgery* 82, 641-644.
16. Mercier C, Reilly KT, Vargas CD, Aballea A, Sirigu A (2006) Mapping phantom movement representations in the motor cortex of amputees. *Brain* 129, 2202-2210.
17. Karl A, Birbaumer N, Lutzenberger W, Cohen LG, Flor H (2001) Reorganization of motor and somatosensory cortex in upper extremity amputees with phantom limb pain. *Journal of Neuroscience* 21, 3609-3618.
18. Lotze M, Flor H, Grodd W, Larbig W, Birbaumer N (2001) Phantom movements and pain. An fMRI study in upper limb amputees. *Brain* 124, 2268-2277.
19. Chen R, Corwell B, Yaseen Z, Hallett M, Cohen LG (1998) Mechanisms of cortical reorganization in lower-limb amputees. *Journal of Neuroscience* 18, 3443-3450.
20. Schwenkreis P et al. (2000) Changes of cortical excitability in patients with upper limb amputation. *Neuroscience Letters* 293, 143-146.
21. Dubernard JM et al. (1999) Human hand allograft: report on first 6 months. *Lancet* 353, 1315-1320.
22. Brenneis C et al. (2005) Cortical motor activation patterns following hand transplantation and replantation. *J Hand Surg [Br]* 30, 530-533.
23. Schieber MH, Santello M (2004) Hand function: peripheral and central constraints on performance. *J Appl Physiol* 96, 2293-2300.
24. Noirhomme Q et al. (2004) Registration and real-time visualization of transcranial magnetic stimulation with 3-D MR images. *IEEE Trans Biomed Eng* 51, 1994-2005.
25. Wilson SA, Thickbroom GW, Mastaglia FL (1993) Transcranial magnetic stimulation mapping of the motor cortex in normal subjects. The representation of two intrinsic hand muscles. *Journal of the Neurological Sciences* 118, 134-144.
26. Mortifee P, Stewart H, Schulzer M, Eisen A (1994) Reliability of transcranial magnetic stimulation for mapping the human motor cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 93, 131-137.
27. Uy J, Ridding MC, Miles TS (2002) Stability of maps of human motor cortex made with transcranial magnetic stimulation. *Brain Topogr* 14, 293-297.

28. Kimiskidis VK et al. (2004) The repeatability of corticomotor threshold measurements. *Neurophysiol Clin* 34, 259-266.
29. Malcolm MP et al. (2006) Reliability of motor cortex transcranial magnetic stimulation in four muscle representations. *Clin Neurophysiol* 117, 1037-1046.
30. Kaas JH, Merzenich MM, Killackey HP (1983) The reorganization of somatosensory cortex following peripheral nerve damage in adult and developing mammals. *Annu Rev Neurosci* 6, 325-356.
31. Roricht S et al. (2001) Reorganization of human motor cortex after hand replantation. *Annals of Neurology* 50, 240-249.
32. Neugroschl C et al. (2005) Functional MRI activation of somatosensory and motor cortices in a hand-grafted patient with early clinical sensorimotor recovery. *Eur Radiol* 15, 1806-1814.
33. Frey SH, Bogdanov S, Smith JC, Watrous S, Breidenbach WC (2008) Chronically Deafferented Sensory Cortex Recovers a Grossly Typical Organization after Allogenic Hand Transplantation. *Curr Biol*. 18, 1530–1534.
34. Farne A, Roy AC, Giraux P, Dubernard JM, Sirigu A (2002) Face or hand, not both: perceptual correlates of reafferentation in a former amputee. *Current Biology* 12, 1342-1346.
35. Kuiken TA, Marasco PD, Lock BA, Harden RN, Dewald, JP (2007) Redirection of cutaneous sensation from the hand to the chest skin of human amputees with targeted reinnervation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 20061-20066.
36. Wu CW, Kaas JH (2000) Spinal cord atrophy and reorganization of motoneuron connections following long-standing limb loss in primates. *Neuron* 28, 967-978.
37. Reilly KT, Mercier C, Schieber MH, Sirigu A (2006) Persistent hand motor commands in the amputees' brain. *Brain* 129, 2211-2223.
38. Piza-Katzer H et al. (2007) Cortical motor activation patterns following hand transplantation and replantation. *Acta Neurochir Suppl* 100, 113-115.
39. Lanzetta M, Pozzo M, Bottin A, Merletti R, Farina D (2005) Reinnervation of motor units in intrinsic muscles of a transplanted hand. *Neurosci Lett* 373, 138-143.
40. Schneeberger S et al. (2006) Status 5 Years after Bilateral Hand Transplantation. *Am J Transplant* 6: 834–841
41. Petruzzo P et al. (2006) Bilateral hand transplantation: six years after the first case. *Am J Transplant* 6, 1718-1724.
42. Gentilucci M, Toni I, Chieffi S, Pavesi G (1994) The role of proprioception in the control of prehension movements: a kinematic study in a peripherally deafferented patient and in normal subjects. *Exp Brain Res* 99, 483-500.
43. Giraux P, Sirigu A (2003) Illusory movements of the paralyzed limb restore motor cortex activity. *Neuroimage* 20 Suppl 1, S107-111.
44. Macdonell R A et al. (1991) Hemispheric threshold differences for motor evoked potentials produced by magnetic coil stimulation. *Neurology* 41, 1441-1444.
45. Triggs WJ, Calvanio R, Macdonell RA, Cros D, Chiappa KH (1994) Physiological motor asymmetry in human handedness: evidence from transcranial magnetic stimulation. *Brain Research* 636, 270-276.
46. Cicinelli P, Traversa R, Bassi A, Scivoletto G, Rossini PM (1997) Interhemispheric differences of hand muscle representation in human motor cortex. *Muscle & Nerve* 20, 535-542.
47. Lotze M et al. (1999) Does use of a myoelectric prosthesis prevent cortical reorganization and phantom limb pain? *Nat Neurosci* 2, 501-502.

## FIGURE LEGENDS

Figure 1) Mean motor evoked potential (MEP) amplitudes recorded at each stimulated point and projected onto LB's 3-dimensional brain image. Longitudinal progression of LB's left Abductor Digiti Minimi (ADM), First Dorsal Interosseous (FDI), Opponens Pollicis (OP), Biceps Brachialis (BB), Flexor Digitorum Superficialis (FDS), and Zygomatic major (ZYG) representations at ten, seventeen, and twenty

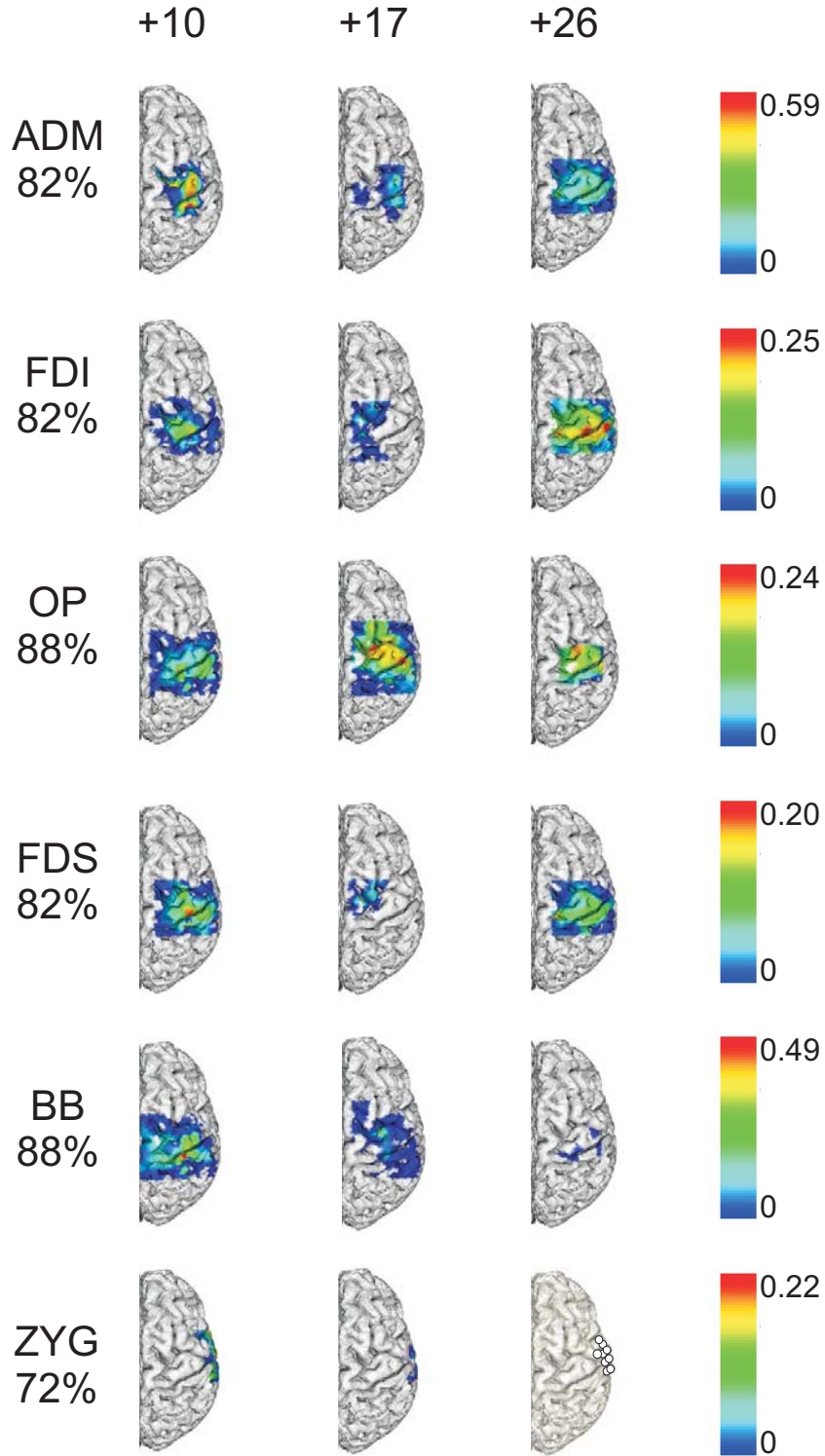


six months after graft. The amplitude of the recorded MEPs at each coil location is coded using a color map from blue (smaller MEP) to red (larger MEP). Black dots correspond to no MEP response at that stimulation intensity, and white dots, to threshold change.

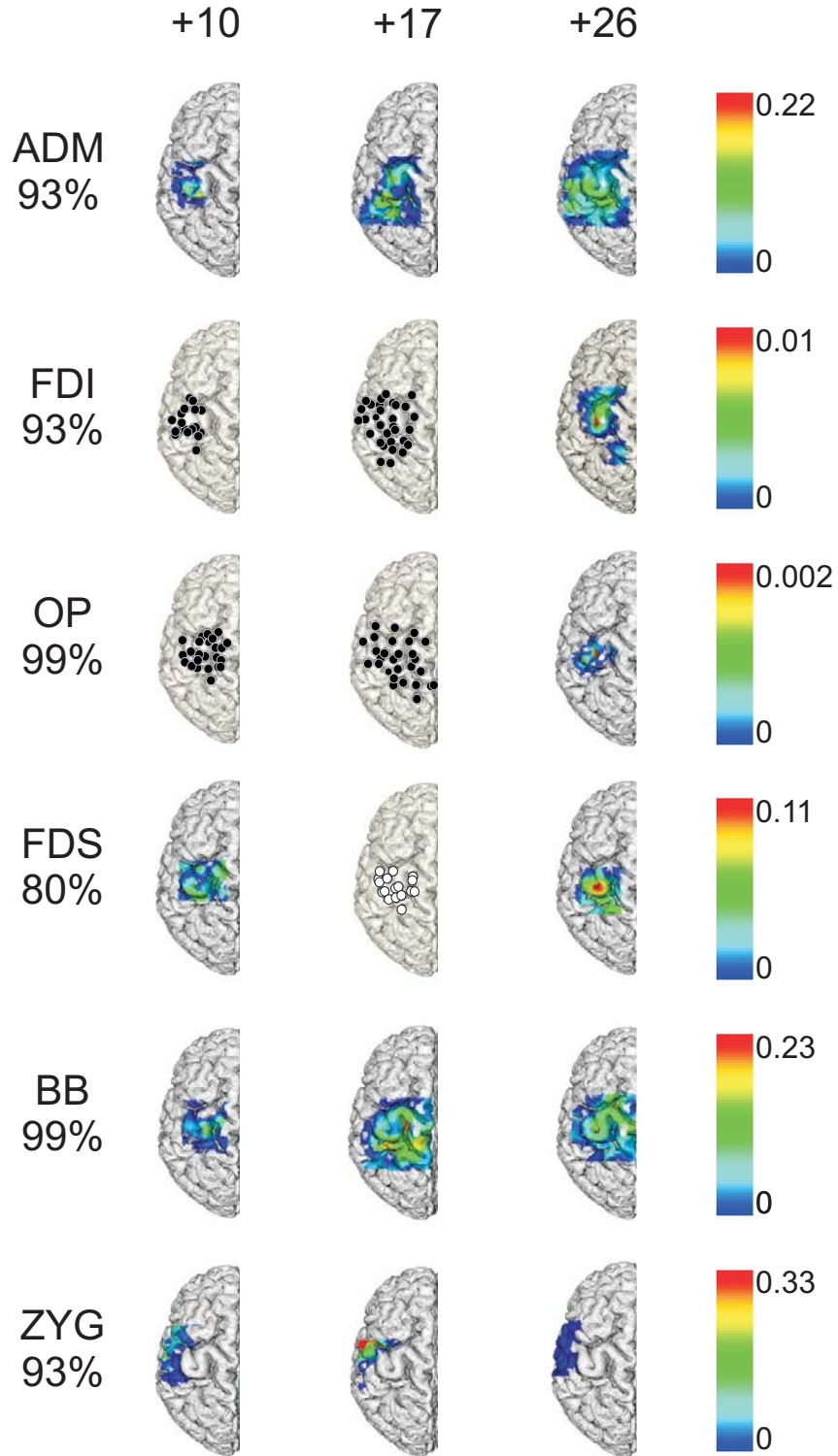
Figure 2) Mean motor evoked potential (MEP) amplitudes recorded at each stimulated point and projected onto LB's 3-dimensional brain image. Longitudinal progression of muscle representations from LB's right side (see the legend of Figure 1 for further information).

Figure 3) Mean motor evoked potential (MEP) amplitudes recorded at each stimulated point and projected onto CD's 3-dimensional brain image. CD's left and right hemibody muscle representations (see the legend of Figure 1 for further information).

# LB LEFT HEMIBODY



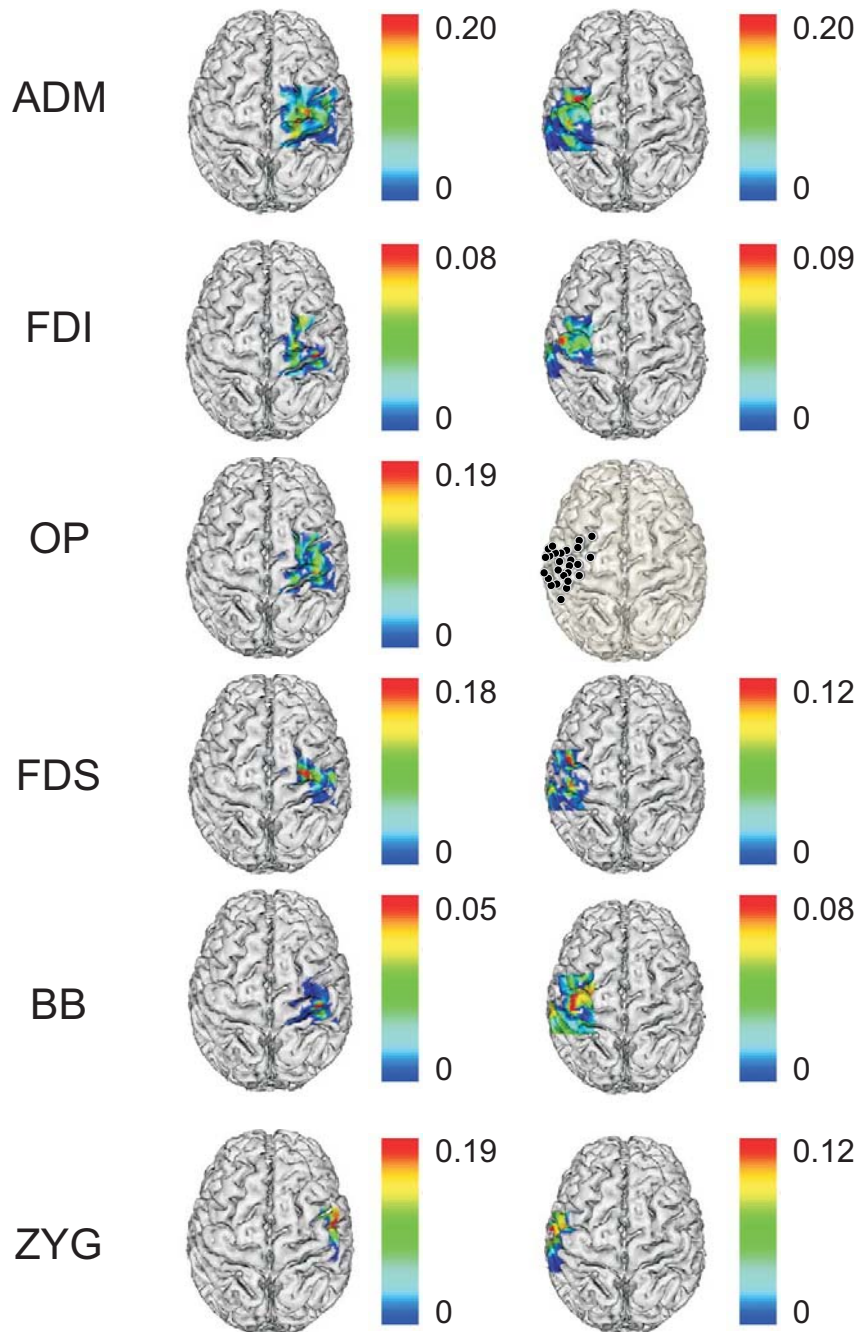
# LB RIGHT HEMIBODY



# DC +51 MONTHS

LEFT 82%

RIGHT 98%



## SUPPORTING INFORMATION

### METHODS

#### Threshold mapping definition

For patient LB, the stimulation intensities employed to map the non-transplanted muscles BB and ZYG were set pre-graft, and those of FDS were defined at +2 post graft. The intensity used to map the transplanted intrinsic hand muscles was the same as the intensity used to map with the BB, FDS, or ZYG muscles (see also table 2). The muscle with the stimulation threshold closest to the stimulation intensity at which TMS-induced MEPs were first detectable in intrinsic muscles was chosen as the reference for that intrinsic muscle. For CD, the threshold for the intrinsic hand muscles was determined and the stimulation intensity used to examine the representations of both transplanted and non-transplanted hand muscles was set by reference to this threshold (table 1). For AD, the stimulation intensity used to examine each muscle representation was set by reference to each tested muscle's threshold. For control subjects, intrinsic hand muscle stimulation intensities were set, as for LB, with reference to either the FDS or the BB, depending upon which of these two muscles had a stimulation threshold closest to that of the intrinsic hand muscle's threshold. The same stimulation intensity was employed throughout time whenever this same muscle was tested. In the absence of any MEP responses for a given stimulation intensity, a higher intensity value was established for that muscle on that testing day by systematically increasing the stimulation intensity in 5% steps until a MEP response was obtained.

During post-graft examinations we could precisely localize the position of the TMS coil relative to the patient's brain by acquiring an anatomical magnetic resonance image (MRI) that was subsequently used during the TMS session to guide positioning of the coil in real time (1). This was done at the beginning of the experiment by measuring the 3-D

location of 200 points on the scalp with an electromagnetic position sensor (Polhemus Isotrack II ®) and co-registering the subject's MRI with the actual position of his head.

EMG recordings were made with surface Ag/AgCl electrodes. EMG signals were amplified and band pass filtered (20-1000 Hz, Neurolog Instruments; Digitimer Ltd). The signal was then digitized at a sampling rate of 5000 Hz (CED 1401 interface; CED Ltd) and stored on a desktop computer for offline analysis. Custom-made Matlab® software (Mathworks) was used to measure in a semi-automatic manner MEP latencies and peak-to-peak amplitudes. This MATLAB program was devised to detect any fluctuation of the EMG signal above baseline within 50 ms after the TMS stimulation pulse. Whenever the automatically detected fluctuation was also identified by visual inspection as a MEP, its peak to peak amplitude and latency were measured and stored.

1. Noirhomme, Q. et al (2004) Registration and real-time visualization of transcranial magnetic stimulation with 3-D MR images. IEEE Trans. Biomed. Eng. 51, 1994-2005.

#### **LEGENDS OF SUPPLEMENTARY MATERIAL**

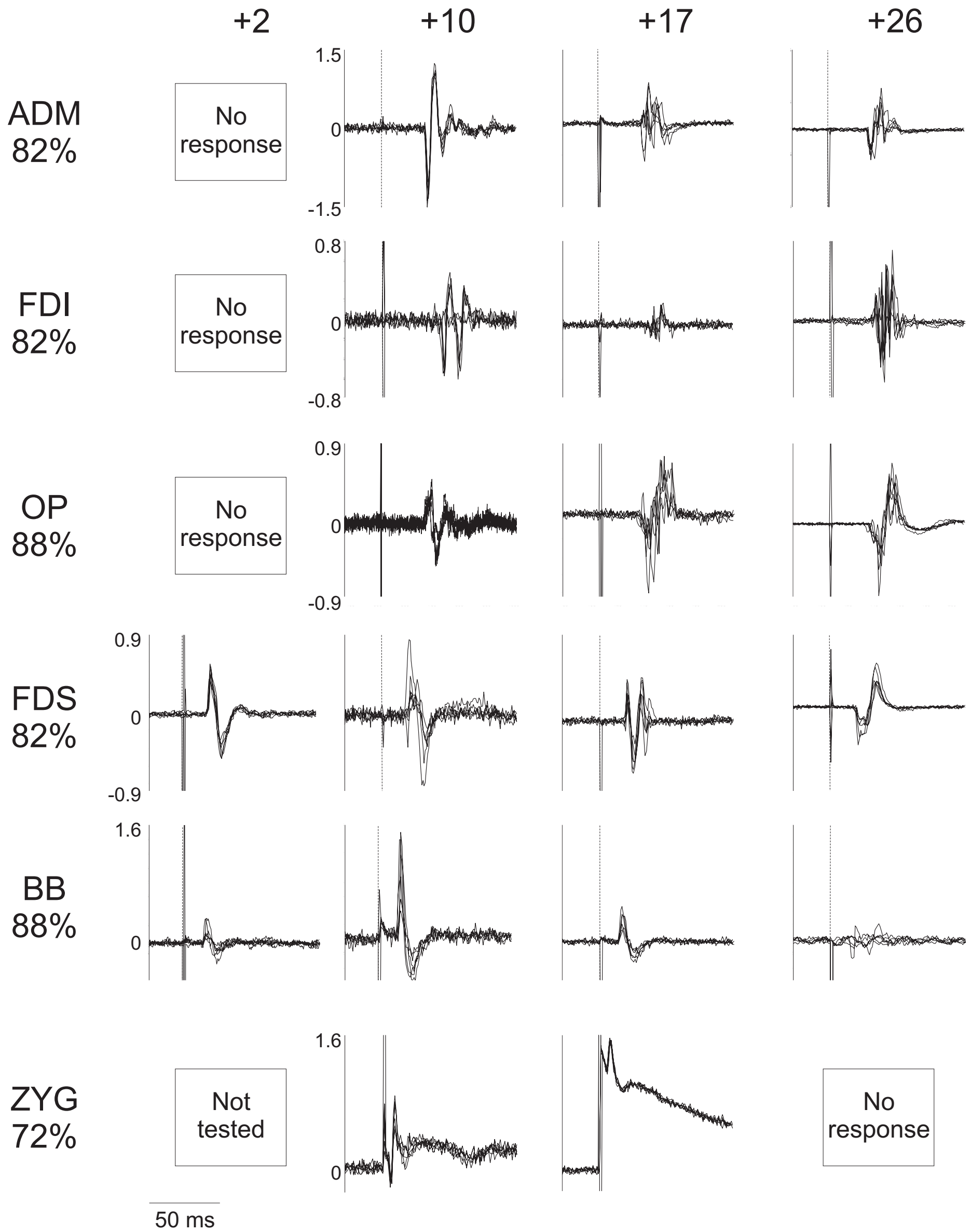
Supplementary Figure 1) Raw MEP examples from LB's left Abductor Digiti Minimi (ADM), First Dorsal Interosseous (FDI), Opponens Pollicis (OP), Biceps Brachialis (BB), Flexor Digitorum Superficialis (FDS), and Zygomatic major (ZYG) representations at two months before the graft and at ten, seventeen, and twenty six months after graft. Each panel shows an overlap of the six responses evoked by stimulation at or near the hotspot for a given muscle. The Y-axis units are in mV. Note that MEPs from the same muscle are on the same scale but different muscles have different scales. The X-axis shows 125 ms of EMG activity; 25 ms before the TMS pulse and 100 ms after. The vertical line represents the time at which the TMS pulse was delivered.

Supplementary Figure 2) Raw MEP examples from LB's right Abductor Digiti Minimi (ADM), First Dorsal Interosseous (FDI), Opponens Pollicis (OP), Biceps Brachialis (BB), Flexor Digitorum Superficialis (FDS), and Zygomatic major (ZYG) representations at two months before the graft and at ten, seventeen, and twenty six months after graft. Each panel shows an overlap of the six responses evoked by stimulation at or near the hotspot for a given muscle. The Y-axis units are in mV. Note that MEPs from the same muscle are on the same scale but different muscles have different scales. The X-axis shows 125 ms of EMG activity; 25 ms before the TMS pulse and 100 ms after. The vertical line represents the time at which the TMS pulse was delivered.

Supplementary Table 1) Stimulation parameters and results obtained for left and right intrinsic hand muscles; opponens pollicis (OP), Abductor Digiti Minimi (ADM) and First Dorsal Interosseous (FDI) of grafted patients LB, CD, bilateral amputee AD, as well as control subjects. Bold denotes Z score from comparison with normal values. n.r. denotes muscles for which there was no MEP response. n.t. denotes muscles not tested. n.e. denotes a non existent muscle.

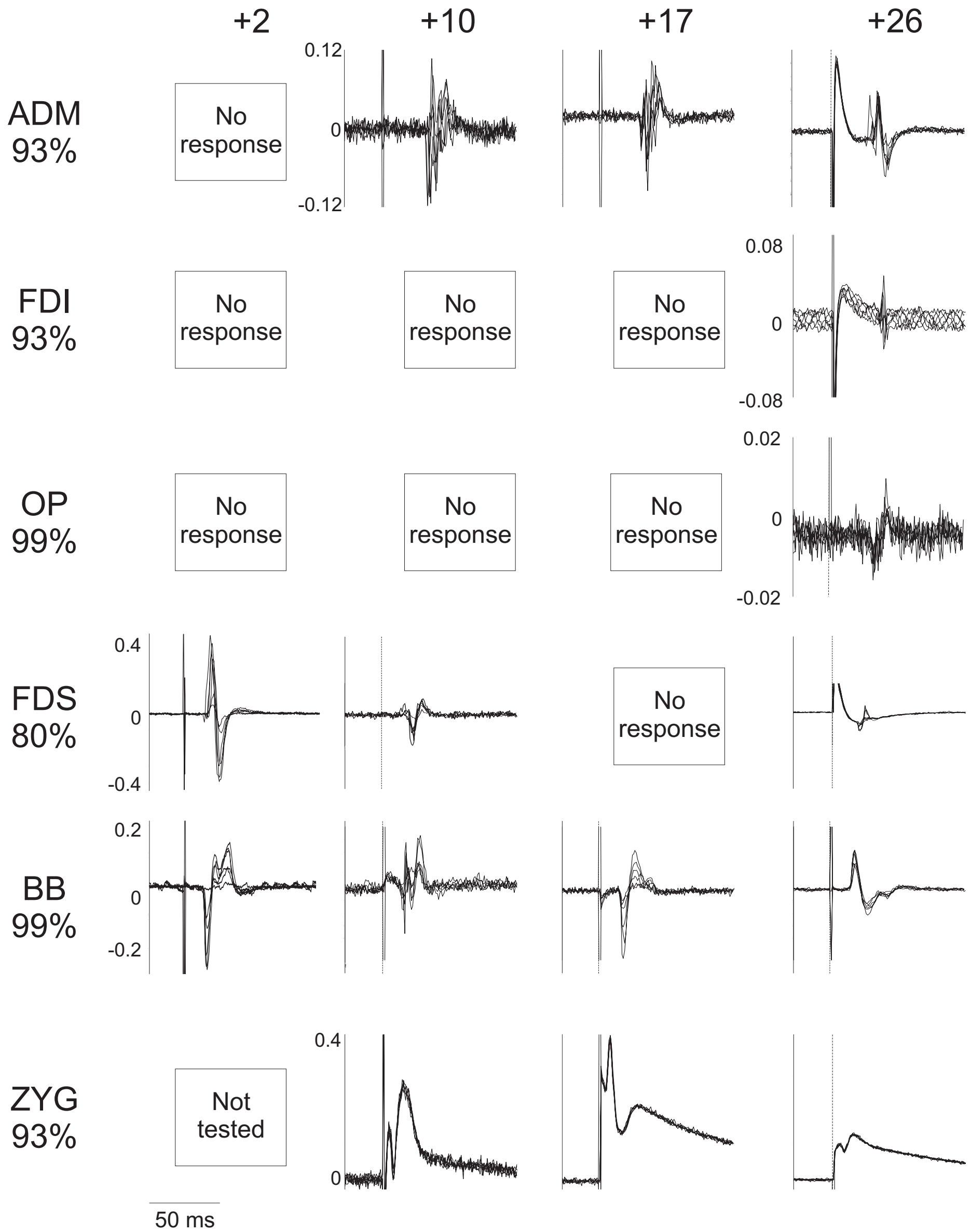
Supplementary Table 2) Motor evoked potential (MEP) latency values (ms) for Biceps brachialis (BB) and flexor digitorum superficialis (FDS) of LB, CD, AD, and control subjects (see the legend of Supplementary Table 1 for further information).

# LB LEFT HEMIBODY





# LB RIGHT HEMIBODY



**TABLE 1) STIMULATION PARAMETERS AND RESULTS FOR OPPONENS POLLICIS (OP), FIRST DORSAL INTEROSSEOUS (FDI) AND ADDUCTOR DIGITI MINIMI (ADM).**

OP	LB left hemibody				LB right hemibody				CD left	CD Right	AD Left	AD Right	Controls (n=4)			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26					Before graft	Before graft	ADA***	CT**
Time (months)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26	+51	+51	Before graft	Before graft	ADA***	CT**	ME**	SS
% of max. machine output	95	88	88	88	99	99	93	99	82	98	80	75	71	82	66	69
Number of sites from which MEPs were evoked..	n.r.	25	27	25	n.r.	n.r.	n.r.	2	11	n.r.	17	33	20	26	17	33
Center of gravity (mm from midline)	n.r.	40	32	37	n.r.	n.r.	n.r.	34	31	n.r.	41.1	42.9	29	46	33	25
Mean Latency (ms)	n.r.	<b>33.63</b>	<b>34.24</b>	<b>30.40</b>	n.r.	n.r.	n.r.	<b>38.50</b>	<b>27.68</b>	n.r.	26.34	28.39	23.55	23.31	23.53	24.74
(SD, ms)	n.r.	0.94	2.17	1.5	n.r.	n.r.	n.r.	0.1	0.85	n.r.	0.51	0.63	0.62	0.32	0.08	0.85
FDI	LB left hemibody				LB right hemibody				CD left	CD right	AD Left	AD Right	Controls (n=3)			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26					Before graft	Before graft	ADA***	CT**
Time (months)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26	+51	+51	Before graft	Before graft	ADA***	CT**	ME	
% of max. machine output	95	82*	82	82	99	93	93	93	82**	98**	n.e.	n.e.	71	82	71	
Number of sites from which MEPs were evoked.	n.r.	12	8	26	n.r.	n.r.	0	7	7	11	n.e.	n.e.	28	24	29	
Center of gravity (mm from midline)	n.r.	32	20	39	n.r.	n.r.	n.t	28	25	41	n.e.	n.e.	30	42	28	
Mean Latency (ms)	n.r.	<b>43.37</b>	<b>39.24</b>	<b>33.41</b>	n.r.	n.r.	<b>41.10</b>	<b>35.21</b>	<b>27.33</b>	26.15	n.e..	n.e.	23.57	24.37	25.34	
(SD, ms)	n.r.	0.99	1.67	2.09	n.r.	n.r.	3.26	2.24	1.07	2.27	n.e.	n.e.	0.82	0.6	1.12	
ADM	LB left hemibody				LB right hemibody				CD Left	CD Right	AD Left	AD Right	Controls (n=2)			
	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26					Before graft	Before graft	SS***	CT**
Time (months)	+2	+10	+17	+26	+2	+10	+17	+26	+51	+51	Before graft	Before graft	SS***	CT**		
% of maximal machine output	95	82*	82	82	99	93	93	93	82**	98**	77	70	69	82		
Number of sites from which MEPs were evoked.	n.r.	12	9	28	n.r.	9	6	31	22	15	23	35	24	27		
Center of gravity (mm from midline)	n.r.	35	30	43	n.r.	17	23	37	29	38	37.2	43.2	31	45		
Mean Latency (ms)	n.r.	<b>32.12</b>	<b>33.08</b>	<b>30.72</b>	n.r.	<b>36.73</b>	<b>31.06</b>	<b>30.50</b>	24.94	25.08	25.96	27.75	24.49	23.04		
(SD, ms)	n.r.	1.04	1.24	2.09	n.r.	2.35	1.98	1.56	1.85	1.51	0.67	0.66	1.07	0.91		

\* Stimulation intensity set by reference to the OP threshold. \*\* Stimulation intensity set by reference to the FDS threshold \*\*\* Stimulation intensity set by reference to the BB threshold

**Table 2 ) STIMULATION PARAMETERS AND RESULTS FOR BICEPS BRACHIALIS (BB) AND FLEXOR DIGITORUM SUPERFICIALIS (FDS)**

BB	LB left hemibody					LB right hemibody					CD left	CD right	AD left	AD right	Controls (n=3)		
	-11	+2	+10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26					+51	+51	Before graft
Time (months)	-11	+2	+10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26	+51	+51	Before graft	Before graft	ADA	SS	ME
Final stimulation intensity (%)	88	95	88	88	88	99	99	99	99	99	82*	98*	76	75	71	69	66
Number of sites from which MEPs were evoked.	33	9	22	20	4	17	17	14	21	18	6	22	8	30	8	8	16
Center of gravity (mm from midline)	n.t.	n.t.	35	30	43	n.t.	n.t.	25	23	23	34	36	33.5	39.8	28	23	26
Mean latency ( ms)	<b>13.46</b>	<b>13.74</b>	15.19	15.42	<b>13.92</b>	16.63	15.56	15.33	16.15	15.95	15.88	<b>12.80</b>	14.70	15.97	14.78	16.01	16.01
(SD, ms)	1.82	0.94	0.68	0.85	1.60	1.87	2.40	0.56	1.61	0.79	1.95	1.2	1.30	0.89	0.68	0.72	0.51
FDS	LB left hemibody					LB right hemibody					CD left	CD right	AD left	AD right	Controls (n=3)		
	-11	+2	+10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26					+51	+51	Before graft
Time (months)	-11	+2	+10	+17	+26	-11	+2	+10	+17	+26	+51	+51	Before graft	Before graft	ADA***	SS***	ME
Final stimulation intensity (%)	n.t.	82	82	82	82	n.t.	80	80	80	80	82*	98*	80	70	71	67	55
Number of sites from which MEPs were evoked.	n.t.	36	20	3	22	n.t.	24	13	0	12	6	5	28	35	27	30	18
Center of gravity (mm from midline)	n.t.	n.t.	37	2	40	n.t.	n.t.	29	n.r.	29	31	44	38.2	42.8	28	35	31
Mean latency (ms)	n.t.	<b>16.85</b>	19.34	20.3	19.91	n.t.	18.87	19.73	19.23	18.51	17.65	<b>17.01</b>	20.46	18.38	19.34	20.02	20.59
(SD, ms)	n.t.	1.04	0.82	0.37	0.69	n.t.	1.04	2.00	1.44	1.43	2.52	1.21	1.46	0.57	15.53	1.45	0.94

\* Stimulation intensity set by reference to the OP threshold. \*\* Stimulation intensity set by reference to the FDS threshold \*\*\* Stimulation intensity set by reference to the BB threshold

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)