

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA REABILITAÇÃO E
DESEMPENHO FÍSICO-FUNCIONAL

Jordania Lindolfo Almas

POTENCIAL MOTOR EVOCADO PELA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA
TRANSCRANIANA: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE
COLOCAÇÃO DE ELETRODOS DE SUPERFÍCIE

Juiz de Fora

2020

Jordania Lindolfo Almas

**POTENCIAL MOTOR EVOCADO PELA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA
TRANSCRANIANA: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE
COLOCAÇÃO DE ELETRODOS DE SUPERFÍCIE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação e Desempenho Físico-Funcional da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisioterapia. Área de concentração: 21.

Orientadores: Prof. Dr. Marco Antonio Cavalcanti Garcia (FACFISIO/UFJF)

Profa. Dra. Anaelli Aparecida Nogueira-Campos (ICB/UFJF)

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Almas, Jordania Lindolfo.

POTENCIAL MOTOR EVOCADO PELA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA: : INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE COLOCAÇÃO DE ELETRODOS DE SUPERFÍCIE / Jordania Lindolfo Almas. -- 2020.

54 f. : il.

Orientador: Marco Antonio Cavalcanti Garcia

Coorientadora: Anaelli Aparecida Nogueira-Campos

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Fisioterapia. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação e Desempenho Físico-Funcional, 2020.

1. Estimulação Magnética Transcraniana. 2. Potencial Motor Evocado . 3. Eletromiografia de Superfície. I. Garcia, Marco Antonio Cavalcanti, orient. II. Nogueira-Campos , Anaelli Aparecida, coorient. III. Título.

Jordania Lindolfo Almas

**POTENCIAL MOTOR EVOCADO PELA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA
TRANSCRANIANA: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE
COLOCAÇÃO DE ELETRODOS DE SUPERFÍCIE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Mestrado em Ciências da Reabilitação e Desempenho Físico-Funcional da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Reabilitação e Desempenho Físico-Funcional

Aprovada em 16 de Dezembro de 2020

BANCA EXAMINADORA



Diogo Simões Fonseca
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Victor Hugo de Oliveira e Souza
Aalto University (Universidade Aalto)



Dr. Taian de Mello Martins Vieira
Politecnico di Torino

Dedico este trabalho aos meus pais, meu irmão e meu amado esposo por serem meu Porto Seguro. Obrigada por acreditarem e embarcarem juntos na realização deste sonho. Amo vocês!

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente ao meu Deus de amor e de surpresas por ter me guiado até este momento. Obrigada Senhor!

Ao meus pais, meu irmão e principalmente meu esposo por todo apoio durante esta jornada. Sem vocês não conseguiria chegar até aqui.

Aos meus orientadores, os Professores Marco Garcia e Anaelli Campos, por toda paciência e ensinamentos sobre esse mundo chamado Neuromodulação até então desconhecido por mim. Obrigado por me ensinarem tanto!

Aos amigos do LabNeuro por compartilharem seus conhecimentos, sugestões e dúvidas em cada grupo de estudo. Aprendi muito com vocês.

Aos voluntários pela disponibilidade e apoio.

Aos professores do programa de pós-graduação e demais funcionários da Faculdade de Fisioterapia.

Aos colegas de turma, pelas experiências compartilhadas e aprendizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

RESUMO

Objetivo: Investigar as amplitudes dos Potenciais Evocados Motores (PEM) gerados por meio da Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) a partir de três diferentes protocolos de registro do sinal de eletromiografia de superfície (sEMG). **Metodologia:** O músculo Bíceps Braquial, de ambos os membros de oito (8) indivíduos adultos, foi avaliado por meio da sEMG para fins de aquisição dos PEMs. Esta foi realizada a partir de protocolos que diferem quanto a colocação de eletrodos, sendo eles: Garcia et al. (2017); IFCN (Rossi et al., 2009); Munneke et al. (2018), compondo, respectivamente, os protocolos 1, 2 e 3. Estes protocolos diferem em relação a localização e a distância dos eletrodos no músculo, o que proporcionaria volumes de detecção diferentes. Os PEMs foram coletados simultaneamente nos três protocolos. **Resultados:** As maiores amplitudes foram encontradas no registro do protocolo 2 em comparação aos outros dois protocolos avaliados. **Conclusão:** O protocolo 2 fornece PEM com menores coeficiente de variação e maiores amplitudes. **Significância:** A disposição dos eletrodos deve ser considerada durante a avaliação com EMT, pois resultam em PEMs com amplitudes distintas.

Palavras-chave: Estimulação Magnética Transcraniana. Potencial evocado Motor. Eletromiografia de Superfície.

ABSTRACT

Objective: To investigate the amplitudes of motor evoked potentials (MEPs) generated by means of Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) from three different protocols for recording the surface electromyography signal (sEMG). **Methodology:** The *biceps brachii* muscle from both sides of eight (8) adult individuals were evaluated by means of sEMG for the purpose of acquiring MEPs from protocols that differ in terms of electrode placement, namely: Garcia et al. (2017); FINC (Rossi et al., 2009); Munneke et al. (2018). It composes protocols 1, 2 and 3 respectively, which differ from their location, and distance in the muscle by providing different detection volumes. MEPs were collected simultaneously in the three protocols. **Results:** The highest amplitudes were found from the registration of protocol 2 compared to the other two protocols evaluated. **Conclusion:** Protocol 2 provides MEP with lower coefficient of variation and greater amplitudes. **Significance:** The disposition of the electrodes must be considered during the evaluation with TMS, as they result in MEP with different amplitudes.

Keywords: Transcranial Magnetic Stimulation. Motor evoked potential. Surface Electromyography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Disposição dos eletrodos para os três diferentes protocolos investigados para o músculo Bíceps Braquial (BB). Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009); e protocolo 3: Munneke et al. (2018). JNM = junção neuromuscular.....	15
FIGURA 2 - Posicionamento da bobina em relação a cabeça do sujeito, guiada pela neuronavegação, a partir a localização <i>hotspot</i> . A figura A representa a tentativa de posicionar a bobina corretamente em relação ao <i>hotspot</i> determinado anteriormente a partir dos planos sagital, horizontal e vertical. Já a figura B representa o posicionamento correto da bobina em relação ao <i>hotspot</i>	17
FIGURA 3 - Exemplo de PEMs promediados a partir do registro de ~30 pulsos únicos com o protocolo 1 (Garcia et al., 2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3 (Munneke et al., 2018) adaptado do músculo Bíceps Braquial (BB) direito (Sujeito 4).....	18
FIGURA 4 - Latência (ms) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado em relação ao lado direito e esquerdo.....	19
FIGURA 5 - Potencial Evocado Motor (PEM) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado em relação aos hemisférios.....	20
FIGURA 6 - Coeficiente de Variação (%) o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado; *P = 0,05.....	21
FIGURA 7 - Limiar motor de repouso (rLM) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado em relação aos hemisférios.....	21
FIGURA 8 - Diagramas de dispersão entre as variáveis Distância Intereletrodos (cm) e Amplitude do PEM (μ V) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017) $r = 0,003863$; $P = 0,9887$; protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado $r = - 0,05053$; $P = 0,8526$; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado $r = - 0,1739$; $P = 0,5196$	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PEM - Potencial Evocado Motor.....	10
EMT - Estimulação Magnética Transcraniana.....	10
PAUM - Potenciais de ação de unidades motoras.....	10
sEMG - eletromiografia de superfície.....	10
ISEK - Sociedade Internacional de Eletrofisiologia e Cinesilogia.....	10
IFCN - Federação Internacional de Neurofisiologia Clínica.....	10
JNM - Junção neuromuscular.....	11
CEP - Comitê de Ética e Pesquisa.....	12
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	12
BB - Bíceps Braquial.....	13
rLM - limiar motor de repouso.....	18
CoV - coeficiente de variação.....	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. MÉTODO	12
2.1 AMOSTRA.....	12
2.2 ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE (sEMG).....	13
2.3 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA (EMT).....	15
2.4 ANÁLISE DOS DADOS.....	18
3. RESULTADOS.....	19
3.2 LATÊNCIA (ms).....	19
3.2 POTENCIAL EVOCADO MOTOR (PEM _{p-p}) E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO DO POTENCIAL EVOCADO MOTOR (CoV PEM _{p-p}).....	20
3.3 LIMIAR MOTOR DE REPOUSO (rLM).....	20
3.4 CORRELAÇÃO ENTRE DISTÂNCIAS INTERELETRODOS E PEM.....	22
4. DISCUSSÃO.....	23
4.1 LATÊNCIA (ms).....	24
4.2 POTENCIAL EVOCADO MOTOR (PEM _{p-p}).....	24
4.3 LIMIAR MOTOR DE REPOUSO (rLM).....	26
4.4 CORRELAÇÃO ENTRE DISTÂNCIAS INTERELETRODOS E PEM.....	27
5. CONCLUSÃO.....	28
6. REFERÊNCIAS.....	29
7. ANEXOS.....	35

1. INTRODUÇÃO

O Potencial Evocado Motor (PEM) é o registro da despolarização de neurônios da via corticoespinhal a partir do monitoramento da atividade mioelétrica (Barker et al., 1985; Biabani et al., 2018). Logo, a partir de algumas características do PEM, tais como a amplitude pico a pico (PEM_{p-p}) e a sua latência, é possível inferir sobre a integridade da via corticoespinhal (Barker et al., 1985; Bastani end Jaberzadeh., 2012; Cavaleri et al., 2017; Valero-Cabrera et al., 2017).

A medida da excitabilidade da via corticoespinhal por meio da Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) depende, no entanto, da aplicação de vários pulsos com consequente registro de PEMs, que por sua vez, apresentam grande variabilidade. A variabilidade que observamos na amplitude dos PEMs é devido a somatória dos potenciais de ação de unidades motoras (PAUM) recrutadas durante uma contração muscular (Garcia et al., 2017; Messaoudi e Bekka, 2015), a qual é influenciada, entre outros fatores, pela arquitetura muscular, já que os PAUMs podem não estar distribuído uniformemente nas fibras musculares (Garcia e Vieira, 2011).

O registro dos PEMs é comumente realizado por meio da eletromiografia de superfície (sEMG) quando eletrodos são posicionados sobre o músculo de interesse (Rossi et al., 2009). O registro da sEMG, com este propósito, é comumente realizado com base em diferentes recomendações. Entre elas a sugerida Federação Internacional de Neurofisiologia Clínica (IFCN; Rossi et al., 2009), a qual sugere que os eletrodos sejam posicionados em configuração pseudomonopolar, isto é, sendo um posicionado sobre o ventre muscular e o outro sobre o tendão do músculo a ser avaliado (Rossi et al., 2009). Por sua vez, a Sociedade Internacional de Eletrofisiologia e Cinesilogia (ISEK), a qual sugere a colocação dos eletrodos de superfície, em configuração bipolar, em regiões teoricamente distintas da zona de inervação ou da junção miotendínea, com uma distância intereletrodos de 1-2 cm, dependendo do músculo alvo (Hermens et al., 2000). Porém, Munneke et al. (2018) propuseram a adoção de um protocolo distinto daqueles sugeridos pelas duas entidades (ISEK e IFCN) supramencionadas. Neste, os eletrodos seriam colocados em configuração bipolar e próximos às regiões proximais e distais de um músculo específico. Assim, seria possível detectar a

atividade mioelétrica a partir de um maior volume muscular e, portanto, adquirir PEMs com maior amplitude.

Portanto, é possível identificarmos diferentes protocolos adotados na aquisição dos PEMs. Desta forma, subentende-se que, principalmente por parte daqueles que estão na prática clínica, independentemente do protocolo adotado, observar-se-iam PEMs com propriedades semelhantes. No entanto, o registro por meio da sEMG é influenciado pela arquitetura muscular e posicionamento dos eletrodos (Garcia e Vieira, 2011), entre outros fatores que resultam em uma alta variabilidade do sinal. Garcia et al. (2017) sugerem que isto pode afetar também as propriedades do PEM adquiridos por meio da sEMG. Para estes autores, a aquisição do sinal de sEMG a partir de uma configuração “pseudomonopolar”, com um eletrodo posicionado próximo a junção neuromuscular (JNM) e outro em uma proeminência óssea, permitiria que o registro fosse feito aproximadamente na região onde a informação neural atinge às fibras musculares. Segundo os autores, a aquisição do PEM poderia ocorrer na região de chegada dos potenciais de ação às fibras musculares, cuja a probabilidade de somação destes poderia revelar PEM_{P-P} de grande amplitude (Garcia et al., 2017). Esta hipótese foi preliminarmente testada durante a condução do presente estudo (Garcia et al., 2020), quando foram comparados dois protocolos: Garcia et al., (2017) e ISEK (Hermens et al., 2000). Neste trabalho, foi possível observar maiores PEM_{P-P} nem comparação com o proposto pela ISEK (Hermens et al., 2000), sugerindo que a proposta argumentada por Garcia et al., (2017) seja efetiva para este propósito.

Com base na hipótese de que a aquisição do PEM próximo a JNM resultaria em menores coeficientes de variação de amplitudes (Garcia et al., 2017), o presente estudo foi elaborado de modo a estabelecer mais claramente o protocolo de colocação de eletrodos de superfície mais apropriado para detecção dos PEMs, levando em consideração as suas propriedades como a intensidade de EMT, que são usadas em protocolos de neuromodulação, amplitude do PEM e as características anatômicas do músculo de interesse. Além do que foi proposto por Garcia et al. (2017), foram também investigados os protocolos sugeridos pela IFCN e Munneke et al. (2018). O primeiro (IFCN) é amplamente aceito como um protocolo “padrão” na aquisição de PEMs, enquanto aquele proposto mais recentemente por Munneke et al. (2018) sugere detectar os PEMs a partir de um maior volume condutor.

2. MATERIAS E MÉTODOS

A fim de elucidar mais sobre as técnicas utilizadas neste estudo, encontra-se, em anexo, uma revisão de literatura sobre os principais aspectos que envolveram a elaboração deste trabalho (ANEXO 1).

2.1 AMOSTRA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da UFJF sob parecer nº 01158218.0.0000.5147 (ANEXO 2). Oito sujeitos (6 mulheres e 2 homens), com idades entre 20 e 28 anos ($\bar{x} \pm DP = 24,4 \pm 3,9$ anos), participaram deste estudo. Todos foram aprovados no Questionário de segurança de aplicação da EMT (ANEXO 3) (Rossi et al., 2009) e, após verificação, cada sujeito assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foi aplicado o teste de Oldfield (Espírito-Santo et al., 2017) para a verificação da lateralidade de cada sujeito. Nenhum dos sujeitos apresentou contraindicação à aplicação da EMT, sendo que (6) são destros e (2) ambidestros (TABELA 1). Devido a pandemia do Covid-19 a coleta de dados teve que ser interrompida e a amostra total prevista ($n = 30$) não foi alcançada.

TABELA 1: Descrição dos sujeitos participantes

SUJEITO	IDADE	SEXO	LATERALIDADE	OLDFIELD	ÍNDICE MÉDIO
1	27	F	Destro	100,0	55,5
2	28	F	Destro	100,0	93,0
3	20	F	Destro	88,9	96,3
4	20	F	Ambidestro	69,2	34,1
5	28	M	Destro	76,5	92,2
6	20	M	Destro	88,9	96,3
7	28	F	Destro	73,3	32,2
8	24	F	Ambidestro	50,0	16,7

Legenda: F: Feminino; M: Masculino.

2.2 ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE (sEMG)

A coleta dos PEMs foi realizada mediante a aquisição dos sinais de sEMG do músculo Bíceps Braquial (BB) de ambos os membros (dominante e não dominante). Foi utilizado um eletromiógrafo da EMG System do Brasil (São José dos Campos - Brasil; modelo: EMG 410C; 4 canais; ganho: 2000; frequência de amostragem: 3,5 kHz por canal; filtro analógico: passa banda [Butterworth de 2ª ordem]: 20-500 Hz; conversor A/D: 12 bits). A localização da JNM do músculo BB foi estimada a partir do *Atlas de Zona de Inervação Muscular* (Barbero et al., 2012). Para verificar a localização das JNMs, foi utilizada uma *Caneta Eletrônica para Acupuntura - Meridian Energy Pen* (bateria AA; saída: 3.7 V; 300mA +-50mA; frequência de pulso de 0.01-300 Hz; largura do pulso de 100-320 µs; extensão máxima de saída de 500 ohm; tensão da carga de 3.3V).

Eletrodos de superfície descartáveis (prata-cloreto de prata [Ag-AgCl]; 2223 BRQ – 3M do Brasil) foram utilizados para a aquisição dos PEMs via sEMG, os quais foram posicionados de acordo com três protocolos de colocação de eletrodo, sendo: **1)** protocolo proposto por Garcia et al. (2017), utilizando uma configuração “pseudomonopolar”, onde um eletrodo foi posicionado no epicôndilo medial (-) e o outro sobre a JNM (+) do BB, considerando a JNM em 70% da referência anatômica proximal (Barbero et al., 2012); **2)** protocolo modificado da IFCN (Rossi et al., 2009), cujos eletrodos em configuração pseudomonopolar foram posicionados no ventre muscular (+) e no epicôndilo lateral (-) e não na região tendínea. Para se estabelecer um ponto comum entre os sujeitos, o local de maior perímetro muscular (ventre) foi identificado para a colocação do primeiro eletrodo; **3)** eletrodos bipolares, ambos posicionados no ventre muscular, mas próximos aos limites da junção mioetendínea, a fim de se detectar um maior volume condutor (Munneke et al., 2018) a partir de uma maior distância intereletrodos (Lyn et al., 1978), sendo que o eletrodo positivo foi colocado proximal e o eletrodo negativo distal. Esta é uma adaptação de Munneke et al. (2018), já que o estudo original avaliou músculos do antebraço. A pele foi previamente preparada com a retirada dos pelos (tricotomia) e limpeza das regiões de colocação dos eletrodos com sabão neutro. Destaca-se que não houve coincidências quanto a localização dos eletrodos posicionados sobre o BB para os protocolos 1 e 2. Todos os eletrodos foram posicionados em ambos os membros superiores dos sujeitos antes de iniciar a coleta de dados.

Para formalizar as medidas do protocolo três (3), adotamos as recomendações de Barbero et al. (2012). Assim, as regiões referentes a 40% e 90% a partir das referências anatômicas, entre o acrômio e a inserção distal do tendão do Bíceps Braquial foram adotadas. As distâncias intereletrodos dos Protocolos 1, 2 e 3 foram registradas para fins de comparação *a posteriori* (TABELA 2).

TABELA 2: Distância (cm) entre os eletrodos utilizados em cada protocolo.

DISTÂNCIA INTERELETRÓDOS (cm)						
SUJEITO	LADO DIREITO			LADO ESQUERDO		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
1	14,3	12,5	12,5	14,0	13,5	12,5
2	15,0	12,0	11,7	11,5	11,0	10,8
3	15,0	14,5	14,6	18,0	16,0	14,5
4	15,0	16,5	12,0	15,0	15,0	13,0
5	16,0	13,0	15,5	14,0	14,0	13,0
6	15,0	16,0	15,5	16,0	15,5	14,5
7	12,5	13,5	14,5	12,0	13,0	16,0
8	13,0	13,5	13,0	13,5	12,0	12,5

Legenda: P1: protocolo 1 (Garcia et al., 2017); P2: protocolo 2 (Rossi et al., 2009); P3: protocolo 3 (Munneke et al., 2018).

O eletrodo de referência foi posicionado sobre a proeminência óssea cervical C7. A figura 1 apresenta um esquema simplificado do posicionamento dos eletrodos para o músculo BB que está de acordo com as referências propostas por Barbero et al. (2012).

Os sinais de sEMG foram processados e analisados utilizando o software *Signal Hunter* (Souza et al., 2015), escrito em MATLAB versão 8.1 R2013a (Math-Works, Natick, MA, EUA), disponível no link <https://vhosouza.github.io/software/signal-hunter/>. A partir deste, foi possível demarcar a latência de forma semiautomática, procedimento este que foi conferido e eventualmente corrigido sempre pelo mesmo pesquisador previamente treinado. A latência é uma das medidas que dão característica ao PEM, sendo ela definida como o

intervalo de tempo entre a aplicação do pulso de EMT e o potencial evocado motor (Barker et al., 1985; Valero-Cabr a et al., 2017; Biabani et al., 2018).

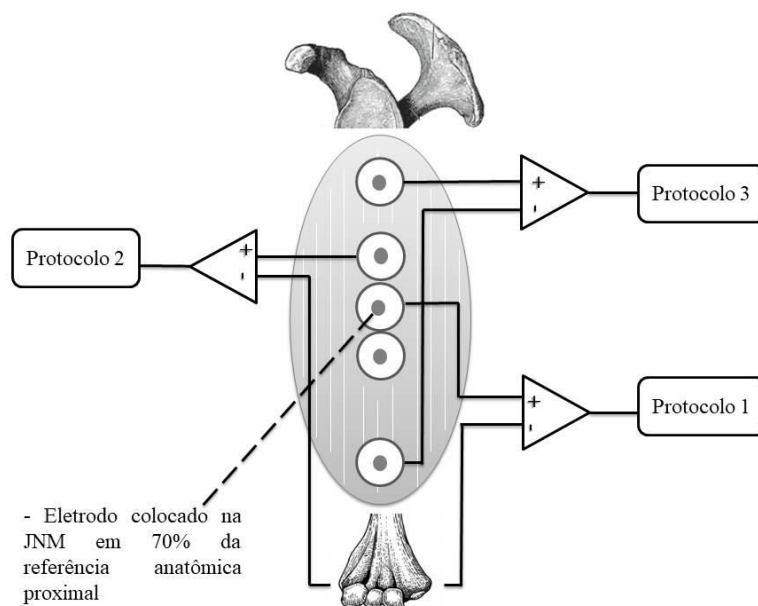


FIGURA 1: Disposição dos eletrodos para os três protocolos que foram utilizados na avaliação do músculo B iceps Braquial (BB). Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009); e protocolo 3: Munneke et al. (2018). JNM = junção neuromuscular.

2.3 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA (EMT)

Para se avaliar a excitabilidade corticoespinhal, foi utilizado um sistema de Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) Magstim 200² (ANVISA n  80797810003) com uma bobina do tipo *oito* (modelo FEC – 01 – 100, 75 mm de diâmetro) posicionada tangencialmente e orientada a um ângulo de 45  com o plano mediano.

O *hotspot* correspondente ao BB foi localizado sobre o couro cabeludo contralateralmente ao membro superior estudado. A marcação destes pontos foi feita por meio de uma touca de natação de lycra e um lápis dermatográfico, seguindo as orientações do Sistema 10-20, localizando Cz e C3-C4 (Jurcak; Tsuzuki; Dan, 2007). A amplitude adotada para se considerar o *hotspot* foi de um PEM_{P-P} maior que 50 μ V com a menor intensidade

possível gerada pelo estimulador magnético (Rossini et al., 2015) para cada um dos protocolos avaliado e uma intensidade de 120% do limiar motor. Para a coleta de dados foi utilizado o limiar motor encontrado para o Protocolo 2 (FINC; Rossi et al., 2009), já que este protocolo é mais comumente utilizado na prática clínica. A tabela 3 apresenta o limiar motor encontrado em cada protocolo utilizado.

O Programa TMS_MTAT_2.0 (disponível no link <https://www.clinicalresearcher.orgsoftware.htm>) foi utilizado para se estabelecer o limiar motor. Este programa é uma ferramenta gratuita de avaliação do limiar motor de EMT que fornece quatro procedimentos (estimativa de limiar sem informação *a priori*; limiar na faixa de 20 a 80% da saída do estimulador; refinamento de uma estimativa de limite bruto e confirmação de uma boa estimativa de limite) usando a estratégia de probabilidade máxima para estimar os limiares motores de repouso.

TABELA 3: Descrição do limiar motor em ambos os hemisférios para os três protocolos utilizados.

SUJEITO	LIMIA R MOTOR					
	HD			HE		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3
1	37rMT	37rMT	55rMT	40rMT	39rMT	46rMT
2	59rMT	66rMT	77rMT	66rMT	58rMT	62rMT
3	38rMT	32rMT	36rMT	32rMT	27rMT	38rMT
4	45rMT	39rMT	53rMT	48rMT	42rMT	56rMT
5	56rMT	43rMT	54rMT	46rMT	51rMT	53rMT
6	52rMT	49rMT	72rMT	46rMT	38rMT	75rMT
7	44rMT	47rMT	57rMT	58rMT	52rMT	70rMT
8	34rMT	32rMT	39rMT	35rMT	31rMT	41rMT

Legenda: HD: Hemisfério Direito; HE: Hemisfério Esquerdo; rMT: Limiar Motor de Repouso; C1: canal 1; C2: canal 2; C3: canal 3.

Os PEMs foram obtidos a partir de uma sequência de aproximadamente trinta (30) pulsos únicos de EMT (Bashir et al., 2017; Goldsworthy et al., 2016; Biabani et al., 2018) com intervalos entre as aplicações de 5-10 segundos em cada *hotspot*. O processo de

aquisição dos PEMs foi realizado na condição de repouso com o sujeito privado de visão (olhos vendados). Todas as medidas e a coleta dos dados foram realizadas pelo mesmo pesquisador, sendo este treinado previamente para a realização dos experimentos.

Para controlar a variabilidade da orientação da bobina em relação à cabeça do sujeito foi utilizado um sistema de neuronavegação. Com este sistema, o software denominado *InVesalius*, guiado por imagens, controla o posicionamento da bobina em um determinado alvo (Souza et al., 2018), como ilustrado na figura 2, e disponível em <https://www.cti.gov.br/invesalius>. Uma vez localizado o *hotspot*, o pulso de EMT sobre este ponto, só ocorreu quando os três graus de liberdades (plano sagital, horizontal e vertical) dado pelo posicionamento da bobina estavam coincidentes.

Para fins de exemplificação, a figura 3 (A, B e C) apresenta PEMs promediados a partir de 30 pulsos únicos obtidos nos três protocolos avaliados (Garcia et al., 2017; Rossi et al., 2009, adaptado; Munneke et al., 2018, adaptado).

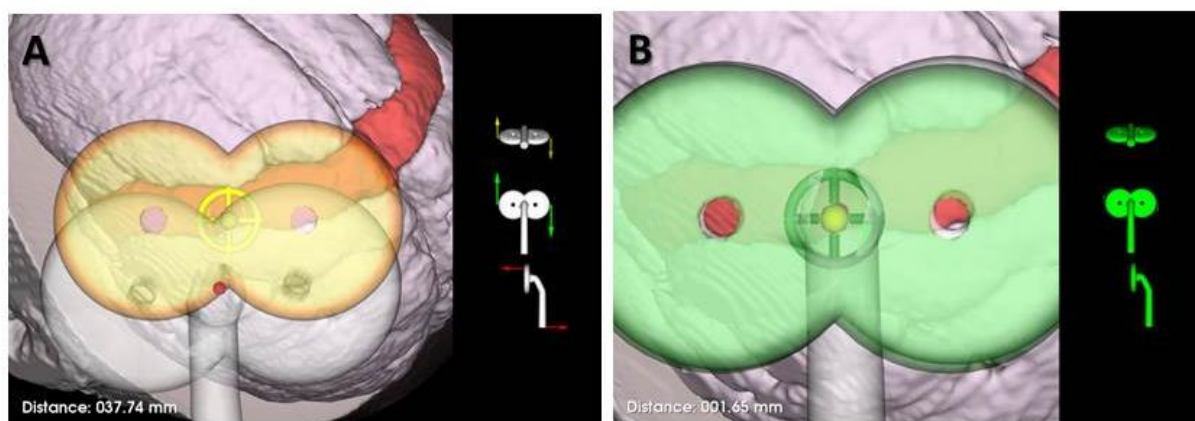


FIGURA 2: Posicionamento da bobina em relação à cabeça do sujeito, guiada pela neuronavegação, a partir da localização do *hotspot*. A figura A representa a tentativa de posicionar a bobina corretamente nos planos sagital, horizontal e vertical em relação ao *hotspot*. Já a figura B representa o posicionamento da bobina em relação ao *hotspot* com erro assumido de 1,6 mm.

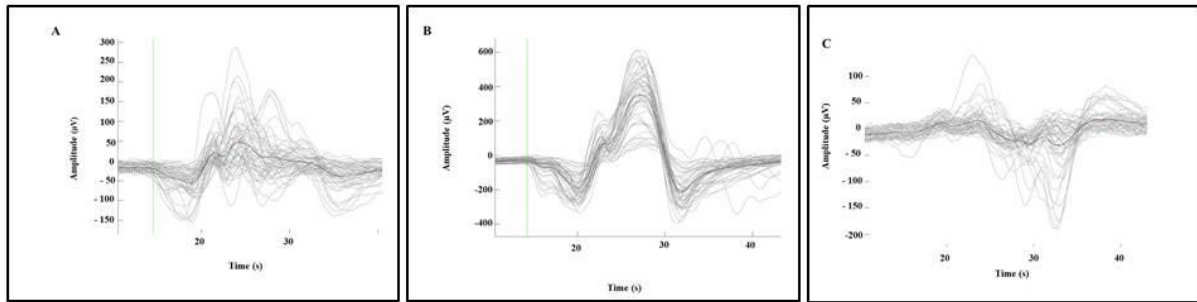


FIGURA 3: Exemplo de PEMs promediados a partir do registro de aproximadamente 30 pulsos únicos para o sujeito 6 do lado direito com o (A) protocolo 1 (Garcia et al., 2017); (B) protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e (C) protocolo 3 (Munneke et al., 2018) adaptado do músculo Bíceps Braquial (BB) direito.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os parâmetros dos PEMs analisados foram: o limiar motor de repouso (rLM), PEM_{P-P} , coeficiente de variação (CoV) do PEM_{P-P} , latência do PEM, correlação entre as distâncias intereletrodos e os PEM_{SP-P} . Quanto às primeiras três variáveis, foi aplicada ANOVA *two-way* (fatores: *hemisfério cerebral* e *protocolo*), enquanto para o CoV do PEM_{P-P} uma ANOVA *one-way* (fator: *protocolo*). O teste de Tukey HSD foi adotado como *post hoc* quando necessário, e o teste de Pearson para as análises de correlação. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS

Os resultados estão disponíveis em *boxsplots* (quartis e limites máximos e mínimos) e organizados com base na característica do PEM avaliada.

3.1 Latência (ms)

A latência (figura 4) diferiu entre os três protocolos ($F_{(2, 42)} = 11,630$; $P = 0,00010$). Neste caso, o protocolo 3 forneceu valores significativamente menores quando comparado aos protocolos 1 ($P = 0,001135$) e 2 ($P = 0,000302$). Quando analisado cada um dos hemisférios, observou-se diferenças entre os protocolos 2 e 3 (Lado Direito; $P = 0,004392$) e 1 e 3 (Lado Esquerdo; $P = 0,015747$). Além disso, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($F_{(1, 42)} = 0,28205$; $P = 0,59816$) entre os lados e nem interação entre ambos os fatores ($F_{(2, 42)} = 0,66289$; $P = 0,52067$).

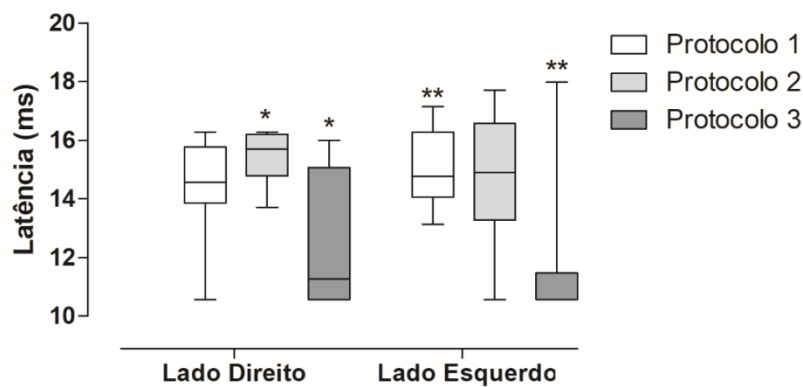


Figura 4: Latência (ms) medida nos lados direito e esquerdo para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado.

3.2 Potencial Evocado Motor (PEM_{P.P}) e Coeficiente de Variação do Potencial Evocado Motor (CoV PEM_{P.P})

Na comparação entre os protocolos, foram observadas diferenças estatísticas significativas ($F_{(2, 42)} = 10,379$; $P = 0,00022$) entre o protocolo 1 e 2 ($P = 0,010308$), e 2 e 3 ($P = 0,000285$). Contudo, os valores médios para o protocolo 2 (IFCN) foram superiores aos outros dois protocolos (Figura 5). Quanto às comparações entre os protocolos para cada hemisfério, observou-se diferença entre os Protocolos 2 e 3 (Direito; $P = 0,003084$). Não houve diferenças estatística entre os protocolos para o lado esquerdo. Na comparação entre os lados, no entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($F_{(1, 42)} = 1,3896$; $P = 0,24510$). Por sua vez, não houve interação entre ambos os fatores ($F_{(2, 42)} = 0,78551$; $P = 0,46247$). A figura 6 apresenta o coeficiente de variação encontrado para três protocolos avaliados, na qual o protocolo 3 (Munneke et al., 2018) apresentou os maiores valores de coeficiente de variação quando comparado com os outros dois protocolos. O anexo 4, apresenta a \bar{x} , DP e o CoV para cada sujeito em cada protocolo analisado.

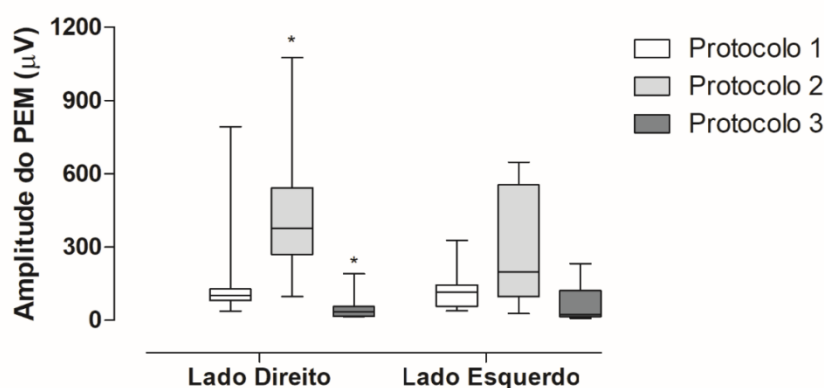


Figura 5: Potencial Evocado Motor (PEM) medido nos lados direito e esquerdo para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018).

3.3 Limiar Motor de Repouso (rLM)

Em relação ao limiar motor, houve diferença entre os protocolos ($F_{(2, 42)} = 4,8923$; $P = 0,01230$). Neste sentido, o protocolo 3 apresentou limiares superiores aos dois outros

protocolos, isto é, 1 e 2 ($P = 0,011871$). No entanto, o *post-hoc* não revelou diferença entre os protocolos para cada hemisfério ($P > 0,05$). Por sua vez, não houve interação entre ambos os fatores ($F_{(2, 42)} = 0,01938$; $P = 0,98081$). E em relação à comparação entre os hemisférios cerebrais, não foi observada diferença estatística significativa ($F_{(1, 42)} = 10,370,00135$; $P = 0,97084$) para os rLMs (figura 7).

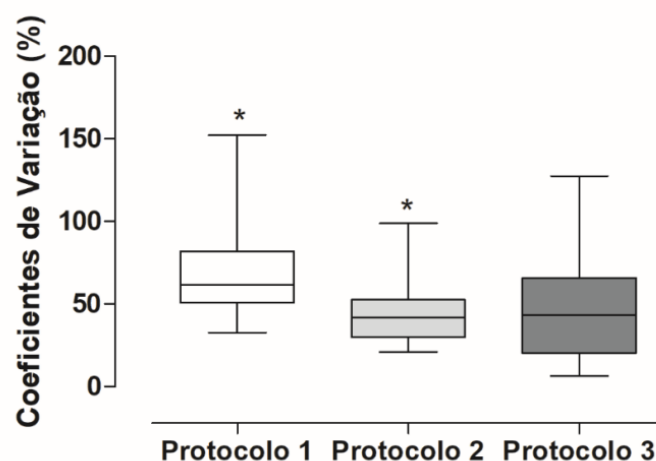


Figura 6: Coeficiente de Variação (%) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado; * $P < 0,05$.

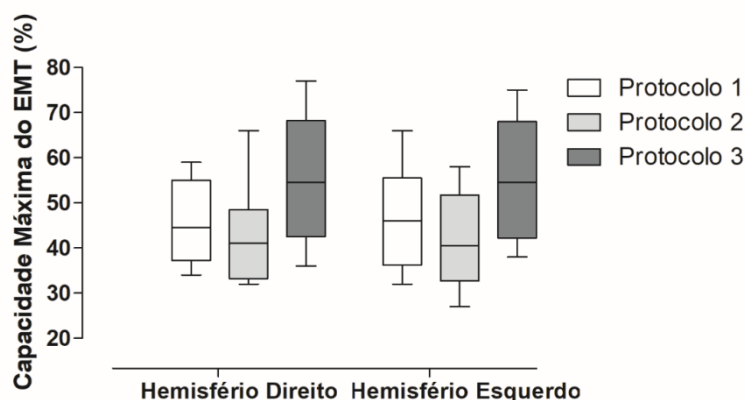


Figura 7: Limiar motor de repouso (rLM) medido em ambos os hemisférios para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017); protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado; capacidade máxima do EMT (%): intensidade porcentual da estimulação com base na capacidade máxima do equipamento de EMT.

3.4 Correlação entre distâncias intereletrodos e PEM

Com base em Lynn et al. (1978), que sugerem que quanto maior a distância entre os eletrodos maior o volume condutor, supunha-se inicialmente que a distância entre eletrodos poderia se correlacionar positivamente com o PEM_{P-P}. No entanto, quando correlacionadas as distâncias intereletrodos adotadas pelos três protocolos e os seus respectivos PEM_{P-P}, não foram observados resultados estatisticamente significativos. Foram eles: protocolo 1 ($r = 0,1115$; $P = 0,6810$); protocolo 2 ($r = -0,05053$; $P = 0,8526$); e Protocolo 3 ($r = -0,1739$; $P = 0,5196$), como apresentados na figura 8.

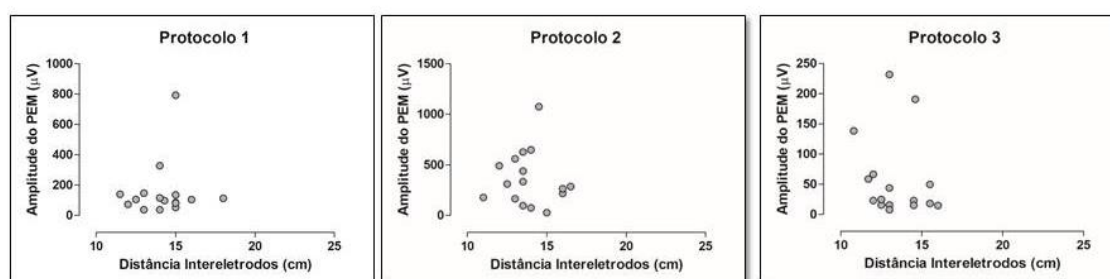


Figura 8: Diagramas de dispersão entre as variáveis Distância Intereletrodos (cm) e Amplitude do PEM_{P-P} (µV) para o Protocolo 1: Garcia et al. (2017) $r = 0,003863$; $P = 0,9887$; protocolo 2: IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado $r = -0,05053$; $P = 0,8526$; e protocolo 3: Munneke et al. (2018) adaptado $r = -0,1739$; $P = 0,5196$.

4. DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi comparar os protocolos defendidos por diferentes autores e entidades científicas (Garcia et al., 2017; Rossi et al., 2009; Munneke et al., 2018) com o intuito de verificar como diferentes parâmetros obtidos a partir do PEM se comportam de acordo com cada arranjo de eletrodos, uma vez que servem, inclusive, de parâmetro para se estabelecer intensidades de EMT aplicada em protocolos de neuromodulação, isto é, em EMT repetitiva.

É sabido que o sinal de sEMG é influenciado pela colocação dos eletrodos (Garcia e Vieira, 2011), o que muitas vezes é desconsiderado em estudos que envolvem EMT (Garcia et al., 2017; Garcia et al., 2020). Em nosso estudo, avaliamos três protocolos de colocação de eletrodos. Foram eles: (1) Garcia et al. (2017); (2) IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado e (3) Munneke et al. (2018) adaptado. A escolha na comparação destes protocolos se deu por dois importantes motivos: a. Adoção destes protocolos em diferentes trabalhos publicados, algo que pode sugerir diferentes interpretações dos resultados; e b. Sugestão de magnificação do PEM a partir do sinal de sEMG.

No presente estudo, verificamos que o protocolo 2, proposto pela IFCN (Rossi et al., 2009), resultou em maiores amplitudes e menor coeficiente de variação em relação aos protocolos 1 (Garcia et al., 2017) e 3 (Munneke et al., 2018). Em um estudo anterior, também conduzido por nós, a comparação entre os diferentes protocolos de colocação de eletrodo ocorreu entre a proposta por SENIAM (Hermens et al., 2000), a qual é amplamente adotada em inúmeros estudos que se utilizam da sEMG, e aquela sugerida por Garcia et al. (2017), uma alternativa aos demais protocolos. Em relação a amplitude o protocolo proposto por Garcia et al., (2017), apresentou valores superiores àqueles observados por meio do protocolo SENIAM (Hermens et al., (2000) e, quanto ao coeficiente de variação, não houve diferença entre os protocolos (Garcia et al., 2020). Neste caso, os resultados permitiram a apresentação de um trabalho na Conferência Nacional de Fisioterapia ICHC-FMUSP, no ano de 2019 (ANEXO 5) e a publicação do artigo *Motor potential evoked by transcranial magnetic stimulation depends on the placement protocol of recording electrodes* (Garcia et al., 2020; ANEXO 6).

Abaixo discutiremos os nossos resultados para cada um dos parâmetros do PEM aqui avaliados.

4.1. Latência (ms)

A latência é uma medida de extrema importância em doenças que comprometem a comunicação do sistema nervoso central e a periferia. Neste estudo, observamos uma diferença significativa da latência nos três protocolos, sendo que o protocolo 3 (MUNNEKE et al., 2018) apresentou os menores valores. Estima-se que, pelo fato do protocolo 1 sugerir a colocação de um dos eletrodos sobre a zona de inervação, seria possível identificarmos PEMs com menores latências (Garcia et al., 2020), algo que não se confirmou, provavelmente devido a limitações metodológicas como a localização exata da zona de inervação em relação a posição do eletrodo. Desta forma, uma hipótese provável diz respeito ao fato de a latência ter sido determinada de forma semiautomática, a qual poderia incorrer em erro. No entanto, estas medidas foram feitas pelo mesmo pesquisador, o qual estava devidamente treinado. Portanto, não foi possível estabelecer uma hipótese provável para uma possível vantagem deste protocolo em relação aos demais na determinação da latência do PEM, sendo esta considerada uma limitação, o que deve ser levado em conta em estudos futuros.

4.2 Potencial Evocado Motor (PEM_{P-P})

A partir do monitoramento da atividade mioelétrica gerada pela despolarização dos neurônios da via corticoespinhal, é possível verificarmos um evento denominado Potencial Evocado Motor (PEM), o qual é comumente estudado a partir de algumas características básicas tais como a amplitude pico a pico (PEM_{P-P}). Portanto, a partir destas informações é possível inferir a respeito do comportamento do sistema motor (Barker et al., 1985; McDonnell et al., 2004; Valero-Cabrera et al., 2017; Garcia et al., 2017; Biabani et al., 2018).

Para Garcia et al. (2017; 2020), a aquisição do sinal de sEMG próximo à junção neuromuscular (JNM) a partir de uma configuração “pseudomonopolar” permitiria que o

registro fosse feito próximo à região onde a informação neural alcança as fibras musculares, o que poderia resultar em uma maior probabilidade de somação dos potenciais de ação detectados quando comparados a outros locais de detecção e, portanto, PEM_{P-P} de grande magnitude e menores coeficientes de variação entre eles. Além deste, na etapa preliminar deste projeto, investigou-se também o protocolo sugerido pelas recomendações SENIAM para a colocação de eletrodos de superfície. As normas SENIAM recomendam a colocação de eletrodos em configuração bipolar em regiões distintas da zona de inervação e da junção miotendínea, com uma distância intereletrodos de 1-2 cm, dependendo do músculo alvo (Hermens et al., 2000). Destaca-se que o protocolo SENIAM, muito embora não tenha sido confeccionado com o propósito de registrar PEMs via EMT, é também comumente utilizado em estudos com este objetivo. Por exemplo, quanto ao número de citações, o protocolo SENIAM (Hermens et al., 2000; 4440 citações em 22/10/2020 em www.google.com) tem sido adotado em estudos relativos ao uso da EMT (Mc Donnell et al., 2004; Sankarasubra et al., 2015; Gallina et al., 2016). Em contrapartida, Munneke et al. (2018) sugerem que eletrodos colocados próximos às regiões proximais e distais de um músculo específico, mas também em configuração bipolar, seria possível detectar um maior volume condutor e, portanto, adquirir PEM_{P-P} de elevada magnitude.

Em nosso estudo, o protocolo 2 – IFCN (Rossi et al., 2009) adaptado –, apresentou PEM_{P-P} de grandes amplitudes e menor coeficiente de variação, quando comparado com os outros dois protocolos investigados (Garcia et al., 2017; Munneke et al., 2018). A sugestão de Garcia et al. (2017; 2020) de que o registro do potencial próximo a JNM a partir de uma configuração monopolar resultaria em uma maior probabilidade na soma coerente dos potenciais ao atingir o músculo, gerando PEM_{P-P} maiores, foi observado em um dos seus trabalhos (Garcia et al., 2020), o qual comparou seu protocolo com o sugerido por SENIAM (Hermens et al., 2000). No entanto, o mesmo não ocorreu quando o protocolo sugerido por Garcia et al. (2017) foi comparado com os protocolos 2 (Rossi et al., 2009) e 3 (Munneke et al., 2018). Análises realizadas próximas às zonas de inervação resultam em sinais que se propagam em diferentes direções e produzem variações na sua forma quando analisadas, sendo influenciadas pelas variações anatômicas do músculo de interesse, da posição das fibras musculares e do posicionamento do eletrodo (Mesin, 2013). Sendo assim, o posicionamento dos eletrodos pode influenciar a amplitude dos PEM_{P-P} , podendo gerar amplitudes altas ou baixas de acordo com o músculo estudado (MESIN, 2013).

McPherson et al. (2017) sugerem que a quantidade de fibras musculares recrutadas pode justificar PEM_{P-P} de grande amplitude. Neste sentido, tendo em vista que um dos eletrodos referentes ao protocolo 2 (IFCN; Rossi et al., 2009) estava posicionado na região de maior volume muscular, é possível que este aspecto tenha contribuído para PEM_{P-P} de grande magnitude.

Um número mínimo de trinta (30) pulsos únicos de EMT foi escolhido para se estabelecer uma medida confiável a este respeito, o que é corroborado por outros estudos (Cuyper et al., 2014; Bashir et al., 2017; Goldsworthy et al., 2016; Biabani et al., 2018). No entanto, segundo Cavaleri et al. (2017), para a análise de um músculo específico, os autores sugerem que cinco (5) pulsos únicos seja o número mínimo de estímulos que deveriam ser aplicados para se alcançar nível de confiabilidade aceitável quanto ao PEM_{P-P} médio dentro de uma sessão, o que reduziria o tempo de aquisição pela metade e facilitaria a análise de mudanças de curta duração na excitabilidade corticoespinal. Em nosso estudo, sugere-se que o quantitativo de PEMs registrados tenha contribuído para uma análise mais robusta a respeito das propriedades dos potenciais evocados extraídos a partir de cada um dos protocolos.

4.3 Limiar Motor de Repouso (rLM)

O limiar motor de repouso é considerado como a resposta de menor intensidade gerada pelo estimulador magnético e que é capaz de evocar PEM com amplitude P-P de, pelo menos, 50 μV , em 50% das tentativas (exemplo: três de seis tentativas), conforme descrito em alguns dos principais *guidelines* (Rossi et al., 2009; 2020). Quando comparados os três protocolos em nosso estudo, o protocolo 3 (Munneke et al., 2018) revelou PEM_{P-P} menores quando comparados aos outros dois, conduzindo assim, a limiares motores maiores. Sugere-se que este fato tenha ocorrido pelo fato da configuração (bipolar) possivelmente oferecer posicionamentos equidistantes por parte de cada eletrodo (+ e -) em relação à zona de maior concentração de JNMs. Desta forma, isto pode ter aumentado a probabilidade de subtração dos potenciais de ação e, portanto, reduzindo os PEM_{P-P} . Sendo assim, muito embora Lynn et al. (1978) sugiram que a amplitude do sinal de sEMG concorde positivamente com a distância intereletrodos, tal comportamento dependerá das suas respectivas posições em relação à JNM. Assim, a proposta adaptada de Munneke et al. (2018) ao músculo estudado (BB) talvez não

corrobore a aquisição de PEM_{P-P} que melhor revelem o perfil de excitabilidade da via corticoespinhal, uma vez que há uma maior concentração de JNMs próximos ao seu 1/3 médio. Esta é uma questão relevante, já que o limiar motor é determinante no estabelecimento da intensidade de estimulação em protocolos de tratamento via EMT repetitiva.

4.4 Correlação entre distâncias intereletrodos e PEM_{P-P}

Não foram observadas correlações significativas entre as distâncias intereletrodos de cada protocolo e as magnitudes do PEM_{P-P} obtidos, muito embora tenhamos conjecturado que isto pudesse ocorrer com base nas propriedades do sinal de sEMG, conforme sugerido por Lynn et al. (1978). De acordo com Melaku et al. (2001), a distância intereletrodos parece influenciar a amplitude do sinal de sEMG em contrações até 50% do músculo BB. Portanto, dada a magnitude do recrutamento muscular evocado pela EMT, é muito provável que não tenha sido possível elicitar contrações desta magnitude.

5. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem diferenças importantes nas propriedades do PEM quando registrados em configurações distintas de colocação de eletrodos de superfície no músculo Bíceps Braquial. Desta forma, este trabalho torna-se importante para a criação de uma padronização dos protocolos de colocação de eletrodos de superfície e dos resultados encontrados em diferentes estudos. Sendo assim, devem ser consideradas a direção das fibras musculares, as zonas de inervação e as características de cada grupamento muscular a ser avaliado, pois a forma como o PEM é registrado pode influenciar na interpretação do comportamento da via corticoespinal e a veracidade dos resultados. No caso do Bíceps Braquial, o melhor protocolo para análise dos PEM parece ser o sugerido por Rossi et al. (2009).

6. REFERÊNCIAS

BASHIR, S.; YOO, E. K.; KIM, H. S.; LIM, H. S.; ROTENBERG, A.; JAMEA, A. A. The Number of Pulses Needed to Measure Corticospinal Excitability by Navigated Transcranial Magnetic Stimulation: Eyes Open vs. Close Condition. **Frontiers in Human Neuroscience**. V. 11, 2017.

BASTINI, A.; JABERZADEH, S. A Higher Number of TMS-Elicited MEP from a Combined Hotspot Improves Intra- and Inter-Session Reliability of the Upper Limb Muscles in Healthy Individuals. **PLOS ONE**. v. 07, 2012.

BIABANI, M.; FARRELL, M.; ZOGHIC, M.; EGANB, G. JABERZADEHA, S. The minimal number of TMS trials required for the reliable assessment of corticospinal excitability, short interval intracortical inhibition, and intracortical facilitation. **Neuroscience Letters**. n. 674. p. 94–100, 2018.

BARKER, A. T.; JALINOUS, R.; FREESTON, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. **Lancet**. n. 01. p. 1106–1107, 1985.

BARBERO, M.; MERLETTI, R.; RAINOLDI, A. Atlas of muscle innervation zones: understanding surface electromyography and its applications. **Springer Science & Business Media**, 2012.

CAVALERI, R.; SIOBHAN, M.; SCHABRUN; CHIPCHASE, L. S. The number of stimuli required to reliably assess corticomotor excitability and primary motor cortical representations using transcranial magnetic stimulation (TMS): a systematic review and meta-analysis. **BioMed Central**. n.0 6. p. 48, 2017.

CHOUDHURY, H. R.; BOYLE, L.; BURKE, M.; LOMBARD, W; RYAN, S.; MCNAMARA, B. Intra subject variation and correlation of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation. **Journal of Medical Sciences**. n. 180; p. 873–880, 2011.

CUYPERS, K.; THIJS, H.; MEESEN, R. L. J. Optimization of the Transcranial Magnetic Stimulation Protocol by Defining a Reliable Estimate for Corticospinal Excitability. **PLOS ONE**. n.01; v. 09, 2014.

DEL VECCHIO, A.; NEGRO, F.; FELICI, F.; DARIO, F. Associations between Motor Unit Action Potential Parameters and Surface EMG Features. **Journal of Applied Physiology**. n.10. p.220-233, 2017.

ESPIRITO-SANTO, H., PIRES, A. C., QUEIROZ GARCIA, I., DANIEL, F., SILVA, A., FAZIO, R. Preliminary validation of the Portuguese Edinburgh Handedness Inventory in an adult sample. **Applied Neuropsychology: Adult**. n. 24. v. 03. p. 275-287, 2017.

GALLINA, A.; PETERS, S.; NEVA, J. L.; BOYD, L. A.; GARLAND, S. J. Selectivity of conventional electrodes for recording motor evoked potentials: an investigation with high-density surface electromyography. **Muscle & Nerve**. n. 55; v. 06; p. 828-834, 2017.

GARCIA, M. A. C.; Souza, V. H.; ALMAS, J. L.; MATSUDA, R. H.; NOGUEIRA-CAMPOS, A. A. Motor potential evoked by transcranial magnetic stimulation depends on the placement protocol of recording electrodes: A pilot study. **Biomedical Physics & Engineering Express**. n. 04. v. 06, 2020.

GARCIA, M. A. C.; SOUZA, V. H.; VARGAS, C. D. Can the Recording of Motor Potentials Evoked by Transcranial Magnetic Stimulation Be Optimized? **Frontiers in Human Neuroscience**. v. 11. Ago, 2017.

GARCIA, M. A. C.; VIEIRA, T. M. M. Surface electromyography: Why, when and how to use it. **Andaluza de Medicina del Deporte**. n. 04; v. 01; p. 17-28, 2011.

GOEDE, A. A.; BRAACK, E. M.; PUTTEN, M. J. A. M. Accurate Coil Positioning is Important for Single and Paired Pulse TMS on the Subject Level. **Brain Topography**. n. 31; p. 917–930; 2018.

GOLDSWORTHY, M. R.; HORDACRE, B.; RIDDING, M. C. Minimum number of trials required for within- and between-session reliability of TMS measures of corticospinal excitability. **Neuroscience**. n. 320. p. 205–209, 2016.

GROPPA, A. S.; OLIVIERO, B. A.; EISEN, C. A.; QUARTARONE, D. A.; COHEN, E. L. G.; MALL, F. V.; KAELIN-LANG, G. A.; MIMAH, T. S. ROSSI I, G.W. THICKBROOM J, P.M. ROSSINI K, U. ZIEMANN L, J. VALLS-SOLÉM, H.R. SIEBNER. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. **Clinical Neurophysiology**. n. 123 p. 858–882, 2012.

HERMENS, H. J.; FRERIKS, B.; DISSELHORST-KLUG, C.; RAU, G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. v. 10. p. 361–374, 2000.

JURCAK, V.; TSUZUKI, D.; DAN, I. 10/20, 10/10, and 10/5 systems revisited: Their validity as relative head-surface-based positioning systems. **NeuroImage**. v. 34; p. 1600–1611, 2007.

JUNG, N. H.; DELVENDAHL, I. KUHNKE, N. G.; HAUSCHKE, D.; STOLLE, S.; MALL, V. Navigated transcranial magnetic stimulation does not decrease the variability of motor-evoked potentials. **Brain Stimulation**. n. 03; p. 87–94, 2010.

L. KIERS, D. CROS, K.H. CHIAPPA AND J. FANG. Variability of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology Laboratories**. 1993.

KLOMJAİ, W.; KATZ, R.; LACKMY-VALLE'E, A. Basic principles of transcranial magnetic stimulation (TMS) and repetitive TMS (rTMS). **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**. n. 58. p. 208–213, 2015.

LAAKSO, I.; MURAKAMI, T.; HIRATA, A.; UGAWA, Y. Where and what TMS activates: Experiments and modeling. **Brain Stimulation**. n. 11. p. 166-174, 2018.

LYNN, P.A.; BETTLES, N. D.; HUGHES, A. D.; JOHNSON, S. W. Influence of electrode geometry on bipolar recordings of the surface electromyogram. **Medical & Biological Engineering & Computing**. n. 16. p. 651-60, 1978.

MELAKU, A.; KUMAR, D. K.; BRADLEY, A. Influence of Inter-electrode Distance on EMG. **23rd Annual Conference – IEEE/EMBS. Istanbul, TURKEY**. Oct, p. 25-28, 2001.

MCDONNELL, M. N.; RIDDING, M. C.; MILES, T. S. Do alternate methods of analysing motor evoked potentials give comparable results? **Journal of Neuroscience Methods**. n. 136; p. 63–67, 2004.

McPHERSON, L. M.; NEGRO, F.; THOMPINSIN, C. K.; SANCHEZ, L.; HECKMAN, C. J.; DEWALD, J. Properties of the Motor Unit Action Potential Shape in Proximal and Distal Muscles of the Upper Limb in Healthy and Post-Stroke Individuals. **Conference Proceedings IEEE Engineering in Medicine and Biology Society**. p. 335–339, 2016.

MESSAOUDI, N.; BEKKA, R. E. From Single Fiber Action Potential to Surface electromyographic Signal: A Simulation Study. **International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering**. p. 315-324, 2015.

MESIN, L. Volume conductor models in surface electromyography: Applications to signal interpretation and algorithm test. **Computers in Biology and Medicine**. n. 43. p. 953–961, 2013.

MUNNEKE, M. A. M.; BAKKERB, C. D.; GOVERDEB, E. A.; PASMANNB, J. W.; STEGEMAN, D. F. On the electrode positioning for bipolar EMG recording of forearm extensor and flexor muscle activity after transcranial magnetic stimulation. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. n. 40; p. 23–31, 2018.

PELL, G. S.; ROTH, Y.; ZANGEN, A. Modulation of cortical excitability induced by repetitive transcranial magnetic stimulation: Influence of timing and geometrical parameters and underlying mechanisms. **Progress in Neurobiology**. n. 93. p. 59–98, 2011.

ROSSI, S., HALLETT, M., ROSSINI, P. M., PASCUAL-LEONE, A.; & Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. **Clinical Neurophysiology**. n. 120. v. 12. p. 2008-2039, 2009.

ROSSI, S.; ANTAL, A.; BESTMANN, S.; BIKSON, M.; BREWER, C.; BROCKMÖLLER, J.; CARPENTER, L. L.; CINCOTTA, M.; CHEN, R.; DASKALAKIS, J. D.; LAZZARO, V.; FOX, M. D.; GEORGE, M. R.; GILBERT, D.; KIMISKIDIS, V. K.; KOCH, G.;

ILMONIEMI, R. J.; LEFAUCHEUR, J. P.; LEOCANI, L.; LISANBY, S. H.; MINIUSSI, C.; PADBERG, F.; PASCUAL-LEONE, A.; PAULUS, W.; PETERCHEV, A. V.; QUARTARONE, A.; ROTENBERG, A.; ROTHWELL, J.; ROSSINI, P. M.; SANTARNECCHI, E.; SHAFI, M. M.; SIEBNER, H. R.; UGAWA, W.; WASSERMANN, E. M.; ZANGEN, A.; ZIEMANN, U.; HALLETT, M. Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: Expert Guidelines. **Clinical Neurophysiology**. 2020.

ROSSINI, P.M.; BURKE, D.; CHEN, R.; COHEN, L.G.; DASKALAKIS, Z.; DI IORIO, R.; DI LAZZARO, V.; FERRERI, F.; FITZGERALD, P.B.; GEORGE, M.S.; HALLETT, M.; LEFAUCHEUR, J.P.; LANGGUTH, B.; MATSUMOTO, H.; MINIUSSI, C.; NITSCHKE, M.A.; PASCUAL-LEONE, A.; PAULUS, W.; ROSSI, S.; ROTHWELL, J.C.; SIEBNER, H.R.; UGAWA, Y.; WALSH, V.; ZIEMANN, U. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. **Clinical Neurophysiology**. 2015.

SANKARASUBRAMANIAN, V.; ROELLE, S. M.; BONNETT, C. E.; JANINI, D.; VARNERIN, N. M.; CUNNINGHAM, D. A.; SHARMA, J. S.; POTTER-BAKER, K. A.; WANG, X.; YUE, G. H.; PLOW, E. B. Reproducibility of transcranial magnetic stimulation metrics in the study of proximal upper limb muscles. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. n. 25; p. 754–764, 2015.

SOUZA, V. H.; MATSUDA, R. H.; PERES, A. S. C.; AMORIM, P. H. J.; MORAES, T. F.; SILVA, J. V. L.; BAFFA, O. Development and characterization of the InVesalius Navigator software for navigated transcranial magnetic stimulation. **Journal of Neuroscience Methods**. n. 309; p. 109–120, 2018.

SOUZA, V. H. O.; PERES, A. S. C.; BAFFA, O. MEPHunter 2015. <https://vhosouza.github.io/software/signal-hunter/> (acessado em janeiro de 2019).

VALERO-CABRÉA, A.; AMENGUALA, J. L.; STENGELA, C.; PASCUAL-LEONE, A.; COUBARD, O. A. Transcranial magnetic stimulation in basic and clinical neuroscience: A

comprehensive review of fundamental principles and novel insights. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. n. 83. p. 381–404, 2017.

7. ANEXOS

ANEXO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

- **ELETROMIOGRAFIA (sEMG):**

A EMG é uma técnica segura, sendo um método não invasivo que permite a análise da atividade muscular através de eletrodos de superfície (Lyn et al., 1978; Garcia e Vieira, 2011). A técnica permite analisar a função muscular tanto em repouso quanto em contração, além da variação de comprimento muscular e sua relação com o sistema nervoso. Dessa forma, fornece uma base para a reeducação neuromuscular (Hermens et al., 2000). Destaca-se, no entanto, que a EMG não é uma medida de força, mas tão somente uma medida de atividade muscular.

As fibras musculares apresentam unidades motores que compreendem o nível básico de organização do SNC, sendo que, o número de unidades motoras por fibras musculares é variável de acordo com a função muscular (Lyn et al., 1978). Assim, o neurônio motor inferior se une a fibra muscular através da placa motora, criando uma sinapse neuromuscular (Garcia e Vieira et al., 2011). Quando ocorre uma ação nervosa, o potencial viaja pelo axônio desde o córtex M1, passando pelo trato corticoespinal e atinge a placa motora que, por meio de sua sinapse, libera acetilcolina (ACh), gerando a contração muscular (Lyn et al., 1978; Hermens et al., 2000). O registro dessa ação é a base da EMG.

A energia que é gerada pelo músculo tem um pequeno valor que é medido em milionésimos de um volt (microvolts), sendo necessário um aparelho capaz de amplificar este sinal. A fonte do sinal da EMGs é o potencial de ação da unidade motora (PAUM) (Hermens et al., 2000; Garcia e Vieira, 2011). Potenciais de ação são emitidos por cada uma das unidades motoras ativadas durante uma determinada contração. Em qualquer padrão de recrutamento, populações de unidades motoras são ativadas de forma assíncrona, e a soma da atividade que constitui o volume do sinal, que é captado nos eletrodos e amplificado pelo eletromiógrafo (Tankisi et al., 2020). Quanto mais próximos estiverem os eletrodos e as unidades motoras ativas, maior será a contribuição para o sinal de EMG, pois encontra menos resistência do tecido corporal (Mesin, 2013; Tankisi et al., 2020). A interface entre o eletrodo e a pele também é um assunto delicado, pois a impedância da pele (resistência) pode variar

com a humidade da pele, teor de óleo da superfície da pele e a densidade das camadas da pele (Hermens et al., 2000). Para evitar tal influência é necessário preparar (limpar) a pele com álcool e utilizar um meio eletrólito, formando um campo entre a pele e o eletrodo.

O sinal EMG captado no corpo humano é um sinal analógico (contínuo no tempo) que deve ser convertido para sinal digital (discreto, que é definido somente para certos intervalos de tempo), para ser então registrado em um computador (Lyn et al., 1978; Tankisi et al., 2020). Sendo assim, alguns parâmetros devem ser considerados como frequência de amostragem pelo menos duas vezes maior que a maior frequência do sinal; amplificação; e o uso de filtros específicos (Hermens et al., 2000; Tankisi et al., 2020).

Uma vez que o potencial de ação do músculo cruza com a interface eletrodo-pele, este passa pelo processo de amplificação diferencial (este aumento é referido como ganho) que determina quão grande ou pequena a sEMG aparece à exibição visual (Lyn et al., 1978; Mesin, 2013). Este processo requer três eletrodos, dois de registro (colocados sobre o músculo) e um de referência (colocado em qualquer parte do corpo que, preferencialmente, não apresente atividade). Dessa forma, é comparada a energia proveniente dos dois eletrodos de registro (Garcia e Vieira et al., 2011; Tankisi et al., 2020). Isso acontece porque o potencial de ação atinge os eletrodos em momentos diferentes já que viaja por toda a extensão muscular nos dois sentidos (Tankisi et al., 2020).

Após a amplificação, o sinal costuma passar por outras etapas de condicionamento, onde ele é normalmente filtrado em faixas específicas de frequência (passa-banda), cujo principal objetivo é eliminar ruídos elétricos do ambiente e, portanto, preservar o seu conteúdo espectral. Uma vez que todo esse processo ocorre, o sinal bruto poderá ser armazenado para análise ou processamento (Lyn et al., 1978; Hermens et al., 2000).

Na sEMG bruta, a amplitude da sEMG oscila entre valores positivos e negativos. A magnitude de sua amplitude representa o nível de recrutamento (Lyn et al., 1978). A unidade de medida é microvolts pico a pico, e um cuidado deve ser tomado em relação ao ruído e artefato, como ECG, dependendo do local de avaliação, tipo de energia utilizada no local de avaliação, etc (Mesin, 2013; Tankisi et al., 2020).

Limitações da técnica consistem na possibilidade de monitorar poucos locais ao mesmo tempo o que reduz a avaliação devido à complexidade e riqueza no sistema neuromuscular; a ocorrência de *crosstalk*, que é a interferência da ação muscular de outro músculo que não é o objeto de estudo, devido à proximidade das fibras e sua disposição espacial, gerando gravações com menos especificidades, locais mais apropriados para a colocação do eletrodo, pois existem poucos guias publicados (Hermans et al., 2000; Garcia e Vieira 2011).

- **ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA (EMT):**

A Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) foi inicialmente descrita por Anthony Barker em 1985, como um método não invasivo, indolor e relativamente simples (Barker et al., 1985; Groppa et al., 2012; Rossi et al., 2020).

O aparelho de EMT é composto por uma unidade fixa e uma móvel. A unidade fixa contém um ou mais capacitores de armazenamento, um alternador de carga e circuitos para modelar a forma do pulso e a recuperação de energia, além do painel de controle (Rossini et al., 2015). A parte móvel é composta pela bobina e pelo cabo que a conecta na parte fixa (Barker et al., 1985; Rossi et al., 2009; Groppa et al., 2012).. A bobina é conectada a um capacitor através de um circuito elétrico, que quando é ligado, um pulso de corrente (com intensidade máxima é de cerca de 5000 Amperes) passa rapidamente pela bobina (Barker et al., 1985; Rossi et al., 2009). A mudança rápida na intensidade do campo elétrico promove a indução de um campo magnético, com linhas de fluxo perpendiculares à bobina (Rossi et al., 2009; Rossi et al., 2020).

A intensidade do campo magnético varia de acordo com os parâmetros do equipamento utilizado, mas em geral é de aproximadamente 1,5-2,2 Tesla, nas proximidades da bobina, durando cerca de 1-4 milissegundos (Barker et al., 1985; Rossi et al., 2009). A intensidade máxima do campo é atingida em cerca de 100 μ s, caindo rapidamente após este intervalo de tempo. A mudança rápida na intensidade do campo magnético promove, dentro do crânio, a indução de um novo campo elétrico, perpendicular ao campo magnético (Groppa et al., 2012; Rossi et al., 2020).

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/mm² (Rossini et al., 2015). Quanto maior a intensidade do campo no córtex cerebral, maior a extensão da despolarização de membranas celulares e, conseqüentemente, maior a área de ativação neuronal (Barker et al., 1985; Biabani et al., 2018). 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 (Rossini et al., 2015; Valero-Cabrera et al., 2017; Rossi 2020).

A modalidade de EMT mais amplamente utilizada é a estimulação com pulso único (EMT-p): um pulso de corrente elétrica passa pela bobina, sendo repetido após intervalos variáveis de alguns segundos (Groppa et al., 2012). O número total de pulsos administrados é definido pelo examinador. O traçado registrado corresponde ao PEM, representado por uma onda sigmoide de tamanho variável (amplitude e área). A amplitude (valor absoluto em mV) e a latência do PEM depende, entre outros fatores, da intensidade do estímulo magnético e do grau de contração muscular pré-estimulação. Quanto maior a intensidade do campo magnético, maior a amplitude do PEM (Rossini et al., 2017; Rossi et al., 2020).

A amplitude pode ser representada por seu valor absoluto em milivolts (mV). Mais frequentemente, a amplitude da resposta é registrada por eletromiografia de superfície e a amplitude do PEM é expressa em valor relativo: razão entre amplitude do PEM em mV e amplitude da resposta M em mV (PEM/M, valor percentual) (Valero-Cabrera et al., 2017). O ponto no couro cabeludo onde a estimulação magnética evoca resposta de amplitude máxima e com maior facilidade em determinado músculo-alvo é considerado o local preferencial, ou “*hotspot*”, para registro do PEM para este músculo (Barker et al., 1985; Rossi et al., 2020).

A bobina “em forma de 8” é a mais amplamente utilizada para estimulação focal do córtex, com resolução espacial de cerca de 0,5 cm³ (Rossi et al., 2009). O limiar motor em repouso (LM) corresponde à menor intensidade de estímulo capaz de evocar PEMs de amplitude de no mínimo 50 μ V, após pelo menos 5 dentre 10 pulsos magnéticos administrados, quando o músculo-alvo está em repouso (Rossi et al., 2009; Groppa et al., 2012; Rossi et al., 2020). Acredita-se que o LM represente uma medida da excitabilidade de

membrana dos neurônios do trato corticoespinhal, então, quanto maior o LM, menor a excitabilidade. Imediatamente após o registro de PEMs durante contração voluntária do músculo-alvo, observa-se habitualmente ausência de atividade eletromiográfica por um intervalo de tempo que é denominado período silente (PS) (Biabani et al., 2018; Rossi et al., 2020). Quanto maior a intensidade do estímulo magnético, maior a duração do PS.

A EMT de pulso único é considerada uma técnica segura, desde que as contraindicações absolutas para seu uso sejam respeitadas: marca-passos cardíacos, aparelhos eletrônicos ou objetos metálicos intracranianos, falhas ósseas no crânio (Bashir et al., 2017; Goldsworthy et al., 2016).

O Magstim 200² é um sistema monofásico que fornece um alto grau de precisão hemisférica, baixo ruído e menor aquecimento da bobina do que outras formas de ondas de pulso (Biabani et al., 2018). Este sistema é muito flexível e pode ser interfaceado com uma ampla variedade de sistemas de EMG disponíveis. Dentre suas especificações técnicas podemos citar: tipo de saída (monofásico); potência máxima de 100% do Magstim 200²; frequência máxima em máxima potência de 0.25Hz; frequência superior de 0.5Hz; máxima frequência de Burst de 0.5Hz e intervalo mínimo de pulso de 2 segundos (Bashir et al., 2017; Goldsworthy et al., 2016; Biabani et al., 2018).

REFERÊNCIAS:

BASHIR, S.; YOO, E. K.; KIM, H. S.; LIM, H. S.; ROTENBERG, A.; JAMEA, A. A. The Number of Pulses Needed to Measure Corticospinal Excitability by Navigated Transcranial Magnetic Stimulation: Eyes Open vs. Close Condition. **Frontiers in Human Neuroscience**. V. 11, 2017.

BIABANI, M.; FARRELL, M.; ZOGHIC, M.; EGANB, G. JABERZADEHA, S. The minimal number of TMS trials required for the reliable assessment of corticospinal excitability, short interval intracortical inhibition, and intracortical facilitation. **Neuroscience Letters**. n. 674. p. 94–100, 2018.

BARKER, A. T.; JALINOUS, R.; FREESTON, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. **Lancet**. n. 01. p. 1106–1107, 1985.

GARCIA, M. A. C.; VIEIRA, T. M. M. Surface electromyography: Why, when and how to use it. **Revista Andaluza de Medicina del Deporte**. n. 04; v. 01; p. 17-28, 2011.

GOLDSWORTHY, M. R.; HORDACRE, B.; RIDDING, M. C. Minimum number of trials required for within- and between-session reliability of TMS measures of corticospinal excitability. **Neuroscience**. n. 320. p. 205–209, 2016.

GROPPA, A. S.; OLIVIERO, B. A.; EISEN, C. A.; QUARTARONE, D. A.; COHEN, E. L. G.; MALL, F. V.; KAELIN-LANG, G. A.; MIMAH, T. S. ROSSI I, G.W. THICKBROOM J, P.M. ROSSINI K, U. ZIEMANN L, J. VALLS-SOLÉM, H.R. SIEBNER. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. **Clinical Neurophysiology**. n. 123 p. 858–882, 2012.

HERMENS, H. J.; FRERIKS, B.; DISSELHORST-KLUG, C.; RAU, G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. **Journal of Electromyography and Kinesiology**. v. 10. p. 361–374, 2000.

LYNN, P.A.; BETTLES, N. D.; HUGHES, A. D.; JOHNSON, S. W. Influence of electrode geometry on bipolar recordings of the surface electromyogram. **Medical & Biological Engineering & Computing**. n. 16. p. 651-60, 1978.

TANKISI, H.; BURKE, D.; CUI, L.; DE CARVALHO, M.; KUWABARA, S.; NANDEDKAR, S. D.; RUTKOVE, S.; STALBERG, E.; VAN PUTTEN, M. J. A. M.; FUGLSANG-FREDERIKSEN, A. Standards of instrumentation of EMG. **Clinical Neurophysiology**. n. 131, p. 243–258, 2020.

ROSSI, S., HALLETT, M., ROSSINI, P. M., PASCUAL-LEONE, A.; & Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. **Clinical Neurophysiology**. n. 120. v. 12. p. 2008-2039, 2009.

ROSSI, S.; ANTAL, A.; BESTMANN, S.; BIKSON, M.; BREWER, C.; BROCKMÖLLER, J.; CARPENTER, L. L.; CINCOTTA, M.; CHEN, R.; DASKALAKIS, J. D.; LAZZARO, V.; FOX, M. D.; GEORGE, M. R.; GILBERT, D.; KIMISKIDIS, V. K.; KOCH, G.; ILMONIEMI, R. J.; LEFAUCHEUR, J. P.; LEOCANI, L.; LISANBY, S. H.; MINIUSSI, C.; PADBERG, F.; PASCUAL-LEONE, A.; PAULUS, W.; PETERCHEV, A. V.; QUARTARONE, A.; ROTENBERG, A.; ROTHWELL, J.; ROSSINI, P. M.; SANTARNECCHI, E.; SHAFI, M. M.; SIEBNER, H. R.; UGAWA, W.; WASSERMANN, E. M.; ZANGEN, A.; ZIEMANN, U.; HALLETT, M. Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: Expert Guidelines. **Clinical Neurophysiology**. 2020.

ROSSINI, P.M.; BURKE, D.; CHEN, R.; COHEN, L.G.; DASKALAKIS, Z.; DI IORIO, R.; DI LAZZARO, V.; FERRERI, F.; FITZGERALD, P.B.; GEORGE, M.S.; HALLETT, M.; LEFAUCHEUR, J.P.; LANGGUTH, B.; MATSUMOTO, H.; MINIUSSI, C.; NITSCHKE, M.A.; PASCUAL-LEONE, A.; PAULUS, W.; ROSSI, S.; ROTHWELL, J.C.; SIEBNER, H.R.; UGAWA, Y.; WALSH, V.; ZIEMANN, U. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. **Clinical Neurophysiology**. 2015.

MESIN, L. Volume conductor models in surface electromyography: Applications to signal interpretation and algorithm test. **Computers in Biology and Medicine**. n. 43. p. 953–961, 2013.

VALERO-CABRÉA, A.; AMENGUALA, J. L.; STENGELA, C.; PASCUAL-LEONE, A.; COUBARD, O. A. Transcranial magnetic stimulation in basic and clinical neuroscience: A comprehensive review of fundamental principles and novel insights. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. n. 83. p. 381–404, 2017.

ANEXO 2 - PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA DA UNIVERSIDADE DE JUIZ DE FORA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VARIABILIDADE DO POTENCIAL MOTOR EVOCADO PELA ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE COLOCAÇÃO DE ELETRODOS DE SUPERFÍCIE

Pesquisador: Jordania Lindolfo Almas

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 01158218.0.0000.5147

Instituição Proponente: Universidade Federal de Juiz de Fora UFJF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.244.642

Apresentação do Projeto:

Apresentação do projeto está clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, estando de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, item III

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a variabilidade dos PEMs registrados a partir de três diferentes métodos de registro da atividade muscular, em indivíduos adultos.

Objetivo Secundário:

- Comparar o efeito da excitabilidade corticoespinhal via PEMs obtidos dos músculos Bíceps Braquial, Flexor Radial Longo do Carpo e Flexor Curto do Polegar entre os protocolos de colocação de eletrodo de superfície proposto pelo SENIAM, FINC e por Garcia, et al (2017);

- Analisar o comportamento dos PEM quando comparados os membros superiores dominante e não dominante. Os Objetivos da pesquisa estão claros, bem delineados, compatíveis com a proposta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e benefícios descritos em conformidade com a natureza e propósitos da pesquisa. O risco que o projeto apresenta é caracterizado como risco mínimo, o pesquisador apresenta estratégias

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

Continuação do Parecer: 3.244.642

para minimizá-los e benefícios esperados estão adequadamente descritos. A avaliação dos Riscos e Benefícios está de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 de 2012, itens III; III.2 e V.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo de pesquisa está em configuração adequada, apresenta FOLHA DE ROSTO devidamente preenchida, com o título em português, identifica o patrocinador pela pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra a; e 3.4.1 item 16.

Apresenta o TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO em linguagem clara para compreensão dos participantes, apresenta justificativa e objetivo, campo para identificação do participante, descreve de forma suficiente os procedimentos, informa que uma das vias do TCLE será entregue aos participantes, assegura a liberdade do participante recusar ou retirar o consentimento sem penalidades, garante sigilo e anonimato, explicita riscos e desconfortos esperados. Refere indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa, contato do pesquisador e do CEP e informa que os dados da pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador pelo período de cinco anos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466 de 2012, itens: IV letra b; IV.3 letras a,b,d,e,f,g e h; IV. 5 letra d e XI.2 letra f. Apresenta o INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS de forma pertinente aos objetivos delineados e preserva os participantes da pesquisa. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa, estando de acordo com as atribuições definidas no Manual Operacional para CPEs. Apresenta DECLARAÇÃO de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa de acordo com as atribuições definidas na Norma Operacional CNS 001 de 2013 item 3.3 letra h

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, o projeto está aprovado, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: julho de 2020.

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

Continuação do Parecer: 3.244.642

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional N°001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1235676.pdf	21/02/2019 17:49:18		Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	21/02/2019 17:45:34	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_completo.pdf	21/02/2019 17:37:45	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	21/02/2019 17:35:53	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	11/10/2018 20:47:38	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Questionario_EMT.pdf	07/10/2018 20:26:48	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Questionario_demografico.pdf	07/10/2018 20:26:12	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_infraestrutura.pdf	07/10/2018 20:24:38	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Anaelli.pdf	07/10/2018 20:23:15	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Paula.pdf	07/10/2018 20:22:43	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Victor.pdf	07/10/2018 20:22:14	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Marco.pdf	07/10/2018 20:21:38	Jordania Lindolfo Almas	Aceito
Outros	Jordania.pdf	07/10/2018 20:21:04	Jordania Lindolfo Almas	Aceito

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br



UFJF - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE JUIZ DE FORA -
MG



Continuação do Parecer: 3.244.642

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 04 de Abril de 2019

Assinado por:
Jubel Barreto
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N

Bairro: SAO PEDRO

CEP: 36.036-900

UF: MG

Município: JUIZ DE FORA

Telefone: (32)2102-3788

Fax: (32)1102-3788

E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

ANEXO 3 - QUESTIONÁRIO DE SEGURANÇA PARA APLICAÇÃO DE ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA (ROSSI, S. et al. 2009)

PERGUNTAS	SIM	NÃO
1- Você tem epilepsia ou você já teve uma convulsão?		
2- Você já teve algum desmaio ou síncope? Se sim, por favor descreva em que ocasião (s)?		
3- Você já teve um traumatismo craniano que foi diagnosticado como concussão ou foi associado com perda de consciência?		
4- Você tem algum problema auditivo ou zumbido nos ouvidos?		
5- Você tem implantes cocleares?		
6- Você está grávida ou há alguma chance de que você possa estar?		
7- Você tem metal no cérebro, crânio ou em outro lugar em seu corpo? Se sim, especifique o tipo de metal.		
8- Tem um neuroestimulador implantado?		
9- Você tem um marcapasso cardíaco ou linhas intracardíacas?		
10- Você tem um dispositivo de infusão de medicação?		
11- Você está tomando algum medicamento? (Por favor, liste)		
12- Você já passou pela TMS no passado? Se sim, houve algum problema?		
13- Você já passou por ressonância magnética no passado? Se sim, houve algum problema?		

ANEXO 4 – RESUMO APRESENTADO NA MODALIDADE POSTER NA 2ª CONFERÊNCIA NACIONAL DE FISIOTERAPIA ICHC-FMUSP EM 2019

Full title: Does the electrode placement for recording motor evoked potentials matter? A pilot study

Full authors names: Jordânia Lindolfo Almas¹, Anaelli Aparecida Nogueira-Campos², Victor Hugo Souza^{3,4}, Renan Hiroshi Matsuda³, Marco Antonio Cavalcanti Garcia^{1,2,3,*}

¹Programa de Pós-Graduação Departamento de Fisioterapia do Idoso, do Adulto e Materno-Infantil, Faculdade de Fisioterapia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil; ²Laboratório de Neurofisiologia Cognitiva (LabNeuro), Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil; ³Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil; ⁴Department of Neuroscience and Biomedical Engineering, Aalto University School of Science, Espoo, Finland

Objective: Motor potential (MEP) evoked by transcranial magnetic stimulation (TMS) can be recorded using surface electromyography, and parameters such as peak-to-peak amplitude and latency are commonly used as the basis for motor system evaluation. However, it is observed that there is no consensus in the literature regarding the protocol of electrode positioning, which may interfere in the variability of the measurement and, therefore, in the clinical evaluation. Thus, this study (CAEE: 01158218.0.0000.5147) aimed to investigate the variability of MEPs obtained from three different recommendations of electrodes positioning. **Methods:** Seven subjects (5♂; 25-49 years old), all right-handed, participated in the study. Surface electrodes (Ag-AgCl) were positioned on the *biceps brachii* (BB), *flexor carpi radialis* (FCR) and *flexor pollicis brevis* (FPB) muscles of both upper limbs and from three different recommendations: Protocol 1: electrodes on the neuromuscular junction and another on bone prominence (Garcia et al., 2017); Protocol 2: Electrodes on the muscle belly (SENIAM/ISEK); Protocol 3: electrodes on the proximal and distal portions of the muscle (Munneke et al., 2018). The MEPs were recorded from 2-3 protocols simultaneously for each muscle. A minimum of 30 single TMS pulses (Magstim 2002, *eight* coil), separated by an interval of 5-10 seconds, were applied to the *hotspot* of BB with an intensity of 120% of its motor threshold for recording MEPs from the muscles. The surface sEMG signals (gain: 2000x, sampling frequency: 3.5 kHz / channel) were processed and analyzed using the Signal Hunter software (Souza et al., 2015, MATLAB version 8.1 R2013a). **Results:** The data suggest greater MEPs (1.35 to 3.25 × higher than Protocols 2 and 3) for Protocol 1 in contrast to the other two. However, Protocol 3 seemed to provide lower coefficient of variation (16.5%) in comparison with Protocol 1 (52.7%) and Protocol 2 (60.2%). **Conclusion:** The results suggest relevant differences on MEPs amplitude recorded from different spots on the muscles. Since MEPs amplitude and their variance are different among protocols of electrodes positioning, it must be taken into account because they will lead to different resting motor thresholds and, therefore, to different intensities of TMS and number of stimulus to obtain robust central tendency measures.

ANEXO 5 – ARTIGO PUBLICADO A PARTIR DOS DADOS COLETADOS COM O ESTUDO PILOTO

IOP Publishing

Biomed. Phys. Eng. Express 6 (2020) 047003

<https://doi.org/10.1088/2057-1976/ab950a>

Biomedical Physics & Engineering Express



NOTE

Motor potential evoked by transcranial magnetic stimulation depends on the placement protocol of recording electrodes: a pilot study

RECEIVED
15 April 2020

REVISED
14 May 2020

ACCEPTED FOR PUBLICATION
20 May 2020

PUBLISHED
12 June 2020

Marco Antonio Cavalcanti Garcia^{1,2,3} , Victor Hugo Souza^{3,4} , Jordania Lindolfo-Almas¹ , Renan Hiroshi Matsuda³ and Anaelli Aparecida Nogueira-Campos²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação e Desempenho Físico-Funcional, Faculdade de Fisioterapia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

² Laboratório de Neurofisiologia Cognitiva, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

³ Laboratório de Biomagnetismo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil

⁴ Department of Neuroscience and Biomedical Engineering, Aalto University School of Science, Espoo, Finland

E-mail: marco.garcia@ufjf.edu.br

Keywords: motor evoked potential, surface electromyography, corticospinal excitability, transcranial magnetic stimulation, TMS, MEP

Abstract

Objective: There seems to be no consensus in the literature regarding the protocol of surface electromyography (sEMG) electrode placement for recording motor evoked potentials (MEP) in transcranial magnetic stimulation (TMS) applications. Thus, the aim of this study was to investigate the effect on the MEP amplitude by two different protocols for electrode placement. **Methods:** sEMG electrodes were placed on three upper arm muscles (*biceps brachii*, *flexor carpi radialis*, and *flexor pollicis brevis*) of six right-handed subjects following two different protocols (1 and 2), which varied according to the interelectrode distance and location relative to the muscle. TMS pulses were applied to the *hotspot* of *biceps brachii*, while sEMG was recorded from the two protocols and for each muscle simultaneously. **Main Results:** Greater MEP amplitudes were obtained for Protocol 1 compared to Protocol 2 ($P < 0.05$). **Significance:** Different electrode placement protocols may result in distinct MEP amplitudes, which should be taken into account when adjusting the intensity on single and repetitive TMS sessions.

1. Introduction

The amplitude of the motor evoked potential (MEP) recorded with surface electromyography (sEMG) is the most common parameter used for determining the intensity of transcranial magnetic stimulation (TMS) in neurophysiological and treatment approaches. MEP amplitude critically depends on the electrode shape, size, placement relative to the muscle fibers, and on the muscle properties such as fiber architecture and size [1–3]. Although there are some recommendations regarding the use of sEMG for many clinical applications [2, 4–6], to our best knowledge, there is no consensus concerning the protocol of electrode placement for TMS applications. This methodological issue was recently addressed by Garcia *et al* [7], who reinforced the need for standardization on the

electrode placement for recording MEPs. Garcia *et al* [7] suggested that the electrodes should be placed over the neuromuscular junction and a bony prominence for recording MEPs with maximal amplitudes. In turn, the Surface ElectroMyoGraphy for the Non-Invasive Assessment of Muscles (SENIAM) recommendations [2] for surface electrodes placement was the first proposal for the standardization of sensor location with the aim, among other objectives, of minimizing the crosstalk between electrodes by adjusting the interelectrode distance depending on the muscle size. As far as we know, there is no previous data on how conventional electrode placement protocols affect the MEP amplitude. If MEP amplitudes vary depending on the placement protocols, the outcome of research and clinical TMS studies might lead to conflicting results. Thus, the present pilot study investigated the

Table 1. Descriptive data from each participant.

Participant	Age	Gender	rMT _{RH}	rMT _{LH}
1	26	F	41	42
2	49	M	58	60
3	37	M	53	44
4	25	F	56	60
5	18	F	45	47
6	26	F	45	42

Age (years) ; Gender: Female [F] and Male [M]; Resting Motor Thresholds (rMT) for right (RH—non-dominant) and left (LH—dominant) cerebral hemispheres obtained from the minimum TMS intensity to elicit MEPs with at least 100 μ V of peak-to-peak amplitude.

effects of the protocols proposed by SENIAM [2] and Garcia *et al* [7] on the MEP amplitude recorded from three upper limb muscles commonly studied with TMS.

2. Methods

2.1. Participants

Six participants, all free of neurological and motor disorders (4 females; 18–49 years old), participated in this study. They all self-reported as right handed for daily living tasks. This study was approved by the local ethical committee (CAEE: 01158218.0.0000.5147) and followed the Declaration of Helsinki. Informed consent was obtained from all participants prior to the experimental session. The information of each participant is presented in table 1.

2.2. Surface EMG

2.2.1. Montages

Surface EMG signals were recorded from the *biceps brachii* (BB), *flexor carpi radialis* (FCR), and *flexor pollicis brevis* (FPB) of the right and left upper limbs of each subject using an EMG signal amplifier (EMG System do Brasil Ltda, São José dos Campos, Brazil; model: 410C; gain: 2000, sampling frequency: 3.5 kHz per channel; filter: band-pass 4th order Butterworth: 20–500 Hz; A/D converter: 12 Bits). Surface electrodes (silver/silver chloride [Ag-AgCl]; 1 cm diameter; 2223 BRQ-3M) were placed on the three muscles according to two different recommendations. In Protocol 1 [7], electrodes were placed in a pseudo-monopolar montage with one electrode over the muscle's innervation zone and the other over the nearest bony prominence. The muscles' innervation zones were located based on an atlas [8], and confirmed using electrical stimulation (Meridian Energy Acupuncture Pen, Guangzhou Fabulous BYL Beauty Instrument Co., Ltd, China). In Protocol 2, a pair of electrodes were placed on the muscle belly with an interelectrode distance of 1 or 2 cm, depending on the muscle, according to the SENIAM [2]. Figure 1 provides a schematic view of the adopted electrode

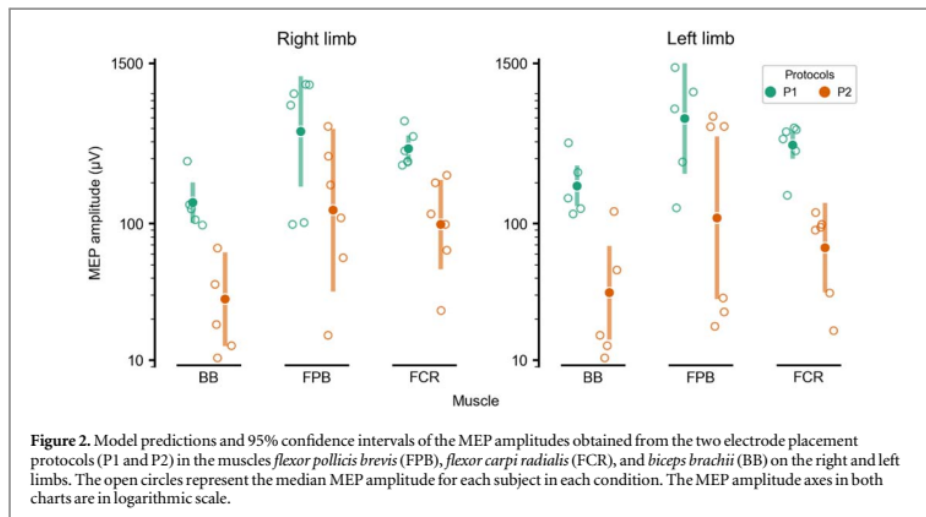
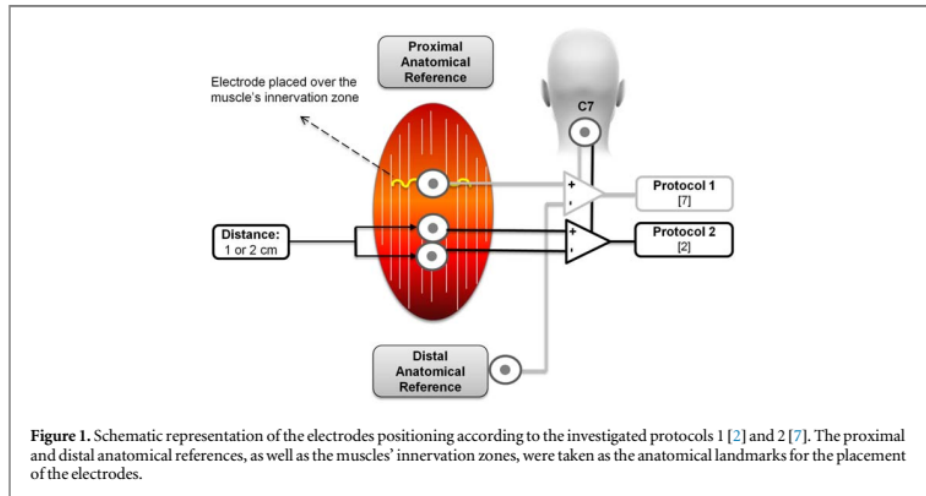
placement protocols. The reference electrode was placed over the cervical prominence C7. The skin was shaved and cleaned with neutral soap and alcohol before the placement of the electrodes.

2.3. TMS

Shoulder and elbow joints were kept on neutral and flexed ($\sim 90^\circ$) positions, respectively, and forearms resting on neutral position on a pillow during the whole experimental session. MEPs were recorded from both protocols (1 and 2) simultaneously for each muscle. Between thirty and forty TMS pulses (Magstim 200², figure-of-eight coil) were applied for 4 min to the BB muscle *hotspot* with an intensity of 120% of the resting motor threshold (rMT) in pseudo-randomized intervals of 5–10 s. The BB muscle was chosen as reference since it has the highest rMT among the three studied muscles [9, 10]. The rMT was defined as the minimum intensity needed to evoke MEPs larger than 100 μ V peak-to-peak amplitude [11, 12] in at least five out of ten pulses. A cap containing a 1-cm² spaced grid positioned over the participant's skull was used to guide the coil placement during the whole recording session. TMS pulses were applied by the same experimenter throughout the sessions. Stimulation on BB muscle *hotspot* consistently evoked MEPs from the three monitored muscles simultaneously. The participants were vision-deprived during the sEMG recording.

2.4. Statistical analysis

The sEMG signals were processed and analyzed using the Signal Hunter [13] software (MATLAB version 8.1 R2013a, Mathworks Inc., Natick, MA, USA). Peak-to-peak amplitude was extracted from the MEPs. A linear mixed model was applied to assess the effects of protocol type, muscles, and limb sides on the natural logarithm of the MEP amplitude. The linear mixed model had a fixed (interaction between protocols, muscles, and limb sides) and a random structure (correlated random intercepts and slopes for protocols and muscles). The random structure was selected based on a sequential testing of hierarchical modelling with each model fit using likelihood ratio tests. The selected model was recomputed using restricted maximum likelihood estimation and p-values estimated using Satterthwaite approximations in a Type III Analysis of Variance. Post-hoc comparisons were performed with estimated marginal means with false discovery rate correction for p-values. The residuals of the model were inspected for deviations from normality and a scale-location plot analyzed to check the assumption of equal variance (homoscedasticity). The analysis was performed in scripts written in R version 3.6 (R Core Team, Vienna, Austria). The level of significance was set at 0.05.



3. Results

The MEP amplitude for each protocol, muscle, and limb side is presented in figure 2. The protocols for electrode placement resulted in different MEP amplitudes depending on the target muscle (protocol \times muscle; $F_{2, 2213.2} = 5.61$; $P < 0.01$). Overall, Protocol 1 generated higher MEP amplitudes than Protocol 2 (protocol; $F_{1, 5.0} = 32.00$; $P < 0.01$). On the FPB muscle, Protocol 1 resulted in MEP amplitudes about 3.8 and 5.3 times higher than in Protocol 2 on the right and left limbs, respectively ($P < 0.01$). For the FCR muscle, Protocol 1 showed MEP amplitudes about 3.6 and 5.6 times higher than in Protocol 2 for the right and left limbs, respectively ($P < 0.05$). Finally, for the BB muscle, Protocol 1 recorded MEP amplitudes 5.1 and 6.1 times higher than Protocol 2 ($P < 0.01$) on the right and left limbs, respectively (figure 2).

4. Discussion

The temporal and spectral contents of the sEMG signal strongly depend on the selected protocol of surface electrodes positioning [1, 3]. Nonetheless, the standards in electrode placement seem to be disregarded by several TMS studies [14–18]. Therefore, in this study, we evaluated two electrode placement protocols: Protocol 1 as suggested by Garcia *et al* [7] and Protocol 2 following the SENIAM recommendations [2]. Our results strongly suggested that the MEP amplitude depends on the electrode placement protocol, which may have a direct impact on comparisons across studies and on TMS treatment outcomes.

Protocol 1 resulted in 3.5 to 6.1 times higher MEP amplitudes compared to Protocol 2 for the three muscles investigated, which is most likely explained by the distinct operating principles of each protocol. Protocol

1 records the MEP in a monopolar configuration over the neuromuscular junctions and would result in a higher probability of action potentials coherent summation when reaching the muscle fibers [7]. The coherent summation leads to MEPs with greater amplitude. It is interesting to note that the adoption of this type of protocol was recently advocated by Stålberg *et al* [19] in neurography evaluations, i.e., when peripheral electrical nervous stimuli are applied. According to the authors, the placement of an electrode on the neuromuscular junction offered more robust latency estimates, which would also be another advantage for this type of protocol in TMS applications. On the other hand, Protocol 2 was designed to reduce the level of crosstalk during signal acquisition using interelectrode distances between 1–2 cm, depending on the muscle. The crosstalk from neighbor muscles contaminates the MEPs recorded in the forearm with conventional EMG montages [20, 21]. In this case, the use of high-density sEMG might provide additional insights for the electrode placement based on the MEP spatial distribution over the entire muscle extent [22]. Even so, the relatively small distance between electrodes in Protocol 2 may offer a reduced volume conductor when recording MEPs even from small muscle, such as the FPB, reducing the total evoked myoelectric activity when compared to Protocol 1.

The MEP amplitude is routinely adopted as a parameter to evaluate the integrity of the corticospinal pathway and in the interpretation of the process of integration and processing of cortical and subcortical areas in healthy and pathological subjects [10, 23]. Thus, the application of different protocols for the electrode placement in studies whose questions are similar could result in diverging outcomes, making it difficult to establish comparisons [24]. In addition, we should point out that the intensity of repetitive TMS (rTMS) is mainly defined relative to the MEP amplitude, and distinct electrode placement protocols may partially explain the divergences found in the literature regarding the efficacy of rTMS in the treatment of patients with similar diagnoses [25, 26], which is probably due to inappropriate dose delivery during the treatment.

We should note that the rMT in our study was adjusted to obtain 100- μ V MEPs which is commonly used in multiple TMS studies [11, 12]. However, distinct adjustment of stimulation intensities may provide a different dependency of the MEP amplitude on the electrode placement.

Finally, our study was performed in a limited number of subjects and assessed only two electrode placement protocols. Nonetheless, the observed differences provide the first evidence that distinct protocols lead to large differences in MEP amplitude, and electrode placement should be carefully considered in brain stimulation studies and clinical applications.

5. Conclusion

Our study fosters the scientific community for the need of a standardized electrode placement on experiments recording MEPs, which seems to be significantly affected by the adopted protocol.

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, Grant 2013/07699-0). This research was also supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq, [Grant number 426861/2016-7] to AANC. VHS is funded by the Jane & Aatos Erkko Foundation. The fundings had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

ORCID iDs

Marco Antonio Cavalcanti Garcia  <https://orcid.org/0000-0002-8225-6573>

Victor Hugo Souza  <https://orcid.org/0000-0002-0254-4322>

Jordania Lindolfo-Almas  <https://orcid.org/0000-0002-7369-0511>

Renan Hiroshi Matsuda  <https://orcid.org/0000-0002-1927-4824>

Anaelli Aparecida Nogueira-Campos  <https://orcid.org/0000-0001-8729-386X>

References

- [1] Lynn P A, Bettles N D, Hughes A D and Johnson S W 1978 Influence of electrode geometry on bipolar recordings of the surface electromyogram *Med. Biol. Eng. Comput.* **16** 651–60
- [2] Hermens H J, Freriks B, Disselhorst-Klug C and Rau G 2000 Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures *J. Electromyogr Kinesiol.* **10** 361–74
- [3] Garcia M A C and Vieira T M M 2011 Surface electromyography: why, when and how to use it *Rev. Andal. Med. Deport.* **4** 17–28
- [4] Groppa S *et al* 2012 A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee *J. Clin. Neurophysiol.* **123** 858–82
- [5] Legatt A D, Emerson R G, Epstein C M, MacDonald D B, Deletis V, Bravo R J and López J R 2016 ACNS guideline: transcranial electrical stimulation motor evoked potential monitoring *J. Clin. Neurophysiol.* **33** 42–50
- [6] Tankisi H, Burke D, Cui L, de Carvalho M, Kuwabara S, Nandedkar S D, Rutkove S, Stålberg E, van Putten M J A M and Fuglsang-Frederiksen A 2020 Standards of instrumentation of EMG *J. Clin. Neurophysiol.* **131** 243–58
- [7] Garcia M A C, Souza V H and Vargas C D 2017 Can the recording of motor potentials evoked by transcranial magnetic stimulation be optimized? *Front Hum Neurosci.* **11** 413
- [8] Barbero M, Merletti R and Rainoldi A 2012 *Atlas of Muscle Innervation Zones* (Milan: Springer)

- [9] Vargas C D, Aballéa A, Rodrigues E C, Reilly K T, Mercier C, Petruzzo P, Dubernanrd J M and Sirigu A 2009 Re-emergence of hand-muscle representations in human motor cortex after hand allograft *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **106** 7197–202
- [10] Garcia M A C, Catunda J M Y, Souza M N, Fontana A P, Sperandei S and Vargas C D 2016 Is the frequency in somatosensory electrical stimulation the key parameter in modulating the corticospinal excitability of healthy volunteers and stroke patients with spasticity? *Neural Plast.* **2016** 3034963
- [11] Nogueira-Campos A A, de Oliveira L A S, Della-Maggiore V, Esteves P O, Rodrigues E C and Vargas C D 2014 Corticospinal excitability preceding the grasping of emotion-laden stimuli *PLoS One* **9** e94824
- [12] Borgomaneri S, Vitale F, Gazzola V and Avenanti A 2015 Seeing fearful body language rapidly freezes the observer's motor cortex *Cortex.* **65** 232–45
- [13] Souza V H, Peres A, Zacharias L and Baffa O 2015 SignalHunter: Software for electrophysiological data analysis and visualization (Version v1.0.0) (<https://doi.org/10.5281/zenodo.1326307>)
- [14] Golaszewski S, Schwenker K, Bergmann J, Brigo F, Christova M, Trinka E and Nardone R 2016 Abnormal short-latency synaptic plasticity in the motor cortex of subjects with Becker muscular dystrophy: a rTMS study *Neurosci. Lett.* **610** 218–22
- [15] Pedapati E V, Gilbert D L, Erickson C A, Horn P S, Shaffer R C, Wink L K, Laue C S and Wu S W 2016 Abnormal cortical plasticity in youth with autism spectrum disorder: a transcranial magnetic stimulation case-control pilot study *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* **26** 625–31
- [16] Tang Z-, Xuan C-, Li X, Dou Z-, Lan Y- and Wen H- 2019 Effect of different pulse numbers of transcranial magnetic stimulation on motor cortex excitability: single-blind, randomized cross-over design *CNS Neurosci. Ther.* **25** 1277–81
- [17] Hannah R, Rocchi L, Tremblay S, Wilson E and Rothwell J C 2020 Pulse width biases the balance of excitation and inhibition recruited by transcranial stimulation *Brain Stimul.* **13** 536–8
- [18] Muellbacher W, Ziemann U, Boroojerdi B, Cohen L and Halltett M 2001 Role of the human motor cortex in rapid motor learning *Exp. Brain Res.* **136** 431–8
- [19] Stålberg E et al 2019 Standards for quantification of EMG and neurography *J. Clin. Neurophysiol.* **130** 1688–729
- [20] Neva J L, Gallina A, Peters S, Garland S J and Boyd L A 2017 Differentiation of motor evoked potentials elicited from multiple forearm muscles: an investigation with high-density surface electromyography *Brain Res.* **1676** 91–9
- [21] Gallina A, Peters S, Jason L, Neva J L, Boyd L A and Garland S J 2017 Selectivity of conventional electrodes for recording motor evoked potentials: an investigation with high-density surface electromyography *Muscle Nerve.* **55** 828–34
- [22] Souza V H, Vieira T M, Peres A S C, Garcia M A C, Vargas C D and Baffa O 2018 Effect of TMS coil orientation on the spatial distribution of motor evoked potentials in an intrinsic hand muscle *Biomed. Tech. (Berl).* **63** 635–45
- [23] Peres A S C et al 2018 Can somatosensory electrical stimulation relieve spasticity in post-stroke patients? A TMS pilot study *Biomed. Tech. (Berl)* **63** 501–6
- [24] Catroflorio T, Farina D, Bottin A, Piancino M G, Bracco P and Merletti R 2005 Surface EMG of jaw elevator muscles: effect of electrode location and inter-electrode distance *J. Oral. Rehabil.* **32** 411–7
- [25] Rollnik J D, Huber T J, Mogk H, Siggelkow S, Kropp S, Dengler R, Emrich H M and Schneider U 2000 High frequency repetitive magnetic stimulation (rTMS) of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenic patients *Neuroreport.* **11** 4013–5
- [26] Saba G, Verdon C M, Kalalou K, Rocamora J F, Dumontier G, Benadhira R, Stamatiadis L, Vicaute E, Lipski H and Januel D 2006 Transcranial magnetic stimulation in the treatment of schizophrenic symptoms: a double blind sham controlled study *J. Psychiatr. Res.* **40** 147–52

ANEXO 6: TABELA CONTENDO A \bar{x} , DP E O coV PARA CADA SUJEITO NOS TRÊS PROTOCOLOS AVALIADOS

SUJEITO	PROTOCOLO	LADO	\bar{x}	DP	coV
1	1	D	133,72	97,55	72,95
1	2	D	407,82	216,73	53,14
1	3	D	39,58	15,21	38,43
1	1	E	145,11	220,97	152,28
1	2	E	409,25	178,2	43,54
1	3	E	73,76	31,9	43,25
2	1	D	116,19	59,11	50,87
2	2	D	522,14	165,64	31,72
2	3	D	82,65	35,81	43,33
2	1	E	200,97	114,01	56,73
2	2	E	258,39	197,91	76,59
2	3	E	178,72	154,52	86,46
3	1	D	833,26	422,47	50,7
3	2	D	1119,31	253,02	22,6
3	3	D	233,4	119,11	51,03
3	1	E	147,5	147,55	100,03
3	2	E	234,66	99,23	42,29
3	3	E	34,3	11,55	33,67
4	1	D	142,52	81,87	57,44
4	2	D	319,95	120,59	37,69
4	3	D	40,84	7,18	17,58
4	1	E	84,88	63,75	75,11
4	2	E	268,78	122,72	45,65
4	3	E	31,17	14,37	46,1
5	1	D	161,17	91,58	56,82
5	2	D	597,14	240,15	40,21
5	3	D	91,63	64,86	70,78
5	1	E	350,43	139,76	39,88
5	2	E	675,01	142,39	21,09

5	3	E	275,82	124,55	45,16
6	1	D	109,33	35,74	32,69
6	2	D	325,97	165,78	50,86
6	3	D	76,84	7,07	9,2
6	1	E	61,25	78,85	128,73
6	2	E	115,83	114,5	98,85
6	3	E	19,43	19,09	98,25
7	1	D	123,52	60,34	48,85
7	2	D	113,51	46,66	41,11
7	3	D	91,15	5,91	6,48
7	1	E	86,65	56,83	65,58
7	2	E	177,92	132,56	74,5
7	3	E	27,43	7,72	28,14
8	1	D	57,08	41,47	72,65
8	2	D	457,65	134,1	29,3
8	3	D	106,23	16,32	15,36
8	1	E	146,96	123,85	84,27
8	2	E	626,64	182,52	29,13
8	3	E	66,59	84,93	127,54

Legenda: \bar{x} : média; DP: desvio padrão; coV: coeficiente de variação.