



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA**

PEDRO HENRIQUE ABRANTES FONSECA

**MODULAÇÃO DA RESPOSTA REFLEXA POR ESTIMULAÇÃO
CUTÂNEA CONTRALATERAL DURANTE A MARCHA EM
SUPERFÍCIES COM DIFERENTES INCLINAÇÕES.**

Brasília – DF

2017

Manuscrito a ser submetido para PLOs ONE

**MODULAÇÃO DA RESPOSTA REFLEXA POR ESTIMULAÇÃO
CUTÂNEA CONTRALATERAL DURANTE A MARCHA EM
SUPERFÍCIES COM DIFERENTES INCLINAÇÕES**

¹Pedro Henrique Abrantes Fonseca, ¹Igor Eduardo Jesus Magalhães, ¹Rinaldo André Mezzarane.

¹ *Laboratório de Processamento de Sinais e Controle Motor, Faculdade de Educação Física, Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Brasil.*

RESUMO

Introdução. Parâmetros de respostas reflexas e de atividade elétrica muscular, tal como o método do reflexo de Hoffman (reflexo H) adquirido por estimulação elétrica no nervo tibial, revelam a atuação das unidades motoras e torna viável avaliar o grau de excitabilidade da via do reflexo de estiramento. As informações cutâneas oriundas de uma resposta reflexa de um certo membro nos músculos contralaterais podem ser capazes de modificar a excitabilidade do reflexo monossináptico no membro oposto. A colocação de diferentes inclinações da base de apoio pode promover alterações a nível medular que permitem o controle do nível de excitabilidade e controle muscular durante a marcha. **Objetivo.** Verificar o efeito do condicionamento cruzado sobre o reflexo H em diferentes inclinações da marcha e avaliar o papel do mecanismo de inibição pré-sináptica na intermediação dos efeitos dos estímulos cutâneos contralaterais. **Métodos.** Participaram 7 voluntários, adultos, entre 18 e 35 anos e fisicamente ativos. Os sujeitos andaram sobre uma esteira computadorizada a 3 km/h por 3 minutos em cada inclinação: plano (PL), rampa para cima (RC) e rampa para baixo (RB). Os estímulos elétricos foram aplicados no nervo tibial por um eletrodo bipolar localizados na fossa poplíteia, para evocar o reflexo H no músculo sóleo. Um trem de 5 pulsos foi aplicado a 333 Hz na região dorsal do pé contralateral para estimulação cutânea do nervo fibular com intensidade igual a 3x o limiar de percepção. **Resultados.** Não houve diferenças significativas nos resultados da estimulação cutânea contralateral, ou seja, a estimulação contralateral não gerou inibição na amplitude do reflexo H do músculo sóleo em comparação com a amplitude do reflexo H sem estímulo cutâneo. Também não houve diferenças significativas entre a amplitude de reflexo H nos diferentes planos de apoio (PL, RC, RB) durante a marcha.

Palavras-chave: sóleo, reflexo h, inclinações

INTRODUÇÃO

O reflexo de estiramento muscular é indispensável para o controle do tônus muscular em diversas condições, mantendo e controlando a eficiência na execução dos movimentos, resguardando estruturas como músculos e articulações contra lesões, futuras ou reincidentes (Lephart, 2002). A excitabilidade da via reflexa pode ser alterada por meio de treinamento e estilo de vida (Zech *et al.*, 2010). Contudo, os mecanismos neurofisiológicos responsáveis por estas adaptações ainda são pouco conhecidos e pouco explorados no contexto do esporte.

As informações cutâneas provenientes de uma resposta reflexa de um dado membro nos músculos contralaterais (isto é, reflexo ou efeito cruzado) modificam a excitabilidade do reflexo monossináptico no membro oposto (Delwaide *et al.*, 1981; Zehr, 2002). A estimulação elétrica não-nociva dada ao organismo faz com que campo receptivo do pé evoque reflexos bilaterais, que são fisiologicamente relevantes para gerar atividades musculares na locomoção ou a estabilização da postura em resposta a perturbações inesperadas durante a caminhada (Haridas *et al.*, 2005).

O sinal e a amplitude do reflexo cutâneo durante o movimento locomotor em humanos dependem fortemente da fase locomotora na qual o reflexo é evocado (Knikou, 2010). Semelhante às respostas não cruzadas, o reflexo cruzado produzido nos músculos dos membros inferiores por estimulação cutânea no pé durante a caminhada, mostram forte dependência de fase de apoio (fase em que o pé está em contato com a superfície) (Sakamoto *et al.*, 2006). Embora a estimulação do nervo que inerva o membro contralateral também afeta a excitabilidade do Reflexo H (um homólogo elétrico do reflexo de estiramento) (Suzuki *et al.*, 2014), não é bem compreendido como o sinal ou a extensão do efeito cutâneo cruzado interfere sobre o reflexo H e como ele é modificado durante as diferentes fases da caminhada.

A imposição de inclinações da base de apoio durante a marcha promove alterações neurofisiológicas que permitem o controle do nível de contração muscular (Mezzarane *et al.*, 2013). Estas alterações podem ser avaliadas por meio de paradigmas experimentais que envolvem medidas da excitabilidade de

vias reflexas (Mezzarane *et al.*, 2013). Por exemplo, o ganho da via do reflexo de estiramento é modulado ao longo da marcha para ajustar a atividade dos músculos envolvidos na propulsão e na estabilidade postural (músculos posturais, principalmente aqueles em torno da articulação do tornozelo) (Capaday e Stein, 1986). Esta via reflexa recebe ainda influências de inúmeras fontes, como vias descendentes (de centros supra-segmentares) e periféricas (por exemplo, aferentes cutâneas do membro ipso e contralateral) (Mezzarane *et al.*, 2013). A substancial convergência neuronal proveniente de outras fontes evidencia a importância do reflexo de estiramento para o controle motor, além de ajudar a explicar sua dependência da tarefa (p. ex., postura ereta quieta *versus* a marcha) e da fase do movimento (p. ex., fase de apoio e fase de balanço durante a marcha) (Capaday e Stein, 1986). Tem sido demonstrado que o ganho do reflexo H do músculo sóleo é menor durante a marcha em rampa para cima (RC) em comparação ao plano (PL) e rampa para baixo (RB), especialmente durante o início da fase de apoio (Simonsen *et al.*, 1995).

Os resultados de Simonsen *et al.* (1995) indicam que durante a marcha, a relação do reflexo H com a ativação muscular voluntária é diferente em comparação à posição estática. Regiões do sistema nervoso central e vias aferentes somatossensoriais são responsáveis pela modulação reflexa, mas a contribuição de cada uma destas fontes ainda não foi totalmente elucidada em diferentes contextos motores. Por exemplo, aferentes cutâneas do membro contralateral modulam a excitabilidade do reflexo H durante a marcha, possivelmente por meio de um mecanismo pré-sináptico (Suzuki, Nakajima, Futatsubashi, Mezzarane, Ohtsuka, Ohki e Komiyama, 2016). Contudo, ainda não foi estudada a contribuição destas aferentes em situações ambientais que impõem algumas demandas biomecânicas (p. ex., marcha em planos inclinados), onde existe uma evidente adaptação neurofisiológica na medula espinhal (Simonsen *et al.*, 1995). Baseado nisso, o objetivo deste estudo é investigar como as aferentes cutâneas do membro contralateral modulam o reflexo H em diferentes inclinações da base de apoio e contribuir para o melhor entendimento da organização neuronal de efeitos cruzados na medula espinhal, que são fundamentais para uma ação coordenada dos músculos do membro inferior durante a marcha. Como hipótese, sugere-se que a

estimulação das aferentes cutâneas do membro contralateral será capaz de gerar uma inibição do reflexo H do músculo sóleo, durante a marcha em diferentes inclinações (RC, RB e PL).

Métodos

Amostra

Foram avaliados sete voluntários, fisicamente ativos, sem histórico de doenças do aparelho locomotor que assinaram um termo de consentimento aprovado por um comitê de ética local.

Aquisição de dados

Dois canais de eletromiografia do sistema MEB 2300 (Nihon-Kohden, Japão) serão utilizados. O sinal foi captado por meio de eletrodos de superfície (1 cm de diâmetro) posicionados no músculo sóleo e tibial anterior, com espaçamento de 2 cm entre eles. A taxa de amostragem do sinal eletromiográfico (EMG) foi de 2 kHz. A banda do filtro foi de 20 Hz-1000 Hz.

Estimulação

Os estímulos elétricos (pulso retangular com 1 ms de duração) foram aplicados no nervo tibial por um eletrodo bipolar de superfície com contatos de 2 cm de diâmetro localizados na fossa poplítea, para evocar o reflexo H no músculo sóleo. Um trem de 5 pulsos com 1 ms de duração cada foi aplicado a 333 Hz na região dorsal do pé contralateral para estimulação cutânea do nervo fibular com intensidade igual a 3x o limiar de percepção (Suzuki, Nakajima, Futatsubashi, Mezzarane, Ohtsuka, Ohki e Komiyama, 2016).

Processamento de sinais

Após a aquisição, os sinais foram convertidos para ASCII e processados em ambiente Matlab (Math Works). As amplitudes pico-a-pico dos reflexos H foram normalizadas pela resposta motora máxima (Mmax).

Procedimentos Experimentais

Os sujeitos andaram sobre uma esteira computadorizada TK 35 (Cefise) a 3 km/h por 3 minutos em cada inclinação: PL, RC e RB (estas duas últimas com 8% de inclinação: $\sim 4,5^\circ$). Sinais de sensores *footswitch* (Flexiforce, Tekscan) fixados nas regiões anterior e posterior da sola dos pés foram utilizados para separar as fases de apoio e balanço nos EMGs. O percentual das fases com relação ao ciclo completo foi calculado em ambiente Matlab. Foi estimado o tempo correspondente a 10% do ciclo total (início da fase de apoio) no qual foi liberado o estímulo que evocou o reflexo H. O estímulo cutâneo contralateral foi evocado 100 ms antes do estímulo teste (Suzuki, Nakajima, Futatsubashi, Mezzarane, Ohtsuka, Ohki, Zehr, *et al.*, 2016). Para tanto, os sujeitos andaram sobre a esteira e os estímulos testes e condicionantes foram liberados de maneira aleatória, a cada 2, 3 ou 4 passos (selecionados aleatoriamente). Para cada sujeito, 20 respostas H condicionadas e 20 respostas H controle foram obtidas. Antes de iniciar os testes com marcha, 20 reflexo H teste com amplitude de 20-30% da Mmax e 20 condicionados pelo estímulo contralateral foram obtidos.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no Programa SPSS versão 17.0. Inicialmente, os pressupostos de normalidade dos dados foram verificados pelo teste de Shapiro-Wilk. Como os pressupostos de normalidade foram confirmados, uma análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas de dois fatores (3 inclinações *versus* 2 hs – controle e condicionado) foi utilizada para detectar possíveis diferenças entre as amplitudes do reflexo H controle (sem

condicionamento) e dos reflexos H condicionados pelo estímulo contralateral em cada uma das inclinações. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Resultados

Os dados relativos as médias e desvio padrão para as amplitudes de reflexo H nas condições controle e com condicionamento estão apresentados na Tabela 1. Não foram encontradas diferenças significativas entre as amplitudes do reflexo H e da onda M em cada inclinação, quando comparadas as condições controle e a condição com estímulos condicionantes

Também não foi possível detectar diferenças significantes quando se comparou as diferentes condições de inclinação entre si.

	PL		RC		RB	
	Média (DP)		Média (DP)		Média (DP)	
	Cont	Cond	Cont	Cond	Cont	Cond
Amplitude H	20,93 (8,91)	21,79 (8,78)	22,13 (10,31)	20,49 (8,72)	26,93 (8,23)	25,96 (7,34)
Amplitude M	7,43 (6,70)	7,57 (7,33)	12,56 (11,65)	12,58 (11,09)	7,57 (5,42)	7,27 (4,97)

Tabela 1. Média e desvio padrão das amplitudes controle e condicionadas do reflexo H e da onda M.

Os dados expostos no figura 1 mostram as amplitudes pico-a-pico do reflexo H nas diferentes inclinações (PL, RC, RB), com sua respectiva onda M. Note que as amplitudes de onda M, utilizadas para controle e normalização, estão estáveis.

Comparando as diferentes inclinações, nota-se que a onda M da situação RC está com a amplitude maior do que as demais. Segundo Lay *et al.* (2007), em situação de plano inclinado para cima, a atividade muscular captada no EMG, principalmente dos músculos sóleo e gastrocnêmio medial, é consideravelmente aumentada em relação a outros planos, com pico superior no final da fase de apoio. A situação RB mostrou uma amplitude de reflexo H maior nas duas condições em relação as demais. Isto pode ser consequência de uma alteração durante a calibração do reflexo H, que diferentemente das outras condições, está calibrado com amplitude equivalente a 30-40% do Mmax, mostrando-se maior nas duas condições (cont e cond).

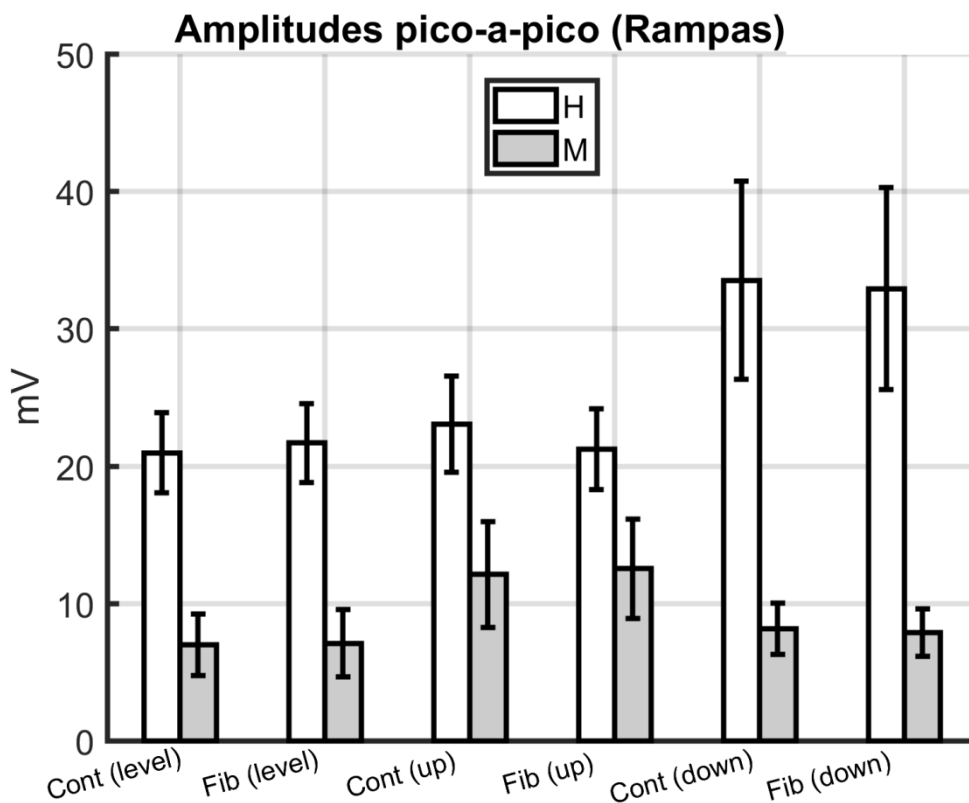


Figura 1. Amplitudes (mV) controle e condicionadas do reflexo H e da onda M nos diferentes planos de apoio.

Discussão

Os resultados do presente estudo não foram suficientes para confirmar a hipótese inicial: estimulação das aferentes cutâneas do membro contralateral com uma possível modulação inibitória do reflexo H do músculo sóleo durante a marcha em diferentes inclinações (RC, RB e PL). Quando se comparou as condições controle e condicionado em cada plano, também não houve diferença significativa em relação a amplitude do reflexo H. De acordo com Suzuki *et al.* (2014) seria possível observar uma redução da amplitude do reflexo H, ou seja, um efeito inibitório após estímulo cutâneo no nervo fibular do membro contralateral quando comparado com a condição controle.

Suzuki *et al.* (2016) sugere que um mecanismo de modulação pré-sináptico seja responsável pela inibição do reflexo H observada em seu estudo. Este mecanismo já foi confirmado em quadrúpedes (gatos), comprovando a hipótese da existência de mecanismos centrais de controle localizados na medula espinhal capazes de coordenar movimentos automatizados, como a caminhada (Frank e Fuortes, 1957; Clements *et al.*, 1987). Porém, no presente estudo, como não possível verificar uma inibição do reflexo H, revela que o método utilizado não foi capaz de gerar efeitos semelhantes aos efeitos já demonstrados.

Algumas diferenças podem ser apontadas entre o presente estudo e o de Suzuki *et al.* (2014), entre elas uma diferença na duração do intervalo entre estímulos durante o trem pulsos (5 pulsos) do estímulo cutâneo utilizado: 2 ms no presente estudo, comparado a 3 ms utilizados no estudo de Suzuki. Essa diferença, mesmo que pequena, pode ter causado a divergência entre os resultados. Uma possível explicação para esta divergência é: as células nervosas transmitem informações umas para as outras por meio de impulsos elétricos denominados potenciais de ação (Popovic, 2004). Em um determinado momento a célula é despolarizada, aumentando a diferença de potencial da membrana celular que apresentará uma variação da intensidade limiar para gerar um novo potencial de ação, produzindo um período refratário absoluto (Hodgkin e Huxley, 1952), no qual não será possível deflagrar outro potencial de ação nesse intervalo (efeito tudo ou nada) (Bean, 2007). Após o período

refratário absoluto, ocorre a saída do íon potássio, onde a membrana eleva seu limiar de despolarização, necessitando de maior corrente para que ocorra uma nova despolarização, chamado de período refratário relativo (Davies *et al.*, 2002). Todo esse ciclo tem duração de 4 ms, somando o período refratário absoluto e relativo (Purves, 2008).

Baseando-se no efeito do período refratário (Bean, 2007) onde a célula fica temporariamente inabilitada para novos estímulos, se o intervalo entre os estímulos durante o trem de pulsos do estímulo cutâneo não respeitar este intervalo, possivelmente os estímulos não vão ter efeito e, portanto, os efeitos fisiológicos esperados podem não ocorrer. A soma dos tempos do início do pulso até a geração de outro é de 3 ms (1 ms de pulso mais 2ms de intervalo). Baseando-se no tempo médio do potencial de ação (Purves, 2008) o tempo entre um estímulo e outro deveria ser no mínimo 4 ms, respeitando os dois períodos refratários (relativo e absoluto).

Ainda pode-se inferir que para confirmar os resultados dos estudos anteriores, os estímulos com o tempo de duração total de 3ms deveriam aumentar progressivamente sua intensidade durante o trem de pulsos, pois a proximidade entre os estímulos que possuem mesma intensidade pode não estar conseguindo superar o limiar da membrana recém despolarizada, já que o limiar aumenta imediatamente após uma despolarização (Davies *et al.*, 2002).

Uma outra hipótese para as possíveis alterações foi proposta por Suzuki *et al.*, (2016) que verificou os efeitos inibitórios da estimulação do nervo cutâneo nas mãos e pé contralateral na amplitude do reflexo H do sóleo, durante a fase inicial da marcha variando dependendo do local do nervo estimulado. Esses efeitos foram confirmados somente em caminhada, pois foi constatado que estas diferenças não se aplicaram com o sujeito parado, em pé. Essas descobertas sugeriram que os efeitos de condicionamento cutâneo submetido no reflexo H do sóleo difere dependendo do membro e local do nervo que está sendo estimulado devido a diferenças nas sensibilidades das vias de reflexo H (Suzuki *et al.*, 2016). Tais efeitos só ocorreram durante a caminhada e possibilita a hipótese de que a estimulação deve ocorrer sobre locais pontuais onde foram colocados os eletrodos de estimulação cutânea, e podem não ter gerado as resposas fisiológicas que gerariam caso estivessem em outro local próximo.

Conclusão

O presente estudo demonstrou que a estimulação cutânea contralateral não gerou inibição no reflexo H do músculo sóleo quando comparados com a amplitude do reflexo H sem estímulo cutâneo. Também não foram constatadas diferenças significativas entre as amplitudes de reflexo H em diferentes planos de apoio (PL, RC, RB) durante a marcha. Conclui-se, portanto, que com supedâneo em estudos recentes que o paradigma aplicado não foi suficientemente eficaz para conceber os efeitos fisiológicos esperados. Considerando os resultados atuais e a existência do período refratário, sugere-se a execução de novos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

BEAN, B. P. The action potential in mammalian central neurons. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 451-465, 2007. ISSN 1471-003X.

CAPADAY, C.; STEIN, R. Amplitude modulation of the soleus H-reflex in the human during walking and standing. **Journal of Neuroscience**, v. 6, n. 5, p. 1308-1313, 1986. ISSN 0270-6474.

CLEMENTS, J.; FORSYTHE, I.; REDMAN, S. Presynaptic inhibition of synaptic potentials evoked in cat spinal motoneurons by impulses in single group Ia axons. **The Journal of physiology**, v. 383, n. 1, p. 153-169, 1987. ISSN 1469-7793.

DAVIES, A.; BLAKELEY, A. G.; KIDD, C. Fisiologia humana. **Porto Alegre: Artmed**, 2002.

DELWAIDE, P.; TOULOUSE, P.; CRENNNA, P. Hypothetical role of long-loop reflex pathways. **Stereotactic and Functional Neurosurgery**, v. 44, n. 1-3, p. 171-176, 1981. ISSN 1011-6125.

FRANK, K.; FUORTES, M. Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes. Federation Proceedings, 1957, FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998. p.39-40.

HARIDAS, C.; ZEHR, E. P.; MISIASZEK, J. E. Postural uncertainty leads to dynamic control of cutaneous reflexes from the foot during human walking. **Brain research**, v. 1062, n. 1, p. 48-62, 2005. ISSN 0006-8993.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. **The Journal of physiology**, v. 117, n. 4, p. 500-544, 1952. ISSN 1469-7793.

KNIKOU, M. Neural control of locomotion and training-induced plasticity after spinal and cerebral lesions. **Clinical Neurophysiology**, v. 121, n. 10, p. 1655-1668, 2010. ISSN 1388-2457.

LAY, A. N. et al. The effects of sloped surfaces on locomotion: an electromyographic analysis. **Journal of biomechanics**, v. 40, n. 6, p. 1276-1285, 2007. ISSN 0021-9290.

LEPHART, S. **Como restabelecer o controle neuromuscular: Técnicas de reabilitação em medicina esportiva**. Barueri: Manole 2002.

MEZZARANE, R. A. et al. Experimental and simulated EMG responses in the study of the human spinal cord. In: (Ed.). **Electrodiagnosis in new frontiers of clinical research**: InTech, 2013.

POPOVIC MR, Thrasher TA. Neuroprostheses. In: Bowlin GL, Wnek G, editors. **Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering**. New York: Informa healthcare; 2004. p. 1056-65.

PURVES D, Fitzpatrick D, Hall WC. **Neuroscience 4ed**. 2008. p. 938.

SAKAMOTO, M. et al. Modulations of interlimb and intralimb cutaneous reflexes during simultaneous arm and leg cycling in humans. **Clinical Neurophysiology**, v. 117, n. 6, p. 1301-1311, 2006. ISSN 1388-2457.

SIMONSEN, E. B.; DYHRE-POULSEN, P.; VOIGT, M. Excitability of the soleus H reflex during graded walking in humans. **Acta Physiologica**, v. 153, n. 1, p. 21-32, 1995. ISSN 1365-201X.

SUZUKI, S. et al. Phase-dependent reversal of the crossed conditioning effect on the soleus Hoffmann reflex from cutaneous afferents during walking in humans. **Experimental brain research**, v. 234, n. 2, p. 617-626, 2016. ISSN 0014-4819.

SUZUKI, S. et al. Soleus Hoffmann reflex amplitudes are specifically modulated by cutaneous inputs from the arms and opposite leg during walking but not standing. **Experimental brain research**, v. 234, n. 8, p. 2293-2304, 2016. ISSN 0014-4819.

SUZUKI, S. et al. Differential regulation of crossed cutaneous effects on the soleus H-reflex during standing and walking in humans. **Experimental brain research**, v. 232, n. 10, p. 3069-3078, 2014. ISSN 0014-4819.

ZECH, A. et al. Balance training for neuromuscular control and performance enhancement: a systematic review. **Journal of athletic training**, v. 45, n. 4, p. 392-403, 2010. ISSN 1062-6050.

ZEHR, P. E. Considerations for use of the Hoffmann reflex in exercise studies. **European journal of applied physiology**, v. 86, n. 6, p. 455-468, 2002. ISSN 1439-6319.