

## MODULAÇÃO DIFERENCIAL NA CIRCUITARIA DE INIBIÇÃO PRÉ-SINÁPTICA DURANTE CONTRAÇÕES ISOMÉTRICAS E NÃO ISOMÉTRICAS DE FLEXÃO PLANTAR

F. H. Magalhães\*, \*\*, L. A. Elias\*\*, C. R. Silva\*\* e A. F. Kohn\*\*

\* Laboratório de Ciências da Atividade Física - Escola de Artes, Ciências e Humanidades, USP

\*\* Laboratório de Engenharia Biomédica - Escola Politécnica, PTC, USP

e-mail: fhmagalhaes@usp.br

**Resumo:** A manutenção de contrações isométricas (i.e. tarefa de força, TF) e não isométricas (i.e. tarefa de posição, TP) tem sido usada para investigar diversos mecanismos associados ao controle e ao desempenho motor. O objetivo desse estudo foi investigar a influência do tipo de tarefa (TF vs TP) na modulação da inibição pré-sináptica (IPS) nas vias Ia associadas aos motoneurônios do músculo Soleus (SO), através da avaliação da atenuação do reflexo-H do SO em resposta à aplicação de estímulos condicionantes no nervo fibular (NF). Os sujeitos (em posição sentada) foram instruídos a realizar contrações isométricas (i.e. TF, com *feedback* visual do torque exercido) e não isométricas (i.e. TP, com *feedback* visual da posição do tornozelo) de forma a manter a força ou o ângulo do tornozelo em níveis-alvo ajustados a ~10% da força máxima para TF e a 90° para TP. Reflexos-H não condicionados (i.e. reflexos controle) e reflexos-H condicionados por pulsos elétricos aplicados ao NF (com intervalos entre o estímulo teste e o condicionante de 21 e 100 ms, correspondentes às inibições D1 e D2, respectivamente) foram obtidos de forma aleatória. Os principais resultados mostraram que os reflexos-H foram mais susceptíveis à IPS durante a TF em comparação à TP, indicando que influências centrais e/ou periféricas que atuam sobre a circuitaria de IPS diferem entre TF e TP. Os níveis reduzidos de IPS evocados durante TP sugerem que, em comparação às tarefas isométricas, há uma maior dependência das informações provenientes dos fusos neuromusculares quando o sistema atua no controle de forças não isométricas.

**Palavras-chave:** reflexo-H, inibição pré-sináptica, força, posição, tornozelo

**Abstract:** The maintenance of steady isometric (force task, FT) and anisometric (position task, PT) contractions has been used to investigate several mechanisms underlying motor control and performance. This study aimed at investigating the influence of the type of motor task (i.e. FT vs PT) on the modulation of Ia presynaptic inhibition (PSI) acting on Ia afferents that excite Soleus (SO) motoneurons. This was obtained by assessing the amplitude decrease of the SO H-reflex following conditioning stimuli applied to the common peroneal nerve (CPN). Subjects (in seated position) performed isolated plantarflexion contractions

*isometrically (i.e. during FT, with visual feedback of exerted torque) and anisometrically (i.e. during PT, with visual feedback of ankle position), while instructed to maintain their force or angle at target levels set at ~10% of maximal force for FT and at 90° for PT. Unconditioned H-reflexes (i.e. control reflexes) and H-reflexes conditioned by electrical pulses applied to the CPN with conditioning-to-test (C-T) intervals of 21 ms and 100 ms (corresponding to D1 and D2 inhibitions, respectively) were evoked in a random fashion. The main results showed that H-reflexes were more prone to PSI during FT as compared to PT, irrespective of the C-T interval (i.e. D1 and D2 inhibitions), indicating that central and/or peripheral influences impinging onto primary afferent depolarization interneurons differ between FT and PT. The reduced level of evoked PSI during PT suggests that, in comparison to isometric tasks, there is a larger reliance of information from muscle spindles when the neuromuscular system is required to control plantarflexion anisometric contractions.*

**Keywords:** H-reflex, presynaptic inhibition; force; position; ankle

### Introdução

Dois tipos de tarefas motoras que requerem diferentes estratégias de controle neuromuscular têm sido usadas para investigar diversos mecanismos associados ao controle e ao desempenho motor [1]. A primeira delas, chamada de tarefa de força (TF), requer que o sujeito exerça uma determinada força contra um obstáculo rígido, de forma a manter um nível alvo de força por meio de uma contração isométrica. A segunda, chamada de tarefa de posição (TP), requer que o sujeito mantenha a articulação em uma determinada posição, suportando uma carga inercial por meio de uma contração não isométrica.

A circuitaria de inibição pré-sináptica (IPS) que atua sobre os terminais aferentes primários (terminais Ia) tem sido amplamente investigada, em diferentes músculos, através da quantificação da mudança na amplitude do reflexo de Hoffman (reflexo-H) quando estímulos condicionantes são aplicados ao nervo do músculo antagonista com intervalos apropriados entre o estímulo

teste e o estímulo condicionante (intervalo C-T) [2]. Com esse paradigma, Baudry e colaboradores [3] mostraram que as amplitudes maiores do reflexo-H dos músculos flexores e extensores do carpo que foram observadas durante TP (em comparação a TF) estavam associadas a uma modulação diferencial na circuitaria de IPS. Dessa forma, esses resultados indicaram que, na manutenção de contrações dos músculos da mão, um maior ganho na via reflexa monossináptica durante a TP está associado a níveis reduzidos de IPS atuando sobre os terminais Ia que se conectam aos motoneurônios.

Surpreendentemente, não encontramos na literatura investigações acerca da regulação do influxo aferente Ia pela IPS durante contrações isométricas (TF) e não isométricas (TP) de *músculos do membro inferior*. Diversos aspectos relacionados a mecanismos centrais e periféricos responsáveis pelo controle neuromuscular de contrações sustentadas variam de acordo com o músculo estudado. Por exemplo, o *pool* de motoneurônios do músculo *Soleus* (SO) recebe comandos de projeções corticoespinhais mais fracos se comparado a músculos de membros superiores como extensores da mão e dos dedos [4]. Adicionalmente, diferente de músculos dos membros superiores, o músculo SO é composto principalmente de fibras musculares do tipo I (lentas) e exerce um papel importante na manutenção do controle postural, mas também é capaz de exercer forças repetidas durante atividades de alta velocidade [5]. Uma vez que a circuitaria de IPS pode ser modulada tanto por influências periféricas quanto centrais [2], não é possível prever facilmente se o músculo SO apresenta uma modulação da IPS dependente do tipo de tarefa assim como a reportada por Baudry e colaboradores [3] para músculos da mão.

Portanto, o objetivo desse estudo foi investigar a influência do tipo de tarefa (TF vs TP) na modulação da circuitaria de IPS nas vias Ia associadas aos motoneurônios do SO, através da avaliação da depressão do reflexo-H do SO em resposta à aplicação de estímulos condicionantes no nervo fibular (NF). Adicionalmente à clássica inibição D1 (i.e. com intervalos C-T ao redor de 21 ms) outro intervalo C-T, correspondente à inibição D2 (de 100 ms), será investigado. A inibição D2 tem sido usada em uma variedade de protocolos para induzir IPS sem a interferência de efeitos pós-sinápticos [2]. Portanto, é de interesse investigar tanto as respostas inibitórias D1 e D2, com intuito de se comparar diferentes métodos usados para indução de IPS nos terminais aferentes Ia.

## Materiais e métodos

**Sujeitos** - Participaram voluntariamente desta pesquisa 10 sujeitos destros, sendo 5 do sexo feminino e 5 do sexo masculino, com idades entre 18 e 39 anos ( $27,9 \pm 7,8$ ) (média  $\pm$  desvio padrão). Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do ICB-USP protocolo CAAE-0039.0.019.000-11.

**Aquisição e estimulação** – Os eletromiogramas (EMGs) dos músculos *Soleus* (SO), *Gastrocnêmio Medial*, *Gastrocnêmio Lateral*, *Tibial Anterior* (TA), *Vasto Lateral* e *Semitendinoso* foram obtidos por eletrodos de superfície (Ag-AgCl, 0,8 cm de diâmetro, com distância de 2 cm entre os contatos) em configuração bipolar. Os sinais de EMG foram amplificados e filtrados (5 Hz a 2 kHz) por um sistema MEB-2300K (Nihon-Kohden, Japão) e então enviados a um conversor A/D (National Instruments, Austin, TX) para aquisição com taxa de amostragem de 2 kHz. Os dados foram armazenados em disco rígido para posterior análise.

Respostas motoras por estimulação direta de vias eferentes (ondas-M), assim como as respostas reflexas (reflexo-H) foram obtidas por estimulação elétrica (pulsos retangulares, 1 ms de duração) aplicada sobre o nervo tibial (NT) por eletrodos de superfície (área = 2 cm<sup>2</sup>) posicionados na fossa poplíteia. Para avaliação das inibições D1 e D2, estímulos condicionantes foram aplicados sobre o nervo fibular (NF) na altura da cabeça da fíbula. A intensidade dos estímulos condicionantes foi de 1,1 vezes o limiar motor (LM), com LM definido como sendo a menor intensidade suficiente para que fosse obtida uma onda-M observável no músculo TA. Um programa em ambiente LabView (National Instruments, USA) foi utilizado para geração de pulsos de sincronismo que controlaram os protocolos de estimulação descritos a seguir.

**Arranjo experimental** – Os sujeitos permaneceram, de forma confortável, sentados em uma cadeira apropriada para medição do torque de flexão plantar durante contrações isométricas (i.e. TF) e para medição da posição angular da articulação do tornozelo durante contrações não isométricas (i.e. TP). Na TF, o pé direito dos sujeitos foi preso a um pedal fixo a uma célula de carga (Transtec N320, Brasil) por uma haste perpendicular ao apoio do pé. Os sujeitos foram instruídos a manter um nível constante de flexão plantar isométrica por 57 s, com *feedback* visual do sinal da célula de carga apresentado em um monitor (com valor alvo correspondente ~10% da força de flexão plantar isométrica máxima, MVC). O ganho do sinal de força no monitor foi mantido constante em todos os experimentos, sendo a linha de torque alvo ajustada no centro do monitor. Na TP, o sujeito sustentava, por um torque gerado na articulação do tornozelo, uma massa conhecida suspensa por um cabo de aço (o experimentador ajustava a carga de forma que a amplitude do EMG do músculo SO era equivalente àquela observada em TF). Para tanto, foi adaptada à estrutura mecânica utilizada na TF um sistema de roldanas de alta qualidade, cabo de aço especial e massas, de forma a permitir que o pé controlasse livremente uma carga, tentando mantê-la com a menor movimentação possível. Nessa tarefa, os sujeitos eram instruídos a manter, durante 57 s, o ângulo da articulação do tornozelo em 90° através de um *feedback* visual calculado a partir do sinal de um acelerômetro

(ADXL103CE, Analog Devices) fixado à superfície inferior do pedal. Em ambas as tarefas, a articulação do joelho permaneceu totalmente estendida.

**Procedimentos** – Inicialmente, a máxima amplitude da onda-M (Mmax) do músculo SO foi estimada para cada sujeito. Para tanto, ao menos 5 ondas Mmax foram obtidas em resposta à aplicação de estímulos supramáximos (a 0,2 Hz) no NT, enquanto os sujeitos realizavam a TF (i.e. contrações isométricas a ~10% MVC). A amplitude pico-a-pico da onda Mmax foi estimada “online” com o uso de um osciloscópio (Hewlett Packard, Colorado Springs, CO), a partir da observação dos sinais de EMG não retificados do músculo SO. O valor da Mmax foi definido como sendo o máximo valor de amplitude pico-a-pico das ondas Mmax.

Finalmente, os sujeitos realizaram TF e TP concomitante a um paradigma de estimulação adequado para avaliar a modulação das inibições D1 e D2 sobre o reflexo-H do SO. Durante esses experimentos, respostas reflexas (reflexo-H) eram geradas a 0,25 Hz, a fim de permitir que os participantes tivessem tempo suficiente para retonar ao valor alvo de força/ângulo após a perturbação causada pela geração do reflexo (i.e. abalo muscular). No início de cada repetição (tanto em TF quanto em TP), cinco reflexos não condicionados (i.e. controle) eram gerados. Esses reflexos foram usados para que o experimentador pudesse ajustar a amplitude dos reflexos controle (utilizando a visualização no osciloscópio), de forma a obter reflexos não condicionados com amplitude pico-a-pico correspondente a ~20% da Mmax (essas respostas foram descartadas da análise final). Então, reflexos-H controle (i.e. não condicionados) e reflexos-H condicionados por estímulo elétrico (com 1 ms de duração e 1,1 MT de intensidade) aplicado sobre o NF com intervalo C-T de 21 ou 100 ms (correspondendo a inibição D1 e D2, respectivamente) foram gerados de forma aleatória. Sendo assim, dentro de uma repetição de 57 s, um total de três reflexos válidos foram obtidos para cada condição (controle, D1 e D2). Os sujeitos realizaram sete repetições em TF e sete repetições em TP, resultando em um total de 21 reflexos para cada condição experimental. A ordem de apresentação das tarefas (i.e. TF e TP) foi balanceada entre os sujeitos.

**Análise dos dados** – A fim de avaliar a efeito do tipo da tarefa (i.e. TF e TP) sobre as inibições D1 e D2, a porcentagem de inibição (PDI) foi medida para cada condicionamento. Assim, os reflexos-H condicionados foram expressos em PDI, conforme a seguinte expressão:

$$PDI = [(m\u00e9dia\ do\ controle - m\u00e9dia\ do\ condicionado) / m\u00e9dia\ do\ controle] * 100\%$$

onde o termo “m\u00e9dia do condicionado” se refere \u00e0 amplitude m\u00e9dia dos reflexos-H condicionados por est\u00edmulos no NF tanto para D1 (com intervalo C-T de 21 ms) quanto para D2 (com intervalo C-T de 100 ms). Para cada sujeito, 21 reflexos condicionados foram

obtidos para cada tipo de inibi\u00e7\u00e3o. Ent\u00e3o, a PDI foi calculada para cada sujeito e para cada tipo de inibi\u00e7\u00e3o. Uma ANOVA de duas vias [tipo de contra\u00e7\u00e3o (TF vs TP) e dura\u00e7\u00e3o do intervalo C-T (D1 vs D2)], com medidas repetidas em ambos os fatores, foi utilizada a fim de detectar poss\u00edveis efeitos significativos dos fatores, assim como intera\u00e7\u00f5es significativas entre os fatores. O n\u00edvel de signific\u00e2ncia adotado foi de  $p < 0,05$ .

## Resultados

A Figura 1A mostra sinais brutos de EMG adquiridos em um dos participantes, ilustrando a modula\u00e7\u00e3o da amplitude do reflexo-H nas diferentes condi\u00e7\u00f5es (i.e. controle, inibi\u00e7\u00e3o D1 e inibi\u00e7\u00e3o D2, mostradas nas colunas na esquerda, do meio e da direita, respectivamente). Os reflexos gerados durante TF e TP s\u00e3o mostrados nos tra\u00e7ados superiores e inferiores, respectivamente. Note a redu\u00e7\u00e3o da amplitude dos reflexos correspondentes \u00e0s inibi\u00e7\u00f5es D1 e D2 em compara\u00e7\u00e3o aos reflexos controle. Al\u00e9m disso, nesse sujeito fica evidente um maior efeito inibit\u00f3rio de D1 e D2 para TF em compara\u00e7\u00e3o a TP (compare as redu\u00e7\u00f5es na amplitude dos reflexos-H sob inibi\u00e7\u00e3o D1 e D2 entre os tra\u00e7ados superiores e inferiores).

Os valores m\u00e9dios de PDI ( $n = 10$ ) para os condicionamentos D1 e D2, durante TF e TP, s\u00e3o mostrados na Figura 1B, com valores individuais representados por linhas em cinza claro no fundo da imagem. A ANOVA de duas vias apontou efeito significativo para os fatores “tipo de contra\u00e7\u00e3o” (TF vs TP,  $F(1,9) = 13,664$ ,  $p = 0,005$ ) e “dura\u00e7\u00e3o do intervalo C-T” (D1 vs D2,  $F(1,9) = 11,909$ ,  $p = 0,007$ ). Al\u00e9m disso, uma intera\u00e7\u00e3o significativa foi detectada entre esses fatores ( $F(1,9) = 5,868$ ,  $p = 0,038$ ). Dessa forma, os resultados indicaram que: 1) os reflexos-H foram mais suscept\u00edveis \u00e0s inibi\u00e7\u00f5es durante TF em compara\u00e7\u00e3o a TP (independentemente do intervalo C-T); 2) o condicionamento D2 gerou um maior grau de inibi\u00e7\u00e3o sobre os reflexos-H em compara\u00e7\u00e3o ao condicionamento D1 (independentemente do tipo de tarefa) e; 3) o maior efeito inibit\u00f3rio durante a TF em compara\u00e7\u00e3o \u00e0 TP foi mais proeminente para inibi\u00e7\u00e3o D1 quando comparada \u00e0 inibi\u00e7\u00e3o D2.

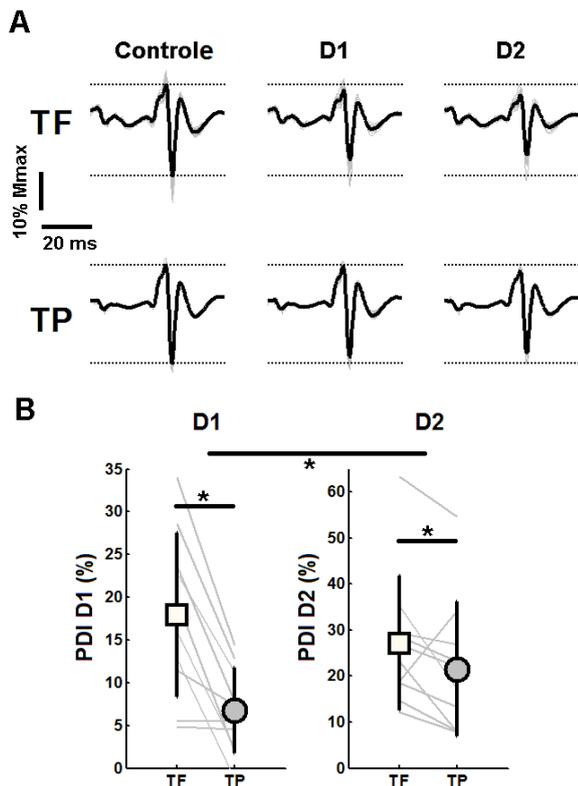


Figura 1: Modulação da amplitude do reflexo-H frente aos condicionamentos D1 e D2, durante TF e TP. A) Sinais de EMG bruto (de um sujeito representativo) e B) Valores de PDI (média  $\pm$  desvio padrão) calculados para o grupo de sujeitos (ver texto para maiores detalhes). Notar que as ordenadas em (B) são diferentes entre si.

## Discussão

De uma maneira geral, os resultados do presente estudo mostraram que existe uma regulação diferencial do influxo aferente Ia durante contrações isométricas e não isométricas de flexão plantar, sendo que maiores níveis de IPS estão associados às contrações isométricas (i.e. TF) em comparação às não isométricas (i.e. TP). Os achados corroboram os resultados encontrados por Baudry e colaboradores [3] para músculos da mão, sugerindo uma similaridade no controle neuromuscular de membros superiores e inferiores no tocante à IPS.

Os experimentos relatados aqui foram realizados com níveis de ativação muscular do SO equivalente para TF e para TP. Além disso, não foi observada ativação muscular significativa no músculo antagonista (TA) e em músculos da coxa (constantemente monitorados durante os experimentos). Sendo assim, exclui-se a possibilidade de que diferentes níveis de coativação muscular ou de ativação de músculos adjacentes tenham influenciado nos resultados.

A modulação da IPS durante TF e TP foi investigada pela avaliação da depressão do reflexo-H do SO frente à aplicação de estímulos condicionantes sobre o NF, com intervalos C-T de 21 ou 100 ms (correspondendo às inibições D1 e D2, respectivamente). Embora não haja consenso na literatura sobre qual desses intervalos C-T

corresponda a um mecanismo “puro” de IPS, ambas as latências vêm sendo usadas para o estudo dessa via inibitória [2]. Os resultados apresentados aqui mostraram um maior efeito de D2 em comparação a D1 (independentemente da tarefa em questão). Além disso, uma maior redução nos níveis de IPS de TF para TP foi observada para as medidas de PDI relacionadas à inibição D1 quando comparada à inibição D2. Sendo assim, sugere-se que as inibições correspondentes aos intervalos D1 e D2 sejam mediadas por diferentes subgrupos de interneurônios medulares que, por sua vez, devem ser modulados de forma diferencial durante o desempenho de tarefas isométricas e não isométricas de flexão plantar.

## Conclusão

Os resultados do presente estudo mostraram que, em comparação à TP, o reflexo-H do músculo SO sofre maior efeito de IPS (inibições D1 e D2) durante TF. Os níveis reduzidos de IPS durante TP sugerem que, em comparação às tarefas isométricas, há uma maior dependência das informações provenientes dos fusos neuromusculares quando o sistema atua no controle de forças não isométricas.

## Agradecimentos

Os autores receberam apoio financeiro da FAPESP na forma de bolsas e auxílios (processos #2011/13666-2, #2013/10433-1, #2012/09321-1 e #2011/17193-0 para FHM, LAE, CRS e AFK, respectivamente) e do CNPq (processo #303313/2011-0 para AFK).

## Referências

- [1] Hunter SK , Lepers R , Macgillis CJ , Enoka RM. Activation among the elbow flexor muscles differs when maintaining arm position during a fatiguing contraction. *J Appl Physiol.* 2003; 94(6): 2439-47.
- [2] Mezzarane RA , Elias LA , Magalhães FH , Chaud VM , Kohn AF. Experimental and simulated EMG responses in the study of the human spinal cord. Em: H. Turker, editor. *Electrodiagnosis in new frontiers of clinical research.* Rijeka: InTech; 2013. p. 57-87.
- [3] Baudry S , Enoka RM. Influence of load type on presynaptic modulation of Ia afferent input onto two synergist muscles. *Exp Brain Res.* 2009; 199(1): 83-8.
- [4] De Noordhout AM , Rapisarda G , Bogacz D , Gerard P , De Pasqua V , Pennisi G , Delwaide PJ. Corticomotoneuronal synaptic connections in normal man: an electrophysiological study. *Brain.* 1999; 122 ( Pt 7): 1327-40.
- [5] Mello EM , Magalhaes FH , Kohn AF. Larger plantar flexion torque variability implies less stable balance in the young: an association affected by knee position. *Hum Mov Sci.* 2013; 32(6): 1310-24.