



Universidade de Brasília

Faculdade de Educação Física

Programa de Pós-Graduação Stricto-Sensu em Educação Física

**Mecanismos medulares de modulação reflexa,  
padrão de recrutamento de unidades motoras e  
controle postural após pré-condicionamento  
isquêmico remoto.**

**Ian Caetano Quadrado**

**Brasília - DF**

**2017**

**Mecanismos medulares de modulação reflexa,  
padrão de recrutamento de unidades motoras e  
controle postural após pré-condicionamento  
isquêmico remoto.**

**Ian Caetano Quadrado**

Dissertação apresentada à Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Educação Física.

**ORIENTADOR: PROF. DR. RINALDO ANDRÉ MEZZARANE**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTA TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA DESDE QUE CITADA A FONTE.

**Mecanismos medulares de modulação reflexa, padrão de recrutamento de unidades motoras e controle postural após pré-condicionamento isquêmico remoto.**

*Ian Caetano Quadrado*

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Rinaldo André Mezzarane**

---

**Prof.a. Dra. Iruena Kessler**

---

**Prof. Dr. Joaquim Pereira Brasil Neto**

---

**Prof. Dr. Tiago Russomano**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo que tem me proporcionado de aprendizado até aqui.

Agradeço também ao meu orientador, Prof. Dr. Rinaldo Mezzarane, pela paciência, pelos conhecimentos e pela busca determinada pela excelência em todos os trabalhos que realiza, Agradeço a dedicação em me ensinar, e me ajudar a buscar a qualidade, que tanto busco, nas tarefas . Sem esse mestre, não conseguiria nem ter começado a trajetória.

Agradeço também a pessoa que mais me apoiou nesse projeto, mesmo antes de ele existir, e que me aguentou durante todo esse período de muito trabalho e estudo com muito amor e paciência, minha esposa, Anna Emília.

Agradeço a minha mãe, Mara, que sempre me incentivou a continuar firme e forte nos estudos, e de quem uma das frases que me disse na adolescência ecoa até hoje: “Nunca pare de estudar.”. Me comprazo na sua alegria.

Agradeço a meu pai, Aviz, que, nas conversas ou no exemplo, me mostrou como ir atrás do que quer, e não deixar os obstáculos me impedirem o caminho.

Agradeço imensamente ao Renan Câncio, amigo de estudos, que me ajudou valiosamente durante toda a pesquisa, sempre disposto, com um bom humor e uma energia que fazem o ambiente ficar mais leve. Sem a ajuda dele teria sido difícil realizar todo este trabalho. Muito Obrigado!

Agradeço também ao Prof. Dr. Lauro Vianna que me ajudou diversas vezes em discussões aprofundadas de como seguir com o projeto, além de emprestar os *cuffs* para realização do condicionamento isquêmico, e o laboratório para uso do Doppler e da maca.

Agradeço a Prof. Dr. Ana Cristina de David pelo apoio na pesquisa, ao emprestar a plataforma e o laboratório diversas vezes para que este trabalho pudesse ser realizado.

Agradeço a todos os professores que me ajudaram no transcurso do mestrado, nas aulas, com orientações, ou nas mais diversas formas que o conhecimento pode ser passado adiante.

Agradeço a Gabriela Sartório, por ter sido uma grande amiga logo no início do mestrado, mostrando o caminho que havia percorrido e dando dicas valiosas enquanto

estivemos trabalhando no mesmo laboratório.

Agradeço a todos os colegas de laboratório, em especial aos que me ajudaram nas coletas longas e demoradas, Gabriel, Bruno, Pedro, Leandra e o Igor, que me orientou com dicas importantes.

Agradecimento especial vai a todos os voluntários que participaram da pesquisa, terminando, ou não, o protocolo. Sei que abriram mão de outros compromissos para estar lá comigo, com interesse pela ciência. Sei que praticamente três semanas se encontrando quase todo dia é um tempo longo. Agradeço imensamente a paciência e a colaboração quando dei choques em vocês.

Agradeço também à Prof. Dra. Iruena Kessler, por todas as conversas que tivemos e orientações que deu, além do orgulho em tê-la como membro da minha banca de qualificação e de defesa do mestrado.

Agradeço ao Prof. Dr. Joaquim Brasil Neto, pois as orientações que deu foram valiosíssimas na continuação do mestrado. É uma honra tê-lo como membro da banca de qualificação e de defesa do mestrado.

Agradeço a Academia Unique pelo apoio quando precisei conciliar os horários do trabalho com o estudo. Agradeço também ao meu amigo e colega de trabalho Pedro Félix, que, com sua busca incessante pelo conhecimento, me mostra que estou seguindo o caminho certo.

## **FILOSOFIA DO SUCESSO**

Se você pensa que é um derrotado,  
Você será derrotado.  
Se não pensar “quero a qualquer custo”,  
Não conseguirá nada.  
Mesmo que você queira vencer, mas se pensa que não vai conseguir,  
A vitória não sorrirá para você.

Se você fizer as coisas pela metade,  
Você será um fracassado.  
Nós descobrimos neste mundo  
Que o sucesso começa pela nossa intenção  
E tudo se determina pelo nosso espírito.

Se você pensa que é um malgrado,  
Você o será.  
Se você almeja atingir uma posição mais elevada  
Deve, antes de obter a vitória,  
Dotar-se da convicção de que conseguirá  
Infalivelmente.

A luta pela vida, nem sempre é vantajosa;  
Nem aos fortes, nem aos espertos.  
Mais cedo ou mais tarde,  
Quem cativa a vitória é aquele que crê plenamente:  
Eu conseguirei.

**(Napoleon Hill)**

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE SIGLAS, ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS .....</b>	<b>11</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>14</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Área de Estudo.....</b>	<b>15</b>
<b>1.2 Pré-Condicionamento Isquêmico.....</b>	<b>16</b>
<b>1.3 Reflexo H .....</b>	<b>18</b>
<b>1.4 Curva de Recrutamento do reflexo H (CR) .....</b>	<b>21</b>
1.4.1 Parâmetros extraídos da curva de recrutamento.....	23
<b>1.5 Curva de Recrutamento Com Contração do SO (CRCC).....</b>	<b>28</b>
<b>1.6 Inibição Pré-Sináptica (IPS).....</b>	<b>29</b>
<b>1.7 Depressão Pós-Ativação (DPA) .....</b>	<b>31</b>
<b>1.8 Controle do Equilíbrio .....</b>	<b>33</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>35</b>
<b>3. Metodologia.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 Sujeitos .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2 Aquisição .....</b>	<b>37</b>
3.2.1 Aquisição de Sinais Eletromiográficos (CR, CRCC, IPS e DPA).....	37
3.2.2 Aquisição dos dados da plataforma de força .....	39
<b>3.3 Procedimentos.....</b>	<b>40</b>
3.3.1 Procedimentos de Isquemia .....	40
3.3.2 Procedimentos de Estimulação .....	42
3.3.3 Procedimentos com uso da Plataforma de Força.....	44
<b>3.4 Processamento de Dados .....</b>	<b>45</b>
3.4.1 Processamento de Sinais Eletromiográficos.....	45
3.4.2 Processamento de Sinais da Plataforma .....	47
<b>3.5 Estatística .....</b>	<b>48</b>
<b>4. Resultados .....</b>	<b>49</b>
<b>4.1 Parâmetros neurofisiológicos.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2 Parâmetros posturográficos .....</b>	<b>56</b>
<b>5. Discussão .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1 Alterações na excitabilidade da medula espinhal .....</b>	<b>60</b>
<b>5.2 Controle Postural .....</b>	<b>67</b>

<b>5.3 Implicações Clínicas .....</b>	<b>70</b>
<b>5.4. Aspectos Metodológicos .....</b>	<b>70</b>
5.4.1 Referencia à dor .....	70
5.4.2 Diferenças das pressões .....	71
5.4.3 Hormese .....	71
5.4.4 Efeitos pré-sinápticos .....	73
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>73</b>
<b>7. Referências .....</b>	<b>75</b>
<b>8. Anexos .....</b>	<b>84</b>



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Reflexo H.....	19
FIGURA 2 - Reflexo H e onda M sobrepostos.....	20
FIGURA 3 - Reflexo H e onda M separados.....	21
FIGURA 4 - Curva de recrutamento – pontos interligados.....	22
FIGURA 5 - Ajuste Sigmoidal da Curva de Recrutamento.....	23
FIGURA 6 - Ajuste Sigmoidal do Reflexo H – Klimstra & Zehr.....	25
FIGURA 7 - Curva de recrutamento – intensidade de corrent normalizada a 50%Mmax .....	26
FIGURA 8 - Comparação Pré e Pós da CR.....	27
FIGURA 9 - Inibição Pré-Sináptica.....	30
FIGURA 10 - Representação esquemática da IPS.....	31
FIGURA 11 - Plataforma de equilíbrio.....	34
FIGURA 12 - PCIR.....	37
FIGURA 13 - Sistema de Estimulação e aquisição de sinais eletromiográficos .....	37
FIGURA 14 - Eletrodos de superfície.....	38
FIGURA 15 - Posicionamento dos eletrodos.....	39
FIGURA 16 - Cronograma de atividades .....	41
FIGURA 17 - H@th e H@50 .....	50
FIGURA 18 - H100 e H@100 .....	51
FIGURA 19 - Hmax .....	52
FIGURA 20 - DPA e IPS – controle e condicionado .....	53
FIGURA 21 - DPA e IPS .....	54
FIGURA 22 - Mmax .....	55
FIGURA 23 - CRCC .....	56
FIGURA 24 - Variação CP .....	57
FIGURA 25 - CP PREINT E POSINT .....	57
FIGURA 26 - Espectro CP .....	58
FIGURA 27 - Espectro CP – Frequência alta .....	58
FIGURA 28 - Espectro CP – Frequência baixa .....	59
FIGURA 29 - INIa e RN .....	65
FIGURA 30 - INIb .....	66
FIGURA 31 - PCIR INIa, INIb, RN .....	67



## LISTA DE SIGLAS, ABREVIações E SÍMBOLOS

<b>AP</b>	Ântero-Posterior
<b>CP</b>	Centro de Pressão
<b>CR</b>	Curva de recrutamento
<b>CRCC</b>	Curva de recrutamento com contração a 10% da CVM
<b>CVM</b>	Contração Voluntária Máxima
<b>DPA</b>	Depressão Pós-Ativação
<b>EMG</b>	Eletromiografia
<b>GA</b>	Gastrocnêmio
<b>Hmax</b>	Resposta reflexa máxima (amplitude máxima do reflexo H)
<b>IN<sub>Ia</sub></b>	Interneurônio Inibitório Ia
<b>IN<sub>Ib</sub></b>	Interneurônio Inibitório Ib
<b>IPS</b>	Inibição Pré-Sináptica
<b>IR</b>	Isquemia-Reperfusão
<b>ML</b>	Médio-Lateral
<b>Mmax</b>	Resposta motora máxima (amplitude máxima da onda M)
<b>MN</b>	Motoneurônio
<b>PA</b>	Potencial de ação
<b>PAD</b>	Pressão Arterial Diastólica
<b>PAMC</b>	Potencial de ação muscular composto
<b>PAS</b>	Pressão Arterial Sistólica
<b>PCI</b>	Pré-Condicionamento Isquêmico
<b>PCIR</b>	Pré-Condicionamento Isquêmico Remoto
<b>PDA</b>	Percentual de Diminuição da Amplitude
<b>RFS</b>	Restrição de Fluxo Sanguíneo
<b>RN</b>	Células de Renshaw
<b>SO</b>	Sóleo
<b>TA</b>	Tibial Anterior
<b>VM</b>	Velocidade Média

## RESUMO

O objetivo do presente estudo é avaliar os efeitos do pré-condicionamento isquêmico remoto em membro inferior na excitabilidade reflexa de adultos sedentários. O Pré-Condicionamento Isquêmico Remoto nos Membros (PCIR - *Remote Limb Ischemic Conditioning*) apresenta alguns efeitos benéficos relacionados, principalmente, à melhor recuperação de novos eventos isquêmicos. Recentemente, foi relatada melhora no equilíbrio em adultos saudáveis após PCIR do membro superior, sugerindo a ocorrência de adaptações no sistema nervoso. Não se sabe definitivamente como o PCIR induz essas adaptações, mas acredita-se que possam ocorrer na medula espinhal. Foi estudada neste projeto a modulação do reflexo-H do músculo sóleo (SO) por meio de parâmetros extraídos da alça ascendente da Curva de Recrutamento (CR) do reflexo H no repouso, e durante contração voluntária isométrica (Curva de Recrutamento Com Contração - CRCC), além de dois mecanismos pré-sinápticos: Inibição Pré-Sináptica (IPS) e Depressão Pós-Ativação (DPA). Os parâmetros fisiológicos associados às CRs e às inibições foram analisados antes e após um protocolo de PCIR. Para confirmação do efeito da melhora no equilíbrio pós-PCIR, foi realizado um experimento para obter a variação do centro de pressão (CP) com os sujeitos em uma condição desafiadora (sobre uma espuma de alta densidade). Na primeira semana de testes foi realizado um PCIR placebo (SHAM). Na segunda semana o PCIR consistiu na intervenção real (INT). No início e no fim de cada semana, os testes para obter CR, CRCC, IPS, DPA e CP foram realizados, além de um encontro na semana seguinte, ao fim do protocolo INT (terceira semana) para realização dos mesmos testes em apenas um dia (“follow-up” - FU). Foram encontradas alterações em um dos parâmetros da CR, associadas às unidades de diâmetro maior, mas não foram detectadas diferenças nos parâmetros associados aos mecanismos pré-sinápticos (IPS e DPA), o que mantém aberta a discussão sobre qual mecanismo neurofisiológico altera o padrão de recrutamento de unidades motoras após o PCIR. Foi verificado que o PCIR na coxa induz melhora no equilíbrio postural, ou seja, houve diminuição nas componentes de alta frequência do CP no sentido médio-lateral. Finalmente, foi constatado que os efeitos psicológicos (placebo) induzem alterações neurofisiológicas que podem estar associadas à melhora no controle da postura, mas apenas os efeitos fisiológicos persistiram por vários dias após o último condicionamento. É possível que mecanismos medulares que medeiam

efeitos pós-sinápticos estejam envolvidos nas adaptações neurofisiológicas observadas.

## ABSTRACT

The aim of the present project is to evaluate the effects of remote ischemic preconditioning in the leg on spinal cord excitability of sedentary adults. Remote Limb Ischemic Conditioning (PCIR) shows some beneficial effects, such as improvement of the recovery from new ischemic events. Recently, it has been reported that balance in healthy adults was improved after upper limb PCIR, suggesting the occurrence of neuronal adaptations. However, it is still unknown how PCIR induces these adaptations. We hypothesized that some of these adaptations occur within the spinal cord. In this project, we studied the modulation of reflex pathway of the soleus muscle (SO) by analyzing the ascending phase of the Recruitment Curve (CR) of the H-reflex at rest and voluntary isometric contraction (Recruitment Curve With Contraction - CRCC). In addition, two presynaptic mechanisms: Pre-Synaptic Inhibition (IPS) and Post-Activation Depression (DPA) have been investigated. The electrophysiological parameters obtained from these four procedures were analyzed before and after PCIR. The center of pressure (CP) was measured in a challenging condition to assess whether there was improvement in balance. Fifteen adult subjects without neurological and / or orthopedic lesions were selected. Subjects underwent a placebo PCIR (SHAM) procedure in the first week, and in the second week a real PCIR (INT). At the beginning and end of each week, the CR, CRCC, IPS, DPA and CP tests were performed. In the middle of the following week, after the end of the INT protocol (third week), the same tests were performed. Significant differences were found in one CR parameter (H @ 100), but no difference was detected for the presynaptic parameters (IPS and DPA). These results leave open the question of which mechanisms are influencing the recruitment pattern of the motor units. PCIR in the thigh influence the reflex responses besides improving balance through the mid-lateral variation of CP. Finally, it was found that psychological (placebo) effects leads to a neurophysiological effects that may be associated with improved posture control, but only the physiological effects persisted for several days after the last conditioning. It is possible that spinal mechanisms that mediate post-synaptic effects are involved in the neurophysiological adaptations.

# 1. Introdução

## 1.1 Área de Estudo

O presente trabalho tem como foco analisar possíveis alterações em mecanismos de modulação da excitabilidade da via do reflexo de estiramento decorrentes do Pré-Condicionamento Isquêmico Remoto nos Membros (PCIR - *Remote Limb Ischemic Conditioning*). Em um estudo recente, Cherry-Allen et al. (2015) demonstraram melhora no aprendizado motor após duas semanas de PCIR no membro superior (braço). Os participantes subiam em uma plataforma instável na qual deveriam permanecer o máximo de tempo possível sem perder o equilíbrio. Após o PCIR houve um aumento significativo no tempo que os sujeitos conseguiram permanecer sobre a plataforma. Os autores sugerem que fatores humorais possam estar envolvidos na adaptação ao PCIR. Tais fatores têm sido associados à proteção contra infartos em coelhos submetidos ao PCIR e coelhos tratados previamente com plasma de coelhos doadores submetidos ao PCIR (Shimizu et al., 2009). Shimizu et al. (2009) sugerem ainda que a exposição de um animal a um estado transitório de hipóxia respiratória induz plasticidade neural. A cascata de alterações moleculares e epigenéticas induzidas pela hipóxia respiratória intermitente é complexa. Ainda não está claro se existe correlação entre os mecanismos envolvidos com a plasticidade após hipóxia respiratória intermitente e aqueles ativados por PCIR. Por outras palavras, não se conhecem ainda os substratos neuronais das adaptações induzidas pelo PCIR.

Algumas adaptações associadas à melhora no controle motor ocorrem na medula espinhal e podem ser estudadas por meio de medidas de reflexos medulares. A plasticidade neuronal verificada por alterações na excitabilidade reflexa pode ser o resultado de uma variedade de intervenções como, por exemplo, treinamento de resistência e treinamento de força (Taube et al., 2007b; Vila-Chã et al., 2012).

No presente estudo, o PCIR foi realizado na coxa contralateral à perna em que as medidas reflexas foram realizadas. Essa escolha teve por objetivo excluir a possibilidade de que os efeitos fossem apenas de origem ipsolateral, ou seja, pretendemos investigar uma possível ação sistêmica do PCIR. Adicionalmente, a coxa é um membro diretamente relacionado ao equilíbrio na postura ortostática.

O padrão de recrutamento de unidades motoras de um músculo postural (sóleo - SO) foi avaliado por meio de parâmetros extraídos da alça ascendente da Curva de Recrutamento (CR) do reflexo-H (um análogo ao reflexo de estiramento) no repouso, e durante contração voluntária isométrica mantida a 10% da contração voluntária máxima (Curva de Recrutamento Com Contração - CRCC). Adicionalmente, dois mecanismos pré-sinápticos foram investigados utilizando-se a técnica do reflexo H: a Inibição Pré-Sináptica (IPS) (Rudomin & Schmidt, 1999; Mezzarane et al., 2015) e a Depressão Pós-Ativação (DPA ou depressão homossináptica; Mezzarane & Kohn, 2002).

Além dos experimentos de eletrofisiologia, foi estudado o controle postural utilizando uma plataforma de força com o sujeito em condições desafiadoras, como a permanência sobre uma espuma de alta densidade (que induz alterações na informação proprioceptiva dos membros inferiores).

## **1.2 Pré-Condicionamento Isquêmico**

O miocárdio pode tolerar breves períodos (até 15 minutos) de isquemia miocárdica grave e até mesmo total, sem resultar na morte dos cardiomiócitos (fibras musculares cardíacas) (Verma et al., 2002). Embora os cardiomiócitos sofram lesão isquêmica, o dano é reversível assim que o sangue volta a circular pelo tecido em isquemia (reperfusão arterial rápida). Tais períodos transitórios de isquemia são responsáveis por sintomas clínicos de angina de peito e vasoespasma coronário e não estão associados à morte das células do miócito (Kloner & Jennings, 2001a; 2001b). No entanto, quanto maior a duração e a gravidade da isquemia, maior o dano do cardiomiócito, resultando na predisposição para um espectro de patologias associadas à reperfusão, conhecidas coletivamente por lesão de reperfusão (Yellon & Baxter, 2000). A lesão de reperfusão resulta em danos nos miócitos através da lesão microvascular e endotelial, e os danos celulares chegam a ser irreversíveis podendo gerar necrose (denominada lesão de reperfusão letal) (Ambrosio & Tritto, 1999; Yellon & Baxter, 2000).

Portanto, a isquemia-reperfusão (*Ischemia-Reperfusion* – IR) intensifica o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral, além de contribuir para a necrose



de células irreversivelmente lesadas, acentuando o edema celular e a restauração não uniforme do fluxo para todas as porções do tecido. Reduzir a lesão da IR pode melhorar o resultado da reperfusão para essas condições (Vinten-Johansen et al., 1999). Uma abordagem bem-sucedida é o Pré-Condicionamento Isquêmico (PCI - *Ischemic PreConditioning*), em que a isquemia sub-letal induz um estado de proteção contra subsequentes e prolongadas IRs (Murry et al., 1986; Barbosa et al., 2015). Embora estudos em animais tenham mostrado que a proteção ocorre localmente no tecido a ser pré-condicionado, têm sido observados efeitos sistêmicos do IPC, reforçando a hipótese de que a isquemia regional de tecidos não vitais pode proteger os órgãos vitais contra IR remota (Birnbbaum et al., 1997). Kharbanda et al. (2002) demonstraram que o efeito do PCIR no membro superior previne a indução de IR na disfunção endotelial em humanos e, em animais (na qual o PCIR foi realizado diretamente na artéria coronária), houve redução da área infartada do coração. Isso mostra que o PCIR é um procedimento simples, mas com potencial para aplicações clínicas.

Além dos resultados cardioprotetores, têm sido relatados efeitos neuroprotetivos com o PCIR. Hoda et al. (2012) produziram o primeiro relatório que demonstrou a eficácia da terapia PCIR sozinha e em combinação com o ativador de plasminogênio tecidual IV (tPA IV) em um modelo fisiológico e clinicamente relevante. As principais conclusões são que PCIR isoladamente aumentou o fluxo sanguíneo cerebral e a sobrevivência após acidente vascular encefálico, resultando em melhor evolução neurológica (avaliada pela escala de Bederson, que é uma avaliação neurológica global desenvolvida para medir as limitações neurológicas após AVE - Grave: 3 e 2, Moderado: 1, Normal: 0). Os sujeitos que não fizeram PCIR obtiveram pontuação 3 ou 2, e os que fizeram atingiram 1 e, além disso, obtiveram redução do tamanho da lesão. Os autores encontraram também efeitos benéficos da PCIR no tratamento "tardio" com tPA IV, com aumento do fluxo sanguíneo cerebral e redução do tamanho da lesão (Hoda et al., 2012). O uso tardio de tPA IV reduziu o tamanho da lesão, mas não melhorou a evolução neurológica, obtendo pontuação 3 ou 2 na escala de Bederson. Sem o uso de tPA IV ou PCIR, a sobrevivência foi de 70% dos voluntários; usando somente tPA IV ou somente PCIR, a taxa de sobrevivência foi de 80%; usando tPA IV e PCIR, a taxa de sobrevivência foi de 100%.

Cherry-Allen et al. (2015) argumentam que os mecanismos responsáveis pelas adaptações observadas após a PCIR são desconhecidos, apesar de várias hipóteses serem descritas em diversos artigos. Brooks & Andrews (2013), por exemplo, relatam que deve existir uma forma de comunicação entre o local em que está sendo realizada a isquemia e o órgão-alvo. Segundo esses autores, dois caminhos já foram propostos: por vias neuronais e por vias humorais.

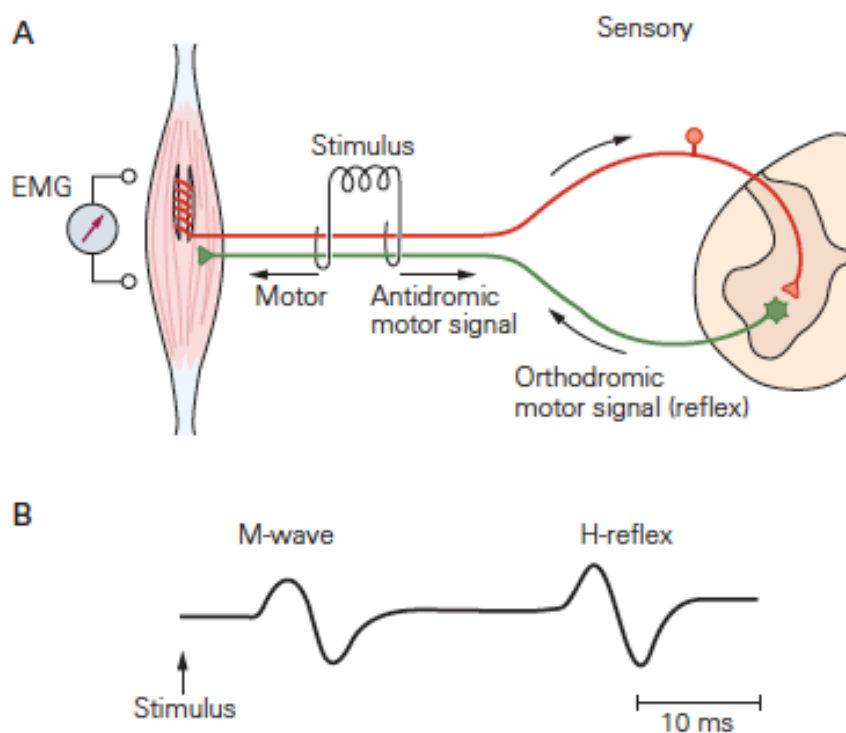
Com relação às vias neuronais, diversos artigos demonstram que PCIR induz alterações no sistema nervoso autônomo (Loukogeorgakis et al., 2005; Basalay et al., 2012; Hess et al., 2013) com a possibilidade de existirem mudanças também no sistema neuro-motor, mas esta última possibilidade não foi testada até o presente momento.

### **1.3 Reflexo H**

A plasticidade neuronal da medula espinhal é proeminente durante o desenvolvimento e contribui para a aquisição e manutenção de habilidades motoras ao longo da vida (Stein et al., 1993; Zehr, 2006; Wolpaw, 2010). Protocolos que utilizam condicionamentos de reflexos medulares fornecem ferramentas poderosas para o estudo dos mecanismos envolvidos na plasticidade neuronal em resposta a diferentes intervenções (Wolpaw, 1997; 2010; Wolpaw & Carp, 2006). As vias reflexas medulares participam no controle do tônus muscular, muito importante para a aquisição de habilidades motoras complexas e aprimoramento de ações motoras fundamentais, como a locomoção (Yang & Stein, 1990; Stein, 1995; Sinkjaer et al., 1996; Brooke et al., 1997; Zehr & Stein, 1999; Lamont & Zehr, 2006).

As características das conexões entre as fibras sensoriais Ia (que partem dos fusos neuromusculares) e os neurônios motores espinhais em seres humanos, podem ser estudadas usando uma técnica introduzida na década de 1950 com base no trabalho inicial de Paul Hoffmann (Mezzarane et al., 2013). Esta técnica envolve a estimulação elétrica das fibras Ia de um nervo periférico e o registro da resposta reflexa no músculo homônimo por meio de eletromiografia de superfície. Esta resposta mioelétrica, que é um potencial de ação muscular composto (PAMC), é conhecida como reflexo de Hoffmann, ou reflexo H. O reflexo H é facilmente obtido

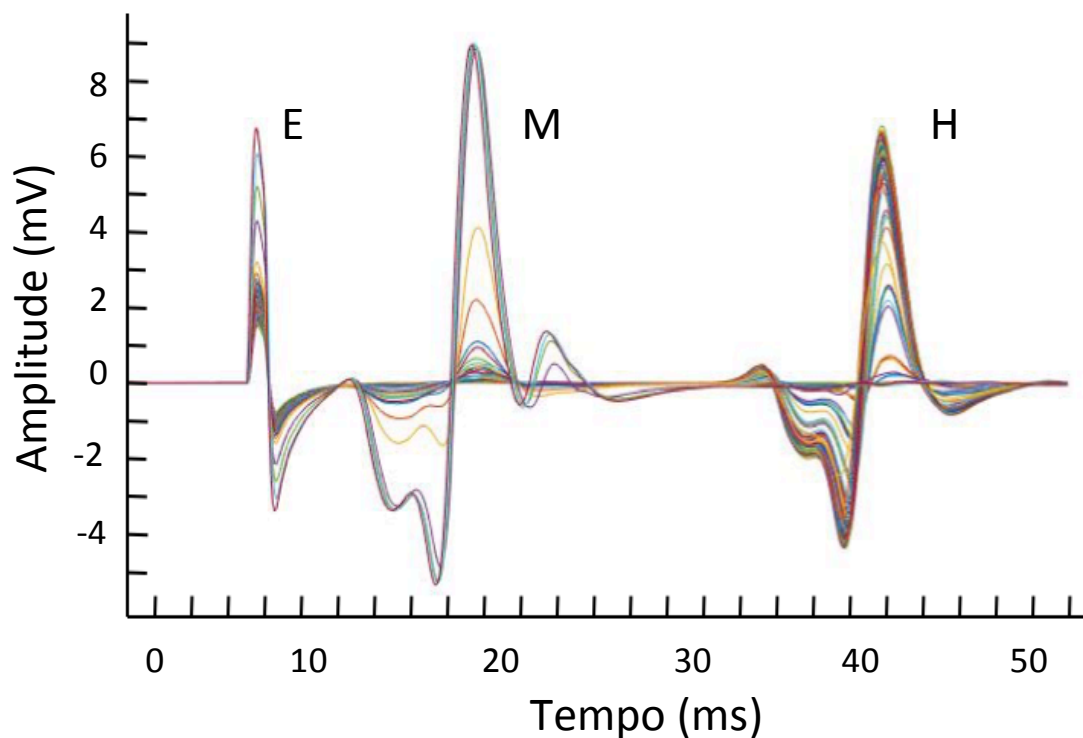
no músculo sóleo (SO) e tem-se mostrado uma ferramenta útil tanto em estudos de neurofisiologia da medula espinal humana quanto na clínica (Figura 1A). As fibras Ia do SO são seletivamente ativadas por uma corrente elétrica aplicada por meio de eletrodos de superfície localizados na fossa poplíteia, próximo ao nervo tibial. A resposta registrada no músculo SO depende da intensidade do estímulo, ou seja, quanto maior a intensidade de estimulação (maior a corrente) maior o número de unidades motoras recrutadas, portanto, maior a amplitude do reflexo H.



**Figura 1:** A. O reflexo de Hoffmann (Reflexo H) é evocado pela estimulação elétrica das fibras sensoriais Ia dos fusos neuromusculares em nervos mistos. As fibras sensoriais fazem sinapse com os motoneurônios alfa, que, por sua vez, despolarizam as fibras musculares. A despolarização muscular é detectada por eletrodos de eletromiografia de superfície. B. Além das aferentes do fuso, estímulos de intensidade maior ativam os axônios motores. A excitação das eferentes produz uma onda M que precede o reflexo H no registro eletromiográfico (EMG). (Imagem extraída do livro Principles of Neural Science, 5a. ed., Kandel et al., 2013).

Para intensidades de estímulo relativamente altas, os axônios motores (fibras eferentes) que inervam o SO passam a ser ativados, produzindo no registro eletromiográfico uma resposta direta de curta latência, enquanto a onda de latência

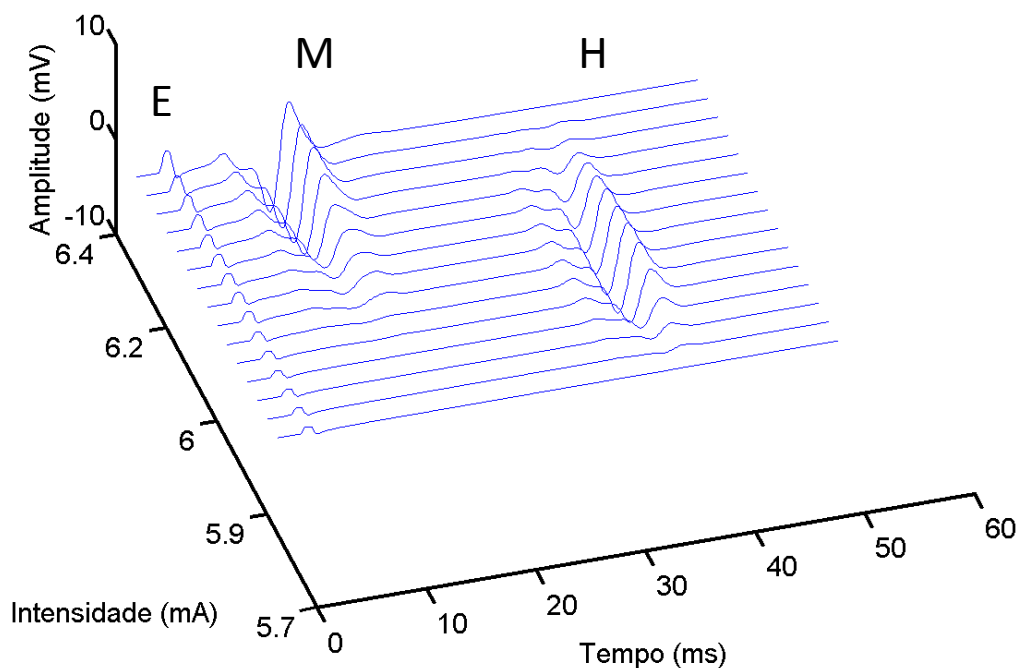
maior é a resposta reflexa (Figura 1B). Isto ocorre porque o limiar de ativação das fibras Ia para estímulo elétrico transcutâneo é inferior ao limiar dos axônios motores. Estes dois componentes do eletromiograma são chamados, respectivamente, de onda M e reflexo H (Figuras 1B e 2). O reflexo H ocorre mais tarde (com latência maior), porque resulta de potenciais de ação (PAs) que seguem para a medula espinhal por meio dos axônios Ia. Estas aferentes fazem sinapse com motoneurônios que inervam o músculo SO que podem ser ativados gerando PAs que se propagam para o músculo (via axônios eferentes) liberando acetilcolina na junção neuro-muscular e despolarizando a fibra muscular. A despolarização das fibras musculares gera um PAMC que pode ser captado por eletrodos de eletromiografia de superfície. A onda M é, portanto, um PAMC que resulta da estimulação direta do axônio motor.



**Figura 2:** Exemplo de ondas sobrepostas de uma curva de recrutamento, com intensidade de estímulo variando do limiar até a obtenção da onda M com amplitude máxima (onda Mmax, veja o texto para detalhes). No gráfico, E representa o artefato de estímulo, M representa a onda M, e H representa o reflexo H (dados do autor).

### 1.4 Curva de Recrutamento do reflexo H (CR)

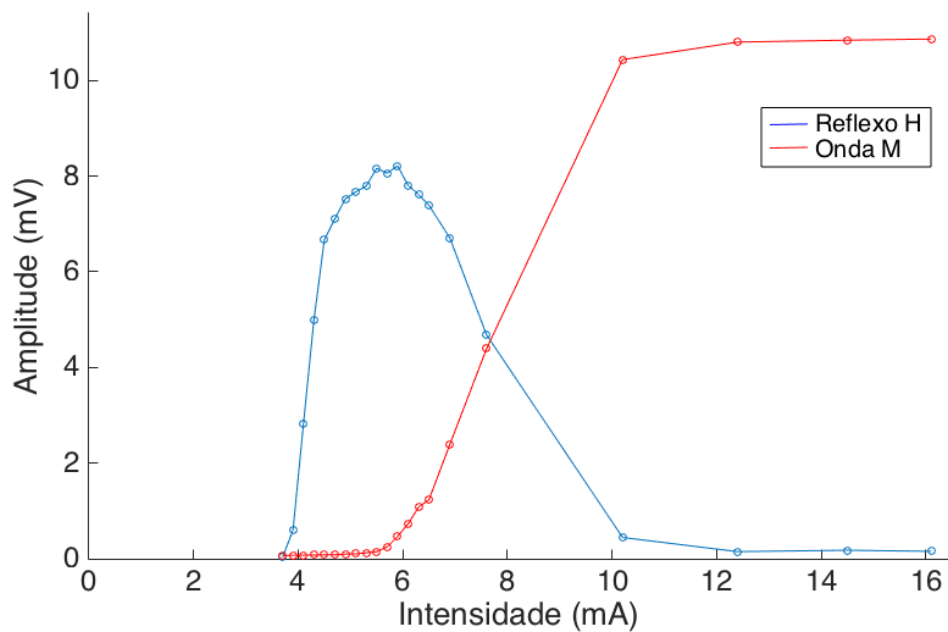
A curva de recrutamento (CR) do reflexo H pode ser obtida por alterações na intensidade de estimulação elétrica aplicada ao nervo. Um gráfico com as intensidades de estimulação na abscissa e as correspondentes amplitudes pico-a-pico das duas formas de onda resultantes que aparecem no eletromiograma (o reflexo H e a onda M) na ordenada constitui a CR (Figuras 3 e 4).



**Figura 3:** Respostas reflexas e ondas M apresentadas na Figura 2 com o eixo mostrando as intensidades de estímulo. Note que o reflexo H (H) possui um limiar mais baixo de ativação e assim que a intensidade do estímulo aumenta (que pode ser verificada pelo artefato de estímulo denotado por “E” no registro), a onda M (M) surge no registro e aumenta monotonicamente até seu máximo, quando ocorre a extinção total do reflexo H (dados do autor).

À medida que a intensidade do estímulo aumenta, a onda M aumenta monotonicamente, enquanto o reflexo H aumenta até determinada amplitude (platô) e então declina progressivamente (Figuras 3 e 4). O declínio na amplitude do reflexo H ocorre porque os potenciais de ação no axônio motor propagam-se para o corpo celular do motoneurônio (no sentido antidrômico) e aniquilam os potenciais de ação evocados reflexamente nos mesmos axônios motores (devido aos seus respectivos

períodos refratários) (Figura 1A). Com intensidade de estímulo supra-máxima, somente a onda-M persiste, conhecida como M máxima (Mmax) (Kandel et al., 2013) (Figura 4).

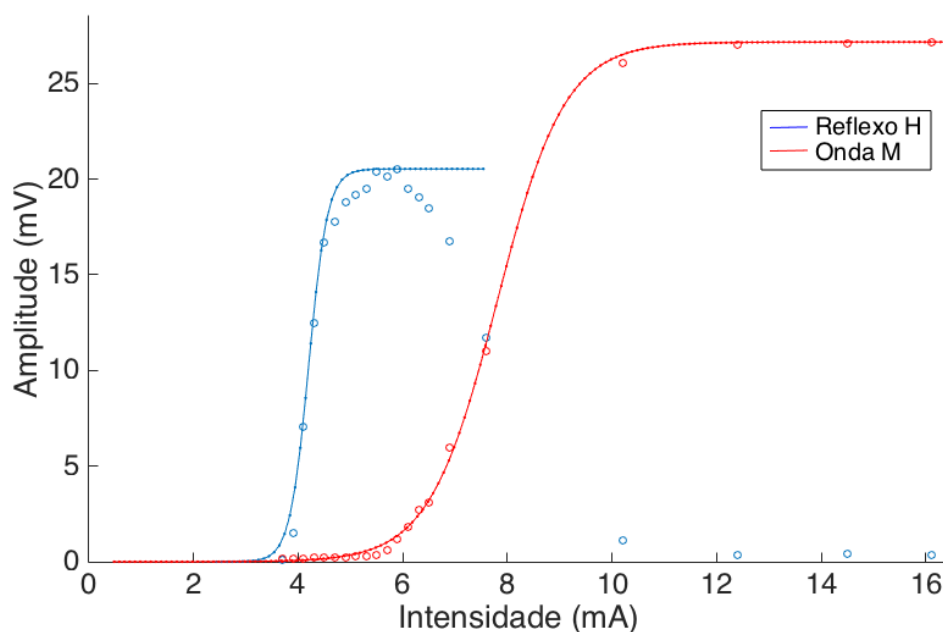


**Figura 4:** Exemplo de curva de recrutamento, na qual os círculos representam a média de amplitude pico a pico em cada uma das intensidades, sendo os azuis referentes ao reflexo H e os vermelhos à onda M (dados do autor). Note que a partir da intensidade de aproximadamente 14 mA, a onda M já atingiu a sua amplitude máxima (Mmax).

Como mencionado anteriormente, a onda M e o reflexo H são PAMCs que resultam da estimulação elétrica das fibras motoras e sensoriais, respectivamente. As variações nas amplitudes destes PAMCs, em resposta às diferentes intensidades de estímulo, definem o perfil da CR, cujos parâmetros (extraídos de um ajuste sigmoidal, por exemplo) podem ser utilizados para comparação entre diferentes situações experimentais.

### 1.4.1 Parâmetros extraídos da curva de recrutamento

A utilização de parâmetros extraídos de um ajuste sigmoidal da alça ascendente da curva de recrutamento (Figura 5), ao invés de apenas um ponto (p. ex., Hmax), permite avaliar o grau de excitabilidade reflexa mediada por diferentes populações de motoneurônios (Klimstra & Zehr, 2008; Mezzarane et al., 2011). Ou seja, o perfil da curva de recrutamento pode ser alterado em diferentes condições, como movimentação rítmica de membros (simulando movimentos de locomoção), fases da marcha, condicionamento por estímulos cutâneos e/ou ativação de aferentes de músculos antagonistas, entre outros (Mezzarane et al., 2013). Desta forma, é possível estudar alterações na ação de alguns mecanismos de modulação reflexa, que podem refletir a plasticidade do sistema nervoso, por exemplo, em resposta ao treinamento físico (Vila-Chã et al., 2012).



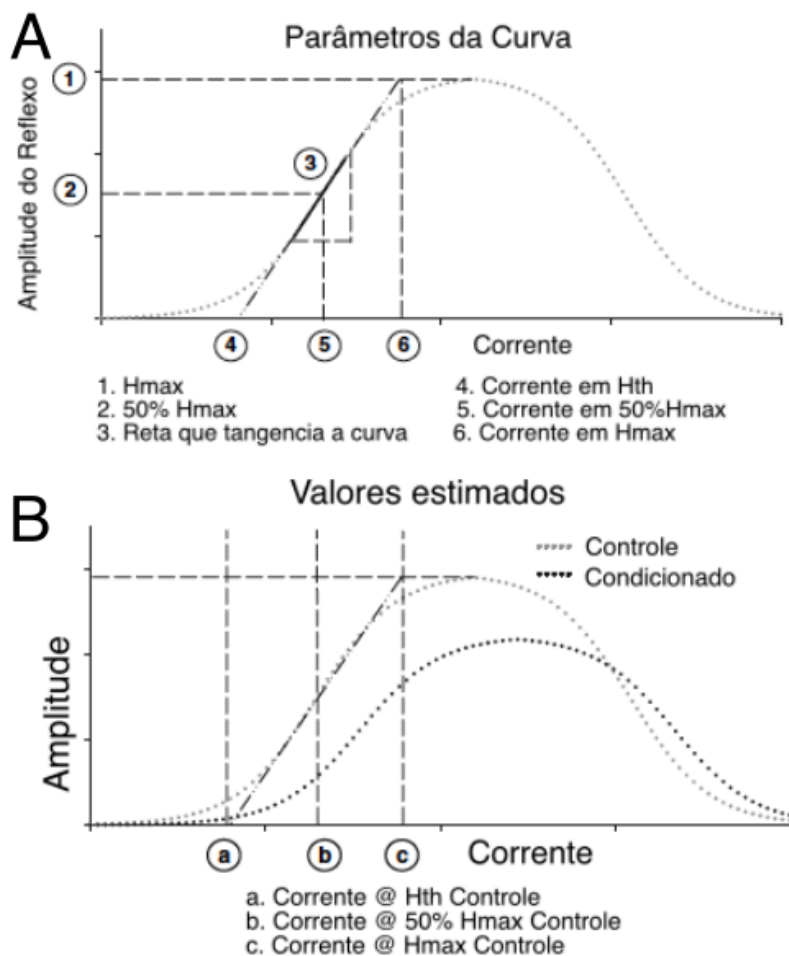
**Figura 5:** As linhas contínuas representam os ajustes sigmoidais sobre os valores de amplitude do reflexo H e da onda M (dados da Figura 4; dados do autor).

Klimstra & Zehr (2008) propuseram uma abordagem analítica que consiste em um ajuste sigmoidal da alça ascendente da curva de recrutamento do reflexo H (Figuras 5 e 6). Os autores concluíram que uma curva sigmóide é o ajuste mais adequado para os dados da alça ascendente, em comparação a outros ajustes lineares e não lineares como interpolação de *spline* cúbica, ajustes logarítmicos e polinomiais. Vários parâmetros podem ser extraídos do ajuste sigmoidal como a inclinação da porção linear da sigmóide (que reflete o ganho de recrutamento) (Kernell & Hultborn, 1990), limiar do reflexo H, reflexo H máximo, corrente limiar, entre outros. Diferentes tipos de intervenções podem afetar um ou mais destes parâmetros (Mezzarane et al., 2011).

O presente estudo utilizou o ajuste sigmoidal da alça ascendente da curva de recrutamento do reflexo H de acordo com o procedimento proposto por Klimstra & Zehr (2008). O reflexo H limiar (menor amplitude reflexa possível) é denominado Hth (*H threshold*) e é evocado por uma corrente (intensidade de estímulo elétrico) limiar. Este valor é mapeado na curva sigmóide a partir do valor limiar de corrente, que é definido como sendo o ponto em que a reta de regressão da porção linear da sigmoide cruza a abscissa da curva de recrutamento (Figura 7). O reflexo H máximo (Hmax) é calculado como a média das três maiores respostas H. O valor Hmax é um dos parâmetros de entrada para se estimar o ajuste sigmoidal (veja na seção “Metodologia”).

Por definição, a corrente para se obter a resposta reflexa máxima é associada ao valor da reta de regressão que atinge o valor Hmax (indicada com “6” ou “C” na Figura 6). Esse valor de corrente mapeia o valor H100 (círculo vermelho na figura 7). A corrente associada a 50% do valor Hmax (50%Hmax) mapeia a metade da curva sigmoidal, ou seja, onde a reta tangencia a sigmóide e onde a inclinação (ou a derivada) é máxima (H50). Esses pontos são claramente observados na Figura 7.

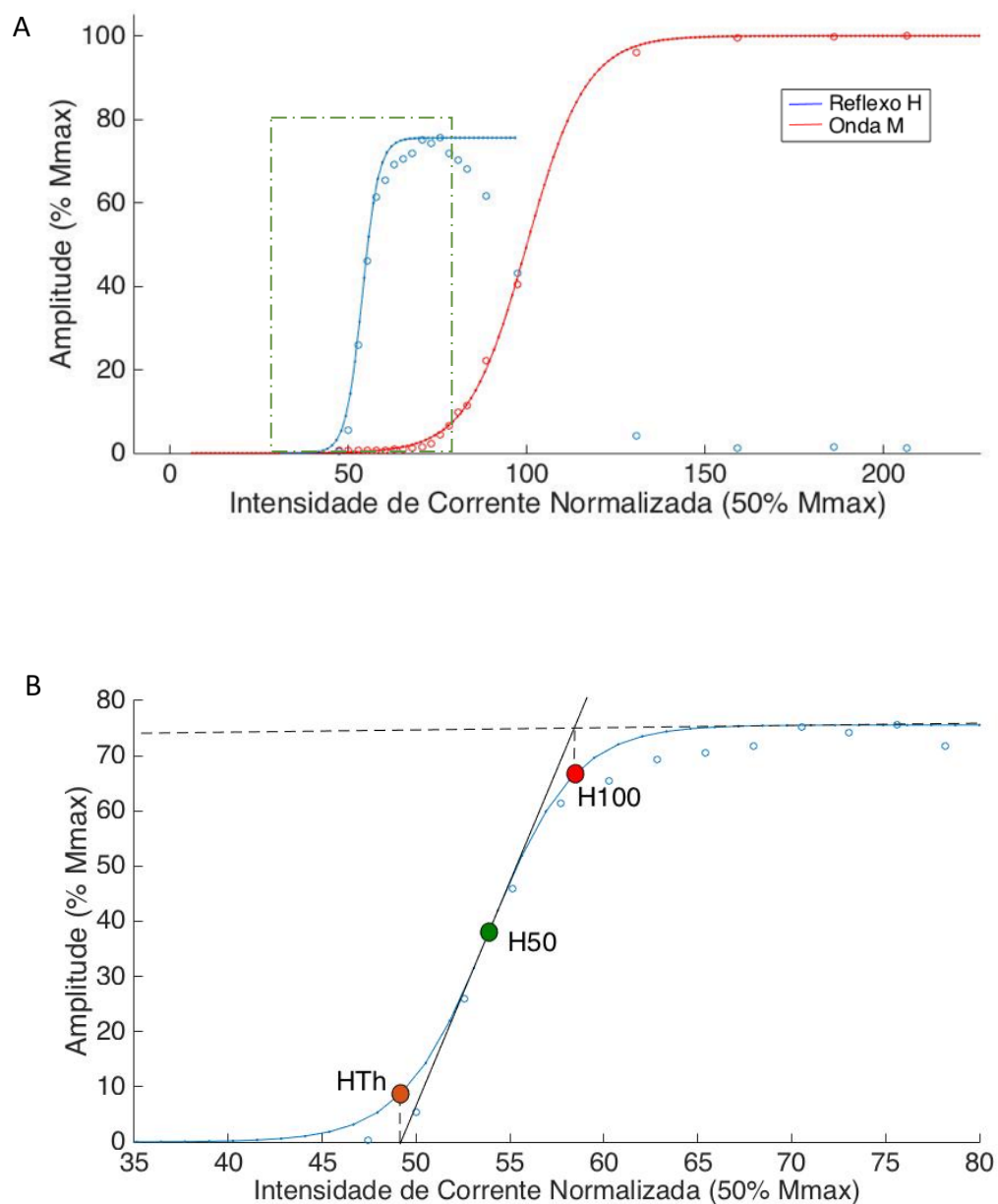




**Figura 6:** Ajuste sigmoidal do reflexo H. As retas pontilhadas da Figura 6A a partir do ajuste sigmoidal referem-se: 1) Hmax, 2) 50% de Hmax, 3) Inclinação (slope) da reta de regressão ajustada à alça ascendente, 4) Corrente Limiar do reflexo H (do inglês, Current at Hth), 5) Corrente à 50% de Hmax (do inglês, Current at H50), 6) Corrente à 100% de Hmax (do inglês, Current at Hmax). Figura 5B: a) Corrente necessária para gerar o reflexo H limiar na condição controle (definida como “Static” – em repouso - na figura) e o reflexo H (em, ou at, ou @) na condição experimental (definida como “Experimental condition” – movimento cíclico com os braços – na figura) (H at threshold: H@th), b) Corrente para gerar 50% da amplitude do reflexo H máximo (H50) na condição controle e H@50 na condição experimental, c) Corrente aplicada para gerar aproximadamente 100% da amplitude do reflexo H máximo (H100) na condição controle e H@100 na condição experimental. Extraído de Klimstra & Zehr (2008) (com autorização dos autores para uso da imagem).

O mesmo ajuste é realizado nos dados da condição experimental (em nosso caso, após a intervenção) para se obterem os parâmetros de comparação. As correntes que evocaram o Hth, o H50 e o H100 são usadas como referência para mapear os valores de reflexo H do novo ajuste. Esses valores (parâmetros) obtidos da comparação das curvas são indicados como “@”, ou seja, o valor de amplitude “na” (ou “at”-@, em inglês) corrente que gerou o reflexo H na situação controle que serão,

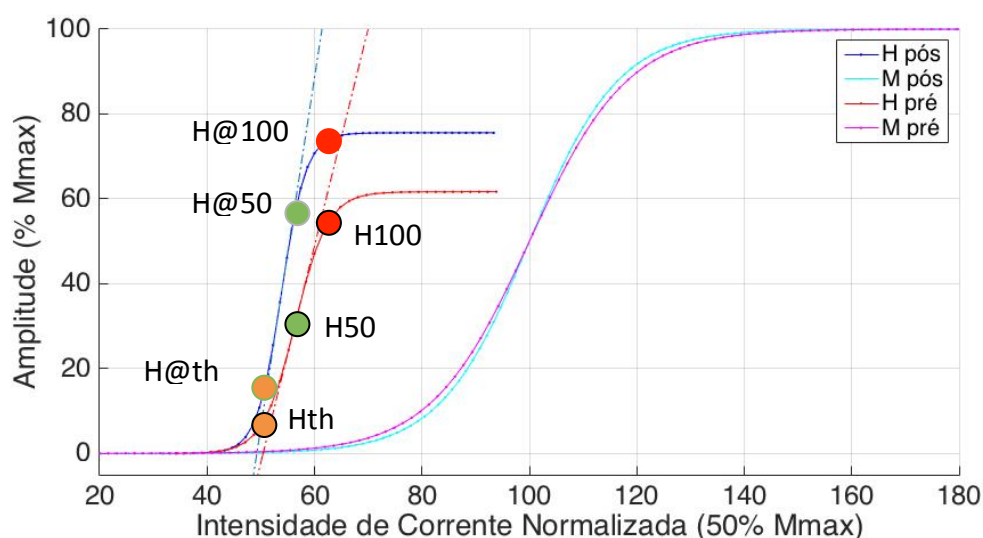
respectivamente,  $H_{th}$ ,  $H_{50}$  e  $H_{100}$ , conforme convenção preconizada por Klimstra & Zehr (2008).



**Figura 7:** Ajustes sigmoidais da CR em um sujeito. A: As amplitudes pico-a-pico estão normalizada pela  $M_{max}$ . As correntes estão normalizadas pela corrente necessária para se evocar uma onda M com amplitude igual a 50% da  $M_{max}$ ; B: Trecho ampliado da figura A delimitado pelo retângulo pontilhado, que representa a alça ascendente da CR.  $H_{100}$  é o ponto vermelho.  $H_{50}$  representa 50% da  $H_{max}$ ;  $H_{th}$  representa o reflexo H limiar gerado pela corrente localizada no ponto em que a reta de regressão atinge o eixo das abscissas (dados do autor).

Portanto, os valores  $H@$  são amplitudes de reflexo H mapeadas na condição experimental (no nosso caso após o PCIR): o valor de corrente para obter  $H_{th}$  está associado ao  $H@_{th}$ ;  $50\%H_{max}$  ao  $H@_{50}$  e  $H_{100}$  ao  $H@_{100}$  (Figura 8).

Os valores “at” (@) indicam as mudanças na relação de entrada-saída do sistema. Isso significa dizer que, para um mesmo estímulo, diferentes populações de unidades motoras poderão ser recrutadas em cada condição (pré ou pós INT).



**Figura 8:** Comparação entre ajustes de curvas obtidas antes (PRE) e depois (POS) da intervenção. As amplitudes das duas curvas estão normalizadas pelas amplitudes das respectivas  $M_{max}$ . Neste caso específico, nota-se um aumento nas amplitudes do reflexo H em vários pontos da curva pós-intervenção. Os valores de intensidade correspondentes de  $H_{100}$ ,  $H_{50}$  e  $H_{th}$  são representados por círculos vermelho, verde e laranja, respectivamente, com contorno de linha preta. Na curva estimada para a situação POS encontram-se os círculos indicando os valores  $H@_{100}$ ,  $H@_{50}$  e  $H@_{th}$ . Note a sobreposição das curvas das ondas M indicando excelente controle experimental (dados do autor).

A inclinação da reta obtida da regressão linear (linhas pontilhadas azul e vermelha na figura 8) também representa um parâmetro importante (*slope*). Por exemplo, quando a inclinação é mais acentuada o "ganho de recrutamento" é maior (Kernell & Hultborn, 1990). Isto é um indício de uma compressão dos limiares de disparo dos MNs na medula. Logo, quando o ganho de recrutamento é alto, pequenas alterações na corrente (estímulo) induzem variações relativamente grandes na amplitude do reflexo H. Quando os limiares estão mais dispersos, a inclinação fica

menos acentuada. Este seria um ganho de recrutamento baixo, e para ocorrer uma variação grande na amplitude do reflexo H é preciso maior variação na corrente.

### **1.5 Curva de Recrutamento Com Contração do SO (CRCC)**

A excitabilidade da via reflexa varia de acordo com as influências pré-sinápticas tônicas de diferentes origens (descendente ou periférica) atuantes nos terminais das aferentes Ia, e do potencial de membrana do motoneurônio (influências pós-sinápticas) (Mezzarane et al., 2013). Esta variabilidade se manifesta como flutuações aleatórias na amplitude do reflexo H, podendo mascarar possíveis efeitos de condicionamentos ou intervenções. Para minimizar estes efeitos, sugere-se a manutenção de uma contração voluntária do músculo alvo em torno de 10% da contração voluntária máxima (CVM) (Zehr, 2002; Mezzarane et al., 2011; Mezzarane et al., 2017). Esta manipulação é tipicamente utilizada para manter os potenciais de membrana dos motoneurônios em um nível aproximadamente semelhante, uma vez que no repouso estes potenciais não são conhecidos e podem variar entre as células.

Uma vantagem de avaliar o reflexo durante o repouso é mitigar os efeitos descendentes do córtex motor (devido à ativação muscular voluntária) sobre a rede de interneurônios medulares que influencia a excitabilidade da via reflexa (Zehr, 2002). Portanto, foi decidido, no presente estudo, obter a CR sem e com contração isométrica voluntária (Curva de Recrutamento Com Contração - CRCC) para otimizar a observação dos efeitos da PCIR.

A justificativa é que, se a CR não revelar os efeitos da PCIR, este resultado poderá ser atribuído às flutuações aleatórias no potencial de membrana ou na excitabilidade de interneurônios interpostos em vias moduladoras da excitabilidade reflexa. Ademais, é interessante obter as duas CRs pois, sob o ponto de vista metodológico, podemos avaliar qual o procedimento mais adequado para futuras investigações, com vistas a estudar efeitos de condicionamentos isquêmicos sobre padrões de recrutamento de unidades motoras.

## **1.6 Inibição Pré-Sináptica (IPS)**

Mesmo mantendo-se a intensidade de estimulação constante, observam-se flutuações na amplitude do reflexo H (Mezzarane et al., 2013). Estas mudanças na amplitude podem ocorrer devido à modulação da inibição pré-sináptica (IPS) dos terminais das aferentes Ia dos fusos neuromusculares e/ou à Depressão Pós-Ativação (DPA) nas sinapses entre os terminais Ia e os motoneurônios, além de efeitos pós-sinápticos.

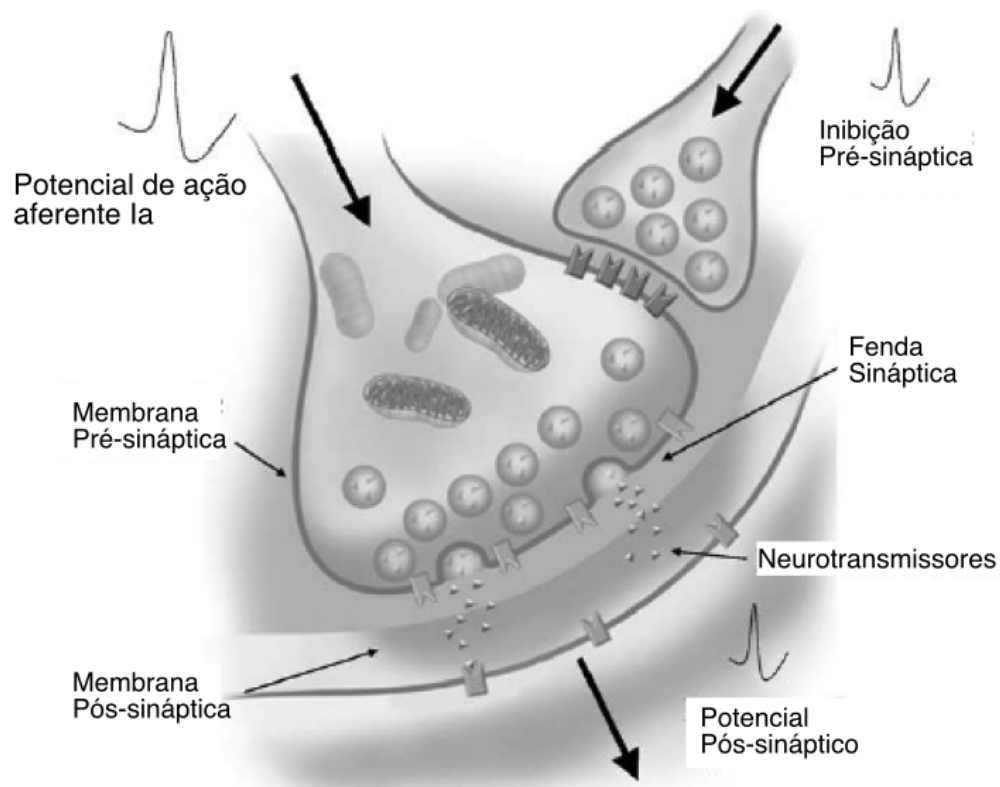
Tem sido demonstrado que a IPS de terminais das aferentes Ia do fuso neuromuscular varia em diferentes tarefas motoras (Faist et al., 1996). Durante qualquer comportamento, a combinação de fatores como os mencionados acima contribui para a modulação do reflexo e, conseqüentemente, para o controle motor (Mezzarane et al., 2014; 2015). Estes mecanismos pré-sinápticos, IPS e DPA, podem sofrer alterações ao longo do desenvolvimento, durante o aprendizado motor e após diferentes tipos de intervenções (Bonnet et al., 1997; Armitage & Siegelbaum, 1998; Mezzarane et al., 2014; Mezzarane et al., 2015).

As fibras aferentes transmitem feedback sensorial que é modulado por meio de mecanismos de inibição, para que a tarefa motora seja executada de maneira adequada. Um dos principais mecanismos de controle do fluxo sensorial é a inibição da liberação de neurotransmissor nas sinapses entre os terminais aferentes e os motoneurônios (Knikou, 2008). Esta inibição é intermediada por sinapses axo-axônicas onde é liberado o neurotransmissor inibitório ácido gama-aminobutírico (GABA) pelo interneurônio inibitório, conhecido como interneurônio PAD (*Primary Afférent Depolarization*) (Figura 9).

O protocolo para avaliar o grau de IPS sobre os terminais Ia do músculo SO em humanos consiste em aplicar uma estimulação no nervo misto que supre o músculo antagonista, para ativar as aferentes Ia do músculo tibial anterior (TA) e, após um período de 90 a 110 ms, aplicar um estímulo no nervo tibial (na fossa poplíteia) para evocar o reflexo H condicionado. Este protocolo experimental é conhecido como paradigma condicionante-teste (C-T). Compara-se então a amplitude da resposta teste (reflexo H sem o condicionamento) com a amplitude do reflexo

condicionado (pelo estímulo no nervo fibular que supre o TA) (Figura 10). É recomendado o uso de reflexo H teste (sem o condicionamento) com amplitude entre 20% e 30% da Mmax, uma vez que neste intervalo as respostas são mais sensíveis ao condicionamento (Crone et al., 1990).

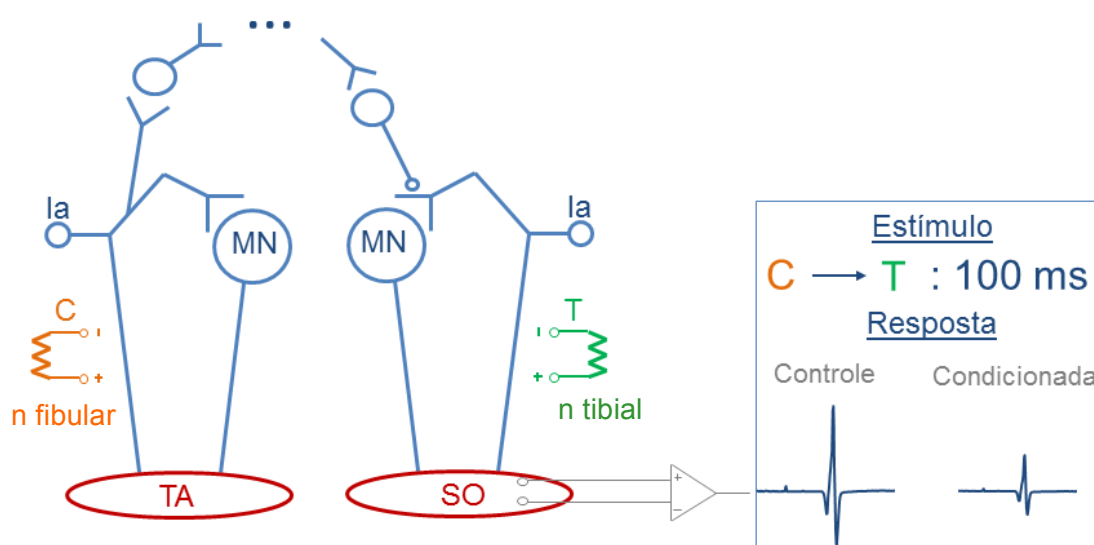
Muitos fatores afetam a IPS como, por exemplo, feedback de aferentes de outros receptores periféricos (fusos musculares, órgão tendinoso de Golgi e mecanorreceptores cutâneos) e comandos suprasegmentares descendentes (Stein, 1995; Brooke et al., 1997; Capaday, 1997; Pierrot-Deseilligny, 1997; Pierrot-Deseilligny & Meunier, 1998; Zehr, 2002).



**Figura 9:** Ilustração mostrando o mecanismo de inibição pré-sináptica (Chen & Zhou, 2011).

Nielsen & Kagamihara (1993) sugerem a existência de um controle descendente sobre interneurônios interpostos nesta via inibitória. Os centros supra-espinhais controlam o fluxo de informação sensorial ajustando a quantidade de inibição pré-sináptica, de acordo com a tarefa motora a ser realizada.

Existem evidências de que a IPS esteja envolvida em mecanismos de plasticidade neuronal, podendo ser uma forte candidata a intermediar as adaptações medulares decorrentes do PCIR. Por exemplo, tem-se sugerido que comandos supra-espinais alteram mecanismos pré-sinápticos de controle de ganho do reflexo H, como a IPS, após um treinamento de equilíbrio (Gruber et al., 2007; Taube et al., 2007a).



**Figura 10:** Representação esquemática mostrando o procedimento para a obtenção da IPS do músculo soleus. Os estímulos condicionante (C) e teste (T) são liberados com um intervalo de 100 ms (intervalo C-T). TA: músculo tibial anterior; SO: músculo sóleo; MN: motoneurônio.

### 1.7 Depressão Pós-Ativação (DPA)

Trens de estímulos de baixa frequência aplicados no nervo periférico para a ativação das aferentes Ia causam uma depressão da amplitude reflexa (Taborikova & Sax, 1969; Katz et al., 1977), provavelmente, associada à diminuição da probabilidade de liberação de neurotransmissor na sinapse Ia-motoneurônio (Hultborn et al., 1996; Kohn et al., 1997).

A DPA é um mecanismo pré-sináptico que regula a excitabilidade do reflexo de estiramento, e se caracteriza por um decréscimo progressivo da amplitude do potencial pós-sináptico em resposta a estímulos pré-sinápticos sucessivos. É um dos

exemplos mais simples de plasticidade sináptica, principalmente comparada com outras formas de plasticidade que exigem trens de potenciais de ação pré-sinápticos, como potenciação de longo prazo (Bliss & Lomo, 1973) e depressão a longo prazo (Dudek & Bear, 1992). Esta diminuição na amplitude reflexa já foi amplamente estudada em gatos (Lloyd & Wilson, 1957) e em humanos (Magladery et al., 1952; Paillard, 1955; Kohn et al., 1997; Aymard et al., 2000; Mezzarane & Kohn, 2002). A depressão do reflexo é evidente em intervalos curtos (1-2s), diminuindo progressivamente com o aumento da frequência de estímulos. A depressão leva de 10 s a 16 s para desaparecer completamente (Crone & Nielsen, 1989; Mezzarane & Kohn, 2002). A DPA é intrigante, porque um único potencial de ação pré-sináptico é suficiente para produzir uma alteração de longa duração na eficiência da transmissão sináptica. Sugere-se, desta forma, que a DPA seja um mecanismo fundamental para o próprio processo de liberação do neurotransmissor (Armitage & Siegelbaum, 1998). O mecanismo responsável pela DPA, ou especulativamente chamada de depressão homossináptica, ainda não é bem conhecido. Acredita-se que o mecanismo envolvido seja a depleção de neurotransmissor no terminal sináptico (Hultborn et al., 1996; Kohn et al., 1997).

Apesar do mecanismo envolvido na DPA não ter sido ainda bem estabelecido, estudos em pacientes hemiplégicos têm demonstrado uma diminuição na DPA no lado acometido tanto em membros inferiores quanto em membros superiores (Aymard et al., 2000). Além desse achado, foram reportadas alterações na DPA em resposta à carga exercida sobre o membro inferior (carga em cima do joelho) (Tseng & Shields, 2012) e mudança de posição (sentado e em pé) em pacientes com lesões na coluna (Field-Fote et al., 2006). Dessa forma, fica claro que a DPA depende de alterações biomecânicas e neurofisiológicas, apontando para a hipótese de uma influência extrínseca (Sefton & Hicks-Little, 2006; Sefton et al., 2007), ou seja, que não é restrita à sinapse Ia-motoneurônio. Um exemplo é a influência de vias serotoninérgicas do tronco encefálico que altera o grau de DPA (Cardona & Rudomin, 1983; Sefton et al., 2007). Adicionalmente, perda significativa de fibras descendentes noradrenérgicas no corno dorsal da medula de ratos idosos tem sido associada à diminuição na DPA (Caron et al., 2016), corroborando os achados em humanos (Robertson & Koceja, 2003).



Neste contexto, decidiu-se investigar também se esse mecanismo pré-sináptico poderia estar envolvido em alterações nos processos neurofisiológicos associados às adaptações medulares decorrentes do PCIR.

### **1.8 Controle do Equilíbrio**

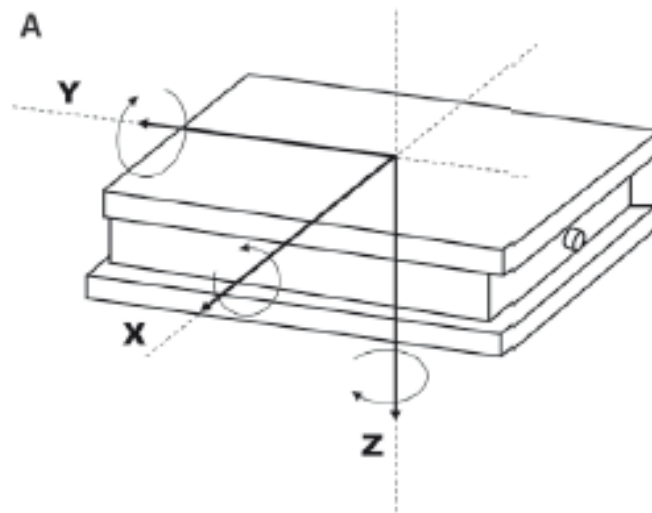
A manutenção do equilíbrio envolve a ação de uma ampla gama de estruturas neuronais (Duarte & Freitas, 2010; Mezzarane et al., 2011). Uma das abordagens mais usadas para analisar a postura é a posturografia, que é um conjunto de técnicas que incluem estabilometria, eletromiografia, etc. Normalmente, ela é dividida em estática, quando se estuda a postura do indivíduo na posição ereta quieta, e dinâmica, quando existe uma perturbação de origem externa na postura. A melhora do equilíbrio dinâmico contribui para diminuir o risco de queda e para manter a estabilidade corpórea (Toraman & Yildirim, 2010).

Existe forte interesse no estudo da adaptação e melhora do equilíbrio, tanto para o aprendizado de crianças e adolescentes como para evitar futuras quedas em idosos (Winter, 1995). Por exemplo, Cherry-Allen et al. (2015) demonstraram que, após duas semanas de PCIR, houve uma melhora no aprendizado motor, verificada por meio de experimentos que envolveram uma plataforma móvel para induzir instabilidade no equilíbrio.

A postura pode ser entendida como a configuração dos ângulos das articulações relativas à posição dos segmentos do corpo. Mesmo quando o corpo está parado (por exemplo, na postura ortostática) existe uma oscilação, principalmente no plano Antero-Posterior (AP) (Duarte & Freitas, 2010). Perturbações intrínsecas (respiração, batimento cardíaco, ruído neural) e extrínsecas (torque gravitacional, e aquelas decorrentes da instabilidade biomecânica) na postura provocam respostas neuromusculares para manter o equilíbrio. A manutenção do equilíbrio do corpo é responsabilidade do sistema de controle postural, sendo esse um conceito usado para se referir às funções dos sistemas somatossensorial e motor. O sistema somatossensorial fornece informações sobre a posição do corpo em relação aos outros segmentos do corpo e ao ambiente. O sistema motor é o responsável pela ativação adequada dos músculos para gerar torques articulares e manter a estabilidade. O

sistema nervoso central integra as informações geradas pelo sistema somatossensorial e define respostas musculares adequadas para cada situação.

A variável mais comum utilizada para se estudar o controle postural é o deslocamento do Centro de Pressão (CP). O CP é o ponto de aplicação da resultante da ação das forças verticais na superfície de suporte, e a sua excursão pode ser relacionada ao deslocamento do centro de gravidade na postura ereta quieta. O equipamento mais utilizado para medir o deslocamento do CP é a plataforma de força (Figura 11). A plataforma de força consiste em alguns sensores que registram forças e momentos nos três eixos ortogonais:  $F_x$ ,  $F_y$ ,  $F_z$ ,  $M_x$ ,  $M_y$  e  $M_z$ .



**Figura 11:** Modelo de plataforma de força e os seus eixos.

A partir desses sinais é possível estimar o deslocamento do CP do indivíduo. Quanto maior a dificuldade para manter o equilíbrio, maior a variação do CP. Os músculos gastrocnêmio lateral e medial e, principalmente, o SO têm função postural (Nardone & Schieppati, 1988). O SO (músculo alvo das nossas medidas eletrofisiológicas) é o principal responsável pelo deslocamento do CP no sentido antero-posterior durante a postura ereta (Mezzarane & Kohn, 2007). É, portanto, um músculo de extrema importância para a manutenção do equilíbrio, pois gera torques na articulação do tornozelo (opondo-se ao torque gravitacional) para manutenção da postura ortostática.

No presente estudo, avaliamos o desempenho do sistema de controle postural por meio de medidas da excursão do CP com os sujeitos em uma situação desafiadora, ou seja, sobre uma superfície instável (espuma de alta densidade) antes e após o PCIR visando a comparar os resultados com aqueles obtidos na literatura (Cherry-Allen et al., 2015).

## 2. Objetivos

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar o padrão de recrutamento das unidades motoras e dois mecanismos pré-sinápticos, Inibição Pré-Sináptica e Depressão Pós-Ativação, além da alteração no controle postural por meio da variação do CP, antes e após o PCIR.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Estudar os parâmetros obtidos a partir da Curva de Recrutamento antes e após o Pré Condicionamento Isquêmico Remoto. Os resultados podem indicar alterações na excitabilidade reflexa para determinados grupos de unidades motoras. É possível, por exemplo, observar uma diminuição seletiva na excitabilidade para subpopulações de unidades motoras, que se manifesta após treinamentos de equilíbrio (Trimble, 1998; Aagard et al., 2002; Vila-Chã et al., 2012);

- Avaliar, além da Curva de Recrutamento, os parâmetros obtidos a partir da Curva de Recrutamento Com Contração pré e pós Pré Condicionamento Isquêmico Remoto, que diferentemente da Curva de Recrutamento, possivelmente apresentará menor flutuação nos potenciais de membrana dos motoneurônios que influencia a excitabilidade da via reflexa;

- Compreender como o Pré Condicionamento Isquêmico Remoto afeta alguns mecanismos medulares de controle da excitabilidade reflexa. O foco foi dado aos mecanismos pré-sinápticos como a IPS e a DPA, além de analisar a relação destes com o padrão de recrutamento das unidades motoras;

- Avaliar os efeitos do Pré Condicionamento Isquêmico Remoto sobre o controle postural por meio do Centro de Pressão.

### 3. Metodologia

#### 3.1 Sujeitos

Inicialmente, foram previstos 12 sujeitos para o estudo. Como deveríamos considerar as desistências, foram recrutados 100% a mais, ou seja, 24 sujeitos. Ao final conseguimos realizar os procedimentos CR, IPS, DPA e CP em 18 sujeitos, sendo que 3 foram descartados por serem considerados *outliers* pelo seguinte critério: (1 sujeito foi descartado por valores de parâmetros da CR com 3 desvios-padrão acima da média e 2 sujeitos foram descartados por não atingirem o Mmax – impossibilitando a normalização). A amostra final foi constituída por 15 sujeitos para os protocolos de CR, IPS, DPA e CP, e para o protocolo CRCC a amostra final foi constituída de 14 sujeitos. Todos eram homens, com  $22,5 \pm 4,3$  anos de idade,  $174,9 \pm 5,7$  cm de altura e  $73,2 \pm 9,4$  kg de massa corporal, sedentários, sem lesões neurológicas, sem lesão no aparato vestibular, nem lesões ortopédicas. Os participantes assinaram um termo de consentimento (anexo 1), compreendendo os procedimentos e as restrições de uso de substâncias psicotrópicas, depressoras ou excitatórias, além de não poder realizar atividades físicas nas três semanas enquanto duraram as coletas, podendo desistir de participar da coleta a qualquer momento. O protocolo experimental foi aprovado pelo comitê de ética da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília sob os números: 16631413.3.0000.0030 e 45158615.3.0000.0030.

As coletas de dados e o PCIR foram realizadas na Faculdade de Educação Física (FEF) da Universidade de Brasília (UnB) no Laboratório de Processamento de Sinais Biológicos e Controle Motor (LACOMOT) e no Laboratório NeuroVasq (Figuras 12 e 13).



**Figura 12:** Exemplo de sujeito sendo submetido à PCIR no Laboratório LACOMOT - Faculdade de Educação Física, UnB.



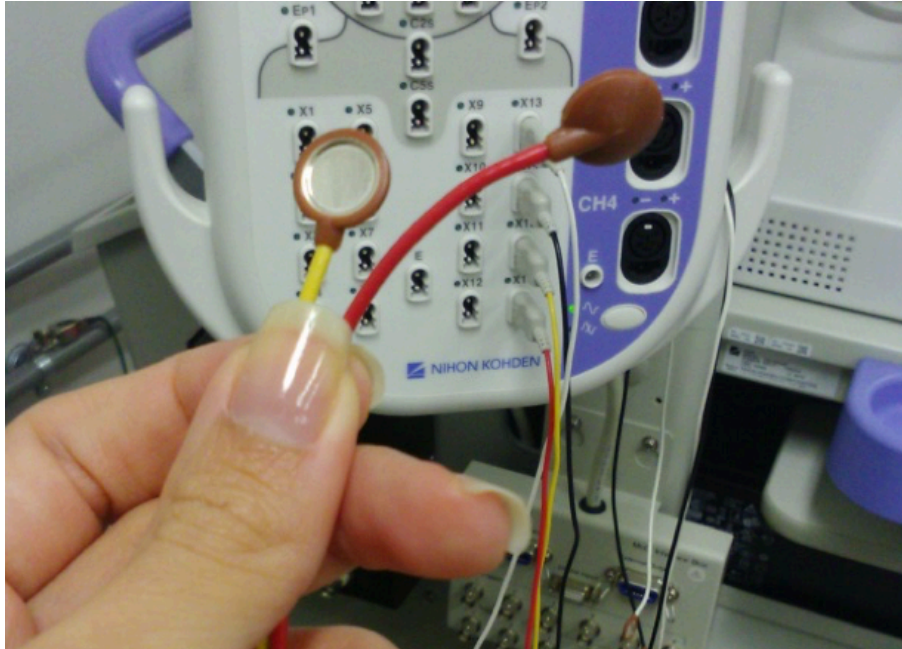
**Figura 13:** Sistema de estimulação e aquisição de sinais eletromiográficos. Laboratório de Processamento de Sinais Biológicos e Controle Motor – LACOMOT - Faculdade de Educação Física, UnB.

## **3.2 Aquisição**

### **3.2.1 Aquisição de Sinais Eletromiográficos (CR, CRCC, IPS e DPA)**

Os sinais de eletromiografia foram captados por meio de eletrodos de superfície circulares (Ag/AgCl, 0,8 cm de diâmetro, Nihon-Kohden, Tóquio, Japão)

(Figura 14) posicionados sobre os músculos SO e TA com uma distância inter-eletrodos de 2 cm.

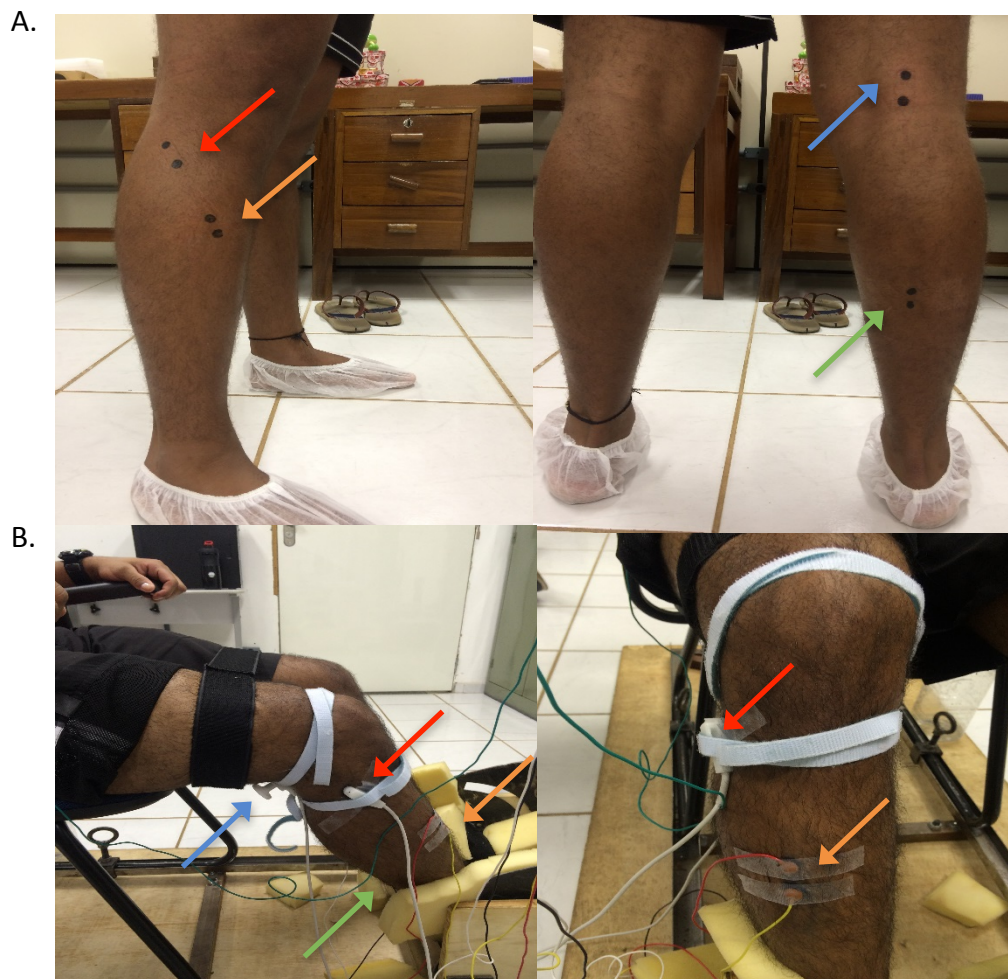


**Figura 14:** Eletrodos de superfície que foram utilizados para captação do sinal eletromiográfico.

Para captar o EMG do músculo SO, os eletrodos foram posicionados quatro centímetros abaixo da margem inferior das duas cabeças do músculo gastrocnêmio (Burke, 1997). Para o TA, os eletrodos foram posicionados sobre o ventre muscular (Figura 15). Um eletrodo terra foi fixado sobre o punho, na parte distal do rádio.

Os sinais de eletromiografia foram amplificados e filtrados (10 Hz a 1 kHz) pelo sistema MEB-2300K (Nihon-Kohden, Tóquio, Japão) com taxa de amostragem de 10 kHz. Os sinais de EMG foram também adquiridos com taxa de 2 kHz por meio de uma interface USB – 6363 da National Instruments (USA) e software LabView (USA) que forneceu feedback visual da ativação muscular voluntária. Todos os dados foram armazenados em disco rígido para serem posteriormente processados em ambiente Matlab (Mathworks). Os locais onde foram fixados os eletrodos estavam marcados com marcador permanente e foram fotografados para registro dos pontos e das referências (Figura 15).





**Figura 15:** Fotos mostrando a localização dos eletrodos. A seta verde e a seta laranja indicam o posicionamento dos eletrodos de captação nos músculos SO e TA, respectivamente. As setas azul e vermelha indicam o posicionamento do eletrodo de estimulação nos nervos tibial e fibular, respectivamente. A. Marcação dos eletrodos de estímulo e de captação. B. Exemplo de sujeito com os eletrodos de captação e estímulo devidamente posicionados.

### 3.2.2 Aquisição dos dados da plataforma de força

Para a aquisição dos dados da plataforma de força modelo Accu Sway Plus da marca Advanced Mechanical Technologies, Inc (AMTI), foi utilizada uma taxa de aquisição de 100 Hz. Sobre a plataforma foi usada uma espuma de alta densidade da marca AIREX Professional Exercise Line, de dimensões 50 x 41 x 06 cm.

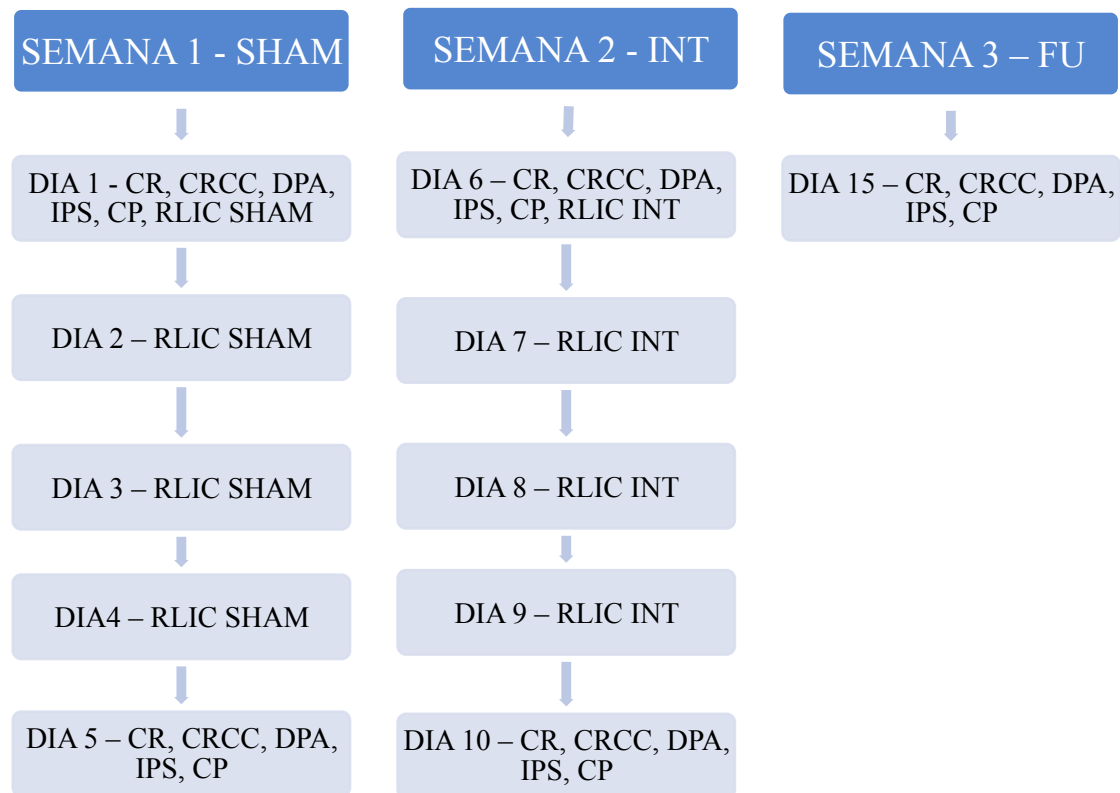
### **3.3 Procedimentos**

#### **3.3.1 Procedimentos de Isquemia**

Os testes duraram três semanas com cada sujeito. A primeira semana foi destinada ao Protocolo SHAM, que possui duração de cinco dias, e é um protocolo no qual o PCIR é realizado como placebo, de forma que a inflação do cuff é insuficiente para restringir o fluxo sanguíneo. No dia 1 da semana 1 (SHAM), o sujeito comparecia ao laboratório para ser submetido aos seguintes testes: CR, CRCC, IPS, DPA, CP e Isquemia SHAM. Nos dias 2, 3 e 4 o sujeito era submetido somente à isquemia SHAM. No dia 5, não havia procedimento de isquemia, e eram obtidas a CR, CRCC, IPS, DPA e o CP. Na segunda semana, o mesmo procedimento da primeira semana foi repetido, mas com o Protocolo de Intervenção (INT), no qual a PCIR gerava pressão suficiente para a obstrução sanguínea. Na terceira semana, o sujeito comparecia ao laboratório apenas um dia para o Protocolo *Follow-Up* (FU), que acontecia após cinco dias sem PCIR, com os testes CR, CRCC, IPS, DPA e CP. Os testes eram sempre realizados nessa ordem para que o Protocolo SHAM não sofresse influência do Protocolo Intervenção (figura 16).

A isquemia foi realizada da seguinte forma: 5 minutos com o manguito, com pressão, na coxa esquerda (sendo na semana SHAM uma pressão 50% menor do que a pressão arterial diastólica) para bloqueio parcial da artéria femoral e 5 minutos depois sem pressão nenhuma (após o esvaziamento do manguito). Na semana INT o mesmo procedimento foi repetido, mas com uma pressão 50% maior que a pressão arterial sistólica da artéria femoral, para o bloqueio total. Esses ciclos foram repetidos 5 vezes conforme protocolo realizado por Cherry-Allen et al. (2015) e recomendações de otimização de protocolo de isquemia por Hess et al. (2013).





**Figura 16:** Cronograma de atividades para cada sujeito.

Para confirmação da inflação necessária do manguito, tanto para a PCIR SHAM quanto para a PCIR INT, foram realizados PCIR com o auxílio de um ultrassom (Doppler GE Logic P5) em quatro sujeitos. Após a confirmação dos valores de pressão necessários para cada um dos Protocolos (SHAM ou INT), foram definidas a pressão suficiente para não obstruir o fluxo sanguíneo para a PCIR SHAM (entre 40 e 60 mmHg) e a pressão suficiente para obstruir o fluxo sanguíneo para a PCIR INT (entre 210 e 230 mmHg).

Os sujeitos no Protocolo SHAM foram levados a acreditar que estavam sob uma isquemia real, para evitar que fatores psicológicos influenciassem nas medidas. Durante todos os dias de PCIR, os sujeitos foram indagados se estavam sentindo que o sangue “não está passando pela coxa” e concordavam que estava havendo uma interrupção do fluxo sanguíneo.

### 3.3.2 Procedimentos de Estimulação

O reflexo H foi obtido por estimulação elétrica (pulso retangular com 1 ms de duração) aplicado ao nervo tibial por meio de um eletrodo posicionado na fossa poplíteia (Panizza et al., 1989) acoplado ao sistema MEB-2300. Para a obtenção da IPS o estímulo condicionante foi aplicado no nervo fibular com eletrodo de estimulação posicionado na altura da cabeça da fíbula, 100 ms antes da liberação do estímulo que evoca o reflexo H. Os estímulos foram liberados de maneira aleatória (Fournier et al., 1984).

#### 3.3.2.1 Curva de Recrutamento (CR)

O experimento para obtenção da curva de recrutamento foi realizado com o sujeito sentado, com os pés fixos em uma estrutura rígida e com os ângulos das articulações do joelho e tornozelo em torno de  $110^\circ$  e  $90^\circ$ , respectivamente (Figura 15B). Após a fixação dos eletrodos (de captação, de estimulação e o terra), um estímulo era liberado para evocar a onda H no limiar de ativação. Após o registro da intensidade do estímulo mínimo para a ativação da onda H, a intensidade do estímulo era aumentada até a corrente associada à onda H máxima (Hmax).

A faixa de intensidades entre os valores de corrente limiar da onda H e aqueles associados à Hmax (faixa de intensidade Limiar-Hmax) era dividida em 11 estímulos igualmente espaçados para a obtenção da alça ascendente da curva de recrutamento. Por exemplo, se o valor de corrente para se obter o limiar da onda H fosse 5 mA e a corrente para evocar a Hmax fosse 15 mA, as 11 intensidades de estímulo escolhidas para formar a alça ascendente da curva de recrutamento seriam 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15 mA. Como a onda H varia mesmo com a intensidade de estímulo constante (devido às influências descendentes e periféricas), a estimulação era aplicada por 5 vezes seguidas em cada uma das 11 intensidades escolhidas (p.ex.: 5 vezes a 5 mA, 5 vezes a 6 mA, e assim por diante) para poder calcular a média do reflexo H para um estímulo específico (veja um exemplo na Figura 4). Os estímulos eram liberados em intervalos aleatórios (entre 2 e 7 segundos) controlados pelo sistema MEB-2300K para minimizar efeitos de expectativa de ocorrência de

estimulação por parte do sujeito (Fournier et al., 1984). Na sequência dos estímulos (acima de 15 mA, usando o exemplo citado acima), eram obtidos pontos da fase descendente da curva até a obtenção da onda Mmax (Figura 4) com média de 2 respostas para cada ponto.

### *3.3.2.2 Curva de Recrutamento com contração (CRCC)*

O Teste de Curva de Recrutamento Com Contração (CRCC) foi realizado com o sujeito nas mesmas posições do teste CR, mas com contração voluntária isométrica do músculo SO equivalente à 10% da contração voluntária máxima (CVM). O teste é dividido em duas etapas: obtenção da CVM e obtenção dos pontos da Curva de Recrutamento Com Contração (CRCC). Para obter a CRCC, é necessário que o sujeito monitore o seu nível de contração voluntária durante o teste. Para isso, um programa escrito em LabView fornecia ao sujeito um feedback visual por meio de um monitor que mostra a faixa ideal para a manutenção da contração em torno de 10%CVM. Os procedimentos do teste em relação ao padrão de estimulação para obter a CRCC da onda H e M eram os mesmos usados durante o teste da CR.

### *3.3.2.3 Inibição Pré-Sináptica (IPS)*

Para avaliar o grau de IPS sobre os terminais das aferentes Ia do músculo SO, é utilizado um paradigma condicionante-teste (C-T) (Iles, 1996; Mezzarane et al., 2012; Mezzarane et al., 2015). O reflexo H é condicionado por um pulso elétrico retangular (de 1 ms de duração) aplicado no nervo fibular com eletrodo de estimulação posicionado na altura da cabeça da fibula e intensidade de 1,1 vezes o limiar motor (1,1 x LM), 100 ms antes da liberação do estímulo que evoca o reflexo H. O limiar motor é determinado pela presença de uma onda M no TA de aproximadamente 100  $\mu$ V (Fujiwara et al., 2011). A amplitude do reflexo H controle (sem estímulo condicionante) era de 20-30% da resposta direta máxima (Mmax), uma vez que respostas reflexas em torno dessa amplitude são mais sensíveis ao condicionamento, independentemente de sua natureza (Crone et al., 1990). A

presença de uma onda M constante no músculo SO (de amplitude com aproximadamente 5%Mmax) era monitorada para garantir uma eficácia de estimulação apropriada (Mezzarane et al., 2012; Mezzarane et al., 2015). Com o objetivo de manter constante o estímulo condicionante, ou seja, recrutar aproximadamente a mesma sub-população de axônios sensoriais, a onda M do músculo TA era monitorada ao longo do experimento. Nos dias subsequentes, a onda M do TA era mantida na mesma amplitude (nas outras visitas ao laboratório). Os estímulos condicionantes eram liberados de maneira aleatória (Fournier et al., 1984).

#### ***3.3.2.4 Depressão Pós-Ativação (DPA)***

No teste para obter a DPA, o sujeito era mantido na mesma posição selecionada para todos os outros testes eletrofisiológicos. Para a obtenção da DPA, é liberado um estímulo para se obter um reflexo H teste (H1) e outro, após 1s, para se obter um reflexo H sob o efeito da DPA (H2). Dessa forma, são liberados estímulos testes apenas (estímulo simples) e estímulo teste seguido de estímulo condicionante (estímulo duplo). Os estímulos são aleatoriamente distribuídos entre estímulos simples e duplos. A periodização dos estímulos (duplos e simples) é de 0,1 Hz, ou seja, 10 segundos de intervalo para cada tipo de estímulo. Assim como para a IPS, a amplitude do reflexo H controle (H1, sem estímulo condicionante) era de 20-30% da resposta direta máxima (Mmax).

#### **3.3.3 Procedimentos com uso da Plataforma de Força**

Para a realização do teste na plataforma de força, os voluntários eram convidados a retirar os calçados e colocar uma sapatilha descartável da marca Propé Descartável (Descarpack, São Paulo, Brasil). Os sujeitos recebiam as instruções de como eram os procedimentos do teste, no qual eles permaneceriam em pé, sobre uma espuma de alta densidade, que estava alocada em cima da plataforma de força, com os pés paralelos na largura dos quadris e de olhos abertos. Três tentativas foram realizadas com cada voluntário, sendo que cada sujeito permaneceu na plataforma por

1 minuto mais 10 segundos iniciais que eram descartados para o ajuste postural inicial. Cada sujeito descansou mais um minuto entre cada uma das vezes que subiu à plataforma (Rugelj & Sevsek, 2007). Ao subir na plataforma e ficar na posição inicial do teste, foi solicitado ao sujeito que mantivesse os olhos em um ponto fixo na parede (marcado previamente com uma fita adesiva na parede), com distância de dois metros na altura dos olhos do indivíduo. Ao posicionar a plataforma a dois metros de distância, era marcada no solo a posição da plataforma, dessa forma, nos testes seguintes a plataforma estaria sempre na mesma posição.

### **3.4 Processamento de Dados**

Após a aquisição, os sinais eletromiográficos e da plataforma de força foram convertidos para ASCII e processados em ambiente Matlab (versão 2012b, Math Works, Inc.).

#### **3.4.1 Processamento de Sinais Eletromiográficos**

As curvas de recrutamento do reflexo H e da onda M foram ajustadas por meio de uma curva logística (sigmóide) como descrito detalhadamente em Klimstra e Zehr (2008) de acordo com a equação I:

$$H(s) = \frac{H_{max}}{1 + e^{m(s_{50}-s)}} \quad \text{I}$$

em que  $H_{max}$  é a resposta H máxima (limite superior da curva),  $m$  é a inclinação da alça ascendente,  $s_{50}$  é a intensidade de estímulo necessária para se evocar 50% do  $H_{max}$ , e  $H(s)$  é a amplitude reflexa para um determinado estímulo  $s$ . Os coeficientes da curva foram estimados utilizando a técnica dos mínimos quadrados iterativos (função *nlinfit* do Matlab).

Os valores iniciais utilizados como variáveis de entrada na rotina personalizada escrita em ambiente Matlab foram a corrente normalizada, o platô ( $H_{max}$ ) e uma inclinação calculada a partir da reta de regressão estimada da porção

linear da alça ascendente da curva de recrutamento. A inclinação da reta (*slope*), que tangencia a região da curva cuja derivada é maior, foi calculada de acordo com a equação II:

$$slope = m \frac{Hmax}{4} \quad II$$

em que *m* é o parâmetro de inclinação da sigmóide proveniente da estimativa dos mínimos quadrados iterativos (equação I)

Um ajuste sigmoidal foi também realizado sobre as amplitudes da onda M para comparação adequada das curvas de recrutamento do reflexo H ao longo das intensidades de estimulação. Ou seja, o ajuste da CR da onda M servirá como uma referência, uma vez que esta resposta direta não depende de fatores fisiológicos centrais e suas curvas (obtidas antes e após a intervenção) devem se sobrepor perfeitamente (veja as curvas rosa e azul-claro na Figura 8). Desta forma, a corrente foi normalizada pela corrente necessária para se evocar 50% da resposta Mmax utilizando-se o ajuste sigmoidal das ondas M como referência (Figura 7).

Para saber qual ajuste sigmoidal da CR melhor representa os dados, a rotina do Matlab escolhia aquele que apresentou menor erro quadrático, variando o valor de *s50* do primeiro valor de *s* (valor mínimo de corrente) até o seu último valor (valor máximo de corrente). Este erro se baseia no somatório da diferença entre o erro esperado e o erro observado. O valor de *s50* associado ao menor erro quadrático é o escolhido para fazer o ajuste. Como os valores de corrente utilizados no experimento não foram distribuídos uniformemente, foram interpolados pontos entre os valores mínimos e máximos de corrente para encontrar o valor ideal de *s50*.

Os valores de amplitude associados às intensidades de estímulo da curva pré-intervenção foram comparados com as amplitudes obtidas nas mesmas intensidades da curva pós-intervenção (Zehr et al., 2007; Klimstra & Zehr, 2008) (Figura 8). Os parâmetros do reflexo retirados da curva pós são descritos como "na" ("at" em inglês: "@") corrente correspondente ao valor da respectiva curva pré. Por exemplo, a modulação do valor para H50 (50% do Hmax) pré é H@50 no pós. Isto significa que a mesma corrente utilizada para evocar a H50 durante condição pré evoca uma

resposta reflexa correspondente a H@50 na pós. Com este procedimento, é possível examinar a modulação reflexa durante a realização de diferentes tarefas ou sob condicionamento diferente quando o mesmo estímulo é gerado (Mezzarane et al., 2011). Outros valores "@" obtidos por meio do mesmo procedimento serão H@limiar (H@th), H@50, e H@100 (Figura 8). O parâmetro inclinação (*m*, ou *slope*) reflete o ganho de recrutamento (Kernell & Hultborn, 1990).

Os parâmetros da curva de recrutamento utilizados para comparação foram *slope* (inclinação), Hmax (amplitude máxima do H), Hth (limiar de amplitude em que existe resposta do reflexo H), H@th (valor de limiar mapeado na curva pós-intervenção pela corrente que evocou Hth na curva controle: pré-intervenção), H50 (amplitude igual à 50% da Hmax), H@50 (valor cuja corrente evocou 50%Hmax na curva pré), H100 (amplitude de referência da sigmóide que representa aproximadamente a população de unidades motoras maiores) e H@100 (valor cuja corrente evocou aproximadamente 100% da resposta reflexa máxima na curva pré).

O Percentual de Diminuição da Amplitude (PDA), tanto para IPS, quanto para DPA, foi obtido a partir da subtração das amplitudes (normalizadas pela Mmax) calculadas como valores pico-a-pico dos reflexos H controle (Hcont), dos valores dos reflexos H condicionados (Hcond) divididos pelo reflexo H controle, segundo a equação (III):

$$PDA = \frac{H_{cont} - H_{cond}}{H_{cont}} \times 100 \quad \text{III}$$

### 3.4.2 Processamento de Sinais da Plataforma

Para poder calcular a VM, foi obtida a diferença de cada ponto do sinal do centro de pressão no sentido Médio-Lateral (ML) e AP, usando a função *diff* do MATLAB, e após, calculada a média dos valores absolutos destas diferenças. O cálculo de velocidade é distância/tempo, portanto, a média calculada anteriormente é dividida pelo intervalo entre as amostras ou pelo inverso da frequência de amostragem, como mostrado na equação IV (Mezzarane & Kohn, 2008):

$$VM = \frac{1}{T} \sum_{i=2}^N \frac{|CP_{ap_i} - CP_{ap_{i-1}}|}{N} \quad IV$$

na qual T é o inverso da frequência de amostragem do sinal e N é o número de amostras. Este cálculo foi realizado para os sinais provenientes de cada uma das três tentativas para cada sujeito e, em seguida, calculada a média destas três medidas.

O espectro foi obtido por meio do método de Welch com 2000 amostras por periodograma, resultando em uma resolução espectral de 0,05 Hz. Uma janela Hann com sobreposição de 1000 pontos foi utilizada. Estes procedimentos foram realizados em ambiente Matlab. As áreas sob o espectro foram calculadas em trechos de 0,05 Hz a 0,25 Hz e 0,3 Hz a 2,0 Hz. O primeiro trecho corresponde ao intervalo em que o espectro do CP no sentido AP é muito semelhante ao espectro do centro de gravidade, ao passo que o limite superior do segundo trecho inclui 99% do conteúdo espectral do CP na postura ereta quieta (Mezzarane & Kohn, 2008). Estes quantificadores serão utilizados para representar o comportamento dos subsistemas de controle postural.

A área sob o espectro é calculada para comparar cada uma das intervenções ao longo dos dias de teste, separando as frequências maiores, entre 0.3Hz e 2Hz, das frequências menores, entre 0.05Hz e 0.25Hz. Dessa forma, é possível avaliar como cada frequência foi influenciada pelo PCIR nos dias de testes (Gatev et al., 1999).

### **3.5 Estatística**

Uma ANOVA de medidas repetidas de uma via foi usada para detectar diferenças nas variáveis eletrofisiológicas e biomecânicas entre as condições pré e pós SHAM e pré e pós INT. O fator “Tempo” da ANOVA é constituído pelos fatores pré e pós para cada condição (SHAM, INT e FU). O teste de Mauchly de esfericidade foi realizado para verificar se uma população normal multivariada possui variâncias iguais e correlações nulas. Da mesma forma que foram analisadas as situações pré e pós (PRESHAM-POSSHAM e PREINT-POSINT), o FU foi comparado com a



situação controle anterior (PREINT). O nível de significância foi definido como  $p < 0.05$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa SPSS (16.0).

Para calcular o tamanho do efeito foi utilizado Eta quadrado ( $\eta^2$ ), mostrado na equação V:

$$\eta^2 = \frac{S^2_2}{S^2_{total}} \quad V$$

na qual  $S^2_2$  é a variância da intervenção, e  $S^2_{total}$  é a variância do grupo todo (sem intervenção S e com intervenção).

## 4. Resultados

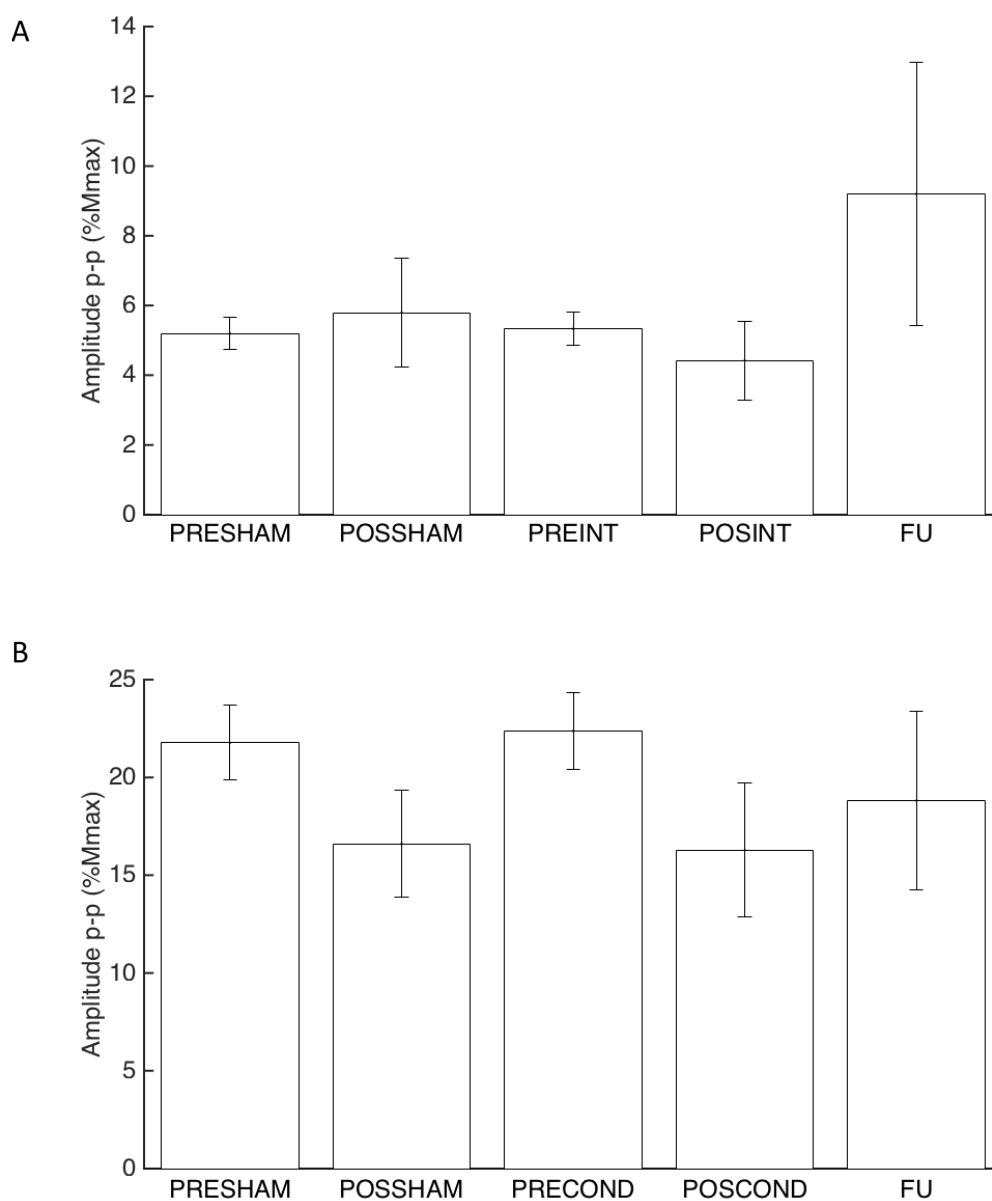
### 4.1 Parâmetros neurofisiológicos

Foram avaliados valores de amplitude pico-a-pico do reflexo H mapeados em diferentes pontos da curva de recrutamento ajustada por uma sigmóide, nos protocolos PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT e FU, além de dois mecanismos pré-sinápticos, IPS e DPA. Nas figuras 17, 18 e 19 são mostradas as comparações entre cada um dos protocolos (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT e FU) para os pontos na curva de recrutamento, em H@th, H@50, H@100 e Hmax.

Houve uma diminuição do parâmetro H@100 ( $F_{56,4}=2.858$ ;  $p=0.032$ ), que é o ponto da curva de recrutamento que está mais diretamente associado às fibras de maior calibre e de limiar de ativação maior (figura 18). As fibras de pequeno calibre em H@th, e de médio calibre em H@50, não sofreram alterações significativas.

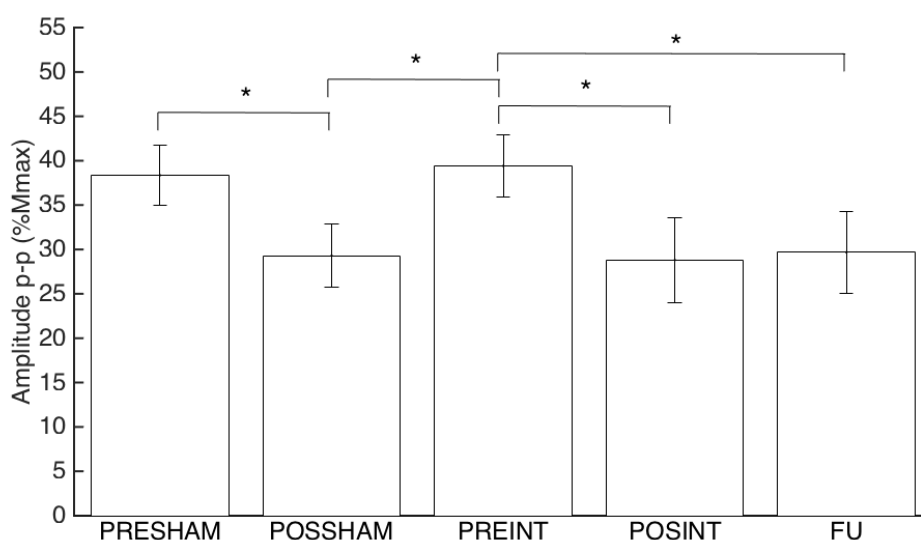
Em H@100 é possível verificar a variação da amplitude na condição PRESHAM para POSSHAM, que foram realizados na semana controle (SHAM). Nesta semana não houve PCIR, mas observou-se diferença significativa entre os dias ( $p < 0.05$ ), mostrando uma possibilidade de efeito placebo. Muito interessante observar que no início da semana seguinte (INT) as amplitudes voltaram a não ter diferença

significativa de PRESHAM para PREINT ( $p>0.05$ ), gerando um efeito conhecido como *washout* (veja a figura 18).



**Figura 17:** A. Comparação entre os parâmetros Hth (condições “PRE”) e H@th (Condições POS e FU) obtidos da CR ao longo dos dias de testes (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT, FU) ( $p>0.05$ ). B. Comparação entre os parâmetros H50 (condições “PRE”) e H@50 (Condições POS e FU) obtidos da CR ao longo dos dias de testes (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT, FU) ( $p>0.05$ ). Não houve diferenças significativas para nenhum dos dois pontos da CR.

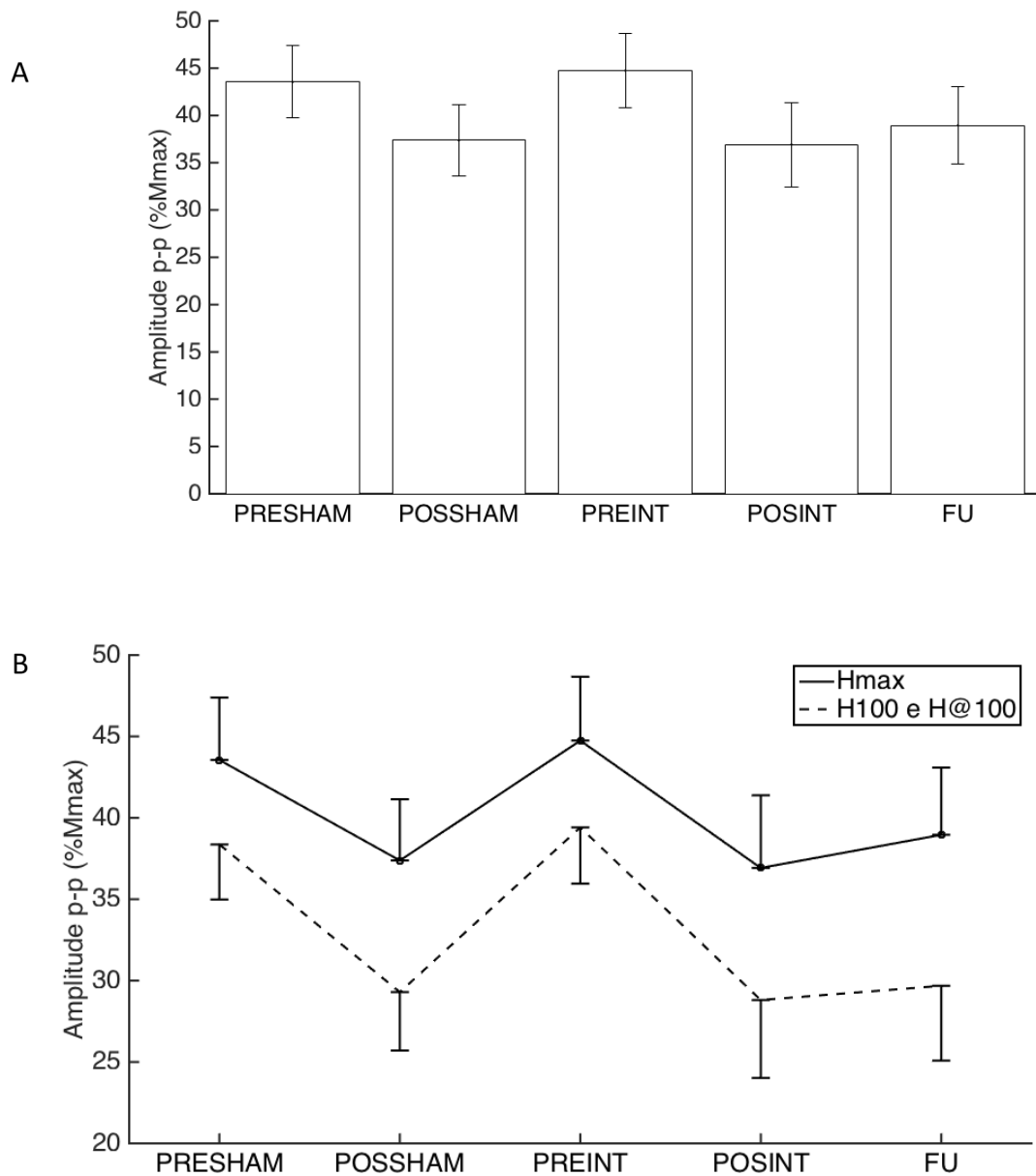
No início da segunda semana, houve uma diminuição significativa na amplitude reflexa (Parâmetro H100) do PREINT para o POSINT ( $p<0.05$ ), da mesma forma como aconteceu na semana anterior (semana SHAM). Porém ao comparar o PREINT com o FU, para verificar se houve efeito *washout*, os valores do FU estavam significativamente menores ( $p<0.05$ ), ou seja, não voltaram aos valores de amplitude pré-condicionamento, como aconteceu na semana SHAM. Não houve diferenças significativas entre os valores de POSINT e FU. Tais resultados sugerem que o efeito psicológico (placebo) não apresentou retenção maior do que dois dias, ao passo que os efeitos fisiológicos (provavelmente em conjunto com os psicológicos) persistiram por pelo menos cinco dias.



**Figura 18:** Comparação entre os parâmetros H100 (condições “PRE”) e H@100 (Condições POS e FU) obtidos da CR ao longo dos dias de testes (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT, FU). Foram encontradas diferenças significativas entre PRESHAM e POSSHAM ( $p<0.05$ ), entre POSSHAM e PREINT ( $p<0.05$ ) e entre PREINT e POSINT ( $p<0.05$ ). Também houve diferença significativa entre PREINT e FU ( $p<0.05$ ).

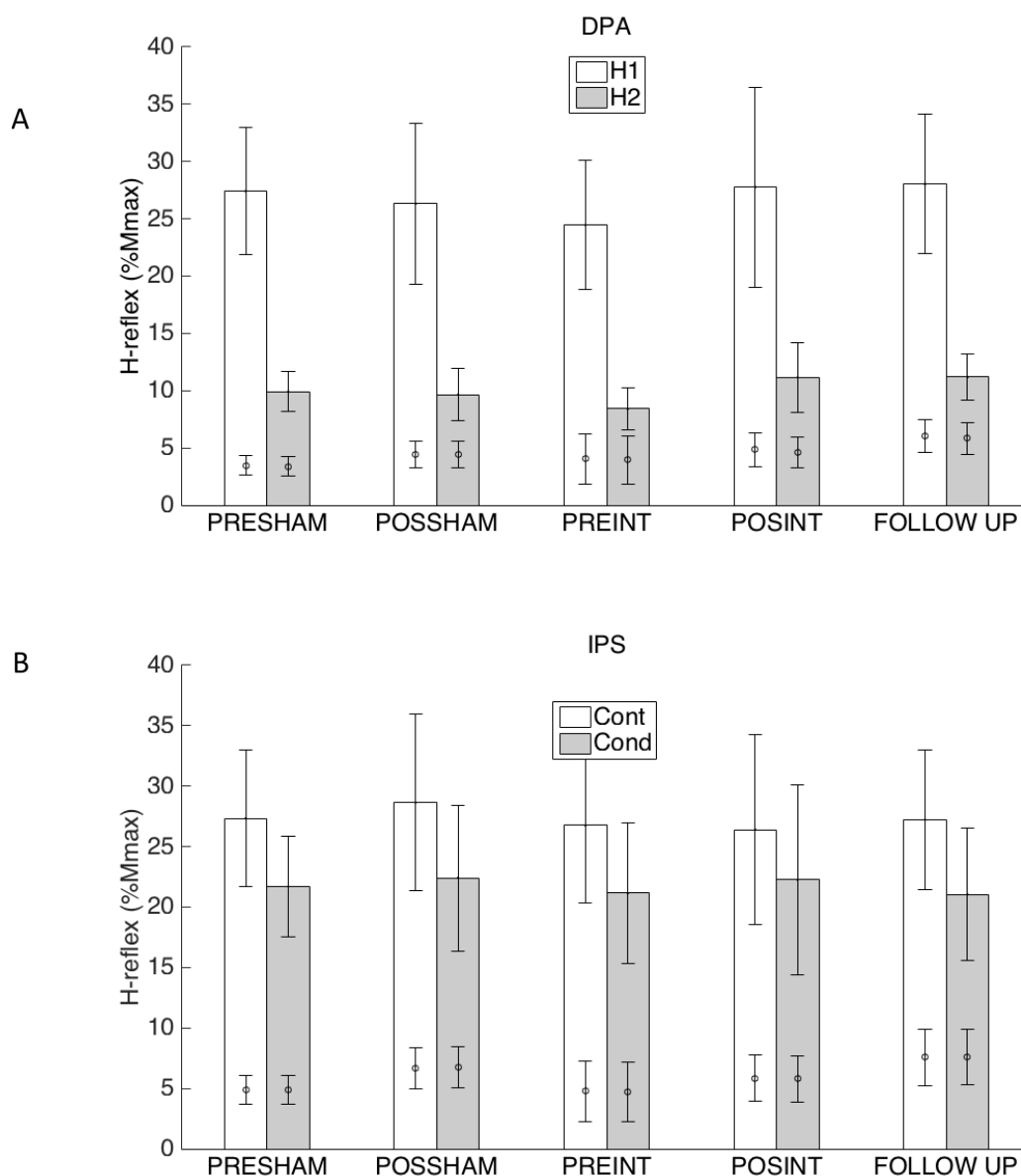
A esfericidade considerada para os valores de Hmax foi ( $F_{56,4}=2.465$ ;  $p=0.055$ ), ou seja, muito próximo de  $p=0.05$  e, ao analisar os gráficos, percebe-se uma tendência dos valores de Hmax a acompanhar os resultados obtidos em H@100, principalmente porque os valores das amplitudes pico-a-pico para os dois parâmetros são muito próximos (figura 19A e 19B). Ademais, o  $\eta^2$  que indica o tamanho do efeito apresentou valores altos e muito próximos (H@100:  $\eta^2=0.17$ ; Hmax:  $\eta^2=0.15$ ),

diferentemente de H@50 e H@th que apresentaram valores bem menores (H@50:  $\eta^2=0.067$  e H@th:  $\eta^2=0.064$ ).

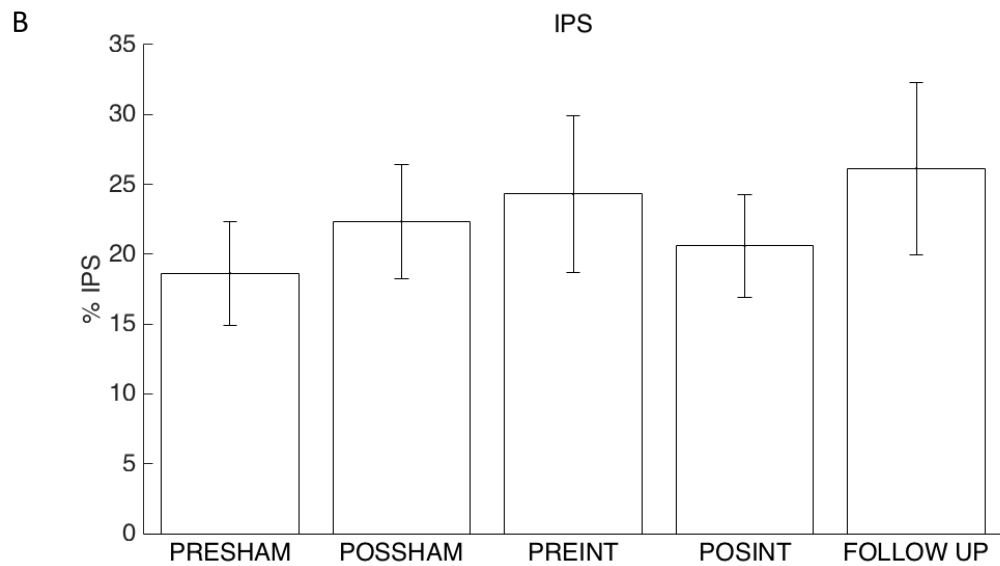
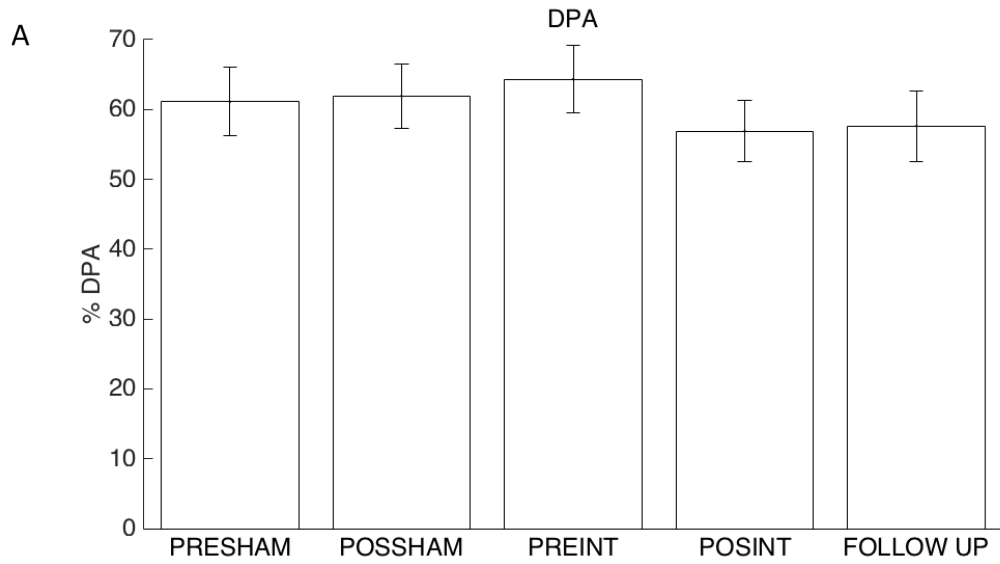


**Figura 19:** Comparação entre os dias de testes (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT, FU). A: Valores de Hmax para todas as condições que apresentaram um valor de  $p$  marginal ( $p=0.055$ ). B: Comparação entre os valores H100 e H@100 (respectivamente, pré e pós), e Hmax pré e pós ao longo das condições. Nota-se que os perfis de modulação reflexa ao longo dos protocolos foram muito semelhantes entre Hmax e H100.

Dentre os mecanismos pré-sinápticos investigados, o PDA para IPS não apresentou diferença significativa ao longo das condições ( $p>0.05$ ). O mesmo foi observado para a DPA ( $p>0.05$ ) (figuras 20 e 21). Ou seja, a inibição observada em H@100 parece não ser atribuída a mecanismos pré-sinápticos.

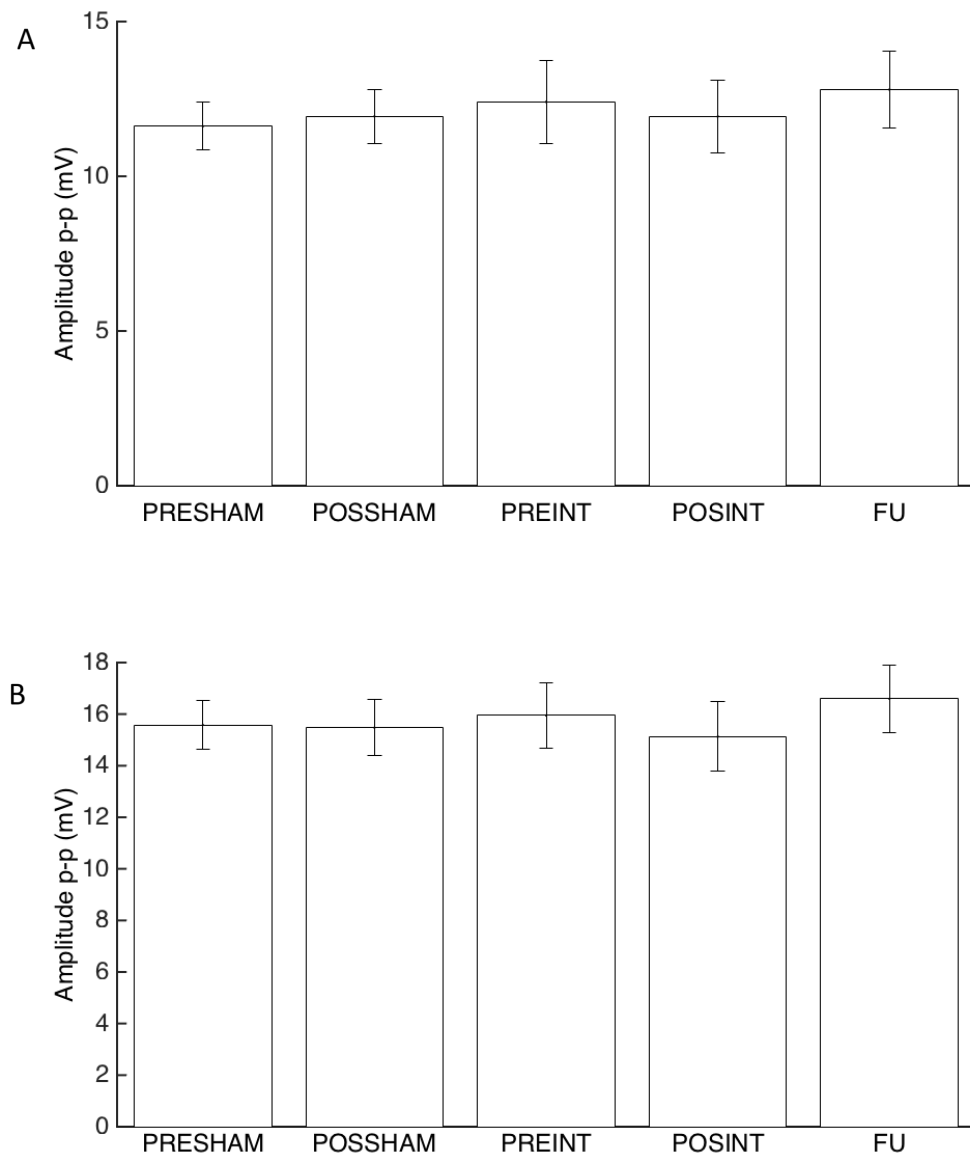


**Figura 20:** Comparação entre os dias de teste e para cada dia, com condição controle e condicionada. É possível visualizar que as condições controle da DPA (A) e da IPS (B) mantiveram-se próximas de 25% da Mmax. Os círculos no centro das barras indicam a amplitude pico-a-pico da onda M. É possível visualizar a onda M estável em torno de 5%Mmax nos dois protocolos.



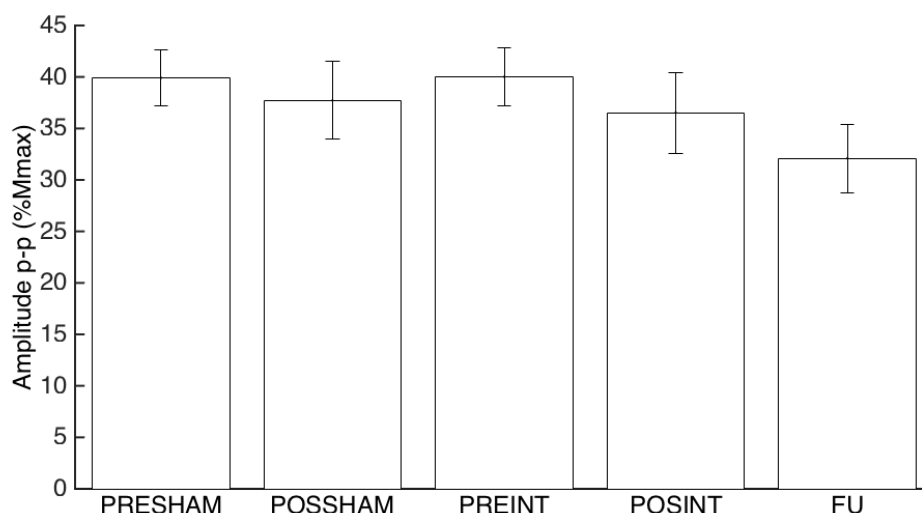
**Figura 21:** Gráficos de barras comparando o PDA ao longo dos dias de teste, com A: percentual de DPA para cada dia de teste, sem diferenças estatisticamente significantes ( $p>0.05$ ). B: percentual de IPS cada dia de teste, sem diferenças estatisticamente significantes ( $p>0.05$ ).

Não houve diferenças significativas para inclinação (*slope*) da CR ( $p>0.05$ ) e CRCC ( $p>0.05$ ), assim como para a onda Mmax entre os dias de teste, nem para CR ( $p>0.05$ ) (Figura 22A) e nem para CRCC ( $p>0.05$ ) (Figura 22B).



**Figura 22:** Gráficos de barras comparando as ondas Mmax nos dias de teste, demonstrando, em A: onda Mmax da CR ( $p>0.05$ ) e B: onda Mmax da CRCC ( $p>0.05$ ).

Diferentemente da CR, a CRCC não apresentou diferenças significativas entre os dias de teste para nenhum dos parâmetro da curva, inclusive para H100 e H@100 (figura 23).



**Figura 23:** Comparação entre os parâmetros H100 (condições “PRE”) e H@100 (Condições POS e FU) obtidos da CRCC ao longo dos dias de testes (PRESHAM, POSSHAM, PREINT, POSINT, FU). Não foram encontradas diferenças significativas para nenhum dos protocolos ( $p > 0.05$ ).

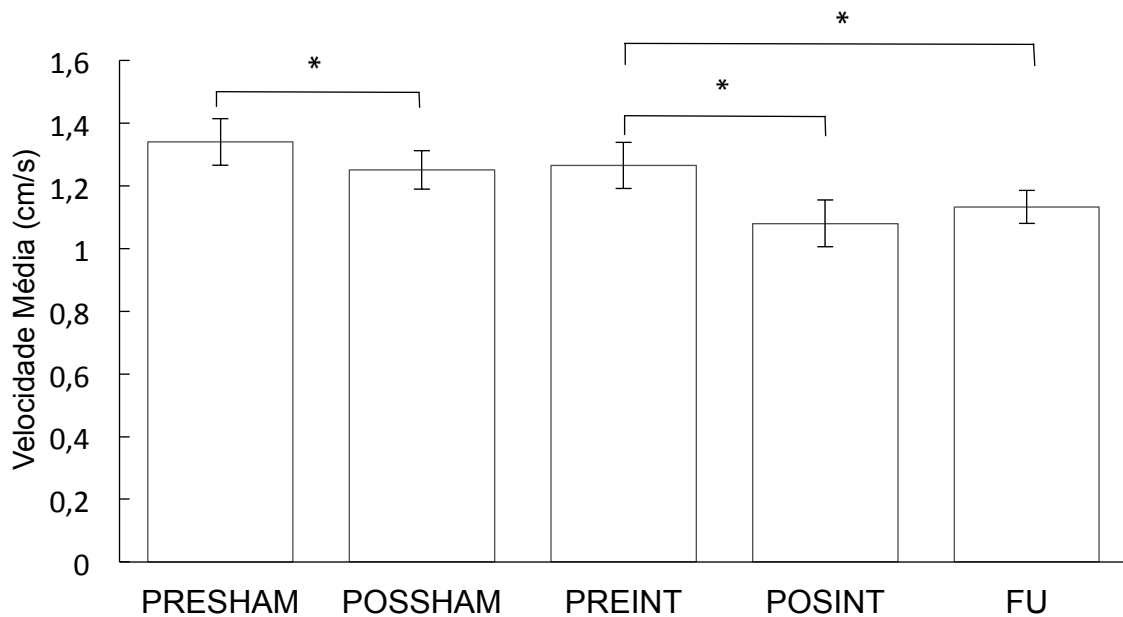
#### 4.2 Parâmetros posturográficos

Não houve alteração significativa para a variação da velocidade média de CP no sentido AP, mas houve para ML ( $F_{40,4}=5.028$ ;  $p=0.002$ ) (Figura 24). As situações que obtiveram diferenças significativas foram PRESHAM para POSSHAM ( $p < 0.046$ ), PREINT para POSINT ( $p < 0.024$ ) e PREINT para FU ( $p < 0.049$ ).

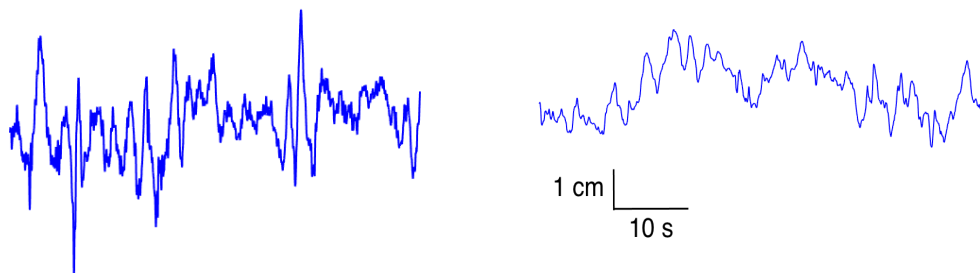
Além da verificação da velocidade média do CP, foi realizada também uma análise espectral, para avaliar a variação das componentes das oscilações posturais de alta e baixa frequência (Figura 25 e 26). Cada uma das componentes corresponde a um mecanismo de controle postural que opera a curto ou a longo prazo, e que se refletem nas oscilações de alta e baixa frequência (Figuras 27 e 28), respectivamente.

Frequências acima de 0.25Hz são consideradas frequências de oscilações rápidas e podem estar associadas a um controle postural de curto prazo que estaria intimamente relacionado à frequência de disparo de unidades motoras, enquanto as frequências abaixo de 0.25Hz são relacionadas com as propriedades inerciais do sistema biomecânico, atuando de forma mais lenta.



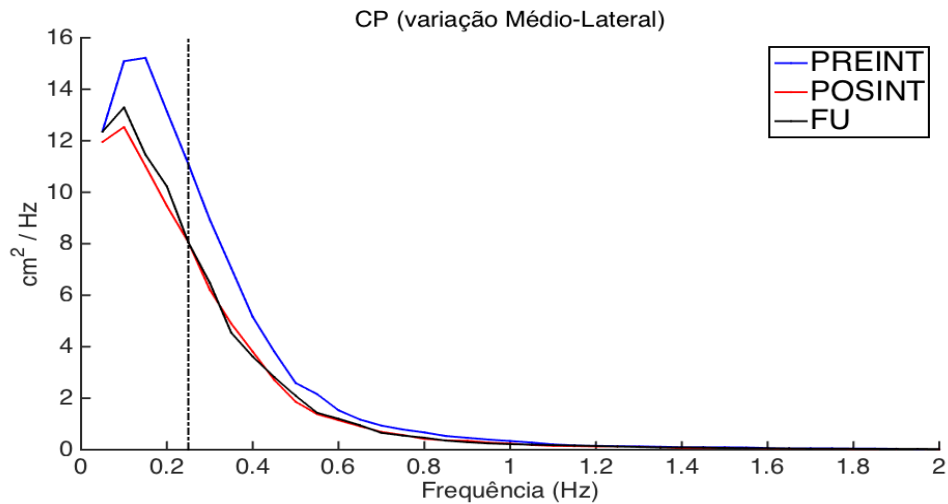


**Figura 24:** Comparação entre os dias de protocolos com variação da velocidade média de CP-ML significativa principalmente entre os dias POSSHAM e POSINT ( $p < 0.05$ ) e PREINT e POSINT ( $p < 0.05$ ) e PREINT e FU ( $p < 0.05$ ).

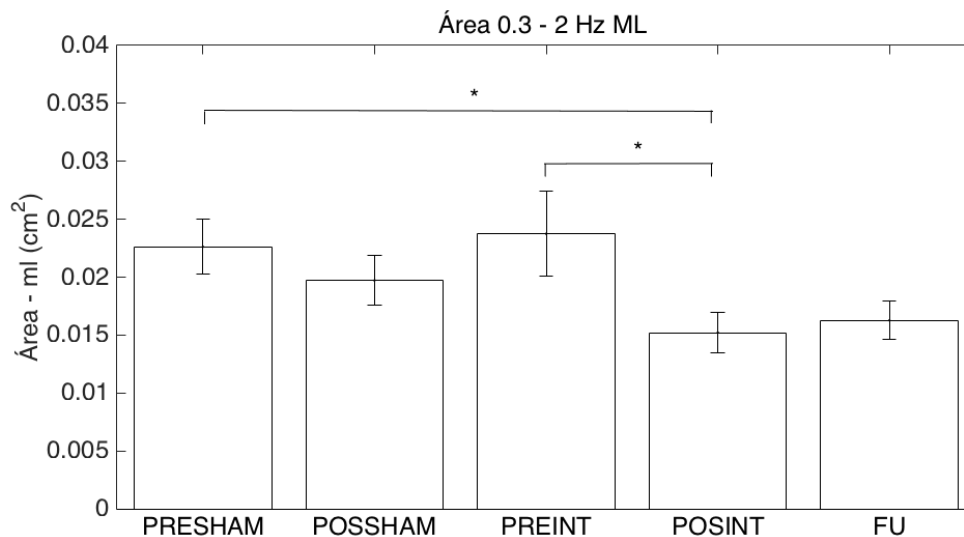


**Figura 25:** Deslocamento do CP no sentido ML de um sujeito na condição PREINT (registro da esquerda) e POSINT (registro da direita). É possível, por inspeção visual, perceber a diminuição das frequências rápidas e a manutenção das frequências lentas após PCIR.

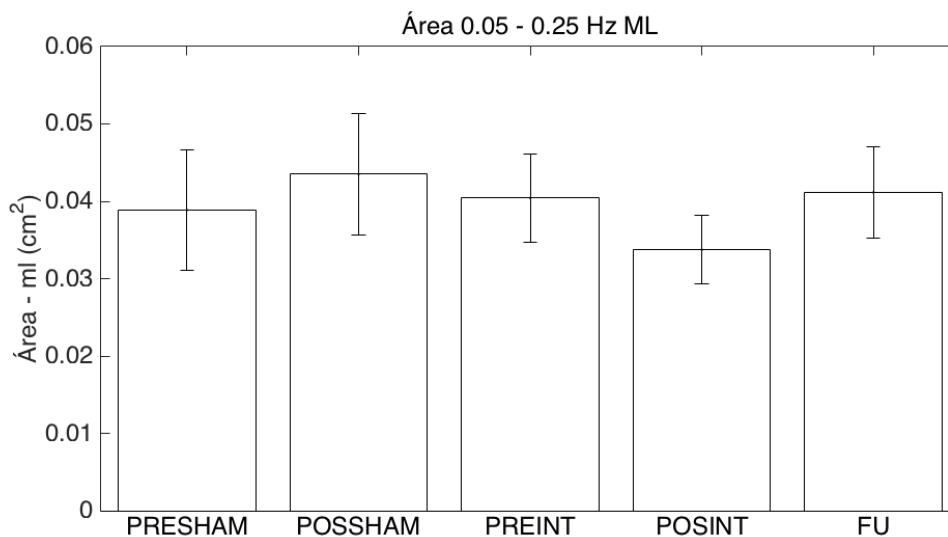
As frequências menores, que indicam oscilações posturais mais lentas, não sofreram alterações significativas após o PCIR ( $p > 0.05$ ), mas as frequências maiores, entre 0.3Hz e 2Hz, tiveram alterações significativas de PRESHAM para POSINT ( $p < 0.05$ ) e PREINT para POSINT ( $p < 0.05$ ) (Figura 27). Portanto, as frequências maiores, que correspondem ajustes posturais mais rápidos foram influenciadas pelo PCIR.



**Figura 26:** Espectro de potência médio (média de todos os sujeitos e todas as repetições) em cada uma das três condições, PREINT, POSINT e FU. A linha pontilhada vertical indica a frequência (0,25 Hz) que separa as duas áreas sob o espectro (cujas médias estão representadas nas Figuras 27 e 28).



**Figura 27:** Médias e erro padrão (linha vertical) das áreas calculadas sob o espectro de potência do deslocamento do CP ML delimitadas pelas frequências 0,3 Hz e 2Hz que, possivelmente, refletem a ação do sistema de controle postural de curto prazo. Os valores foram comparados ao longo dos dias de teste (condições). Houve diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) entre PREINT e POSINT, PRESHAM e POSINT (indicadas com um asterisco) para as áreas delimitadas pelo intervalo de frequências maiores correspondentes às oscilações posturais mais rápidas.



**Figura 28:** Médias e erro padrão (linha vertical) das áreas calculadas sob o espectro de potência do deslocamento do CP ML delimitadas pelas frequências no intervalo de 0,05 Hz e 0,25 Hz que, possivelmente, refletem a ação do sistema de controle postural de longo e prazo. Os valores foram comparados ao longo dos dias de teste (condições). Não houve diferenças significativas ( $p > 0.05$ ).

## 5. Discussão

A existência de efeitos remotos entre o local da isquemia e o órgão-alvo tem sido demonstrada (Birnbau et al., 1997; Kharbanda et al., 2002; Cherry-Allen et al., 2015). Dois caminhos foram propostos para intermediar os efeitos do PCIR: vias humorais ou neuronais (Brooks & Andrews, 2013). Como PCIR na coxa não induziu alterações hemodinâmicas e de desoxigenação, ao mesmo tempo em que houve alteração na fase de contração e relaxamento muscular, assim como diminuição no tempo para alcançar a fadiga no antebraço (Barbosa et al., 2014), torna-se necessário focar a atenção nos possíveis mecanismos neuronais subjacentes. Os mecanismos neurais centrais e periféricos influenciam na fadiga em uma complexa interação (Gandevia, 2001). Por exemplo, Bigland-Ritchie et al., (1986) sugerem que o declínio nas taxas de disparo de um motoneurônio durante a fadiga em uma CVM sustentada, pode ser o resultado de mudanças na excitabilidade do motoneurônio. Não obstante, em outro estudo neurofisiológico, após a indução da fadiga por meio de estímulos elétricos aliados à isquemia, o reflexo H foi significativamente deprimido, enquanto que a isquemia sem fadiga e a fadiga isolada não reduziram a amplitude do reflexo H (Garland & McComas, 1990).

Alguns mecanismos pré-sinápticos podem diminuir a amplitude do reflexo H,

como a IPS e a DPA (Rudomin & Schmidt, 1999; Keller et al., 2011), contudo, existe uma relação ainda imprecisa entre as vias neuronais associadas à fadiga muscular (Bigland-Ritchie et al., 1986; Garland & McComas, 1990; Vila-Chã et al., 2012; Barbosa et al., 2014). Ou seja, a ação do PCIR sobre mecanismos neuronais que afetam o desenvolvimento de fadiga muscular ainda precisa ser esclarecida.

Considerando os mecanismos multifatoriais e epigenéticos do PCIR, supõe-se que essa intervenção possa induzir plasticidade neural, com melhora do controle motor (Cherry-Allen et al., 2015). No entanto, até o momento, nenhum estudo esclareceu quais mecanismos intermediam as alterações no controle motor após o PCIR. Outrossim, como não foram relatadas alterações humorais (Barbosa et al., 2014; Cherry-Allen et al., 2015), mas foram encontradas melhora no controle motor e na diminuição da fadiga (Vila-Chã et al., 2012; Barbosa et al., 2014; Cherry-Allen et al., 2015) um forte candidato para intermediar os efeitos poderia ser um mecanismo neurofisiológico envolvendo vias neuronais, principalmente aquelas confinadas na medula espinhal, e que podem ser acessadas por técnicas não invasivas como a do reflexo H.

### **5.1 Alterações na excitabilidade da medula espinhal**

Os resultados do presente trabalho aduzem que houve diferenças significativas entre as condições PRESHAM e POSSHAM para as unidades motoras de maior tamanho (associadas aos parâmetros H100 e H@100), demonstrando o efeito placebo, provavelmente psicológico, pois não havia pressão suficiente para obstruir o fluxo sanguíneo. Este resultado foi confirmado apenas para a CR sem contração. Durante a contração voluntária, os tratos descendentes provenientes do córtex motor exercem influência sobre uma variedade de elementos medulares, por exemplo, interneurônios que modulam a excitabilidade da via reflexa (Zehr, 2002). Esta ação poderia mascarar os efeitos do PCIR observados no presente estudo, uma vez que acreditamos que interneurônios medulares possam exercer algum efeito nos resultados (veja adiante e Figura 31). Contudo, os parâmetros da CRCC apresentaram tendência semelhante aos da CR (compare a figura 18 com a figura 23). Apesar da possível diminuição na variação dos potenciais de membrana dos motoneurônios, a contração isométrica voluntária constante não garantiu, em nosso caso, condições experimentais adequadas

para detectar os efeitos do condicionamento. Desta forma, no que segue, consideraremos apenas os resultados obtidos no repouso (sem contração voluntária).

A diferença significativa entre os valores do parâmetro  $H@100$  da condição POSSHAM (testada em uma sexta-feira) e PREINT (testada na segunda-feira seguinte) cujos valores de amplitude retornaram ao normal (semelhante ao controle PRESHAM) indica que o efeito placebo não permaneceu ao longo de dois dias, caracterizando um efeito de *washout* (Gupta & Verma, 2013). Assim como na semana SHAM, a diminuição significativa nos valores do parâmetro  $H@100$  da condição PREINT para POSINT foi significativa, com a possibilidade de ter acontecido o mesmo efeito placebo da semana anterior. Porém, uma observação interessante é que após quatro dias de repouso do POSINT, o efeito do PCIR observado nas duas semanas anteriores se manteve (não houve ocorrência de *washout*), com diferença significativa de PREINT para FU ( $p < 0.05$ ), mas não de POSINT para FU (Figura 18). Essa modulação da amplitude da resposta reflexa referente às unidades motoras de calibre maior pode ser resultado do efeito da intervenção somado ao placebo. Contudo, um efeito fisiológico para explicar o resultado da semana SHAM não pode ser descartado (ver seção 7.3).

Segundo Clark et al. (2000, p.1642) “O efeito placebo é um resultado favorável decorrente puramente da crença de que se recebeu um tratamento benéfico”. De fato, várias pesquisas têm utilizado o efeito placebo como um controle metodológico (Beedie et al., 2007). Esse efeito tem sido recorrentemente relatado quando se trata de efeitos ergogênicos, como aumento de força e resistência muscular. Sabino-Carvalho et al. (2016) demonstraram que o PCIR não demonstrou resultados superiores quando comparado com o placebo, sugerindo que o efeito placebo é relevante quando se trabalha com PCIR. No entanto, no presente trabalho, ao comparar as condições PREINT e FU, a diminuição da excitabilidade reflexa na condição FU provavelmente não está associada ao efeito placebo. Ademais, estudos anteriores relataram que a melhora da resposta motora se manteve por pelo menos 4 semanas após a realização do último PCIR (Cherry-Allen et al., 2015). Dessa forma, é possível deduzir que o efeito do PCIR sobre a excitabilidade reflexa seja sistêmico e duradouro.

Interessante observar que somente o parâmetro H@100 foi afetado pela intervenção. Não houve alterações significativas para respostas reflexas de amplitude menores, como em H@th e H@50 (Figuras 17A e 17B). Essas diferenças podem estar relacionadas com o tipo de fibra nervosa recrutada. Ao estudar o reflexo de estiramento em gatos decerebrados, foi descoberto que, à medida que a intensidade de estímulo aumenta, as unidades motoras são recrutadas de forma ordenada das menores para as maiores, fenômeno conhecido como "princípio do tamanho" (Henneman et al., 1965a; 1965b). Normalmente relacionadas com H100, as fibras de maior calibre necessitam de estímulo de intensidade maior para serem recrutadas em comparação às de menor calibre, obedecendo ao princípio do tamanho. Fibras de menor calibre precisam de um estímulo de intensidade menor e são relacionadas com Hth e as de médio calibre correlacionadas com H50. Desta forma, podemos concluir que as fibras recrutadas mais tardiamente (unidades motoras maiores, de contração rápida) foram as mais afetadas pelo PCIR, uma vez que a diferença significativa foi encontrada entre os parâmetros H100 e H@100 (figura 18).

O parâmetro de Hmax indica a amplitude pico a pico máxima da CR para o reflexo H, portanto, relacionado com as unidades motoras de maior calibre. Se na situação pós, a amplitude do Hmax estiver menor que na situação pré, mesmo se aumentasse a intensidade do estímulo, essa amplitude do Hmax não iria aumentar, confirmando, desta forma, que houve um recrutamento menor das fibras de maior calibre (Mezzarane et al., 2011). Já que as intensidades de estímulo e as fibras recrutadas são semelhantes em H100 e Hmax, esperar-se-ia, portanto, que o parâmetro Hmax na situação pós-intervenção apresentasse amplitude significativamente menor, ou seja, um resultado semelhante ao observado para H@100. Contudo, os resultados estatísticos não alcançaram o nível de significância para rejeitar a hipótese nula, mas o valor de  $p$  foi marginal ( $p=0.055$ ). Ou seja, observando os gráficos da figura 19, nota-se o mesmo perfil de modulação reflexa ao longo das condições, mas sem significância estatística entre as condições pré e pós intervenção para o parâmetro Hmax. Apesar dessas diferenças sutis, podemos deduzir que o PCIR de fato influencia a excitabilidade da via reflexa mediada pelas unidades motoras de calibre maior. Outro aspecto interessante é que esses efeitos diferenciais para subpopulações específicas de unidades motoras só podem ser revelados pela

análise do padrão de recrutamento, utilizando o procedimento analítico de ajuste sigmoidal proposto por Klimstra & Zehr (2008).

A diminuição do Hmax e H@100 sob diferentes intervenções tem sido relatada em diversos estudos (Taube et al., 2007b; Dragert & Zehr, 2011; Vila-Chã et al., 2012). Em um protocolo de treinamento de força no SO unilateralmente (Dragert & Zehr, 2011), observou-se um aumento de força bilateralmente, com diminuição da amplitude do Hmax no músculo agonista e antagonista (não eram previstas pelos autores as alterações de plasticidade neural no membro que não sofreu intervenção). Segundo os autores, o treinamento acarretou na redução da excitabilidade de unidades motoras de alto limiar de ativação. Em uma outra pesquisa, com atletas, o treinamento de força influenciou no aumento da amplitude de Hmax, enquanto no outro grupo, com treinamento de equilíbrio, a amplitude do Hmax diminuiu, indicando a possibilidade da circuitaria do reflexo-H se adaptar de acordo com a demanda específica (Taube et al., 2007b).

Cumpra-se ressaltar que, não raramente, estuda-se somente um parâmetro (Hmax) que pode variar consideravelmente entre os sujeitos (Hallett, 1993). No presente trabalho decidimos investigar os padrões de recrutamento por meio de ajustes sigmoidais para se ter uma ideia do comportamento de diferentes subpopulações de unidades motoras. Esses padrões não podem ser investigados utilizando-se amplitudes fixas do reflexo H.

A diminuição da amplitude do reflexo H pode estar correlacionada com a melhora do controle motor em situações desafiadoras. Com uma maior inibição da resposta reflexa, evita-se instabilidades posturais decorrentes de contrações fásicas de músculos cuja via reflexa não está sendo modulada de maneira apropriada (Taube et al., 2007b). Essa alteração na excitabilidade dos reflexos medulares, pós-treinamento em plataforma instável, pode representar uma adaptação benéfica, possivelmente refletindo um aumento da IPS, ao melhorar o controle motor reduzindo perturbações posturais decorrentes de contrações fásicas dos músculos posturais (Trimble, 1994; Aagard et al., 2002). No presente estudo, o equilíbrio apresentou melhora, com a redução da amplitude do reflexo-H.

Frequentemente, após a intervenção do PCIR, é possível registrar diversos efeitos benéficos no organismo, principalmente quando se concretizam alterações de efeitos ergogênicos. Ao analisar a melhora dos efeitos ergogênicos aliada à modulação do reflexo H, é possível investigar por quais meios o PCIR afeta diferentes características funcionais como, por exemplo, o aumento no tempo para chegar à fadiga. (Barbosa et al., 2014) após o PCIR. No trabalho da Vila-Chã et al. (2012), dois grupos foram submetidos a dois treinamentos diferentes: um para melhora da resistência e outro para aumento da força. Para o grupo submetido ao treinamento de resistência, foram relatadas alterações na curva de recrutamento do reflexo H (Hth, H@50 e H@Max), enquanto no treinamento de força, somente alterações no H@th foram observadas. Os autores sugerem que possivelmente a IPS, dentre outros mecanismos neurais, possam estar contribuindo para alterar as respostas reflexas. Contudo, Vila-Chã et al. (2012) não realizaram nenhuma medida direta em IPS em seus participantes.

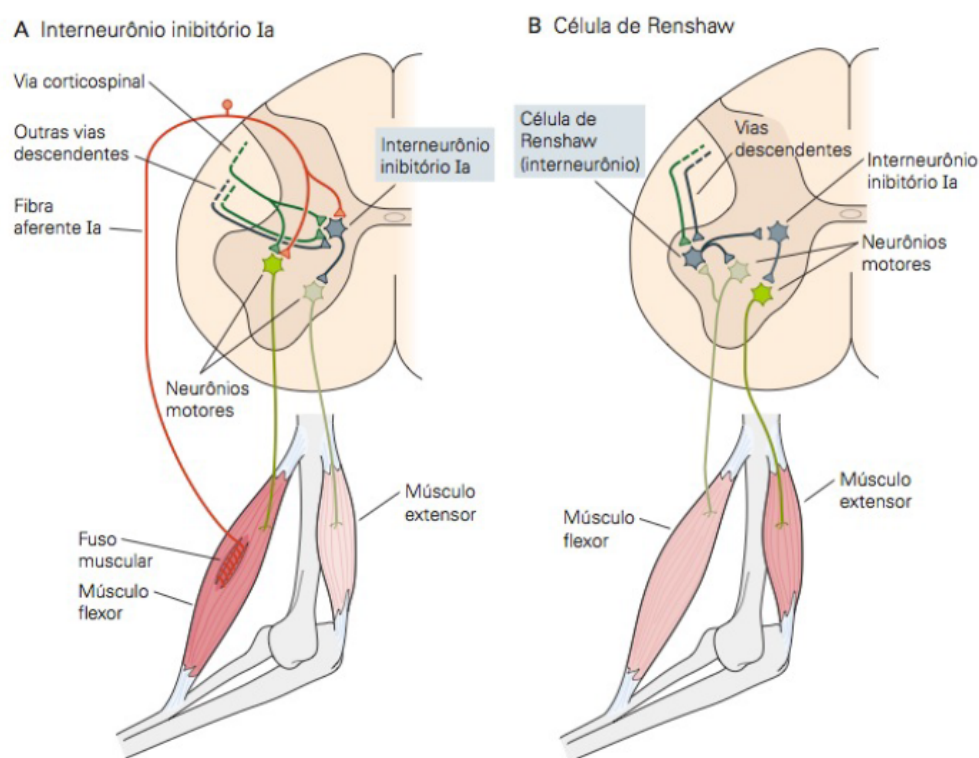
A diminuição na amplitude da resposta reflexa pode estar correlacionada com diversos tipos de intervenções e treinamentos e, não raro, especula-se que a IPS ou a DPA possam ser a fonte de redução da amplitude reflexa, já que são mecanismos pré-sinápticos que atuam fortemente na modulação do reflexo H (Field-Fote et al., 2006; Taube et al., 2007b; Keller et al., 2011; Vila-Chã et al., 2012). Contudo, no presente estudo, verificou-se que o mesmo mecanismo que especulativamente acreditava-se diminuir a amplitude do reflexo H em diferentes contextos motores e condicionamentos, a IPS (Figura 21B), não apresentou alterações significativas. Ainda, outro mecanismo pré-sináptico de modulação do reflexo-H, a DPA (Figura 21A), também não sofreu alterações. Uma das possibilidades sugeridas, por exclusão, para explicar esse achado é a ação de algum mecanismo pós-sináptico (Knikou et al., 2015).

Conclui-se, por exclusão, que as vias de inibição pós-sináptica modulam a amplitude do reflexo-H associado às unidades motores maiores. Interneurônios que alteram o potencial de membrana dos motoneurônios, ou seja, que promovem inibição pós-sináptica, podem ser estudados em seres humanos. São exemplos destas células o interneurônio inibitório Ia (INIa), o interneurônio inibitório Ib (INIb) e as células de Renshaw (RN).



As RN são ativadas por projeções colaterais dos motoneurônios que, por sua vez, inibem esses mesmos neurônios, caracterizando a inibição recorrente. Envia também colaterais aos motoneurônios sinérgicos e INIa que fazem sinapse com motoneurônios antagonistas. Dessa forma, o sistema de retroalimentação inibitória regula a excitabilidade do neurônio motor e estabiliza as taxas de disparo. Portanto, os sinais descendentes que modulam a excitabilidade das RN regulam, em uma articulação, a excitabilidade de todos os elementos neuronais envolvidos na modulação reflexa de maneira recíproca (Hutborn et al., 1979; Kandel et al., 2014).

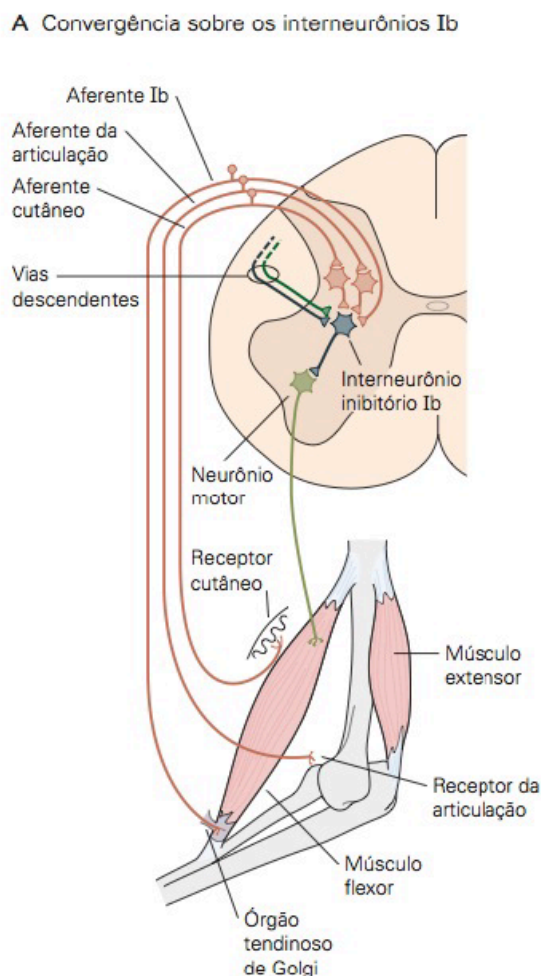
Assim como as RN, o INIa também tem ação inibitória, só que nesse caso, ele atua sobre os motoneurônios dos músculos antagonistas. Este interneurônio recebe aferências excitatórias e inibitórias de vias corticospinais, além de outras vias descendentes (Kandel et al., 2013) (Figura 29).



**Figura 29:** Como os interneurônios influenciam a modulação reflexa: A: O INIa modula a contração dos músculos antagonistas; Enquanto que B: As RN produzem inibição recorrente, isso quer dizer que o próprio neurônio motor que excita as RN, é inibido pela RN. (Imagem extraída do livro Principles of Neural Science, 5a. ed., Kandel et al., 2013).

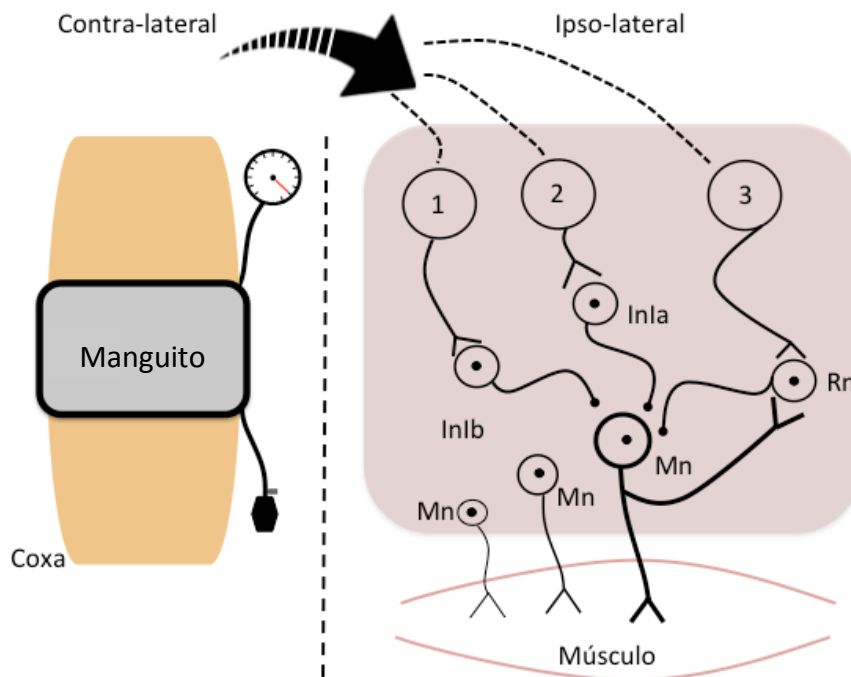
Ao contrário, do INIa, o INIb estabelece conexões com os neurônios motores do músculos homônimo, e tem como principal aferência as fibras sensoriais Ib que partem do órgão tendinoso de Golgi, que sinaliza a tensão em um músculo (Kandel et

al., 2013) (Figura 30).



**Figura 30:** Diferentemente do INIa, o INIb modula a contração do músculo agonista. A principal aferência vem dos órgãos tendinosos de Golgi, os receptores sensoriais que sinalizam a tensão em um músculo. (Imagem extraída do livro *Principles of Neural Science*, 5a. ed., Kandel et al., 2013).

Dessa forma, a Inibição Recíproca e/ou a Inibição Recorrente podem ser mecanismos envolvidos nos efeitos sistêmicos gerados pelo PCIR, principalmente as fibras de maior calibre normalmente relacionadas com H100 (Figura 31). O esquema apresentado na Figura 31 mostra as possibilidades de ação de mecanismos de inibição pós-sináptica que poderiam influenciar o reflexo H por meio dos INIa, INIb e RN, , principalmente para as unidades motoras de calibre maior. Não se sabe como que essas estruturas viriam a interferir na CR, nos pontos relacionados às fibras de maior calibre, mas que por meio de algum mecanismo as inibições pós-sinápticas podem ser os principais mecanismos entre o PCIR e as alterações neurofisiológicas encontradas.



**Figura 31:** Esquema mostrando possíveis vias pós-sinápticas que poderiam intermediar os efeitos observados no presente estudo. Os números 1, 2 e 3 são possibilidades de como o PCIR pode influenciar indiretamente a excitabilidade dos motoneurônios e, conseqüentemente, o reflexo-H e a curva de recrutamento. 1- Aumento da excitabilidade dos INIb, gerando maior inibição nos MNs; 2 - Aumento da excitabilidade dos INIa, gerando maior inibição nos MNs; 3- Aumento da excitabilidade das RN, gerando maior inibição nos MNs. Como os nossos dados mostraram influência somente em H@100, o desenho mostra a inibição ocorrendo somente nesses MNs de maior calibre. A área pintada em rosa delimita a medula espinhal.

## 5.2 Controle Postural

O CP é o ponto de aplicação da resultante das forças de reação do solo, e reflete a ação do sistema nervoso no controle do equilíbrio. É, portanto, considerada uma variável de controle, pois controla o deslocamento da projeção do centro de gravidade na base de apoio. Como o corpo nunca está realmente parado, mas sempre realizando pequenos ajustes para manter a estabilidade, o CP também não permanece estacionário, variando o tempo todo, numa frequência maior ou menor, nos sentidos AP e ML. Interessante analisar que os nossos resultados não mostraram variação significativa na direção AP, mas somente na direção ML (Figura 24). Sugere-se que os mecanismos de controle postural não são os mesmos na direção ML e AP (Winter, 1993). Ao permanecer sobre a plataforma de força, quando os pés estão lado-a-lado,

na largura do quadril, o mecanismo de controle utilizado na direção ML é o mecanismo de transferir o peso do corpo entre os dois pés (Winter et al., 1996), e quando os pés são posicionados paralelamente, (assim como neste trabalho), o balanço postural é compensado pelos músculos flexores e extensores do tornozelo (Winter, 1993). Quando a oscilação aumentar sua magnitude ou esses músculos forem impedidos de agir, o quadril é utilizado para reestabelecer a estabilidade corporal, e essa estratégia é a principal estabilizadora do equilíbrio na direção ML (Winter, 1995).

A estratégia dominante para mover o CP na direção ML é por meio do mecanismo de carga/descarga (transferência de peso). Foram verificados os mecanismos para realizar o ajuste na recuperação global do equilíbrio, sendo que o de transferência de peso de um pé para o outro contribuiu com aproximadamente 85% da recuperação do equilíbrio (Winter et al., 1996; Rietdyk et al., 1999), e durante a posição estática, o controle ML é totalmente dominado pela estratégia de carga/descarga do quadril. No entanto, os tornozelos também fornecem uma porção significativa do controle (Enquanto o mecanismo de carga e descarga corresponde a aproximadamente 85%, os tornozelos ajudam com  $\approx 15\%$  da retomada de equilíbrio total). Portanto, ao realizar a isquemia em uma coxa, é possível que o tornozelo e, principalmente o quadril sejam induzidos a estabilizar o equilíbrio do sujeito sob a espuma. Sendo assim, o PCIR na coxa altera mecanismos que não estão diretamente relacionados com o músculo sob intervenção e nem ao músculo do qual os parâmetros neurofisiológicos estão sendo obtidos.

O nosso trabalho confirmou o resultado da literatura (Cherry-Allen et al., 2015) que indicou melhora no controle motor após o PCIR. No trabalho de Cherry-Allen et al. (2015) o sujeito estava em cima de uma plataforma instável, porém de superfície rígida que se movimentava alterando a angulação da plataforma como um todo, ou seja, a informação proprioceptiva proveniente da articulação do tornozelo era relevante para o controle postural. No nosso estudo, o sujeito estava sobre uma espuma de alta densidade (superfície não rígida), que induzia o SNC a não utilizar a informação proprioceptiva para o ajuste do equilíbrio, portanto, o sujeito se utilizava da resposta vestibular e visual para manter a estabilidade. A segunda diferença é que, em nosso estudo, o sujeito ficava 1 minuto na espuma mantendo o equilíbrio, ao passo

que, no trabalho da Cherry-Allen et al. (2015), o sujeito permanecia na plataforma até o momento que não conseguisse mais ficar em pé.

Um item importante, ao se analisar o sistema de controle postural, é saber quanto cada sistema sensorial colabora para manter a estabilidade do sujeito. Sabendo qual é a frequência em que cada sistema opera, pode-se inferir sua influência no controle do equilíbrio. Dessa forma, podemos dividir em duas faixas de frequências de respostas: os mecanismos de resposta de curto prazo (0.3 Hz a 2Hz) e os mecanismos de resposta de longo prazo (0.05Hz a 0.25Hz) (Mezzarane & Kohn, 2007). Foram encontradas diferenças significativas ( $p < 0.05$ ) para as frequências mais altas entre os dias PRESHAM e POSINT, PREINT e POSINT (Figura 27), essa faixa de frequência está normalmente relacionada com as respostas de ajuste corporal que realizam ajustes mais rápidos.

O mesmo vale para o parâmetro velocidade média (VM), pois reflete as oscilações rápidas do CP. Para este parâmetro, além das diferenças já reportadas para as áreas sob o espectro nas frequências maiores, houve diferença entre PREINT e FU, indicando que não houve efeito *washout* para a melhora no controle postural. Ou seja, a melhora no desempenho motor medida por meio da velocidade do CP no sentido ML se manteve vários dias após o término da intervenção. A VM é, portanto, uma variável posturográfica sensível para detectar efeitos do CPIR em condições desafiadoras como permanência sobre espumas de alta densidade. Apesar das diferenças entre os protocolos (do estudo atual e o de Cherry-Allen et al. 2015), pudemos reportar a existência de uma melhora no controle da postura após o CPIR em membro inferior que, por sua vez, foi acompanhada de alterações neurofisiológicas na medula espinhal. Estudos adicionais são necessários para confirmar como tais adaptações neurofisiológicas após PCIR estariam associadas à melhora de desempenho motor.

As frequências mais baixas não tiveram alterações significativas pós PCIR ( $p > 0.05$ ) (Figura 28). Essas frequências mais altas estão relacionadas com a ação dos músculos posturais envolvidos na manutenção do equilíbrio, enquanto as mais lentas estão relacionadas com as propriedades inerciais do sistema biomecânico (p.ex., movimentação do tronco), portanto, de frequência menor (Mezzarane & Kohn, 2008).

Respostas como as achadas nesse trabalho ajudam a esclarecer esse complexo mecanismo do corpo humano, gerando aos poucos as peças de um quebra-cabeça maior, até entendermos com profundidade como esse mecanismo funciona.

### **5.3 Implicações Clínicas**

De forma geral, o uso do PCIR em pessoas que tenham o interesse em melhorar o equilíbrio, além dos diversos usos, como proteção neurocardiológica, é muito vantajoso, já que pode ser realizado utilizando-se um material relativamente barato (esfigmomanômetro), de fácil aplicação, e duração de efeito indeterminada (no caso da melhora do equilíbrio, de pelo menos 1 mês). Contudo, é importante ressaltar que existem algumas contraindicações, como pacientes hipertensos e/ou com lesões no aparelho circulatório. Sugerimos que o uso de tal intervenção com acompanhamento de profissional especializado pode trazer vantagens para populações especiais (como idosos) e pacientes com acometimentos motores, servindo como adjunto em processos de reabilitação.

### **5.4. Aspectos Metodológicos**

#### **5.4.1 Referencia à dor**

Quando o manguito é inflado a uma pressão alta, para gerar a obstrução do fluxo sanguíneo, os sujeitos relatam dor (Ley et al., 2011; Sabino-Carvalho et al., 2016), e essa dor é associada a vasoconstrição (Kidd & Mc, 1958; Ozisik & Orlande, 2000). Como na semana controle (SHAM) não existe pressão suficiente, apesar dos sujeitos relatarem estar sentindo que o sangue não está passando, a dor (quando existente) não é da mesma magnitude de uma semana para a outra.

Dessa forma, um dos maiores desafios ao investigar o PCIR é a dificuldade em isolar a dor do PCIR, principalmente quando se investiga o reflexo H e seus parâmetros, já que estudos anteriores demonstraram que a dor influencia o reflexo H (Rossi et al., 1999). É necessário que futuramente sejam investigados meios de suprir essa dificuldade, já que a causa da dor é inerente à pressão exercida no membro.

#### **5.4.2 Diferenças das pressões**

Muitos estudos mostraram efeitos interessantes do PCIR no organismo, mas pouco se falou sobre a uniformização da pressão que é exercida nos membros superiores e inferiores. No presente trabalho a isquemia foi realizada da seguinte forma: 5 minutos com o manguito na coxa esquerda, sendo na semana SHAM uma pressão 50% menor da pressão arterial diastólica (PAD) da artéria femoral. Cherry-Allen et al., (2015) utilizaram 10mmHg abaixo da PAD, Barbosa et al. (2014) utilizaram somente 10mmHg de pressão e Koch et al. (2011) usaram 30mmHg.

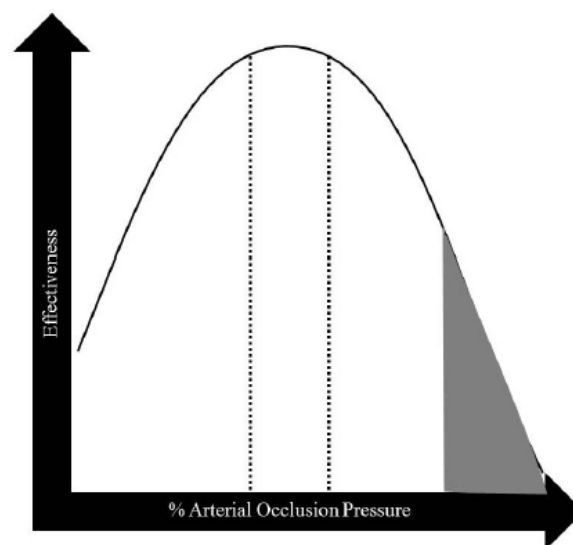
No nosso trabalho, na semana INT, foi utilizada uma pressão 50% maior que a PAS da artéria femoral, já que pressão 30% maior que a PAS oclui totalmente o retorno venoso, mas não oclui completamente o fluxo sanguíneo arterial (Brandner, 2015). Cherry-Allen et al. (2015) e Barbosa et al. (2014) utilizaram a mesma pressão (200mmHg) mesmo um sendo para membros superiores e outro para membros inferiores, que possuem em média, 20mmHg de diferença (Hamilton et al., 1936), Groot et al. (2010) usaram 220mmHg na coxa e Koch et al. (2011) usaram 200mmHg no braço, mas, quando a PAS do sujeito era maior que 200mmHg, eles usavam 20mmHg a mais que a PAS.

Em todos os estudos, no repouso do PCIR, manteve-se o manguito 5 minutos sem pressão nenhuma, e, no nosso estudo, esse ciclo foi repetido 5 vezes conforme protocolo realizado por Cherry-Allen et al. (2015) e recomendações de otimização de protocolo de isquemia por Hess et al. (2013). Dessa forma, ainda não há um alinhamento sobre qual pressão é a ideal.

#### **5.4.3 Hormese**

O organismo, quando exposto a situações de estresse, gera uma resposta que pode ser descrita como uma curva em forma de sino. Em baixas e altas concentrações de determinada substância/intervenção, os efeitos são fracos ou inexistentes, mas, em concentrações medianas/moderadas, os efeitos alcançam intensidades máximas. Assim como acontece nos exercícios físicos, em que a inatividade e o excesso são lesivos ao organismo, o ponto mediano é o mais saudável (Loenneke et al., 2014).

O uso de intervenções de diminuição de fluxo sanguíneo durante o exercício necessita de maior atenção do que em repouso, já que o corpo está em constante alteração fisiológica, se adaptando ao estresse que é submetido. A hipótese de uma Restrição de Fluxo Sanguíneo (RFS) (obstrução do retorno venoso mas não impedindo a entrada do sangue arterial) se comportar como hormese já foi sugerida (Loenneke et al., 2014), e especula-se que uma pressão em torno de 50% da PAS possa ser o ponto ótimo de eficiência ergogênica, enquanto pressões mais altas possam diminuir os benefícios da RFS (Loenneke et al., 2014) (Figura 32).



**Figura 32:** Um diagrama teórico de como a hormese pode funcionar, no qual a primeira linha pontilhada seria a PAD, a segunda a PAS, e a região em cinza uma pressão alta o suficiente para ser perigosa para a saúde (Loenneke et al., 2014).

Segundo essa hipótese, como encontramos benefícios na pressão que utilizamos, é possível que, se utilizássemos uma pressão maior, não haveria melhora na manutenção do equilíbrio e/ou alterações significativas em mecanismos de controle do ganho de vias reflexas (por exemplo, a DPA mostrou uma tendência a diminuição na condição POSINT quando comparado à PREINT; veja a figura 21A), mas que possivelmente uma pressão menor pudesse trazer rendimentos diferentes. Analisando que diferentes estudos utilizam diferentes pressões (Hamilton et al., 1936; Groot et al., 2010; Koch et al., 2011; Barbosa et al., 2014; Brandner, 2015; Cherry-Allen et al., 2015), seria necessário mapear as pressões utilizadas e verificar os efeitos encontrados, para saber qual é a pressão ótima para o maior benefício.



#### 5.4.4 Efeitos pré-sinápticos

Muito se especula que as principais alterações no reflexo-H sejam influenciadas pela IPS (Taube et al., 2007b; Vila-Chã et al., 2012), mas normalmente o grau de IPS não é diretamente obtido utilizando-se, por exemplo, um protocolo condicionante-teste; (Mezzarane et al., 2015). No presente trabalho, houve supressão do reflexo-H indicado pelo parâmetro H@100, porém não houve alteração significativa da IPS e nem da DPA. É recomendado o uso de reflexo H teste (sem o condicionamento) com amplitude entre 20% e 30% da Mmax, uma vez que neste intervalo as respostas são mais sensíveis ao condicionamento (Crone et al., 1990), mas essa faixa corresponde a aproximadamente a amplitude de H@50, que não apresentou diferença significativa. O parâmetro H@100 não está nesta faixa de 20% a 30%, mas em 30% a 40% da Mmax, e Hmax em 40% a 50% da Mmax. É possível que, se for realizado o mesmo procedimento com a amplitude do reflexo H em 30% a 40%, o efeito sobre a IPS possa se manifestar, já que é nesta faixa de amplitude que os efeitos foram observados. O mesmo raciocínio pode ser feito para explicar os resultados da DPA. Contudo, por inspeção visual, não conseguimos identificar qualquer tendência no grau de IPS ao longo dos dias/condições (figura 21B), ao passo que a DPA apresentou uma tendência clara de acompanhar os resultados dos outros parâmetros que apresentaram diferenças significativas (por exemplo, compare a figura 21A com a figura 18).

## 6. Conclusão

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que existe alteração na curva de recrutamento do reflexo H após PCIR, refletindo efeitos de ordem psicológica e neurofisiológica, e de modo sistêmico (PCIR em uma perna alterou a amplitude do reflexo de estiramento na outra perna) e duradouro (após quatro dias sem PCIR, os efeitos continuaram), sendo que as fibras de maior calibre (relacionadas com H100) foram as mais suscetíveis. Embora a CR tenha tido diminuição na amplitude de um parâmetro, não foi possível descobrir qual mecanismo inibitório foi o responsável, já que investigamos a IPS e a DPA, e nenhum dos dois mecanismos sofreu alterações significativas.

Foi confirmado e aprofundado o conhecimento prévio que se tinha sobre a influência do PCIR sobre o equilíbrio. Além de confirmar a melhora do equilíbrio dos sujeitos via diminuição da velocidade média do deslocamento do CP, foi registrado que essa adaptação ocorreu somente no sentido ML, e não no AP. Ademais, ao se analisarem as diferentes componentes de oscilação postural, foram reportadas alterações significativas para as frequências maiores, comumente relacionadas com a resposta muscular de ajuste da postura.

Futuros estudos devem ser realizados para investigar quais mecanismos inibitórios estão a influenciar a CR, como por exemplo, os mecanismos pós-sinápticos, possivelmente, mediados por interneurônios como INIa, INIb e as RN.

## 7. Referências

- AAGAARD, P., et al. Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses. **J. Appl. Physiol.**, v. 92, p. 2309–2318, 2002.
- AMBROSIO G.; TRITTO I. Reperfusion injury: experimental evidence and clinical implications. **Am Heart J.** v. 138, n. 2, pt. 2 p. S69–S75, 1999.
- ARMITAGE B., SIEGELBAUM S. Presynaptic induction and expression of homosynaptic depression at Aplysia sensorimotor neuron synapses. **The Journal of Neuroscience**, v.18, n.21, p.8770-8779, 1998.
- AYMARD, C., et al. Presynaptic inhibition and homosynaptic depression - A comparison between lower and upper limbs in normal human subjects and patients with hemiplegia. **Brain**, v.123, p.1688-1702, 2000.
- BAKER T., MITCHELL G. Episodic but not continuous hypoxia elicits long-term facilitation of phrenic motor outputs in rats. **J. Physiol.** v.529, n.1, p.215-19, 2000.
- BARBOSA T., et al. Remote ischemic preconditioning delays fatigue development during handgrip exercise. **Scand J of Med & Sci in Sports**, v.25, n.3, p.356–364, 2014.
- BASALAY M., et al. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. **Exp Physiol.**, v.97, n.8, p.908-17, 2012.
- BEEDIE C.; COLEMAN D.; FOAD A. Positive and negative placebo effects resulting from the deceptive administration of an ergogenic aid. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.**, v.17, n.3, p.259-69, 2007.
- BIGLAND-RITCHIE B., et al. Reflex origin for the slowing of motoneurone firing rates in fatigue of human voluntary contractions. **J. Physiol. Lond.** v.379, p.451–459, 1986.
- BIRNBAUM, Y.; HALE, S.L.; KLONER, R.A. Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. **Circulation**, v.96, p.1641–1646, 1997.
- BLISS, T.; LOMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. **J Physiol.**, v.232, n.2, p.331-56, 1973.
- BONNET, M., et al. Mental stimulation of an action modulates the excitability of

spinal reflex pathways in man. **Cognitive Brain Research**, v.5, p.221-228, 1997.

BRANDNER, C. **Resistance exercise with blood flow restriction**: an examination of the acute and chronic neuromuscular haemodynamic, and perceptual responses. 2015. 346f. Tese (Doutorado) – School of Exercise and Nutritional Sciences – Deakin University. Geelong, Victoria, Australia.

BROOKE, J., et al. Sensori-sensory afferent conditioning with leg movement: gain control in spinal reflex and ascending paths. **Prog. Neurobiol.**, v.51, p.393–421, 1997.

BROOKS, M.; ANDREWS, D. Molecular mechanisms of ischemic conditioning: translation into patient outcomes. **Future Cardiol.**, v.9, p.549–568, 2013.

BURKE, J. R. Multielectrode recordings of tibial nerve H-reflexes at various triceps surae muscle sites in the right and left legs. **Electromyography and Clinical Neurophysiology**, v.37, p.277-286. 1997.

CAPADAY, C. Neurophysiological methods for studies of the motor system in freely moving human subjects. **J. Neurosci. Methods**, v.74, p.201-218, 1997.

CARDONA, A.; RUDOMIN, P. Activation of brainstem serotonergic pathways decreases homosynaptic depression of monosynaptic responses of frog spinal motoneurons. **Brain Res.**, v.280, n.2, p.373-8, 1983.

CARON, G.; MARQUESTE, T.; DECHERCHI, P. Restoration of post-activation depression of the H-reflex by treadmill exercise in aged rats. **Neurobiology of Aging**, v.42, p. 61-68, 2016.

CHEN, Y.S.; ZHOU, S. Soleus H-reflex and its relation to static postural control. **Gait & posture**, v.33, n.2, p.169-178, 2011.

CHERRY-ALLEN, K., et al. Remote limb ischemic conditioning enhances motor learning in healthy humans. **J. Neurophysiol.**, v.113, n.10, p.3708-19, 2015.

CLARK, V., et al. Placebo effect of carbohydrate feedings during a 40-km cycling time trial. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.32, n.9, p.1642-1647, 2000.

CRONE, C., et al. Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a function of the test reflex size: a study in man and the cat. **Exp. Brain Res.**, v.81; p. 35, 1990.

CRONE, C.; NIELSEN, J. Methodological implications of the post activation depression of the soleus H-reflex in man. **Exp. Brain Res.** v.78, p.28-32, 1989.

DRAGERT, K.; ZEHR, P. Bilateral neuromuscular plasticity from unilateral training of the ankle dorsiflexors. **Exp Brain Res.**, v.208, p.217–227, 2011.

DUARTE, M.; FREITAS, S. Revision of posturography based on force plate for balance evaluation. **Rev. Bras. Fisioter.**, v.14, n.:3:183-92, 2010.

DUDEK S., BEAR M. Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v.89, n.10, p.4363-7, 1992.

FAIST, M.; DIETZ, V.; PIERROT-DESEILLIGNY, E. Modulation probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait. **Exp. Brain Res.**, v.109, p. 441–449, 1996.

FIELD-FOTE, E.; BROWN, K.; LINDLEY, S. Influence of posture and stimulus parameters on post-activation depression of the soleus H-reflex in individuals with chronic spinal cord injury. **Neurosci. Lett.**, v.410, n.1, p. 37–41, 2006.

FOURNIER, E.; KATZ, R.; PIERROT-DESEILLIGNY, E. A re-evaluation of the pattern of group I fibre projections in the human lower limb on using randomly alternated stimulations. **Exp. Brain Res.**, v.56, p.193-19. 1984.

FUJIWARA, T., et al. Transcranial direct current stimulation modulates the spinal plasticity induced with patterned electrical stimulation. **Clin Neurophysiol.**, v.122, n.9, p.1834-7, 2011.

GANDEVIA, S. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiol. Rev.**, v.81, p.1725–1789, 2001.

GARLAND, S.; MCCOMAS, A. Reflex inhibition of human soleus muscle during fatigue. **J. Physiol. Lond.**, v.429, p.17–27, 1990.

GATEV, P., et al. Feedforward ankle strategy of balance during quiet stance in adults. **J. Physiol.**, v.514, pt. 3, p915–928, 1999.

GROOT, P., et al. Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.108, p.141–146, 2010.

GRUBER, M., et al. Training-specific adaptations of H- and stretch reflexes in human soleus muscle. **J. Motor. Behav.**, v.39, n.1, p.68-78, 2007.

GUPTA, U.; VERMA, M. Placebo in clinical trials. **Perspectives in Clinical Research**, v.4, n.1, p. 49-52, 2013.

HALLETT, M. **Clinical evaluation of spinal reflexes: electromyography course.** New York : American Academy of Neurology, 1993.

HAMILTON, W.; WOODBURY, R.; HARPER JR, H. Physiologic relationships between intrathoracic, intraspinal and arterial pressures. **JAMA**, v.107, n.11, p.853-856, 1936.

HENNEMAN E.; SOMJEN, G.; CARPENTER, D. Excitability and inhibitability of motoneurons of different sizes. **J. Neurophysiol.**, v.28, 599-620, 1965.

\_\_\_\_\_. Functional significance of cell size in spinal motoneurons. **J. Neurophysiol.**, v.28, p.560-580, 1965.

HESS, D.; HODA, M.; BHATIA, K. Remote limb preconditioning [corrected] and postconditioning: will it translate into a promising treatment for acute stroke? **Stroke**, v.44, p. 1191–1197, 2013.

HODA, N., et al. Remote ischemic preconditioning is effective alone and in combination with intravenous tissue plasminogen activator in murine model of embolic stroke. **Stroke**, v.43, n.10, p. 2794-2799, 2012.

HULTBORN, H., et al. On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects. **Exp. Brain. Res.**, v.108, p.450–462, 1996.

ILES J. Evidence for cutaneous and corticospinal modulation of presynaptic inhibition of Ia afferents from the human lower limb. **J. Physiol.**, v.491, pt.1, p.,197-207, 1996.

KANDEL, E., et al **Principles of neural science**. 5.ed., [New York] : McGraw-Hill, 2013.

KATZ, R., et al. Conditioning of H-reflex by a preceding subthreshold tendon reflex stimulus. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.40, p. 575–580, 1977.

KELLER, M., et al. Improved postural control after slackline training is accompanied by reduced H-reflexes. **Scand. J. Med. Sci. Sports**, v.22, n.4, p.471-7, 2011.

KERNELL, D.; HULTBORN, H. Synaptic effects on recruitment gain: a mechanism of importance for the input-output relations of motoneurone pools. **Brain research**, v.507, n., p.176-179, 1990.

KHARBANDA R., et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. **Circulation**, v.106, p.2881–2883, 2002.

KIDD, B.; MC, C. Effect of change in posture on the blood flow through the fingers and toes. **J. Appl. Physiol.**, v.12, p.121–124, 1958.

KLIMSTRA, M.; ZEHR, E. A sigmoid function is the best fit for the ascending limb of the Hoffmann reflex recruitment curve. **Experimental Brain Research**, v.186, n.1, p.93-105, 2008.

KLONER, R.; JENNINGS R. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part I. **Circulation**, v.104, p.2981–2989, 2001.

\_\_\_\_\_. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part II. **Circulation**, v.104, p.3158–3167, 2001.

KNIKOU, M. The H-reflex as a probe: pathways and pitfalls. **Journal Neurosc. Methods**, v.171, n.1, p.1-12, 2008.

KNIKOU, M.; SMITH, A.; MUMMIDISSETTY, C. Locomotor training improves reciprocal and nonreciprocal inhibitory control of soleus motoneurons in human spinal cord injury. **J. Neurophysiol.**, v.113, n.7, p. 2447–2460, 2015.

KOCH, S., et al. Remote Ischemic Limb Preconditioning After Subarachnoid Hemorrhage: A Phase Ib Study of Safety and Feasibility. **Stroke**, v.42, n.5, p.1387-91, 2011.

KOHN, A.; FLOETER, M.; HALLETT M. Presynaptic inhibition compared with homosynaptic depression as an explanation for soleus H-reflex depression in humans. **Exp. Brain Res.**, v.116, p.375–380, 1997.

KOUZAKI, M.; MASANI, K. Postural sway during quiet standing is related to physiological tremor and muscle volume in young and elderly adults. **Gait Posture**, v.35, p.11–17, 2012.

LAMONT, E.; ZEHR, E. Task-specific modulation of cutaneous reflexes expressed at functionally relevant gait cycle phases during level and incline walking and stair climbing. **Exp. Brain Res.**, v.173, p.185–192, 2006.

LEY O., et al. Use of temperature alterations to characterize vascular reactivity. **Clin. Physiol. Funct. Imaging.**, v.31, n.1, p.66–72, 2011.

LLOYD, D.; WILSON, V. Reflex depression in rhythmically active monosynaptic reflex pathways. **J. Gen. Physiol.**, v.40, p.409–426, 1957.

LOENNEKE J., et al. Blood flow restriction pressure recommendations: The hormesis. **Hypothesis Medical Hypotheses**, v.82, p.623–626, 2014.

LOUKOGEORGAKIS, S., et al. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.46, n.3, p.450-6. 2005.

MAGLADERY, J., et al. Electrophysiological studies of reflex activity in patients with lesions of the nervous system. I. A comparison of spinal motoneurone excitability following afferent nerve volleys in normal persons and patients with upper motor neurone lesions. **Bull Johns Hopkins Hosp.**, v.91, n.4, p.219-44, 1952.

MEZZARANE, R., et al. Experimental and Simulated EMG responses in the study of the Human Spinal Cord. *In*: TURKER H.(Org.). **Electrodiagnosis in new frontiers**

**of clinical research.** [s.l.]: InTech, 2013. p. 57-87

MEZZARANE, R., et al. Interlimb coupling from the arms to legs is differentially specified for populations of motor units comprising the compound H-reflex during reduced human locomotion. **Exp. Brain Res.**, v.208, p. 157-168, 2011.

MEZZARANE, R.; KOHN, A. Control of upright stance over inclined surfaces. **Exp. Brain Res.**, v.180, p. 377–388. 2007.

\_\_\_\_\_. Bilateral soleus H-reflexes in humans elicited by simultaneous trains of stimuli: Symmetry, variability, and covariance. **Journal of Neurophysiology**, v.87, n.4, p.2074-2083. 2002.

MEZZARANE, R., et al. Absence of effects of contralateral group I muscle afferents on presynaptic inhibition of Ia terminals in humans and cats. **Journal of Neurophysiology**, v.108, p.1176–1185, 2012.

MEZZARANE, R., et al. Enhanced d1 and d2 inhibitions induced by low-frequency trains of conditioning stimuli: differential effects on h- and T-reflexes and possible mechanisms. **PLoS ONE**, v.10, n.3, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0121496,

MEZZARANE, R.; NAKAJIMA, T.; ZEHR, E. After stroke bidirectional modulation of soleus stretch reflex amplitude emerges during rhythmic arm cycling. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 8, p.136, 2014.

\_\_\_\_\_. Bilateral Reflex Fluctuations during Rhythmic Movement of Remote Limb Pairs. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 11, p.1-14, 2017.

MURRY, C.; JENNINGS, R.; REIMER, K. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. **Circulation**, v.74, p.1124–1136, 1986.

NARDONE, A.; SCHIEPPATI, M. Postural adjustments associated with voluntary contraction of leg muscles in standing man. **Experimental Brain Research**, v.69, p.469–480, 1988.

NIELSEN, J.; KAGAMIHARA, Y. The regulation of presynaptic inhibition during co-contraction of antagonistic muscle in man. **J Physiol.** , v.464, p.575-93, 1993.

OZISIK, M.; ORLANDE, H. **Inverse Heat Transfer: fundamentals and applications.** New York : Taylor and Francis, 2000.

PAILLARD, J. **Réflexes et régulations d'origine proprioceptive chez l'Homme.** Thèse de Sciences. Paris : Arnette, 1955.

PANIZZA, M.; HALLETT, M.; NILSSON, J. Reciprocal inhibition in patients with hand cramps. **Neurology**, v.39, n.1, p.85-9, 1989.

PIERROT-DESEILLIGNY, E. Assessing changes in presynaptic inhibition of Ia



afferents during movements in humans. **J. Neurosc. Methods**, v.74, p.189-199, 1997.

PIERROT-DESEILLIGNY, E.; MEUNIER; S. Differential control of presynaptic inhibition of Ia terminals during voluntary movements in humans. In: RUDOMIN, P.; ROMO, R.; MENDELL, L.M. (Orgs.) **Presynaptic inhibition and neural control**. New York : Oxford University Press, , 1998. p.351-365.

RIETDYK, S., et al. Balance recovery from medio-lateral perturbations of the upper body during standing. **J. Biomech.**, v. 32, p. 1149-58, 1999.

ROBERTSON, C.; KOCEJA, D. Post-activation depression of the soleus H-reflex in the elderly. **Electromyogr. Clin. Neurophysiol.**, v.43, n.2, p.103-11, 2003.

ROSSI, A.; DECCHI, B.; GINANNESCHI, F. Presynaptic excitability changes of group Ia fibres to muscle nociceptive stimulation in humans. **Brain Research**, v.818, p.12-22, 1999.

RUDOMIN, P.; SCHMIDT, R. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. **Exp. Brain Res.**, v.129, p.1–37, 1999.

RUGELJ, D.; SEVŠEK, F. Postural sway area of elderly subjects. **WSEAS Trans Signal Process**, v.3, p.213–219, 2007.

SEFTON, J.; HICKS-LITTLE, C. Influence of Stance and Support Surface Variations on Soleus Presynaptic Inhibition. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v.38, n.5, p.441, 2006. Supplement.

SEFTON, J. et al. Modulation of soleus H-reflex by presynaptic spinal mechanisms during varying surface and ankle brace conditions. **Neurophysiologie Clinique**, v.37,p.15-21, 2007.

SHIMIZU, M., et al. Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection. **Clin. Sci.**, v.117, p.191–200, 2009.

SINKJAER, T.; ANDERSEN, J.; LARSEN, B. Soleus stretch reflex modulation during gait in humans. **J. Neurophysiol.**, v.76, p.1112–1120, 1996.

STEIN, R. Presynaptic inhibition in humans. **Prog. Neurobiol.**, v.47, p.533–544, 1995.

STEIN, R. et al. Modification of reflexes in normal and abnormal movements. **Prog. Brain Res.**, v.97, p.189–196, 1993.

TABORIKOVA, H.; SAX, D. Conditioning of H-reflexes by a preceding subthreshold H-reflex stimulus. **Brain**, v.92, p.203–212, 1969.

TAUBE, W. Cortical and spinal adaptations induced by balance training: correlation

between stance stability and corticospinal activation. **Acta Physiol.**, v.189, n.4, p.347-58, 2007.

\_\_\_\_\_. Differential reflex adaptations following sensorimotor and strength training in young elite athletes. **International Journal of Sports Medicine**, v.28, n.12, p. 999-1005, 2007.

TORAMAN, A.; YILDIRIM, N. The falling risk and physical fitness in older people. **Arch. Gerontol. Geriatr.**, v.51, p.222–226, 2010.

TRIMBLE, M. Modulation of the triceps surae H-reflex with training. **Intern. J. Neuroscience**, vol. 76, p.293-303, 1994.

TRIMBLE, M.; KUKULKA, C.; BEHRMAN, A. The effect of treadmill gait training on low-frequency depression of the soleus H-reflex: comparison of a spinal cord injured man to normal subjects. **Neurosci Lett.**, v.246, n.3, p.186-8, 1998.

VERMA S., et al. Fundamentals of Reperfusion Injury for the Clinical Cardiologist. **Circulation**, v.105, p.2332-2336, 2002.

VILA-CHÃ, C., et al. Changes in H reflex and V wave following short-term endurance and strength training. **Journal of Applied Physiology**, v.112, n.1, p.54-63. 2012.

VINTEN-JOHANSEN, J., et al. Nitric oxide and the vascular endothelium in myocardial ischemia-reperfusion injury. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.874, p.354–370, 1999.

WINTER, D. Human balance and posture control during standing and walking. **Gait & Posture**, v.3, n.4, p.193-214, 1995.

WINTER, D., et al. Unified theory regarding A/P and M/L balance in quiet standing. **J. Neurophysiol.**, v.75, n.6, p.2334-43, 1996.

WINTER, D., et al. Medial-lateral and anterior-posterior motor responses associated with centre of pressure changes in quiet standing. **Neurosci. Res. Commun.**, v.12, p.141- 148, 1993.

WOLPAW J. The complex structure of a simple memory. **Trends Neurosci.**, v.20, p.588–594, 1997.

WOLPAW, J. What can the spinal cord teach us about learning and memory? **Neuroscientist.**, v.16, p.532–549, 2010.

WOLPAW, J.; CARP, J. Plasticity from muscle to brain. **Prog Neurobiol.**, v.78, n.3-5, p.233-63, 2006.

YANG, J.; STEIN, R. Phase-dependent reflex reversal in human leg muscles during

walking. **J. Neurophysiol.**, v.63, p.1109–1117, 1990.

YELLON, D.; BAXTER, G. Protecting the ischaemic and reperfused myocardium in acute myocardial infarction: distant dream or near reality? **Heart**, v.83, p.381–387, 2000.

ZEHR, E. Considerations for use of the Hoffmann reflex in exercise studies. *Eur J Appl Physiol* 86: 455-468, 2002.

ZEHR E. Training-induced adaptive plasticity in human somatosensory reflex pathways. **J. Appl. Physiol.**, v.101, p.1783–1794, 2006.

ZEHR, E., et al. Neural regulation of rhythmic arm and leg movement is conserved across human locomotor tasks. **J. Physiol.**, v.582, pt.1, p.209-227, 2007.

ZEHR, E.; STEIN, R. What functions do reflexes serve during human locomotion? **Prog Neurobiol.**, v.58, p.185–205, 1999.

## 8. Anexos

*Anexo 1 - Termo de consentimento que será assinado pelos voluntários:*



**FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DARCY RIBEIRO  
BRASÍLIA - DF**

### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE**

Você está sendo convidado a participar do projeto “Impacto do condicionamento isquêmico sobre recrutamento de unidades motoras e mecanismos de regulação da excitabilidade reflexa” sob a responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Rinaldo André Mezzarane. O projeto consiste em realizar medidas reflexas antes e após um condicionamento isquêmico.

O objetivo da pesquisa é aprofundar o conhecimento da neurofisiologia da medula espinhal humana em resposta ao condicionamento isquêmico do membro inferior. Espera-se que o condicionamento resulte em alterações no ganho de vias reflexas que podem resultar em um melhor controle dos movimentos e do equilíbrio.

Todos os esclarecimentos necessários serão prestados antes e no decorrer da pesquisa e asseguramos que sua identidade será mantida no mais rigoroso sigilo.

A participação se dará por meio de visitas diárias ao laboratório, sempre no mesmo horário, durante duas semanas. Haverá também uma única visita na terceira semana. No primeiro e no último dia de cada semana (segunda e sexta) você será submetido a um teste em que permanecerá sentado em uma cadeira e serão aplicados estímulos elétricos de baixa intensidade, por meio de eletrodos localizados na região posterior da perna (na altura do joelho). Estes eletrodos serão fixados na perna por meio de uma fita antialérgica. Após estes testes, e nos outros dias da semana, você permanecerá deitado sobre um colchonete e um aparelho de medir pressão será colocado na altura da coxa. O medidor será inflado até que ocorra o bloqueio da circulação na perna por 5 minutos. Haverá 5 minutos de descanso e o procedimento será repetido por 5 vezes. Este teste pode causar algum desconforto inicial. Você será monitorado ao longo de todos os testes pelos pesquisadores e deverá relatar em

qualquer momento eventuais dores, podendo desistir do experimento em qualquer tempo se assim o desejar.

As medidas e as intervenções são extremamente seguras. Existe risco mínimo associado a dores ocasionais após as intervenções. Os experimentos serão realizados no Laboratório de Processamento de Sinais Biológicos e Controle Motor da Faculdade de Educação Física da UnB. O tempo estimado para a realização de todas as etapas do experimento será de aproximadamente duas horas.

Você pode se recusar a participar de qualquer procedimento ou responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para você e sem a necessidade de prover explicações adicionais. Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração. Despesas relacionadas diretamente ao projeto serão cobertas pelo pesquisador responsável. Caso haja algum dano direto resultante dos procedimentos de pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição.

Se você tiver qualquer dúvida adicional em relação à pesquisa, por favor telefone para: Prof. Dr. Rinaldo André Mezzarane (61) 3107-2526, da Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília, no horário comercial. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser esclarecidas pelo telefone: (61) 3107-1947 ou pelo e-mail [cepfs@unb.br](mailto:cepfs@unb.br), horário de atendimento de 10hs às 12hs e de 14hs às 17hs, de segunda a sexta-feira. Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

---

Nome do Participante

---

Pesquisador: Rinaldo André Mezzarane

Brasília, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.