



PODE O SISTEMA NERVOSO CONTROLAR, DE MANEIRA INDEPENDENTE,
DIFERENTES REGIÕES DO MÚSCULO VASTO MEDIAL?

Hélio da Veiga Cabral

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Rio de Janeiro

Março de 2016

PODE O SISTEMA NERVOSO CONTROLAR, DE MANEIRA INDEPENDENTE,
DIFERENTES REGIÕES DO MÚSCULO VASTO MEDIAL?

Hélio da Veiga Cabral

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE)
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Examinada por:

Prof^a. Liliam Fernandes de Oliveira, D.Sc.

Prof. Jurandir Nadal, D.Sc.

Prof. Roger Gomes Tavares de Mello, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2016

Cabral, Hélio da Veiga

Pode o sistema nervoso controlar, de maneira independente, diferentes regiões do músculo vasto medial?/
Hélio da Veiga Cabral. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2016.

VIII, 29 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Biomédica, 2016.

Referências Bibliográficas: p. 27-29.

1. Propriedades de controle das unidades motoras.
2. Decomposição de unidades motoras. I. Oliveira, Liliam Fernandes de. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III. Título

Dedicatória

Dedico esse trabalho a minha mãe, *Natividade Veiga*, e a minha avó, *Maria Veiga*, as quais devo tudo na minha vida. Se um dia pude sonhar em fazer um mestrado foi graças ao esforço de vocês. Obrigado pelo exemplo de dedicação e por terem me ensinado a não desistir nunca.

Agradecimentos

Agradeço profundamente a:

Deus, por todas as conquistas concedidas em minha vida e pela minha fé.

Liliam Oliveira por há 3 anos ter me dado a oportunidade de ingressar no meio acadêmico. Obrigado por, desde então, me orientar, me acompanhar e me ensinar a fazer o que eu amo: pesquisar. Se hoje concluo o meu mestrado, foi porque você acreditou e acredita no meu potencial. Não tenho palavras para expressar a minha gratidão a você.

Taian Vieira por todos os ensinamentos e assistência durante o meu mestrado. Se tive interesse em trabalhar com pesquisa, foi porque no meu 4º período da graduação tive aula de Cinesiologia com um professor extremamente comprometido e dedicado. Obrigado por me inspirar a sempre buscar o melhor em todos os detalhes e por ter me apresentado a eletromiografia. Se um dia eu for metade do profissional que você é, terei alcançado o meu objetivo.

Roger Mello por todos os ensinamentos e pela paciência. Se hoje consigo entender algo, ainda que pouco, de processamento de sinais foi graças ao seu auxílio. Obrigado por todos os Skypes e por ter me ajudado sempre que me desesperei.

Adicionalmente,

a *Flora de P. B. Terra*, minha namorada e companheira. Obrigado por toda ternura, carinho, atenção e suporte. Eu não tenho dúvidas que sem você do meu lado eu não teria conseguido concluir esse mestrado. Obrigado por ser a mulher da minha vida.

aos meus irmãos, *Bruno* e *Daniela*, por terem me acompanhado sempre. Amo vocês.

a todos os meus companheiros de laboratório, em especial ao *Leonardo de Souza* por ter me ajudado em todas etapas deste trabalho, e ao *Remi Rouffaud* por ter me mostrado, assim que chegou no laboratório, que era possível aprender a programar desde que tivesse muita dedicação.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

PODE O SISTEMA NERVOSO CONTROLAR, DE MANEIRA INDEPENDENTE,
DIFERENTES REGIÕES DO MÚSCULO VASTO MEDIAL?

Hélio da Veiga Cabral

Março/2016

Orientadora: Liliam Fernandes de Oliveira

Programa: Engenharia Biomédica

As fibras musculares são anguladas diferentemente ao longo do vasto medial; as distais são orientadas mais obliquamente ao tendão do quadríceps do que as proximais. A direção do vetor de força resultante pode variar de acordo com a distribuição da atividade ao longo do vasto medial (VM). Baseado em evidências que fibras de diferentes unidades motoras podem residir em regiões distintas do VM, investigamos se a extensão de joelho demanda uma modulação diferenciada de unidade motoras (UMs) envolvendo diferentes fibras próximo-distais do VM. 10 participantes foram solicitados a modular o torque de joelho seguindo um perfil trapezoidal, com o platô a 20% e a 40% CVIM. Foram usados dois vetores de 8 eletrodos alinhados com as fibras distais e proximais do VM. A função de correlação-cruzada foi calculada para pares de UMS identificados na mesma região do VM e pares de regiões distintas do VM. A 20% CVIM, a frequência de disparos variou, significativamente, mais similarmente para pares identificados na mesma região do VM, tanto distal quanto proximal, do que pares de unidades de regiões diferentes. A 40% não houve diferenças significativas. Nossos resultados sugerem que as frequências de disparos de UMS identificadas em diferentes regiões do VM podem ser moduladas independentemente. Assim, é possível que o sistema nervoso ajuste a direção da força, controlando a distribuição de atividade dentro do músculo.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

CAN THE NERVOUS SYSTEM INDEPENDENTLY CONTROL DIFFERENT
REGIONS OF THE VASTUS MEDIALIS?

Hélio da Veiga Cabral

March/2016

Advisor: Liliam Fernandes de Oliveira

Department: Biomedical Engineering

Muscle fibers are angled by different amounts along the vastus medialis muscle; distal fibers are oriented more obliquely to the quadriceps tendon than the proximal fibers. The direction of the resultant force vector may be shaped according to the distribution of activity along vastus medialis (VM). Based on previous evidence, suggesting the fibers of different motor units may reside within distinct VM regions, we investigate whether knee extension demands a differential modulation of motor units serving different, proximo-distal VM fibers. Ten healthy, male subjects were specifically asked to modulate knee torque following a trapezoidal profile, with a plateau at 20% and 40% MVC. Two arrays of eight electrodes were used, each aligned parallel to VM proximal and distal fibers. The cross-correlation function was then calculated for the firing pattern of pairs of motor units (MUs) identified from the same VM region and pairs of different VM regions. The firing rate varied significantly more similarly for pairs of motor units identified from the same VM region, both proximal and distal, than for pairs of units in different muscle regions for 20% MVC. No significant differences were found at 40%. Our results suggest that, at least during low level, the firing rate of motor units identified from different VM regions may be modulated independently. It is therefore possible the nervous system tunes the VM force direction by shaping the distribution of activity within the muscle.

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	4
Objetivo Geral.....	4
Objetivos Específicos.....	4
3. Revisão de Literatura	5
O drive comum	5
O drive comum resulta na sincronização dos disparos?.....	7
O fenômeno do onion-skin	7
4. Metodologia da Pesquisa.....	10
Participantes.....	10
Protocolo experimental	10
Colocação dos eletrodos e aquisição do EMG	11
Acessando a variação da frequência de disparo das unidades motoras	12
Análise Estatística.....	16
5. Resultados.....	17
Unidades motoras recrutadas para diferentes níveis de contração.....	17
Correlação-cruzada e intervalo interquartil das frequências de disparo	18
6. Discussão	22
7. Conclusão	26
8. Referências	27

1. Introdução

Diferenças da arquitetura parecem explicar as diferenças funcionais dentro do músculo vasto medial (VM). Estudos prévios observaram que as fibras do VM são anguladas diferentemente ao longo do músculo, com as fibras distais sendo orientadas mais obliquamente ao tendão do quadríceps do que as fibras proximais [1,2,3,4]. SMITH *et al.* [5] apresentaram na sua revisão que, de fato, em relação ao tendão do quadríceps, a orientação das fibras distais do VM variam de 40° a 77° enquanto que a orientação das fibras proximais do VM variam de 11° a 35°. Além disso, baseado em imagens de ultrassom, um recente estudo *in vivo* observou que algumas fibras distais do VM se anexam na patela [6]. Coletivamente, esses achados indicam que a ativação de fibras em diferentes regiões próximo-distais do VM resultam em vetores de força orientados em diferentes direções. Essa organização diferenciada da arquitetura tem conduzido à consideração de que fibras em distintas regiões do VM podem contribuir para funções distintas [4,7].

A possibilidade de controlar regiões distintas do VM e, assim, funções distintas do VM presume, no entanto, uma organização neuromuscular específica. Primeiro, as unidades motoras (UMs) do VM devem ter territórios discretos em relação ao eixo próximo-distal do músculo. Caso contrário, a ativação de neurônios motores individuais resultaria na ativação de fibras que abrangem uma região do músculo relativamente ampla e, assim, não seria possível o controle diferenciado de diferentes regiões. Recentemente, GALLINA e VIEIRA [4] observaram que os potenciais de ação de unidades motoras individuais são localmente representados próximo-distalmente no VM, sugerindo que o território das unidades motoras do VM é relativamente pequeno. De acordo com essa perspectiva, LIN *et al.* [7] observaram que a patela se deslocou medialmente quando pulsos de estimulação foram aplicados na região distal do VM. Por outro lado, um

deslocamento na direção proximal foi observado a partir da estimulação da região proximal do VM [7]. Além de unidades motoras com territórios discretos, o controle de regiões distintas do VM demanda um acesso independente a essas unidades motoras dentro da medula espinhal; se todos os neurônios motores do VM recebessem um input comum, a atividade de diferentes fibras próximo-distais do VM seria modulada similarmente. A partir dos disparos de unidades motoras identificados dos eletromiogramas (EMGs), diferentes pesquisadores tem observado que unidades motoras podem ser moduladas diferentemente em músculos da perna e da mão [8,9,10,11]. DESMEDT e GODAUX [12], por exemplo, observaram que algumas unidades motoras do músculo interósseo dorsal foram mais recrutadas durante a flexão, enquanto que outras foram recrutadas durante a abdução. MCLEAN e GOUDY [10] observaram que unidades motoras no gastrocnêmio foram recrutadas alternadamente durante baixos níveis de contração sustentada. Evidências semelhantes para as unidades motoras do VM não foram encontradas até o momento. Em virtude do arranjo das fibras próximo-distais dentro do VM [1,2,3,4], é possível que unidades motoras com territórios em diferentes regiões próximo-distais do VM recebam inputs diferentes e, assim, sejam moduladas diferentemente.

Nesse estudo investigamos se a atividade de unidades motoras representadas nos EMGs detectados a partir de diferentes regiões do VM é modulada diferentemente. Especificamente, perguntamos: a frequência de disparos de unidades motoras identificadas proximalmente e distalmente no VM são moduladas igualmente durante contrações isométricas com torque variando? Se unidades motoras com territórios em diferentes regiões do VM recebem inputs diferentes, então esperamos que a frequência de disparos para pares de unidades motoras identificados a partir da mesma região do VM, tanto distal quanto proximal, sejam moduladas significativamente mais

similarmente do que pares de unidades obtidos a partir de regiões diferentes do VM. Responder essa questão poderá contribuir para o conhecimento da organização das unidades motoras dentro do VM, uma questão fundamental de interesse clínico e prático [13,14,15,16].

2. Objetivos

Objetivo Geral

- Investigar se a atividade de unidades motoras representadas nos EMGs detectados a partir de diferentes regiões do VM é modulada diferentemente.

Objetivos Específicos

- Calcular a correlação entre a frequência de disparos de unidades motoras identificadas no VM durante contrações isométricas de extensão de joelho e o torque variante, considerando pares da mesma região, tanto distal quanto proximal, e pares de regiões distintas.
- Avaliar a intensidade da modulação da atividade de unidades motoras identificadas a partir de diferentes vetores por meio do intervalo interquartil.
- Comparar o limiar de recrutamento das unidades motoras identificadas em 20% e 40% CVIM.
- Verificar a relação da frequência de disparos com o limiar de recrutamentos das unidades motoras identificadas no VM.

3. Revisão de Literatura

Em 1965, HENNEMAN *et al.* [17] mostraram que existe uma estratégia que governa o processo de recrutamento de unidades motoras: as unidades motoras de menor calibre, chamadas de contração lenta, são recrutadas primeiro do que as de maior calibre. A essa estratégia, os autores chamaram princípio do tamanho. Em outras palavras, foi observado que o limiar de recrutamento das UMs menores é menor em comparação com as UMs maiores.

A informação de comando dos centros superiores para os motoneurônios é codificada no intervalo entre os instantes de disparo de cada motoneurônio e, assim, a transmissão da informação no sistema nervoso (SN) é realizada pela modulação das frequências de disparos das UMs. Assim, DE LUCA *et al.* [18] mostraram que, para entender como o sistema nervoso controla as UMs com o propósito de gerar e modular a força de um músculo, era necessário ir além das contribuições de HENNEMAN *et al.* [17]. Então, eles tentaram responder as seguintes perguntas: existe uma estratégia que governa o comportamento da frequência de disparos das unidades motoras ativas? Existe alguma relação entre as frequências de disparos das unidades motoras ativas e os ajustes de força?

O drive comum

Buscando tentar entender como o SN controla a frequência de disparos das UMs ativas, DE LUCA *et al.* [18] analisaram 214 trens de potenciais de ação de UMs de dois músculos (deltoide e primeiro interósseo dorsal) durante 37 contrações com o torque seguindo uma trajetória trapezoidal. Cada “trem de impulsos” foi filtrado por uma janela Hanning, obtendo-se uma estimativa da frequência de disparos da unidade motora variando no tempo. Então, foi calculada a correlação cruzada da frequência de disparos

de cada UM com: i) a frequência de disparos de outras UMs ativas concorrentemente; ii). a força de saída durante o mesmo intervalo.

Visualmente, foi observado que as frequências de disparos das UMs flutuam de maneira muito similar (Figura 1A). Ainda, foram encontrados altos valores de correlação entre as frequências de disparo das UMs ativas concorrentemente ($> 0,6$; Figura 1B) e entre as frequências de disparo das UMs e a força ($> 0,4$; Figura 1C). Esse comportamento das frequências de disparo forneceu evidências de que as UMs concorrentemente ativas recebem uma entrada homogênea e que, assim, a frequência de disparos das UMs não é controlada individualmente. Portanto, as unidades motoras são organizadas em *pools* e todas as UMs pertencentes a um mesmo *pool* são moduladas de maneira similar. A essa modulação similar, DE LUCA *et al.* [18] chamaram de drive comum.

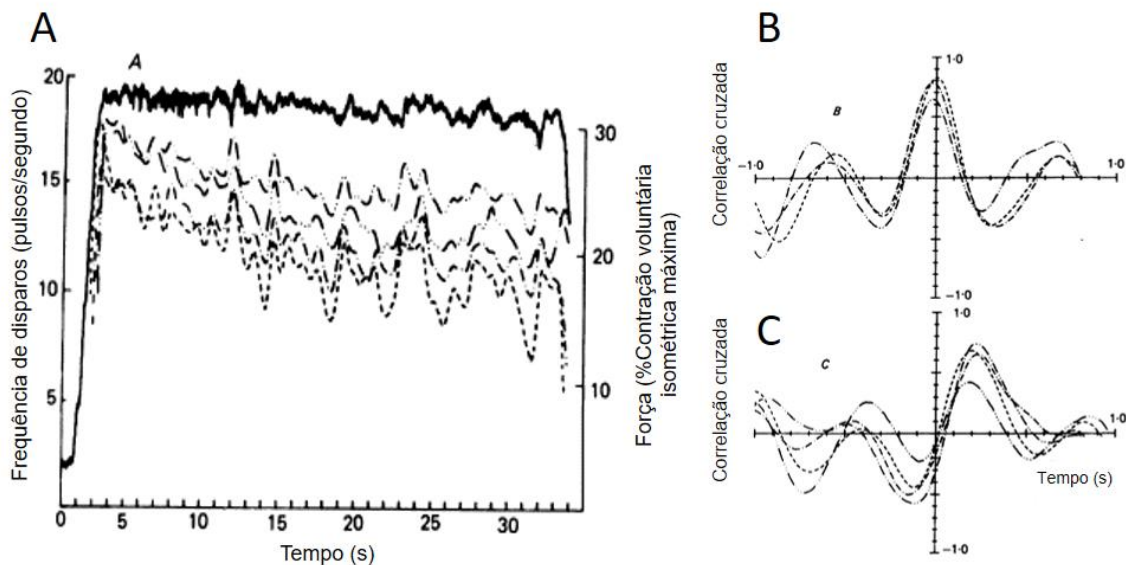


Figura 1: Flutuação comum das UMs ativas durante uma contração do músculo deltoide, com torque seguindo um perfil trapezoidal (A). Correlação cruzada entre as frequências de disparos das UMs em A; (B) e entre as frequências de disparos e a força (C). Fonte: Figura adaptada de De Luca *et al.* [18].

Outra questão evidenciada por este trabalho [18] foi que as flutuações da força de saída foram similares com as flutuações das frequências de disparos das UMs ativas. Logo, um músculo é incapaz de gerar uma contração com força puramente constante, já

que as oscilações de baixa frequência (~1-2 Hz) presentes nas frequências de disparos se manifestam nas oscilações presentes na força de contração. Assim, a demanda de modulação da força de saída de um músculo pode ser representada como a modulação da excitação e/ou inibição sobre o *pool* de motoneurônios.

O drive comum resulta na sincronização dos disparos?

Se todas as unidades motoras pertencentes a um *pool* recebem um input sináptico comum, então os seus disparos ocorreriam de forma síncrona, tornando o Princípio do Tamanho não válido. No entanto, foi amplamente mostrado na literatura que o comportamento uníssono das frequências de disparos das UMs concorrentemente ativas não resulta na sincronização dos disparos dessas UMs [18, 19, 20, 21]. Mesmo flutuando de maneira interdependente, o limiar de recrutamento (%CVIM) das UMs concorrentemente ativas não foi o mesmo para todas e, além disso, seguiu uma lógica: as UMs que começaram a disparar primeiro terminaram de disparar por último e vice-versa. Portanto, a relação entre a suscetibilidade do motoneurônios e o seu tamanho foi respeitada no conceito de drive comum, mostrando que o Princípio do Tamanho seria válido para as unidades motoras de um mesmo *pool*.

O fenômeno do onion skin

Outro fenômeno observado por DE LUCA e ERIM [20] foi que a frequência de disparos de unidades motoras com menor limiar de recrutamento alcançaram maiores valores do que as unidades com maior limiar. Com isso, conforme mostrado na Figura 2, as curvas de frequência de disparos ficam ordenadas umas sob as outras, e assim, esse fenômeno passou a ser descrito com o termo *onion-skin*.

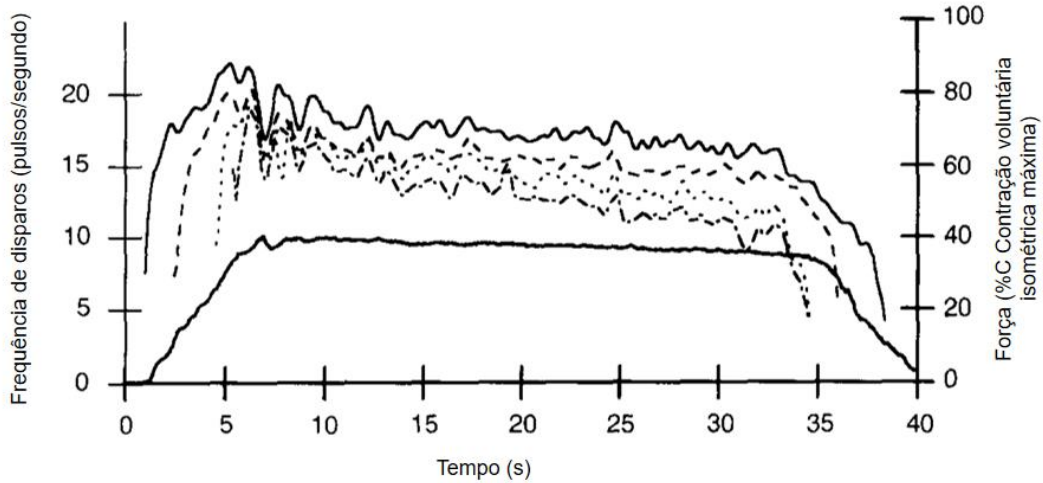


Figura 2: A figura mostra a flutuação comum das UMs motoras ativas durante uma contração trapezoidal. Note que as unidades recrutadas em menores limiares atingiram maiores valores de frequência de disparos (pps) em comparação com as unidades com maiores limiares de recrutamento. Fonte: Figura adaptada de De Luca e Erim [20].

Esse fenômeno foi descrito em outros trabalhos [21,22] e, inclusive, DE LUCA e HOSTAGE [23] descreveram um modelo para a relação da frequência de disparos e o limiar de recrutamento de UMs. Segundo esses autores, a frequência de disparos (λ) é descrita como função da força normalizada (φ) e do limiar de recrutamento normalizado (τ), conforme a seguinte equação:

$$\lambda(\varphi, \tau) = m(\varphi) \times \tau + b(\varphi) \quad (1)$$

O coeficiente angular m e o coeficiente linear b da reta de regressão linear variam em função do valor de φ , conforme:

$$m(\varphi) = C - A \times e^{-\varphi/B} \quad (2)$$

$$b(\varphi) = D \times \varphi + E \quad (3)$$

A , C , D e E são constantes. Substituindo-se a equação (2) e (3) em (1), obtém-se:

$$\lambda(\varphi, \tau) = D \times \varphi + \left(C - A \times e^{-\varphi/B} \right) \times \tau + E \quad (4)$$

A equação (4) mostra que a frequência de disparos é maior para unidades motoras recrutadas primeiramente. Os desvios ocasionalmente observados, nos quais as

frequências de disparos de UMs recrutadas posteriormente ultrapassam as das UMs com menores limiares, podem ser considerados de natureza estocástica [21].

4. Metodologia da Pesquisa

Participantes

Dez indivíduos saudáveis do sexo masculino (faixa: 24-32 anos; 168-182 cm; 70-85 kg) participaram deste estudo. Os participantes não reportaram nenhuma lesão no joelho e todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi conduzido de acordo com a última revisão da Declaração de Helsinki e foi aprovado pelo comitê de ética local (HUCFF/UFRJ – 127/2013).

Protocolo experimental

O torque de extensão de joelho foi medido com os participantes sentados confortavelmente na cadeira do dinamômetro isocinético (Biodex System 4, Nova Iorque, EUA), com o joelho direito flexionado em 80°. Foi tomado cuidado para garantir que o eixo de rotação do joelho, definido como a linha que conecta as proeminências dos côndilos lateral e medial, fosse alinhado o mais coaxialmente possível ao eixo de rotação do dinamômetro. Foram realizadas duas contrações isométricas voluntárias máximas (CIVMs) durando 5 s cada, com um intervalo de descanso de pelo menos 2 min entre elas. Então, a média dos picos de torque obtidos nas duas CIVMs foi considerado como o torque máximo de extensão de joelho. Em seguida, duas contrações isométricas por 20 s com torque variável foram realizadas. Especificamente, os participantes aumentaram o torque de joelho gradativamente durante 5 s do repouso até um nível submáximo (20% e 40% CVIM), sustentaram o torque de joelho nesse nível por 10 s e retornaram ao repouso em 5 s. Tal perfil trapezoidal foi repetido 4 vezes para cada nível. A ordem do nível de contração foi aleatória com, pelo menos, 5 min de repouso entre as contrações. Para auxiliar os participantes na modulação do torque de extensão de joelho, foi fornecida uma realimentação visual em um monitor de computador colocado em aproximadamente 1 m

à frente deles. Uma sessão de familiarização iniciou pelo menos 3 min após as CVIMs e durou em torno de 15 min, consistindo em treinos com a realimentação visual até o voluntário seguir com sucesso os perfis trapezoidais.

Colocação dos eletrodos e aquisição do EMG

Para coletar os EMGs de superfície, foram utilizados dois vetores adesivos de 8 eletrodos cada (distância intereletrodo de 10 mm; Spes Medica, Battipaglia, Itália). Previamente ao posicionamento dos vetores adesivos, a direção das fibras proximais e distais do VM foram identificadas e marcadas na pele. Com um vetor seco de 8 eletrodos (LISiN-Politécnico de Turim, Turim, Itália), os EMGs foram inspecionados visualmente enquanto os participantes realizavam suaves contrações isométricas de extensão de joelho. A orientação do vetor foi modificada até que a propagação dos potenciais de ação de unidades motoras individuais pudesse ser claramente visualizada ao longo dos eletrodos; esta orientação foi considerada paralela à orientação média das fibras sob os eletrodos [4,24]. Este procedimento foi repetido com o vetor seco centrado, aproximadamente, nos terços distal e proximal, que foram definidos através de palpação. Os vetores adesivos foram centrados nestas localizações e alinhados paralelamente em relação às fibras do VM. Um exemplo típico mostrando a posição dos vetores proximal e distal e a propagação dos potenciais de ação de unidade motora está apresentado na Figura 3. Finalmente, antes do posicionamento dos eletrodos, foi feita a tricotomia da pele e limpeza com pasta abrasiva. Uma pasta condutiva (Pasta condutiva TEN 20, Weaver, Aurora, EUA) foi usada para assegurar o contato elétrico entre os eletrodos e a pele, e o eletrodo de referência foi colocado sobre a patela.

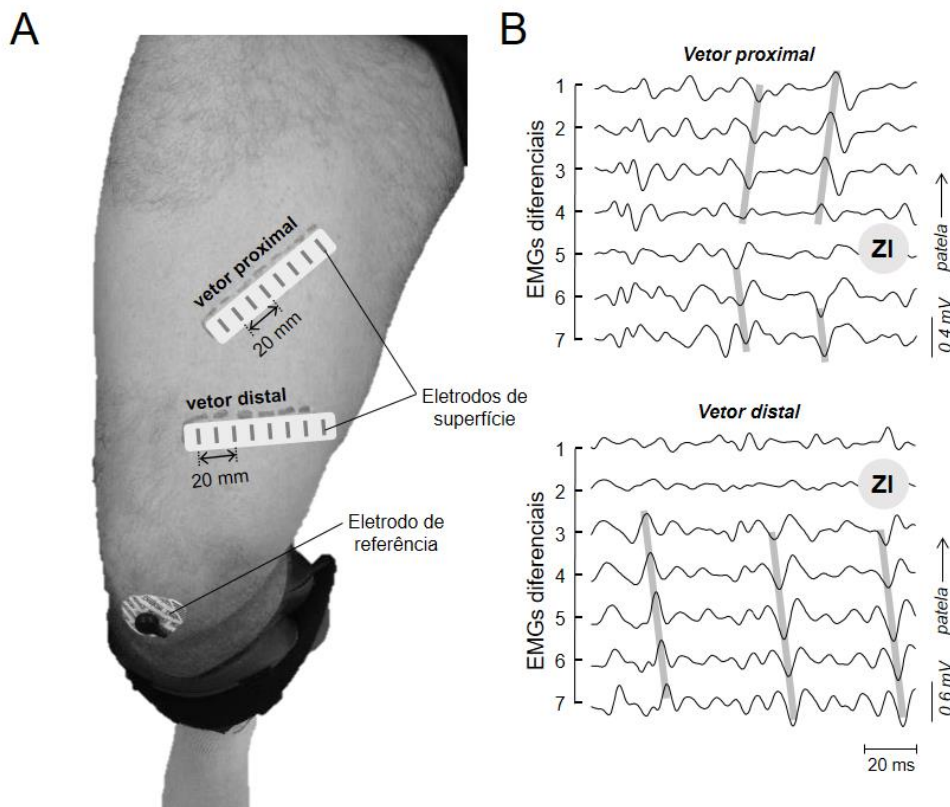


Figura 3: Uma representação esquemática do posicionamento dos eletrodos de superfície no vasto medial (VM) é mostrada no painel A. Um pequeno intervalo (100 ms) dos EMGs diferenciais detectados pelos vetores é mostrado no painel B. Zona de inervação (ZI; círculo cinza) e propagação (linhas cinzas) dos potenciais de ação de unidade motora são claramente observadas em ambas regiões do VM, indicando que os vetores estavam aproximadamente alinhados paralelamente com as fibras distais e proximais do VM.

Os EMGs de superfície foram adquiridos no modo monopolar e amplificados por um fator variável de 2.000 a 10.000 (amplificador passa-banda de 10-900 Hz; CMRR > 100 dB; EMG-USB2, OTBioelettronica, Turim, Itália). A frequência de amostragem foi de 2048 amostras/s e foi utilizado um conversor A/D de 12 bit com uma faixa dinâmica de $\pm 2,5V$. O sinal de torque fornecido pelo dinamômetro foi sincronicamente amostrado com os EMGs.

Variação da frequência de disparos das unidades motoras

Os EMGs de superfície foram inspecionados visualmente objetivando encontrar aqueles com grande interferência de rede ou com problemas de contato. Assim, não foram

observados EMGs de baixa qualidade entre os 160 sinais monopolares coletados (160 = 10 sujeitos x 8 eletrodos x 2 porções do VM). A Figura 4 mostra um caso representativo dos sinais de força e dos EMGs proximais e distais coletados durante as contrações com o platô em 20% CVIM.

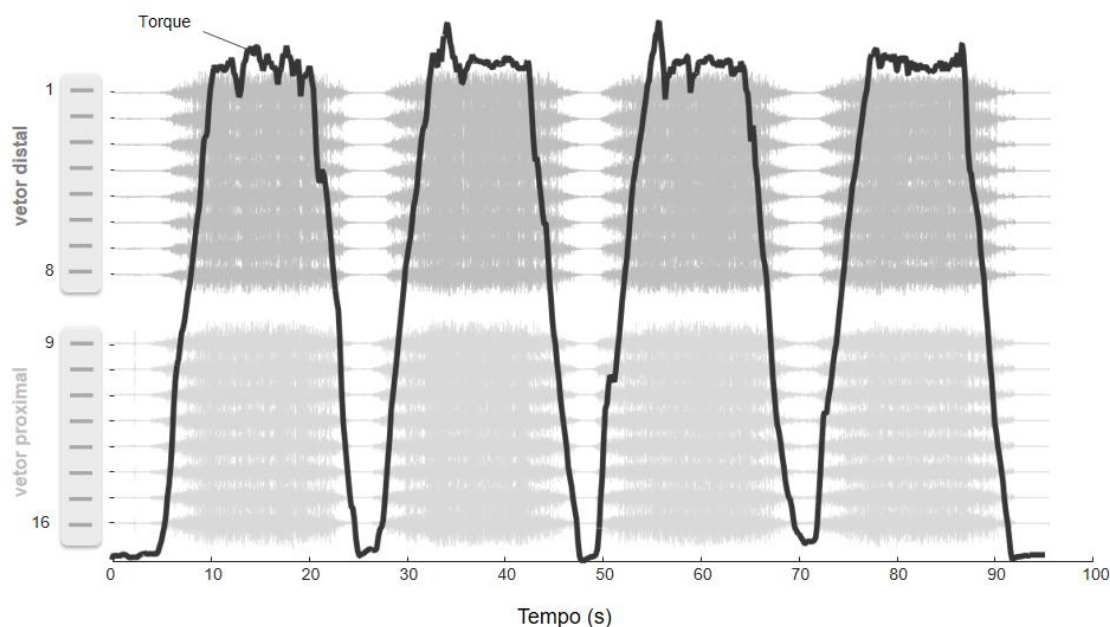


Figura 4: EMGs monopolares adquiridos para o vetor proximal (cinza claro) e para o vetor distal (cinza escuro), e a curva do torque (linha grossa preta) durante as 4 contrações para o platô a 20% CVIM.

A associação entre mudanças na frequência de disparos de unidades motoras observadas nos EMGs detectados a partir de diferente regiões do VM foi acessada por meio da função de correlação cruzada. Primeiramente, os EMGs monopolares foram filtrados com um filtro Butterworth passa banda de 4^a ordem (frequências de corte 15-350 Hz). Os EMGs filtrados foram decompostos nos seus trens de potenciais de ação de unidade motora usando um procedimento automático validado [25,26]. A decomposição foi aplicada separadamente para cada nível de contração e vetor de eletrodos, fornecendo os instantes de disparo das unidades motoras recrutadas para diferentes níveis de esforço e representadas em diferentes regiões do VM. A frequência instantânea de disparos de unidades motoras individuais foi computada como o inverso do intervalo entre os disparos

e, para uma melhor visualização, foi feita uma interpolação de 50 Hz e uma suavização por um filtro Butterworth passa baixas (Figura 5; 4ª ordem, frequência de corte de 3 Hz).

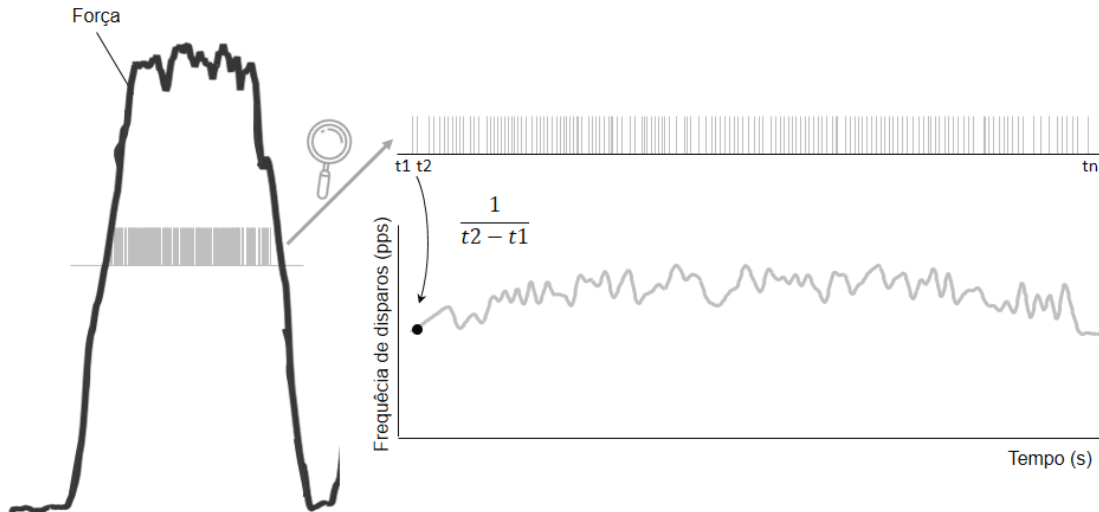


Figura 5: Frequência de disparos instantânea suavizada (traçado cinza preenchido) obtido a partir do inverso do intervalo entre os instantes de disparos (trem de impulsos; cinza claro) de uma unidade motora em uma contração trapezoidal (curva de torque; traçado cinza escuro).

Foi calculada a função de correlação cruzada das frequências de disparos suavizadas resultantes para pares de unidades motoras obtidas a partir da mesma região do VM, tanto distal como proximal, e para pares de unidades identificadas próximo-distalmente no VM. As funções de correlação cruzada foram calculadas considerando o período mais longo dentre o qual todas as UMs estavam ativas, separadamente para cada uma das quatro contrações trapezoidais consecutivas. A média dos picos da função de correlação cruzada para cada contração, obtidos para os *lags* de -100 a 100 ms [22], foi considerada como representativo do quão fortemente similar variou a frequência de disparos de unidades motoras diferentes para cada indivíduo e nível de contração. Finalmente, o intervalo interquartil da frequência instantânea de disparos suavizada foi considerado para avaliar com que intensidade a atividade de unidades motoras, identificadas a partir de diferentes vetores, foi modulada durante as contrações.

Nem todas as unidade decompostas foram consideradas para as análises. Apenas UMs recrutadas em níveis de torque menores que 90% da tarefa alvo foram consideradas. O limiar de recrutamento de unidades individuais foi calculado como o valor do torque observado em correspondência ao primeiro disparo da unidade motora; foi obtida a média para as quatro contrações trapezoidais [23]. Unidades motoras recrutadas depois do torque de joelho alcançar 90% da região do platô foram excluídas, pois o interesse eram as flutuações de atividade da unidade motora contidas no perfil trapezoidal e não nas flutuações associadas com ruído sináptico; isto é, disparos ocasionais das unidades motoras [27]. Além disso, unidades motoras cujos potenciais de ação foram claramente representados em ambos vetores de eletrodos também foram excluídas das análises, pois era preciso que o território das unidades motoras fosse discreto em relação ao comprimento longitudinal do músculo. A Figura 6 mostra exemplos da média coerente dos EMGs de superfície em correspondência com os instantes de disparo de unidades motoras individuais identificadas proximalmente e distalmente no VM. Enquanto as duas unidades motoras mostradas na Figura 6A são representadas principalmente ou no vetor distal ou no proximal, os potenciais da unidade motora mostrada na Figura 6B aparecem claramente em ambos os vetores.

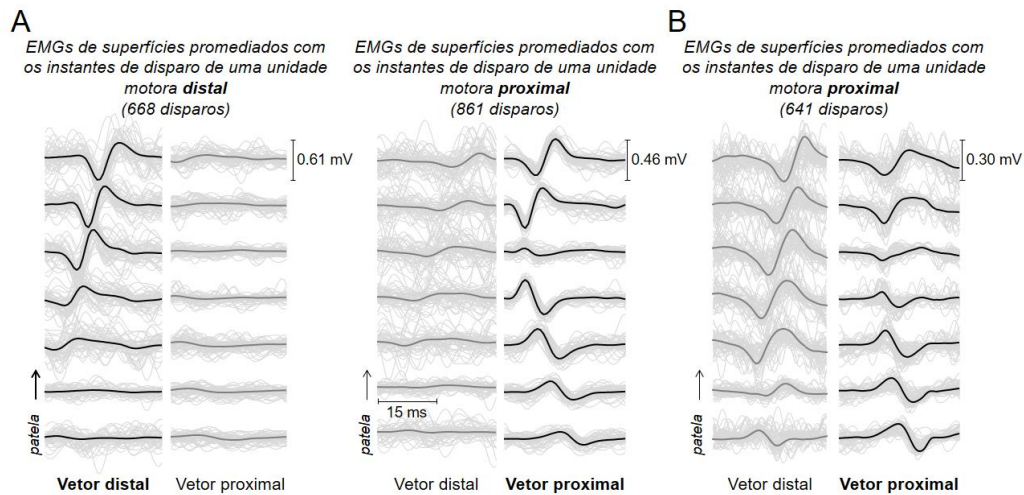


Figura 6: O painel A mostra potenciais de ação de unidades motoras decompostas dos EMGs detectados distalmente (coluna esquerda; $N = 668$ disparos) e proximalmente (coluna direita; $N = 861$ disparos). Os traçados pretos correspondem a média dos traçados cinzas; isto é, a média de janelas (30 ms) obtidas a partir dos EMGs diferenciais em correspondência com os disparos da unidade motora. Os potenciais das duas unidades motoras são mais claramente representados no vetor do qual elas foram decompostas. Como mostrado no painel B, os potenciais de ação de uma unidade motora decomposta dos EMGs proximais, do mesmo participante, aparecem, no entanto, com amplitude similar nos dois vetores.

Análise Estatística

O teste Wilcoxon foi aplicado para comparar o limiar de recrutamento das unidades motoras identificadas em 20% e 40% CVIM. A força da relação entre limiar de recrutamento e intervalo interquartil das frequências de disparos das UMs foi avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson (r). O teste de Kruskal-Wallis foi aplicado para testar as diferenças no pico da função de correlação cruzada computada para pares de UMs da mesma e de diferentes regiões do VM; o teste Dunn-Sidak foi usado para as comparações post-hoc. As diferenças próximo-distais do intervalo interquartil das frequências de disparos foram avaliadas com o teste Wilcoxon. Tanto o teste de Kruskal-Wallis quanto o Wilcoxon (usado para avaliar as diferenças do intervalo interquartil) foram aplicados separadamente para 20% e 40% da CVIM. A análise estatística foi realizada com o Matlab (Versão 8.5, The MathWorks Inc., Natick, Massachusetts, EUA). Os dados estão apresentados usando estatística descritiva não paramétrica e o nível de significância foi 5%.

5. Resultados

Um total de 80 unidades motoras foram identificadas para os 10 participantes e os dois níveis de contração. Seis unidades motoras foram excluídas porque estavam representadas em ambos vetores; todas as seis unidades foram identificadas por meio da decomposição dos EMGs coletados proximalmente. Em torno de 4 (mediana) unidades motoras foram consideradas por sujeito e nível de contração; de 1 a 4 unidades motoras foram identificadas distalmente enquanto os EMGs coletados proximalmente forneceram de 1 a 3 unidades motoras.

Unidades motoras recrutadas para diferentes níveis de contração

Unidades motoras com diferentes limiares de recrutamento foram decompostas para os dois níveis de contração. Durante as contrações trapezoidais a 20% CVIM, as unidades motoras decompostas tiveram seu primeiro disparo quando o torque de joelho alcançou 8,07% (6,20%-11,55%) CVIM (mediana e intervalo interquartil). Contrariamente, o primeiros disparos das unidades motoras decompostas durante as contrações em 40% foram observados em um valor de torque significativamente maior (25,61%; 19,02%-29,07% CVIM; Figura 7; teste Wilcoxon; $P < 0.0005$; 74 unidades motoras, 40 unidades distais e 34 proximais). Como mostrado na Figura 7, variações na frequência de disparos da unidade motora tiveram uma significativa correlação negativa com o limiar de recrutamento, tanto para 20% quanto para 40% CVIM ($r = - 0,48$ e $r = - 0,60$; $P < 0.002$ para ambos casos). Unidades motoras recrutadas em maiores níveis de torque mostraram menor variação nas suas frequências de disparo.

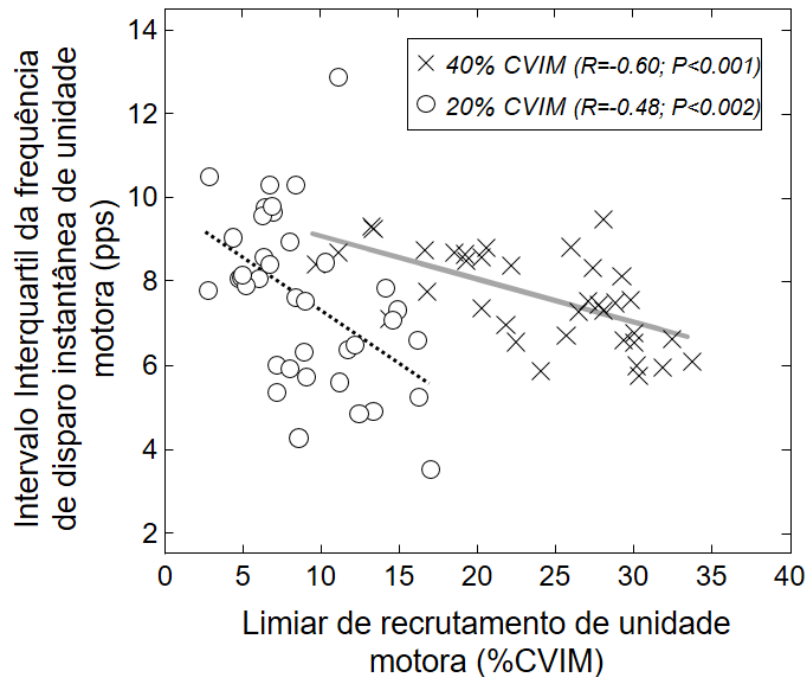


Figura 7: O scatter-plot mostra como variações (ordenada; intervalo interquartil) na frequência de disparos de unidades motoras variaram com o valor de torque alcançado no primeiro disparo da unidade motora (abscissa; limiar de recrutamento). Unidades motoras decompostas dos EMGs detectados durante 20% CVIM ($N = 38$) estão representadas com círculos enquanto 'x' indicam as unidades decompostas para 40% CVIM ($N = 36$).

Correlação cruzada e intervalo interquartil das frequências de disparo

A frequência de disparos das unidades motoras identificadas dos EMGs detectados proximalmente e distalmente foi modulada diferentemente. A Figura 8 mostra a frequência instantânea suavizada de disparos de 4 unidades motoras decompostas para um participante representativo e os resultados das funções de correlação cruzada. Todas as 4 unidades motoras foram recrutadas em valores de torque abaixo da tarefa alvo de 20% CVIM (Figura 8A). Duas dessas unidades foram decompostas a partir dos EMGs coletados distalmente e seus potenciais foram representados, predominantemente, no vetor de eletrodos distal, enquanto que as 2 unidades motoras decompostas proximalmente foram mais claramente representadas nos EMGs detectados proximalmente (Figura 8B). As funções de correlação cruzada calculadas para pares de unidades motoras decompostas do mesmo vetor de eletrodos mostraram, claramente, um

único pico no atraso zero (Figura 8C). Contrariamente, pares de unidades decompostas de vetores diferentes mostraram um menor valor de correlação no mesmo atraso, ou não mostraram um pico distinto.

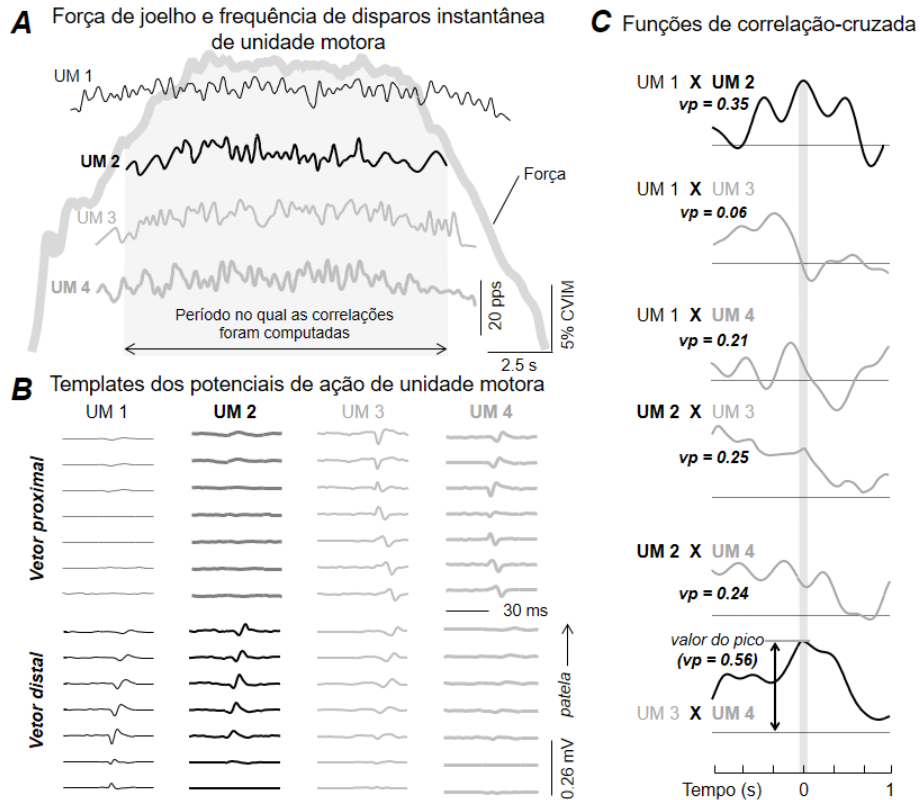


Figure 8: O painel A mostra o torque de extensão de joelho e a frequência de disparos instantânea suavizada de quatro unidades motoras decompostas de um participante representativo durante uma contração trapezoidal com torque variando. A frequência de disparos de unidades decompostas proximalmente estão representadas com traçados pretos enquanto que de unidades distais com traçados cinzas. A representação da média dos potenciais de ação (Vieira et al., 2011) de cada unidade motora decomposta é mostrada no painel B. Note que os potenciais de ação das unidades decompostas proximalmente e distalmente aparecem predominantemente nos vetores distal e proximal, respectivamente. O painel C mostra as funções de correlação cruzada computadas para as seis possíveis combinações de pares de unidade motoras proximal e distal. O retângulo cinza vertical indica o lag (0 ms) para o qual os valores de correlação foram considerados para comparar quão similarmente as frequências de disparos de pares de unidades motoras foram moduladas.

Os dados de grupo revelaram que os padrões de disparos das unidades motoras decompostas de uma mesma região do VM, tanto proximal quanto distal, foram moduladas mais similarmente do que as unidades decompostas de regiões diferentes. As funções de correlação cruzada foram computadas para 116 pares de unidades motoras;

28 pares de unidades distais, 16 pares de unidades proximais e 72 pares próximo-distais. Dos pares distais, proximais e cruzados, 17, 9 e 38 foram, respectivamente, obtidos para a contração a 20% CVIM. A distribuição do pico da função de correlação cruzada é mostrada na Figura 9A para todas as combinações de unidades motoras. A análise post hoc Dunn-Sidak revelou uma diferença significativa entre regiões do VM a 20% CVIM. A frequência de disparos variou, significativamente, de maneira mais similar para pares de unidades motoras identificadas a partir de uma mesma região do VM, tanto para distal (intervalo interquartil: 0,25-0,52) quanto para proximal (0,28-0,62), do que para pares de unidades em regiões diferentes (0,18-0,32). Para 40% CVIM, não foram observadas diferenças significativas dos picos de correlação cruzada para quaisquer comparações entre pares de unidade motoras distais (0,24-0,45), proximais (0,18-0,28) e cruzados (0,20-0,30).

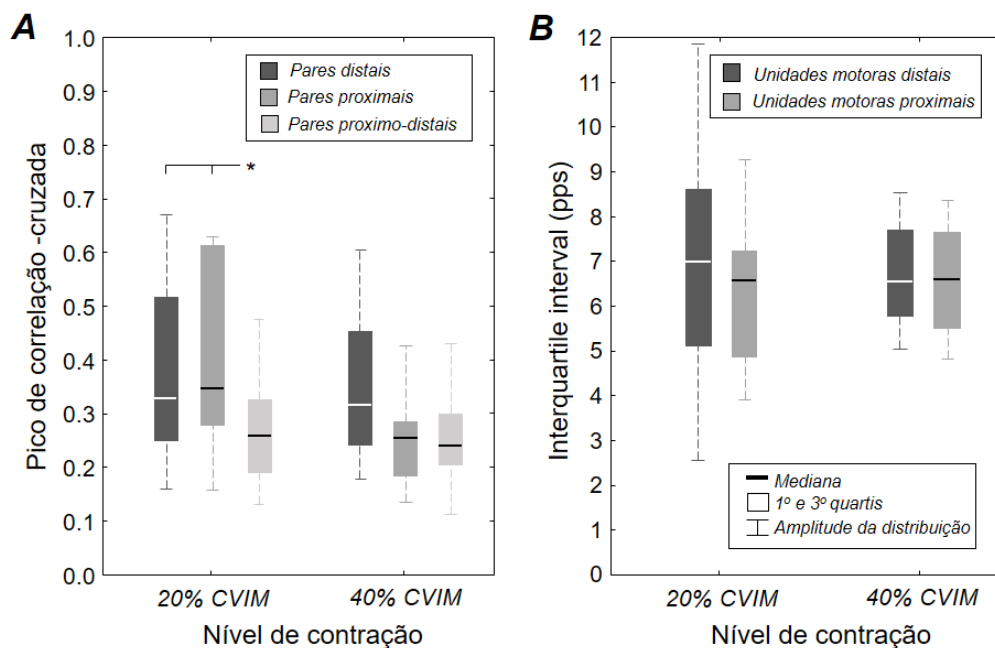


Figura 9: A distribuição dos picos das funções de correlação cruzada computadas para pares distais (retângulos pretos), proximais (retângulos cinza escuro) e próximo-distais (retângulos cinza claro) de unidades motoras está mostrada no painel A, separadamente para os níveis de contração 20% e 40% CVIM. Similarmente, o painel B mostra a variação (intervalo interquartil) da frequência de disparos das unidades motoras decompostas distalmente e proximalmente para ambos níveis de contração. Os traçados horizontais, retângulos e “whiskers” indicam, respectivamente, a mediana, o intervalo interquartil e a amplitude da distribuição. Os asteriscos indicam significância estatística ($P < 0.05$).

As frequências de disparos de unidades motoras identificadas a partir dos EMGs coletados proximalmente e distalmente variaram em extensões similares, para ambos os níveis de contração. Como mostrado na Figura 9B, os intervalos interquartis das frequências de disparos de unidades motoras distais (mediana: 7,08 pps a 20%; 6,58 pps a 40% CVIM) não diferiram em relação aos obtidos para unidades proximais (6,60 pps a 20%; 6,60 pps a 40% CVIM; teste Wilcoxon; $P > 0,47$ para ambos casos).

6. Discussão

Nesse estudo investigamos se a contração isométrica de extensão de joelho demanda uma modulação diferenciada de unidades motoras servindo diferentes fibras próximo-distais do músculo vasto medial. Também avaliamos, por meio do intervalo interquartil, se a extensão de joelho demanda uma diferenciação da intensidade de modulação da atividade de unidades motoras distais e proximais. Nossos principais achados revelaram que: i) para baixos níveis de contração, as unidades motoras em porções distintas do vasto medial são controladas diferentemente; ii) não há diferenciação na intensidade da modulação das unidades motoras distais e proximais.

A variação na frequência de disparos de unidade motora indica uma variação no potencial de membrana no corpo celular na medula [28]. Assim, a não similaridade das flutuações das frequências de disparos de unidades motoras de regiões distintas do VM sugere que em alguma parte da medula há uma diferenciação na modulação de unidades motoras próximo-distais. Esses resultados indicam que a extensão de joelho demanda uma distribuição da diferenciada atividade dentro do músculo VM. TENAN e colaboradores [29] investigaram, em um estudo recente, a coerência entre os disparos das UMs de diferentes regiões do VM com a força de extensão de joelho. Eles verificaram que os disparos das UMs da parte proximal do VM apresentaram uma coerência significativamente diferente dos disparos das UMs da parte distal, sugerindo que há uma diferenciação neural dos subvolumes do músculo vasto medial. Diferentemente da metodologia utilizada por esses autores, no presente estudo avaliamos a frequência de disparos das UMs ativas para verificar a similaridade da modulação de UMs de regiões distintas do VM, uma metodologia amplamente empregada na literatura [20,22,30,31,32]. Os resultados deste estudo sugerem que a modulação das UMs de diferentes regiões do VM é feita de maneira independente.

As evidências de que as unidades motoras de um mesmo músculo não são controladas individualmente e que, ao invés, são moduladas em *pools* de maneira uníssona, surgiram a partir do trabalho de DE LUCA *et al.* [18]. Esse conceito foi chamado por esses autores de drive comum e foi verificado em diversos estudos [21,22,30,31]. Por exemplo, BECK *et al.* [30] investigaram o efeito de um programa de treinamento no drive comum das unidades motoras do vasto lateral e verificaram que o treinamento não influenciou os valores de correlação cruzada das frequências de disparo. Nesse estudo, os autores reportaram valores de correlação que variaram de 0,19 a 0,77. Ao investigar os efeitos da idade nas propriedades de controle das unidades motoras, ERIM *et al.* [32] encontraram que o grupo de idosos apresentou valores significativamente menores de correlação cruzada das frequências de disparo (média \pm d.p.: $0,43 \pm 0,14$) em comparação com o grupo de jovens ($0,49 \pm 0,16$).

No presente trabalho, os valores de correlação cruzada das frequências de disparo para pares de unidades motoras pertencentes à mesma região do músculo vasto medial foram similares aos relatados pela literatura, tanto a 20% (intervalo interquartil: 0,25-0,52 para pares distais; 0,28-0,62 para pares proximais) como a 40% CVIM (0,24-0,45 para pares distais; 0,18-0,28 para pares proximais). A 20% CVIM, os valores de correlação para pares de unidades próximo-distais foram significativamente menores (0,18-0,32), indicando que durante a extensão de joelho o drive para as UMs distais foi diferente do drive para as UMs proximais. Juntamente com o fato de que as fibras são dispostas com diferentes orientações ao longo do VM [3,4] e de que as UMs têm territórios discretos ao longo do VM [4,5], esse achado suporta a evidência de que o sistema nervoso se beneficia da organização neuroanatômica do vasto medial para controlar finamente a direção do vetor resultante.

O intervalo interquartil das frequências de disparos de unidades motoras distais foi similar ao de unidades proximais, indicando que, durante a tarefa de extensão de joelho, o sistema nervoso modulou as UMs de regiões distintas do VM com a mesma intensidade. Assim, se a intensidade da modulação foi o mesmo para UMs distais e proximais em ambos os níveis de contração, as diferenças encontradas em baixos níveis de contração parecem, de fato, estar relacionadas a uma entrada diferenciada para o *pool* de UMs distais e para o *pool* de UMs proximais.

Corroborando com outro tema extensamente abordado pela literatura [20,21,23], o presente trabalho mostrou, para ambos os níveis de contração, uma interdependência entre o limiar de recrutamento e frequência de disparos. DE LUCA e ERIM [20] mostraram que, durante uma contração isométrica, as unidades motoras primeiramente recrutadas alcançam maiores valores de frequência de disparos. Assim, as curvas de frequência de disparos ficaram ordenadas uma sob a outra e, por esse fato, esse fenômeno ficou conhecido como *onion-skin*. No presente estudo foi visto que essa relação inversa entre limiar de recrutamento e frequência de disparos foi respeitada, já que tanto para 20% quanto para a 40% CVIM a reta de regressão linear ficou com inclinação negativa. Uma possível explicação para esse fenômeno é que as unidades motoras de alto limiar alcançariam menores valores de frequência de disparos para minimizar a fadiga [21]. Ainda, é possível que esse fenômeno ocorra para que, dentro do controle voluntário, o sistema nervoso tenha uma capacidade de reserva energética para produzir níveis de força supra-máximos por breves períodos de tempo [20].

O fato de não investigar o comportamento das unidades motoras do músculo vasto lateral e dos outros músculos do quadríceps é uma possível limitação desse trabalho. Uma interessante perspectiva futura pode ser, também, a investigação da influência de

diferentes ângulos de flexão de joelho e, por conseguinte do comprimento muscular, nas propriedades de controle das unidades motoras ativas do vasto medial.

7. Conclusão

Os resultados deste trabalho sugerem que o sistema nervoso pode acessar de maneira independente duas regiões do músculo vasto medial durante a contração isométrica de extensão de joelho de baixa intensidade. Em última instância, esta possibilidade permitiria controlar mais finamente a direção do vetor de força resultante. Nosso trabalho revelou avanços metodológicos no estudo da neurofisiologia muscular que podem contribuir para o entendimento do controle e função regionais de músculos esqueléticos.

8. Referências

1. NOZIC, M., MITCHELL, J., KLERK, D. “A comparison of the proximal and distal parts of the vastus medialis muscle”, **Australian Physiotherapy** v. 43, pp. 277-281, 1997.
2. HUBBARD, J. K., SAMPSON, H. W., ELLEDGE, J. R. “The vastus medialis oblique muscle and its relationship to patellofemoral joint deterioration in human cadavers”, **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, v. 28, n. 6, pp. 384-391, 1998.
3. PEELER, J., COOPER, J., PORTER, M. M., *et al.* “Structural Parameters of the Vastus Medialis Muscle”, **Clinical Anatomy**, v. 18, pp. 281-289, 2005.
4. GALLINA, A., VIEIRA, T. M., “Territory And Fiber Orientation Of Vastus Medialis Motor Units: A Surface Electromyography Investigation”, **Muscle & Nerve**, v. 52, pp. 1057-1065, 2015.
5. SMITH, T. O., NICHOLS, R., DARLE, H., *et al.* “Do the Vastus Medialis Obliquus and Vastus Medialis Longus Really Exist? A Systematic Review”, **Clinical Anatomy**, v. 22, pp. 183-199, 2009.
6. ENGELINA S., ANTONIOS, T., ROBERTSON, C. J. “Ultrasound Investigation of Vastus Medialis Oblique Muscle Architecture: An In Vivo Study”, **Clinical Anatomy**, v. 27, pp. 1076-1084, 2014.
7. LIN, F., WAN, G., KOH, J. L., *et al.*, “In vivo and Noninvasive Three-Dimensional Patellar Tracking Induced by Individual Heads of Quadriceps”, **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 36, pp. 93-101, 2004.
8. NARDONE, A., ROMANÒ, C., SCHIEPPATI, M. “Selective recruitment of high-threshold human motor units during voluntary isotonic lengthening of active muscles”, **Journal of Physiology**, v. 409, pp. 451-471, 1989.
9. WESTGAARD, R. H., DE LUCA, C. J. “Motor Unit Substitution in Long-Duration Contractions of the Human Trapezius Muscle”, **Journal of Neurophysiology**, v. 82, pp. 501-504, 1999.
10. MCLEAN, L., GOUDY, N. “Neuromuscular response to sustained low-level muscle activation: within- and between-synergist substitution in the triceps surae muscles”, **European Journal of Applied Physiology**, v. 91, pp. 204–216, 2004.

11. VIEIRA, T. M. M., LORAM, I. D., MUCELI, S., *et al.* “Recruitment of motor units in the medial gastrocnemius muscle during human quiet standing: is recruitment intermittent? What triggers recruitment?”, **Journal of Neurophysiology**, v. 107, pp. 666-676, 2012.
12. DESMEDT, H. E., GODAUX, E. “Spinal motoneuron recruitment in man: rank deordering with direction but not with speed of voluntary movement”, **Science**, v. 214, pp. 933–936, 1981.
13. MCCONELL, J., “Management of patellofemoral problems”, **Manual therapy**, v. 1, pp. 60-66, 1996.
14. PATTYN, E., VERDONK, P., STEYAERT, A., *et al.* “Vastus medialis obliquus atrophy: does it exist in patellofemoral pain syndrome?”, **American Journal of Sports and Medicine**, v. 39, pp. 14450-1455, 2011.
15. PEELER, J., ANDERSON, J. E. “Structural Parameters of the Vastus Medialis Muscle and Its Relationship to Patellofemoral Joint Deterioration”, **Clinical Anatomy**, v. 20, pp. 307-314, 2007.
16. SAWATSKY, A., BOURNE, D., HORISBERGER, M., JINHA, A., HERZORG, W. “Changes in patellofemoral joint contact pressures caused by vastus medialis muscle weakness”, **Clinical Biomechanics**, v. 27, pp. 596-601.
17. HENNEMAN, E., SOMJEN, G., CARPENTER, D. O. “Functional significance of cell size in spinal motoneurons”, **Journal of Neurophysiology**, v. 28, pp. 560-580, 1965.
18. DE LUCA, C. J., LEFEVER, R. S., MCCUE, M. P., *et al.* “Control scheme governing concurrently active motor units during voluntary contractions”, **Journal of Neurophysiology**, v. 329, pp. 129-142, 1982.
19. DE LUCA, C. “Control properties of motor units”, **Journal of Experimental Biology**, v. 115, pp. 125-136, 1985.
20. DE LUCA, C., ERIM, Z. “Common drive of motor units in regulation of muscle force”, **TINS**, v. 17, n. 7, pp. 299-305, 1994.
21. ERIM, Z., DE LUCA, C. J., MINEO, K., *et al.* “Rank-ordered regulation of motor units”, **Muscle & Nerve**, v. 19, pp. 563-573, 1996.
22. CONTESSA, P., ADAM, A., DE LUCA, C. J. “Motor unit control and force fluctuation during fatigue”, **Journal of Applied Physiology**, v. 107, pp. 235-243, 2009.

23. DE LUCA, C. J., HOSTAGE, E. C. “Relationship Between Firing Rate and Recruitment Threshold of Motoneurons in Voluntary Isometric Contractions”, **Journal of Neurophysiology**, v. 104, pp. 1034-1046, 2010.
24. MERLETTI, R., RAINOLDI, A., FARINA, D. “Surface Electromyography for Noninvasive Characterization of Muscle”, **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 29, n. 1, pp. 20-25, 2001.
25. HOLOBAR, A., ZAZULA, D. “Multichannel blind source separation using convolution kernel compensation”, **IEEE transactions on signal processing**, v. 55, pp. 4487-4496, 2007.
26. HOLOBAR, A., MINETTO, M. A., BOTTER, A., *et al.* “Experimental analysis of accuracy in the identification of motor unit spike trains from high density surface EMG”, **IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering**, v. 18, pp. 221-229, 2010.
27. ZIJDEWIND, I., THOMAS, C. K. “Firing patterns of spontaneously active motor units in spinal cord-injured subjects”, **Journal of Physiology**, v. 590, pp. 1683-1697, 2012.
28. MERLETTI, R., HOLOBAR, A., FARINA, D. “Analysis of motor units with high-density surface electromyography”, **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 18, pp. 879-890, 2008.
29. TENAN, M. S., HACKNEY, A. C., GRIFFIN, L. “Entrainment of Vastus Medialis Complex Activity Differs Between Genders”, **Muscle & Nerve**, v. 53, n. 4, pp. 633-640, 2015.
30. BECK, T. W., DE FREITAS, J. M.M STOCK, M. S., *et al.* “Effects Of Resistance Training On Force Steadiness And Common Drive”, **Muscle & Nerve**, v. 43, pp. 245-250, 2011.
31. YE, X., BECK, T. W., WAGES, N. P. “Influences of dynamic exercise on force steadiness and common drive”, **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 14, n. 3, pp. 377-386, 2014.
32. ERIM, Z., BEG, M. F., BURKE, D. T., *et al.* “Effects of Aging on Motor-Unit Control Properties”, **Journal of Neurophysiology**, v. 82, pp. 2081-2091, 1999.