



Utilisation des réflexes cutanés pour étudier les mécanismes de la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme

Thèse

Maimouna Bagna

Doctorat en Médecine Expérimentale

Philosophiæ doctor (Ph.D)

Québec, Canada

© Maimouna Bagna, 2014

Résumé

Dans cette thèse, nous nous intéressons à la plasticité des voies réflexes chez l'homme, induite par l'adaptation du contrôle moteur de la marche suite à une perturbation mécanique. Nous formulons l'hypothèse que cette plasticité, induite dans les voies réflexes, peut être étudiée dans le but de mieux comprendre les mécanismes adaptatifs mis en place par le système nerveux central. Cependant, l'étude des modifications des voies neuronales empruntées par les réflexes exige une analyse à la fois sensible et robuste et une description détaillée de ces réponses, ce que ne permettent pas les approches classiques jusqu'ici utilisées.

Dans une première étude présentée dans cette thèse, nous avons développé une méthode robuste de traitement de signal pour identifier et extraire les réflexes cutanés de manière précise et systématique. L'approche proposée est basée sur une analyse unitaire des réflexes, qui implique la détection et la caractérisation de chaque réponse individuelle à la stimulation. Dans l'étude 2, nous avons montré que l'adaptation de la marche à un champ de force impliquait des mécanismes de plasticité pré-motoneurale. Pour approfondir l'étude de ces mécanismes impliqués pendant l'adaptation du contrôle moteur à un champ de force, dans la troisième étude, nous avons analysé les changements réflexes obtenus lors de la stimulation de trois nerfs différents convergeant sur le même pool de motoneurones (Tibial Antérieur). Les résultats de cette étude ont montré que les circuits neuronaux empruntés par chacun de ces trois nerfs se réorganisent de façon spécifique et que cette spécificité est potentiellement due à une réorganisation au niveau des interneurones spinaux, suggérant ainsi que ces derniers constitueraient un site important de la plasticité induite par l'adaptation à un champ de force. Pour tendre vers un contexte réel de réadaptation, nous avons également comparé, dans une 4^{ème} étude, les changements dans les réflexes cutanés après la vibration du corps chez des personnes ayant subi une lésion médullaire et des participants en santé. Les résultats de cette étude ont montré que les changements observés dans les voies réflexes diffèrent chez ces deux populations, mais semblent avoir dans les deux cas, un effet fonctionnellement positif sur la marche.

Table des matières

Résumé.....	iii
Liste des figures.....	xi
Liste des tableaux.....	xiii
Liste des abréviations.....	xv
Remerciements.....	xix
Avant-propos.....	xxi
1. INTRODUCTION.....	1
1.1. Introduction générale.....	1
1.2. Caractéristiques des réflexes cutanés évoqués pendant la marche.....	3
1.3. Méthodes traditionnelles d'analyse des réflexes cutanés évoqués pendant la marche.....	6
1.3.1. La méthode des moyennes par sections de phase du cycle de marche.....	6
1.3.2. La méthode de la somme cumulative.....	9
1.4. Peut-on utiliser des réflexes cutanés enregistrés pendant la marche pour étudier la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme?.....	9
1.4.1. Rationnel.....	10
1.4.2. La marche dans un champ de force.....	12
1.4.3. La marche après vibration.....	15
1.5. Questions et objectifs de recherche.....	16
1.5.1. Étude I.....	16
1.5.2. Étude II.....	17
1.5.3. Étude III.....	17
1.5.4. Étude IV.....	18
2. MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE.....	19
2.1. Projet champ de force (Études I, II et III).....	19
2.1.1. Design expérimental.....	19
2.1.2. Éthique et population ciblée.....	20
2.1.3. Matériel et équipements.....	21
2.1.4. Protocole expérimental.....	22
2.1.5. Test des réflexes cutanés.....	23
2.1.6. Variables.....	24

2.1.7.	Acquisition et traitement des données	24
2.1.8.	Statistiques.....	26
2.2.	Projet sur la vibration (Étude IV).....	26
2.2.1.	Design expérimental	26
2.2.2.	Éthique et population ciblée	27
2.2.3.	Matériel et équipements.....	28
2.2.4.	Protocole expérimental	28
2.2.5.	Stimulation des réflexes	28
2.2.6.	Acquisition et traitement des données, Variables et Statistiques.....	29
3.	Étude I: A New Approach for Detecting and Analyzing Cutaneous Reflexes during Locomotion.....	31
3.1.	RÉSUMÉ	32
3.2.	ABSTRACT	33
3.3.	INTRODUCTION.....	34
3.4.	METHODS	35
3.4.1.	Subjects.....	35
3.4.2.	Experimental procedure	35
3.4.3.	New cutaneous reflex processing algorithm	36
	Individual reflex identification	38
3.4.4.	Classical cutaneous reflex processing algorithm.....	39
3.4.5.	Data analysis	40
3.5.	RESULTS	40
3.5.1.	Reflex modulation experiments.....	40
3.5.2.	Validation of the new algorithm for different nerves and different subjects	43
3.5.3.	Recruitment experiments	44
3.6.	DISCUSSION.....	44
3.6.1.	Performance of the new algorithm: comparison with a classical method	44
3.6.2.	Original features of the new algorithm.....	45
3.6.3.	A re-examination of reflex modulation experiments	47
3.6.4.	Recruitment curves.....	47
3.6.5.	Other potential applications of the new algorithm.....	48
3.7.	ACKNOWLEDGEMENTS.....	48

4.	Étude II: Adaptation to an Elastic Force Field during Walking Induces Plasticity in Cutaneous Reflexes	57
4.1.	RÉSUMÉ	58
4.2.	ABSTRACT	59
4.3.	INTRODUCTION	60
4.4.	METHODS	62
4.4.1.	Subjects	62
4.4.2.	General Protocol	62
4.4.3.	Force application.....	62
4.4.4.	Data Acquisition.....	63
4.4.5.	Nerve stimulation	63
4.4.6.	Data Analysis	63
4.4.7.	Statistics	65
4.5.	RESULTS	65
4.5.1.	Adaptation to the force field	65
4.5.2.	Reflex RAMs.....	66
4.5.3.	Defining a region of interest	66
4.5.4.	Latency dependent changes between 50 and 80% of the gait cycle	67
4.5.5.	Time varying reflex and background ratios.....	67
4.5.6.	Time varying gain scaling (TVGS)	68
4.5.7.	Modulation of the TVGS.....	68
4.6.	DISCUSSION.....	69
4.6.1.	Methodological considerations.....	69
4.6.2.	Modifications in Background EMG and Cutaneous reflexes during force field adaptation are amplitude, phase and sign specific	70
4.6.3.	Automatic gain control did not explain all the changes observed.....	71
4.6.4.	Potential sites of modification	73
4.7.	ACKNOWLEDGMENTS.....	73
5.	Étude III: Adaptation to Force Field Exposure during Walking is Nerve Specific.....	81
5.1.	RÉSUMÉ	82
5.2.	ABSTRACT	83
5.3.	INTRODUCTION	84
5.4.	MATERIAL AND METHODS	86
5.4.1.	Participants	86

5.4.2.	Protocol	86
5.4.3.	Force generation	86
5.4.4.	Nerve stimulation	87
5.4.5.	Recordings	87
5.4.6.	Data analysis	88
5.4.7.	Statistics	89
5.5.	RESULTS	89
5.5.1.	Force field adaptation	89
5.5.2.	Changes in reflex response amplitudes and corresponding background	89
5.5.3.	Reflex changes as a function of latency	90
5.6.	DISCUSSION.....	91
5.6.1.	Adaptation to FF leads to increases in cutaneous reflex amplitudes	91
5.6.2.	Facilitation versus suppressive response changes	92
5.6.3.	Potential adaptive mechanisms.....	93
5.6.4.	Possible sites of modifications	93
5.7.	CONCLUSION	94
5.8.	ACKNOWLEDGMENTS.....	95
6.	Étude IV: Cutaneous Reflexes during Walking are Decreased in Persons with SCI but Increased in Non Disabled Persons after Whole Body Vibration: a pilot study	99
6.1.	RÉSUMÉ	100
6.2.	ABSTRACT	101
6.3.	INTRODUCTION.....	102
6.4.	METHODS	103
6.4.1.	Participants.....	103
6.4.2.	General Protocol	103
6.4.3.	Nerve stimulation	104
6.4.4.	Whole body vibration.....	104
6.4.5.	Recordings	104
6.4.6.	Data analysis	105
6.4.7.	Statistics	106
6.5.	RESULTS	106
6.5.1.	General results	106
6.5.2.	Individual subjects	107

6.6.	DISCUSSION.....	108
6.7.	FUTURE WORK	109
6.8.	ACKNOWLEDGMENTS.....	109
7.	DISCUSSION GENERALE.....	114
7.1.	Résumé des études	114
7.2.	Contributions de la thèse.....	118
7.2.1.	Contribution au niveau de l'approche expérimentale	118
7.2.2.	Contributions au niveau des méthodes d'analyse	118
7.3.	Limites de nos études et travaux futurs	120
7.3.1.	Utilisation des réflexes cutanés comme moyen pour sonder les mécanismes de la plasticité 120	
7.3.2.	Protocole expérimental (5 minutes d'adaptation au champ de force)	121
7.3.3.	Zones d'analyse délimitée à 50-80% du cycle de marche	121
7.3.4.	Projet SCI (peu de sujets).....	122
7.4.	Implications possibles de nos travaux de recherche	122
	ANNEXE A.....	123
	ANNEXE B.....	131
	Bibliographie	137

Liste des figures

Figure 1-1 : Caractéristiques des réflexes cutanés.....	4
Figure 1-2 : Méthode d'analyse des réflexes cutanés par sections de phase du cycle de marche.....	8
Figure 1-3 : Contrôle automatique du gain de réflexe.....	14
Figure 2-1 : Protocole de marche avec champ de force.....	19
Figure 2-2 : Protocole expérimental utilisé pour le projet avec champ de force élastique.....	22
Figure 2-3 : Champs récepteurs des nerfs Tibial, Sural et Péronier Superficiel.....	23
Figure 2-4 : Plateforme vibratoire utilisée dans le protocole de marche après vibration.....	27
Figure 2-5 : Protocole expérimental pour le projet sur la vibration.....	28
Figure 3-1 : The new algorithm for cutaneous reflex processing.....	49
Figure 3-2 : An example of cutaneous reflex analysis for one stimulated cycle evoked in the TA muscle during swing.....	50
Figure 3-3 : Probability distribution of false positives (type II errors) for subject S2.....	51
Figure 3-4: Graphical representations of the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis.....	52
Figure 3-5: Quantitative comparison between the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis for a typical subject (S2).....	53
Figure 3-6: Quantitative comparison between the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis: group results for 3 different nerves.....	54
Figure 3-7: Cutaneous reflex analysis for a recruitment experiment.....	55
Figure 3-8 : APPENDIX: Sensitivity test.....	56
Figure 4-1: Angular and background EMGs variations:.....	74
Figure 4-2: Reflex responses evoked in TA muscle before and during FF exposure:.....	75
Figure 4-3 : Variations in reflex responses and background EMGs.....	76
Figure 4-4: Time varying reflex and background EMG ratios.....	77
Figure 4-5: Time-varying gain scaling of the reflex responses.....	78
Figure 4-6: Group data in gain scaling.....	79

Figure 5-1: Groups results on the effect of FF exposure on background TA EMG activity for A: Tibial nerve stimulation (n=10), B: Sural nerve stimulation (n=6) and C: Superficial Peroneal nerve stimulation (n=6). 96

Figure 5-2: Individual ratios of changes (%) in reflexes and background EMGs 97

Figure 5-3: Time varying gain scaling for the three nerves. 98

Figure 6-1: Groups ratios of change for reflex responses and background EMG..... 111

Figure 6-2: Example of reflex and background activities..... 112

Figure 6-3: Individual Ratios in A: reflexes and B: background EMG after whole body vibration. 113

Liste des tableaux

Table 1: Demographic and level of impairment information for participants with motor incomplete spinal cord injury (MISCI).....	110
---	-----

Liste des abréviations

ANOVA	Analysis of variance
CIRRIS	Centre interdisciplinaire de recherche en réadaptation et intégration sociale
ECG	Electrocardiography
EEG	Electroencephalography
EMG	Electromyography, electromyogramme
FF	Force Field (Champ de force)
IRDPQ	Institut de réadaptation en déficience physique de Québec
SCI	Spinal cord injury
SOL	Muscle Soléaire
SP	Nerf péronier superficiel
SU	Nerf sural
TA	Muscle Tibialis Anterieur
TIB	Nerf Tibial
TMS	Transcranial Magnetic Stimulation

Dédicaces

A la mémoire de

Aichatou Bagna,

Ramatou Bagna,

Ousmane Bagna,

Vous étiez tous en vie lorsque j'avais commencé cette thèse,

Vous nous avez quittés si vite,

Que la terre vous soit légère

A la naissance de

Majid Harouna,

Ismael Harouna,

Isaac Harouna,

Aucun de vous n'était de ce monde lorsque j'avais commencé cette thèse,

Vous êtes arrivés dans ma vie tel un cadeau du Ciel,

Que la vie vous soit longue et heureuse

A Khalid Harouna, mon grand garçon,

A mon mari, Kader

Remerciements

Merci Dr. Laurent Bouyer, de m'avoir accueilli et accepté dans ton laboratoire de recherche. Tu as fait le pari d'apprendre les neurosciences à une ingénieure et tu as réussi. Pour toutes les fois où je suis rentrée dans ton bureau avec les mêmes questions, et toujours de m'expliquer avec patience, merci. Tu es passionné par ce que tu fais et ta passion est souvent contagieuse. Merci d'avoir été égal à toi-même, du jour 1 de notre rencontre à aujourd'hui, malgré tous les défis auxquels j'ai eu à faire face durant mes études. Tu as été pour moi un directeur de recherche, un mentor, un guide mais aussi une oreille attentive et d'un conseil inestimable. Tu as su démontré autant de rigueur dans les travaux en tant que directeur de recherche, autant de perspicacité dans nos discussions et autant d'humanisme dans tes propos. Merci de m'avoir souvent mise au défi, ce qui m'a permis de dépasser mes limites.

Dr. Carol Richards, merci d'avoir été ma co-directrice de recherche. Chaque jour que j'ai pu passé auprès de toi m'a fait grandir. Tu as à cœur la réussite des étudiants et cela paraît dans tout ce que tu fais. J'ai été privilégiée d'avoir côtoyé une personne avec autant de connaissance, d'honneur et en même temps d'humilité. Merci pour ta présence chaleureuse et tes propos pleins de sagesse. Merci également d'être un modèle et une source d'inspiration pour moi et pour tous les étudiants.

Je remercie également les professeurs examinateurs de ma thèse, d'avoir bien voulu accepté d'évaluer mon travail de recherche : Dr Jacques Duysens, Dr. Catherine Mercier et Dr. Francine Malouin.

Je voudrais également remercier tous mes collègues, ceux avec qui nous nous sommes mutuellement soutenus pendant de si longues années. Merci Andréanne pour tes conseils judicieux et ton écoute, merci Kadja, pour toutes les discussions entre mamans. Merci également aux autres chercheurs du CIRRIIS, qui m'ont encouragé et notamment Dr. Bradford McFadyen, Dr. Catherine Mercier, Dr. Luc Noreau. Je profite pour dire un grand merci au personnel administratif du CIRRIIS qui fait un travail remarquable pour aider les étudiants.

Mes études ont été financées par une bourse doctorale du Fond de la Recherche en Santé du Québec et le projet de recherche a été soutenu par les fonds du Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada. J'ai également reçu une bourse doctorale du Centre

Interdisciplinaire de Recherche en Réadaptation et Intégration Sociale. Je tiens à remercier ces organisations pour leur appui financier.

Ma famille toute entière a été avec moi, pas à pas, durant toute ma vie, et durant mes études. Merci à mon père, qui a su m'inculquer très tôt que le savoir libère. Merci à ma mère, mon inspiration, pour sa sagesse, son courage et sa détermination. Merci à mes sœurs Aminatou, Adama et Fatouma. Vous avez été avec moi, à tous les moments importants de ma vie. Je suis fière de chacune de vous, pour tout ce que vous avez accompli.

Je ne saurais finir sans adresser mes chaleureux remerciements à mon autre famille, celle que j'ai construite durant les dix dernières années. Merci Kader, pour ta patience, ta compréhension et ton amour inconditionnel. Mes études n'auront pas été possibles sans ton appui et ton soutien. Merci pour ton aide inestimable, à tous les niveaux. Merci également pour nos quatre beaux garçons. Merci à Khalid, Majid, Ismaël, et Isaac, de faire de mon quotidien, un heureux chaos.

Avant-propos

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués sous la direction de M. Laurent Bouyer et la codirection de Mme. Carol Richards. Cette thèse contient 4 études fondamentales incluses sous forme d'articles rédigés en anglais :

ÉTUDE 1 (CHAPITRE 3)

Titre: A New Approach for Detecting and Analyzing Cutaneous Reflexes during Locomotion.

Auteurs : Maimouna Bagna¹ and Laurent J. Bouyer ^{1,2}

Affiliations: ^{1.} Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRI), Quebec City, QC, Canada. ^{2.} Department of Rehabilitation, Univ. Laval, Quebec City, QC, Canada

Contribution de l'étudiante : Développement et implémentation de la nouvelle méthode d'analyse, analyse des données, rédaction de l'article sous la supervision du coauteur

Cet article a été publié dans *Journal of Neurophysiology*, 105:1406-1415, 2011 aucune modification n'a été apportée au manuscrit original

ÉTUDE 2 (CHAPITRE 4)

Titre: Adaptation to an Elastic Force Field during Walking Induces Plasticity in Cutaneous Reflexes

Auteurs: Maimouna Bagna ¹, Carol Richards ^{1,2}, Laurent Bouyer ^{1,2}

Affiliations: ^{1.} Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRI), Quebec City, QC, Canada. ^{2.} Department of Rehabilitation, Univ. Laval, Quebec City, QC, Canada

Contribution de l'étudiante : Collecte d'une partie des données, développement des méthodes d'analyse, analyse des données, rédaction de l'article sous la supervision des coauteurs

Cet article sera soumis au *Journal of Neurophysiology*

ÉTUDE 3 (CHAPITRE 5)

Titre: Adaptation to Force Field Exposure during Walking is Nerve Specific

Auteurs: Maimouna Bagna ¹, Carol Richards ^{1,2}, Laurent Bouyer ^{1,2}

Affiliations: ^{1.} Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRI), Quebec City, QC, Canada. ^{2.} Department of Rehabilitation, Univ. Laval, Quebec City, QC, Canada

Contribution de l'étudiante : Collecte d'une partie des données, développement des méthodes d'analyse, analyse des données, rédaction de l'article sous la supervision des coauteurs

Cet article sera soumis au *Journal of Neurophysiology*

ÉTUDE 4 (CHAPITRE 6)

Titre: Cutaneous Reflexes during Walking are Decreased in Persons with SCI but Increased in Non Disabled Persons after Whole Body Vibration: a pilot study

Auteurs: Maimouna Bagna¹, Edelle C. Field-Fote², Carol L. Richards^{1,3}, Laurent J. Bouyer^{1,3}

Affiliations: ¹Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRIS), Université Laval, Quebec City, Canada. ²The Miami Project to Cure Paralysis, University of Miami Miller School of Medicine), Miami, FL, USA. ³Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec City, Canada

Contribution de l'étudiante: Développement des méthodes d'analyse, analyse des données, rédaction de l'article sous la supervision des coauteurs

Cet article sera soumis au *journal of gait and posture*

1. INTRODUCTION

1.1. Introduction générale

Traditionnellement, les réflexes cutanés ont été étudiés dans le but de comprendre leur rôle dans le contrôle sensorimoteur de la marche. Cependant, les travaux de Burke chez le chat ont montré que les réflexes cutanés peuvent aussi être utilisés pour étudier l'organisation des voies neuronales, en comparant les réponses réflexes dans plusieurs « états » du système nerveux central (Burke, 1999). Plus récemment, les travaux de Frigon et Rossignol (Frigon and Rossignol, 2007; Frigon and Rossignol, 2008b; Frigon and Rossignol, 2008a), toujours chez le chat, ont montré que les réflexes cutanés peuvent être utilisés pour étudier la plasticité adaptative locomotrice induite après lésion de la moelle épinière.

On peut donc se demander si, chez l'homme, il serait possible d'utiliser les réflexes cutanés enregistrés pendant la marche par l'électromyographie de surface, pour étudier la plasticité adaptative locomotrice. Si les voies des afférences musculaires ont été intensivement étudiées, les voies des afférences cutanées chez l'homme ont reçu peu d'intérêt dans cette optique. Pourtant, ces voies revêtent plusieurs caractéristiques intéressantes qui feraient d'elles des voies par excellence capable de révéler des mécanismes adaptatifs à différents niveaux de contrôle du système nerveux central, en autant que ces caractéristiques soient bien identifiées et quantifiées de façon optimale. Cette approche, si réalisable, constituerait une avenue non invasive très prometteuse.

Néanmoins, les réflexes cutanés sont très complexes ; ils empruntent des voies polysynaptiques qui sont influencées par des inputs d'origine tant spinale que supra-spinale. De plus, chez l'homme, lorsqu'enregistrés par l'électromyographie de surface, ces réflexes sont de faibles amplitudes, ce qui les rend difficiles à quantifier. Une limite importante de l'étude de ces réflexes est donc dans les approches analytiques classiques présentement utilisées pour extraire les réponses réflexes de l'EMG de base. En effet, pour pouvoir utiliser les réflexes cutanés dans le but d'étudier des mécanismes de la plasticité adaptative locomotrice, ces méthodes doivent être repensées. L'étude des modifications des voies neuronales empruntées par les réflexes exige une analyse à la fois sensible et robuste et une description détaillée de ces réponses, tant pour quantifier que pour localiser les changements dans ces réflexes, amenés par l'adaptation. Ceci nécessite donc le développement de nouvelles approches analytiques.

Un objectif de cette thèse était donc de montrer que le développement de méthodes sensibles et robustes d'analyse des réflexes cutanés permettrait l'utilisation de ces réponses réflexes évoquées pendant la marche, comme sonde pour révéler des mécanismes liés à la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme.

Pour valider ces méthodes d'analyse, deux modèles d'adaptation à des perturbations mécaniques, connus pour induire la plasticité locomotrice chez l'homme ont été testés : l'adaptation de la marche à un champ de force et la vibration du corps.

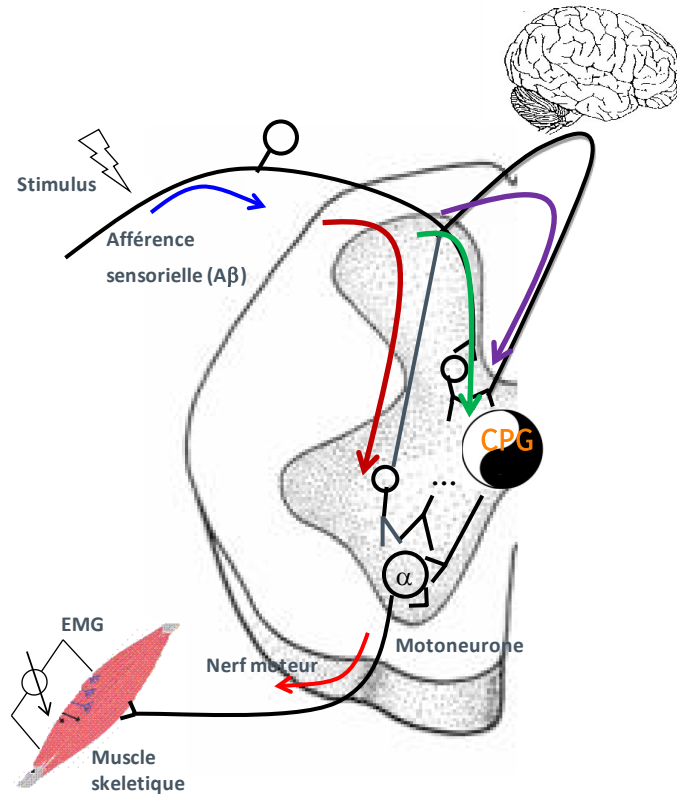
Cette thèse est organisée comme suit : le premier chapitre présente une introduction générale sur les caractéristiques des réflexes cutanés, et deux méthodes classiques présentement utilisées pour faire leur analyse. Il met en exergue les limites des méthodes classiques et formule l'hypothèse que les réflexes cutanés peuvent être utilisés comme sonde non invasive pour étudier la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme, en autant que leur analyse soit faite de façon robuste et détaillée. Également, ce chapitre présente deux modèles d'adaptation qui sont utilisés pour vérifier notre hypothèse : la marche dans un champ de force et la marche après vibration du corps entier. Pour finir, ce chapitre présente les questions de recherche et les objectifs spécifiques à chacune des 4 études fondamentales incluses dans cette thèse. Le deuxième chapitre de cette thèse présente la méthodologie générale utilisée pour faire la collecte des données utilisées dans nos 4 études. Les 4 chapitres subséquents (chapitres 3 à 6 de la thèse) présentent les 4 études fondamentales qui constituent le cœur de la thèse. L'étude 1 présente le développement d'une nouvelle méthode d'analyse robuste des réflexes cutanés. L'étude 2 examine les mécanismes d'adaptation de la marche dans un champ de force par l'analyse des réflexes cutanés évoqués par la stimulation d'un seul nerf cutané chez des personnes en santé. La 3^{ème} étude approfondit l'examen de ces mêmes mécanismes par l'analyse des réflexes cutanés évoqués par la stimulation de 3 nerfs cutanés distincts convergeant sur le même pool de motoneurones. La 4^{ème} et dernière étude s'intéresse aux mécanismes d'adaptation de la marche après vibration du corps entier chez des personnes en santé et des personnes avec lésions médullaires incomplètes. Le chapitre 7 de la thèse présente une discussion générale qui récapitule les principaux résultats de nos études, met en relief les différentes contributions de la thèse et termine par proposer des travaux futurs et des perspectives issus des résultats de nos travaux.

1.2. Caractéristiques des réflexes cutanés évoqués pendant la marche

Chez l'homme, la stimulation des afférences cutanées du pied évoque des réponses réflexes dans de nombreux muscles de la jambe. Les réflexes cutanés sont propagés par une voie polysynaptique c'est-à-dire que les signaux portés par les afférences primaires cutanées traversent au moins deux, souvent 3 ou plus de synapses avant de contacter les motoneurones de la moelle épinière (Figure 1.1A). Lorsqu'évoqués pendant la marche, les réflexes cutanés présentent 3 réponses à 3 latences différentes (Yang and Stein, 1990) (Figure 1.1B).

La réponse à courte latence (E ou P1, pic à 57 ms sur .Figure 1.1B) (Baken et al., 2005;Yang and Stein, 1990) n'est pas toujours visible chez tous les sujets. Il a été suggéré que, du fait de sa latence, cette réponse est médiée par des voies passant uniquement par la moelle épinière (Baken et al., 2005). La réponse à moyenne latence (M ou P2, pic à 104 ms) est la réponse la plus rapportée après stimulation des nerfs cutanés. Des études ont suggéré que cette réponse est médiée par des voies polysynaptiques spinales(Duysens et al., 2004) mais aussi par des voies transcorticales rapides (Christensen et al., 1999) . Quant à la réponse à longue latence (L ou P3, pic à 168 ms), elle serait médiée par des voies transcorticales (Christensen et al., 2000;Duysens et al., 2004;Yang and Stein, 1990). Des études récentes, utilisant une analyse de cohérence entre les réponses obtenues par électroencéphalographie (EEG), et électromyographie (EMG) ont montré une cohérence entre la région corticale représentative du membre inférieur et l'EMG du TA pendant la marche (Petersen et al., 2012). Ces résultats appuient l'idée que le TA est un muscle sous un contrôle cortical très fort. Il est donc probable qu'une partie de la réponse réflexe consécutive à la stimulation des nerfs cutanés du pied est modulée par le cortex avant de contacter les motoneurones du TA.

A)



B)

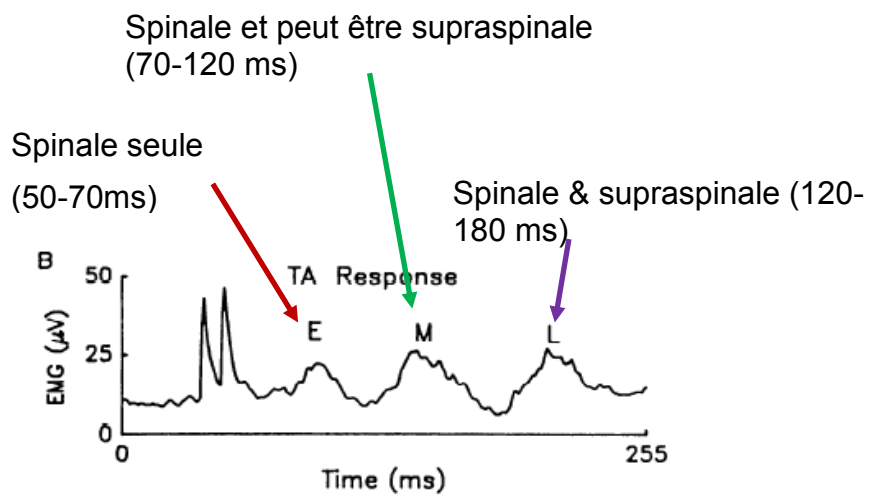


Figure 1-1 Caractéristiques des réflexes cutanés A: Origine spinale et supraspinale des réponses réflexes. B: Une réponse réflexe cutanée montrant 3 réponses à 3 latences différentes évoquée dans le muscle TA par la stimulation du nerf tibial (tirée en partie de(Yang and Stein, 1990)).

Par ailleurs, il a été rapporté que les réflexes cutanés sont contrôlés de façon dynamique et spécifique, selon le nerf stimulé, pendant le cycle de marche. Van Wezel et collaborateurs (1997) ont montré que la stimulation électrique non nociceptive du nerf sural, du nerf péronier superficiel et du nerf tibial produit des réponses modulées différemment au cours du cycle de marche (Van Wezel et al., 1997). Par exemple, la stimulation du nerf péronier et du nerf tibial évoque des réponses de petites amplitudes à moyenne latence (80-85 ms) dans le biceps fémoral lors de la phase d'appui. Par ailleurs, lors de la fin de la phase d'oscillation la stimulation du nerf péronier produit de grandes réponses facilitatrices tandis que des réponses suppressives sont observées après stimulation du nerf tibial. Dans le membre inférieur controlatéral à la stimulation, les réponses réflexes des trois nerfs seraient moins distinctes, même si une certaine spécificité par nerf a été observée (Van Wezel et al., 1997).

De plus, d'autres études ont montré que les réflexes cutanés démontrent une adaptation spécifique au nerf stimulé lorsque la stabilité de la marche est perturbée (Haridas et al., 2005). En stimulant le nerf péronier superficiel et le nerf tibial dans 4 différentes conditions de marche où la stabilité de la marche est de plus en plus perturbée, Haridas et collaborateurs (2005) ont montré que les réflexes évoqués par la stimulation du nerf péronier superficiel, considéré important pour la correction d'une perturbation, sont considérablement augmentés et que cette augmentation est d'autant plus grande que la stabilité de la marche est compromise. Par ailleurs, les réflexes évoqués par la stimulation du nerf tibial, important pour la sensation du contact au sol, étaient moins affectés par la perturbation. Ces résultats indiquent que les changements adaptatifs observés après la stimulation d'un nerf donné sont d'autant plus grands que le nerf est impliqué dans le contrôle de la stabilité de la marche.

Finalement, les réflexes cutanés ont aussi été enregistrés chez les personnes ayant une lésion médullaire incomplète. Jones et Yang (1994), ont rapporté que la modulation des réflexes cutanés chez ces personnes était différente de celle observée chez des personnes en santé. Par exemple, la réponse suppressive prédominante chez les sujets sains dans le TA après stimulation du nerf tibial, tel que rapporté par Yang et Stein (Yang and Stein, 1990), n'est pas observée chez la majorité des personnes avec lésion médullaire. Dans ce muscle, des réponses plutôt facilitatrices ont été observées dans la phase d'oscillation et occasionnellement dans la phase d'appui. Dans le soléaire, des réponses suppressives étaient généralement évoquées lors de la phase d'appui (Jones and Yang, 1994) tandis que des réponses facilitatrices anormales étaient également observées dans la

phase d'oscillation, chez la majorité des personnes avec lésion médullaire. Des réponses réflexes pendant la phase d'oscillation n'ont pas été observées dans le soléaire chez les personnes en santé (Yang and Stein, 1990). Ces résultats ont montré que bien que la modulation des réflexes soit observée chez les personnes avec lésion médullaire incomplète, cette modulation diffère de celle observée chez les personnes en santé.

1.3. Méthodes traditionnelles d'analyse des réflexes cutanés évoqués pendant la marche

Il existe une vaste littérature rapportant l'étude des réflexes cutanés évoqués pendant la marche. Ces réflexes ont été étudiés dans le but soit de comprendre le rôle des afférences sensorielles dans le contrôle de la marche, soit d'associer ces réflexes à une réponse fonctionnelle pendant la marche. Les réflexes cutanés évoqués chez l'homme pendant la marche, lorsqu'enregistrés par l'électromyographie de surface, sont des signaux de très faible amplitude superposés à l'activité musculaire en lien avec la locomotion de base. Ceci les rend difficiles à détecter et à mesurer. Ainsi donc, pour l'un ou l'autre des objectifs mentionnés ci-haut, deux méthodes, maintenant classiques sont utilisées pour leur quantification.

1.3.1. La méthode des moyennes par sections de phase du cycle de marche

La méthode des moyennes par sections de phase du cycle de marche a été développée pour étudier la modulation des réflexes cutanés pendant la marche. Au cours de la marche, l'amplitude et le signe des réponses réflexes dépendent de la phase du cycle de marche (Stein and Capaday, 1988; Stein et al., 1993; Zehr and Stein, 1999). Il a été suggéré que cette modulation phase-dépendante est fonctionnellement significative, car les réflexes peuvent être utiles dans certaines phases, et indésirables dans d'autres. La modulation dépendante de la phase des réflexes a été démontrée à la fois chez le chat (Duysens and Pearson, 1976; Forsberg et al., 1975) et chez l'homme (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992; Van Wezel et al., 1997; Yang and Stein, 1990; Zehr et al., 1997). Une forme de modulation dépendante de la phase survient lorsque les réponses réflexes ont un effet opposé à différents moments dans le cycle de marche ('phase-dependent reflex reversal' (Duysens et al., 1990; Yang and Stein, 1990)). Cette inversion est fonctionnellement appropriée pour maintenir la stabilité et la progression suite à une stimulation sensorielle inattendue lors de la marche (De Serres et al., 1995). La modulation phase-dépendante du réflexe apparaît aussi lorsque la réponse change de facilitation à suppression dans le même muscle, à différents moments du cycle de marche. Par exemple, chez l'homme, la réponse réflexe dans le muscle fléchisseur de la cheville

Tibialis Antérieur, évoquée par la stimulation du nerf sural ou du péronier superficiel montre une réponse facilitatrice pendant la phase d'oscillation tandis que la réponse devient suppressive à la transition de la phase d'oscillation vers l'appui (De Serres et al., 1995;Duysens et al., 1990;Duysens et al., 1992;Duysens et al., 1996;Yang and Stein, 1990;Zehr et al., 1997).

La méthode classique utilisée pour l'analyse des réflexes cutanés dans ces études est celle proposée par Yang et Stein (1990). Cette méthode divise au préalable le cycle de marche en 16 sections d'égale durée. Le nerf cutané est ensuite stimulé à différents moments du cycle de marche de façon à obtenir 10-20 réponses dans chaque section. Ces réponses sont ensuite moyennées et l'activité de base du muscle, estimée par la moyenne de 20 à 100 cycles de marche non stimulés, en est ensuite soustraite (voir figure 1.2) (De Serres et al., 1995;Duysens et al., 1998;Yang and Stein, 1990;Zehr et al., 1997). Pour mesurer les réponses réflexes, les méthodes classiques utilisent de plus une fenêtre de temps fixe pour les 16 sections, alors que la forme, la durée et le signe de ces réponses varient d'une section à l'autre (Haridas et al., 2005;Nakajima et al., 2006;Yang and Stein, 1990).

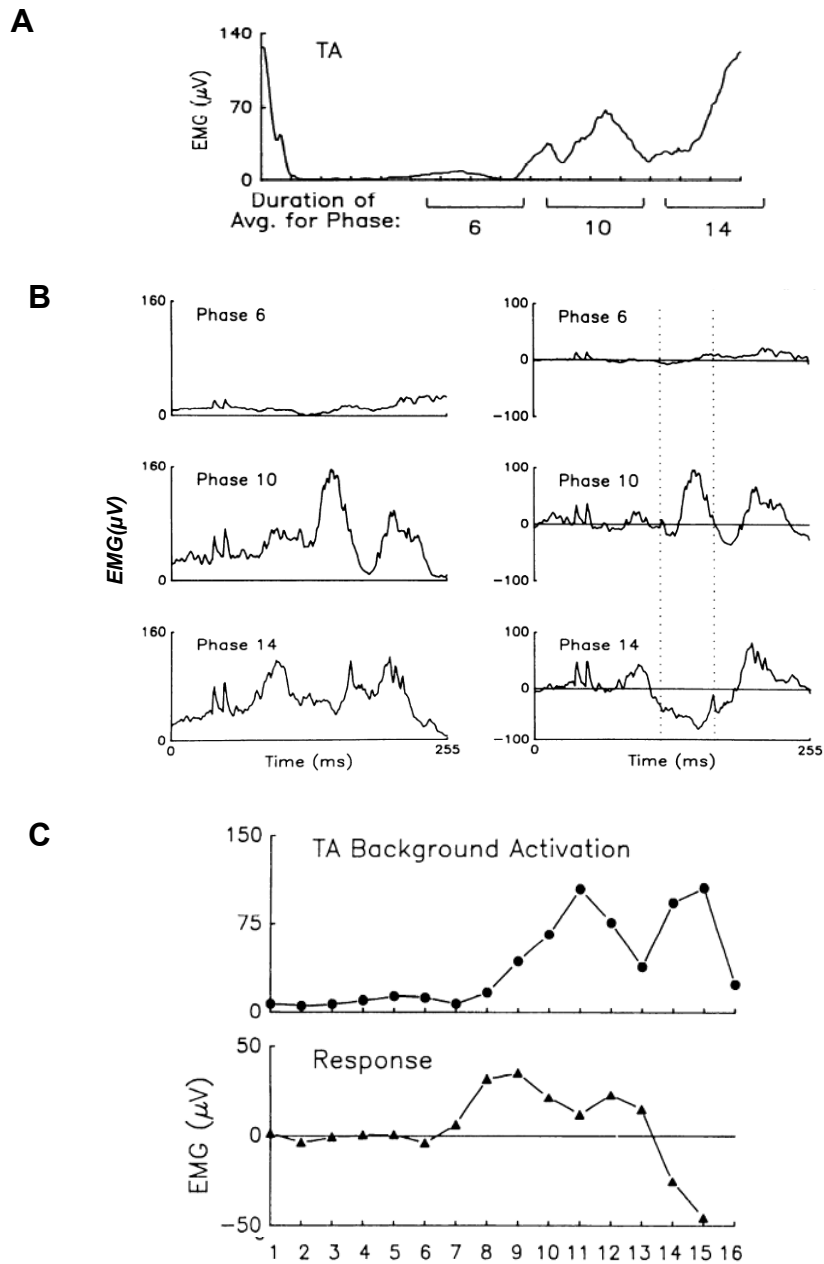


Figure 1-2 : Méthode d'analyse des réflexes cutanés par sections de phase du cycle de marche. A : Le cycle de marche (ici illustré par l'activité de base du TA) est divisé en 16 sections de longueurs égales. Dans chacune des sections, 10 à 20 stimuli sont envoyés pour évoquer des réflexes cutanés. B) Panneaux de gauche : La moyenne de toutes réponses réflexes évoquées pour chacune des sections de phase (ici dans les sections 6, 10, et 14) est calculée. Ces moyennes contiennent des réponses réflexes superposées à l'activité de base du muscle TA. Panneaux de droite : Les réflexes sont extraits en soustrayant les réponses juxtaposées de l'EMG de base du TA, estimée par la moyenne de tous les cycles non stimulés. Une fois les réponses réflexes soustraites, elles sont quantifiées en calculant la moyenne de la réponse sur une fenêtre de temps fixe pour chacune des 16 sections du cycle de marche où les réflexes sont évoqués. C) Exemple de réponses réflexes évoquées aux 16 phases du cycle de marche dans le muscle TA par stimulation du nerf tibial. Panneau supérieur : Activité de base du muscle TA divisée en 16 sections (points circulaires). Panneau inférieur : Réponses moyennes évoquées aux 16 phases du cycle de marche (points triangulaires). Noter l'inversion du signe du réflexe qui a lieu entre les phases 14 et 15, où la réponse passe de facilitatrice (positive) à suppressive (négative) (adaptée de Yang and Stein (1990))

Cette méthode est donc peu précise pour mesurer la latence exacte des réflexes et pour extraire de façon optimale les amplitudes des réponses. De plus l'estimation de l'EMG de base par 20 à 100 cycles de marche ne peut se faire chez des personnes ne pouvant marcher sur une longue période de temps, ou quand cette EMG de base est appelée à changer.

1.3.2. La méthode de la somme cumulative

Les réflexes cutanés donnent également lieu à des changements dans la cinématique de la marche (revu dans (Zehr and Stein, 1999)). La direction de changement de l'angle de la cheville, lorsqu'enregistrée en même temps que les réflexes cutanés pendant la marche, peut aider à déterminer le rôle fonctionnel du nerf stimulé. Cependant, très peu d'études ont rapporté des données cinématiques lors de la mesure des réflexes pendant la marche (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992; Van Wezel et al., 1997; Zehr et al., 1997; Zehr et al., 1998). Néanmoins, les changements dans la cinématique de la cheville due à la stimulation d'un nerf cutané sont faibles en amplitude (exemple dans (Zehr et al., 1997) le changement est de l'ordre de 6 degrés). Une approche utilisée par le passé dans les études visant à comprendre le rôle fonctionnel des réflexes cutanés faisait la somme cumulative des réponses facilitatrices et suppressives sur 150 ms, en vue de la comparaison des réponses nettes avec la cinématique (Acre₁₅₀, développée par Zehr et al. 1997). Cette méthode ne permet donc pas de mesurer des changements réflexes dans les différentes phases du cycle de marche, puisque toutes les réponses sont additionnées ensemble. Les latences des réflexes évoqués sont également perdues.

1.4. Peut-on utiliser des réflexes cutanés enregistrés pendant la marche pour étudier la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme?

Tel que mentionné à la section précédente, les réflexes cutanés ont été étudiés chez l'homme principalement pour comprendre le rôle des afférences sensorielles dans le contrôle neural de la marche, ou leur effet sur la cinématique de la marche. Cependant, chez le chat par exemple, d'autres utilisations ont été faites des réflexes cutanés. Dans ses travaux précurseurs, Burke (Burke, 1999) a examiné l'organisation des circuits rythmiques dans différents « états » (marche, grattage) du système nerveux central suite à une lésion au niveau de la moelle épinière ou du tronc cérébral chez l'animal. En utilisant des enregistrements intracellulaires dans les motoneurons pendant la locomotion fictive, il a investigué la réorganisation des voies réflexes facilitatrices et suppressives des afférences cutanées et musculaires. En regardant la relation entrée/ sortie précisément (Burke, 1999), l'examen de la transmission par les voies réflexes de l'information sensorielle a permis de

suggérer, de façon très détaillée, les voies neuronales sous-jacentes à ces différents états (Burke, 1999;Burke et al., 2001;Burke, 1999).

Plus récemment, Frigon et Rossignol ont utilisé les réflexes cutanés chez le chat pour étudier la plasticité locomotrice induite après spinalisation de l'animal (Frigon and Rossignol, 2007;Frigon and Rossignol, 2008b;Frigon and Rossignol, 2008a). Ces auteurs ont effectué une lésion du nerf gastrocnémien-soléaire latéral gauche (LGS) chez des chats autrement intacts (Frigon and Rossignol, 2007), et chez des chats chroniques post- transection spinale complète (Frigon and Rossignol, 2008a). Les patrons d'activation musculaire et les réflexes cutanés évoqués par la stimulation du nerf Tibial, ont été quantifiés au cours de la locomotion sur tapis roulant dans le même animal avant et après dénervation du LGS. Les résultats de leurs études ont montré qu'après spinalisation, une suppression de la réponse à courte latence est généralement observée, démontrant ainsi que les réflexes cutanés sont capables de plasticité adaptative.

Peut on transférer cette approche expérimentale, c'est-à-dire utiliser les nerfs cutanés comme sonde non invasive pour étudier les mécanismes de la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme? Si oui, comment?

1.4.1.Rationnel

La plasticité locomotrice induite par l'entraînement est un sujet d'intérêt en réadaptation physique. En effet, l'objectif général d'une intervention pour améliorer le contrôle d'un mouvement, dit sommairement, est de promouvoir la réorganisation du contrôle moteur par un apprentissage spécifique (plasticité adaptative), dans le but de recouvrer un contrôle moteur mieux adapté. Le but est donc de provoquer la rétention des changements dans le contrôle moteur liés à l'amélioration du contrôle moteur. En réadaptation, des changements dits `plastiques` ont été démontrés à court (Lippert-Gruner et al., 2007;Lippert-Gruner, 2010;Stein et al., 2013) et à plus long terme dans différentes régions corticales suite à des interventions visant la récupération motrice des membres supérieurs et inférieurs de personnes après un accident cérébrovasculaire (Cramer, 2011;Enzinger et al., 2009;Miyai et al., 2006). D'autres études, utilisant un tapis roulant avec deux courroies (`splitbelt`) qui permet l'induction de vitesse différentes à chaque jambe ou le paradigme de marche sur tapis roulant entravée par un champ de force, ont démontré une adaptation dans les patrons d'activation musculaire (EMG) de la jambe à court (Blanchette and Bouyer, 2009;Blanchette et al., 2011;Blanchette et al., 2012;Lam et al., 2006) et plus long terme (Blanchette et al., 2012;Zabukovec

et al., 2013) chez des personnes saines et aussi chez des personnes post AVC ou lésion médullaire incomplète .

Dans cette thèse, deux types de perturbations mécaniques seront utilisées pour générer une plasticité adaptative chez les participants aux protocoles: les champs de force et la vibration (voir sections 3.2 et 3.3). Suivant une variante de l'approche de Burke, les réflexes cutanés seront comparés avant et après avoir induit cette plasticité. Notre **hypothèse générale** est que cette comparaison nous permettra de dévoiler certains des mécanismes et certaines des structures neurales impliqués dans le processus de plasticité adaptative, et ce, de manière non-invasive.

Comme mentionné plus haut, les réflexes cutanés possèdent plusieurs caractéristiques de connectivité intéressantes incitant leur utilisation comme sonde pour documenter le processus d'adaptation du contrôle locomoteur. D'abord, puisque ces réflexes empruntent des voies polysynaptiques, plusieurs interneurons où les mécanismes plastiques pourraient se produire sont interposés entre le nerf cutané et le motoneurone. De plus, des voies, autant spinales que supra-spinales convergent sur ces interneurons de sorte que l'on peut enregistrer des réflexes à différentes latences liées à l'origine de ces voies (Duysens et al., 2004;Nielsen et al., 1997). Ces réflexes à différentes latences offrent donc une opportunité de documenter la contribution de ces différentes voies aux mécanismes plastiques. Ce paradigme est à la base des Études II et III de cette thèse. Aussi, du fait de la spécificité des réflexes selon le nerf, plusieurs nerfs peuvent être stimulés dans le même contexte d'adaptation en vue de mieux comprendre les mécanismes liés à la plasticité. Cette caractéristique est mise à profit dans l'étude III de cette thèse. Enfin, les réflexes cutanés étant également présents chez des personnes ayant une lésion médullaire incomplète, cette approche sera aussi utilisée pour étudier les mécanismes de plasticité adaptative chez cette population. Ceci est le sujet de l'étude IV rapportée dans cette thèse.

Ainsi donc, le rationnel soutenant nos travaux s'appuie sur l'hypothèse que les changements observés dans les réflexes cutanés pendant l'adaptation de la marche à une perturbation mécanique, peuvent être utilisés pour mieux comprendre les mécanismes neuraux impliqués dans la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme.

Mais tout d'abord, il a fallu développer des méthodes analytiques robustes, capables de poser les balises nécessaires pour soutenir les objectifs de nos études. En effet, lorsque l'utilisation des

réflexes a pour but de sonder une réorganisation neurale, aucune des méthodes classiques précédemment rapportées ne peut être utilisée. La variabilité au sein des cycles de marche et les latences réelles des réflexes sont perdues dans les moyennes des réponses réflexes et aussi dans la somme cumulative. Par ailleurs, le choix d'un intervalle de temps fixe pour extraire les réponses dans les 16 portions du cycle de marche où les réflexes sont évoqués peut amener une distorsion ; certaines réponses sont coupées par l'utilisation d'un intervalle trop court, et d'autres sont détériorées par le bruit avoisinant si l'intervalle est trop large. Ainsi donc, avant de comparer les réflexes pendant la marche normale et la marche adaptée (Étude II, III et IV), la première étude présentée dans cette thèse a été consacrée au développement d'une nouvelle méthode d'analyse des réflexes cutanés, capable d'extraire les caractéristiques unitaires de chaque réponse évoquée afin de mieux quantifier leur latence et leur amplitude exactes (Étude 1).

Dans cette thèse, les réflexes cutanés enregistrés pendant la marche ont été testés dans deux modèles d'adaptation et deux types de population: La marche sur tapis roulant perturbée par un champ de force chez des personnes sans atteintes neurologiques, et la marche après vibration du corps chez des personnes en santé et des personnes avec lésions médullaires incomplètes. Dans les sections suivantes, pour l'un et l'autre des modèles d'adaptation, les considérations méthodologies fondamentales seront mises en relief.

1.4.2. La marche dans un champ de force

Récemment, basé sur des protocoles maintenant classiques (Lackner and Dizio, 1994; Shadmehr and Mussa-Ivaldi, 1994; Torres-Oviedo et al., 2011), il a été démontré que la modification des contraintes mécaniques imposées aux membres inférieurs lors de la marche sur tapis roulant (les tapis roulants à deux courroies indépendantes (Malone et al., 2011) et les champs de force (Bouyer, 2011) induit des changements dans le système de contrôle locomoteur témoignant de la plasticité suite à cette perturbation. Lorsqu'une personne marche initialement dans un environnement altéré par un champ de force, on observe habituellement une erreur dans la trajectoire du membre inférieur. Instinctivement, la personne tente de récupérer la trajectoire préalable liée à son patron de marche sans perturbation en modifiant l'activation des muscles impliqués dans le contrôle de la trajectoire. Ceci se traduit par un changement graduel du patron d'activation musculaire, de sorte que la personne s'adapte à la perturbation et récupère la trajectoire habituelle (Bouyer, 2005; Emken and Reinkensmeyer, 2005; Lam et al., 2006). Fait intéressant, lorsque le champ de force est retiré, ces

modifications dans l'activation musculaire persistent temporairement, causant ainsi des « after-effects » (Blanchette and Bouyer, 2009;Blanchette et al., 2011;Bouyer, 2011;Emken and Reinkensmeyer, 2005;Lam et al., 2006;Noble and Prentice, 2008;Noel et al., 2009). **Ces 'after-effects' sont un signe de la plasticité locomotrice induite par le champ de force.** En effet, en l'absence du champ de force, ces modifications ne peuvent pas être dues simplement à un feedback sensoriel augmenté (mécanisme de rétroaction positive). Des études ont suggéré que des modifications au niveau du contrôle anticipatoire ('feedforward') ont été induites par l'adaptation au champ de force, créant de nouveaux 'modèles' de marche implémentés dans le SNC (Bastian, 2008;Blanchette and Bouyer, 2009). Ces travaux suggèrent qu'une recalibration des commandes centrales, conséquence de la modification de la planification du mouvement, sont à l'origine de ces effets post-perturbation. Néanmoins, les mécanismes sous-jacents à cette adaptation restent peu connus.

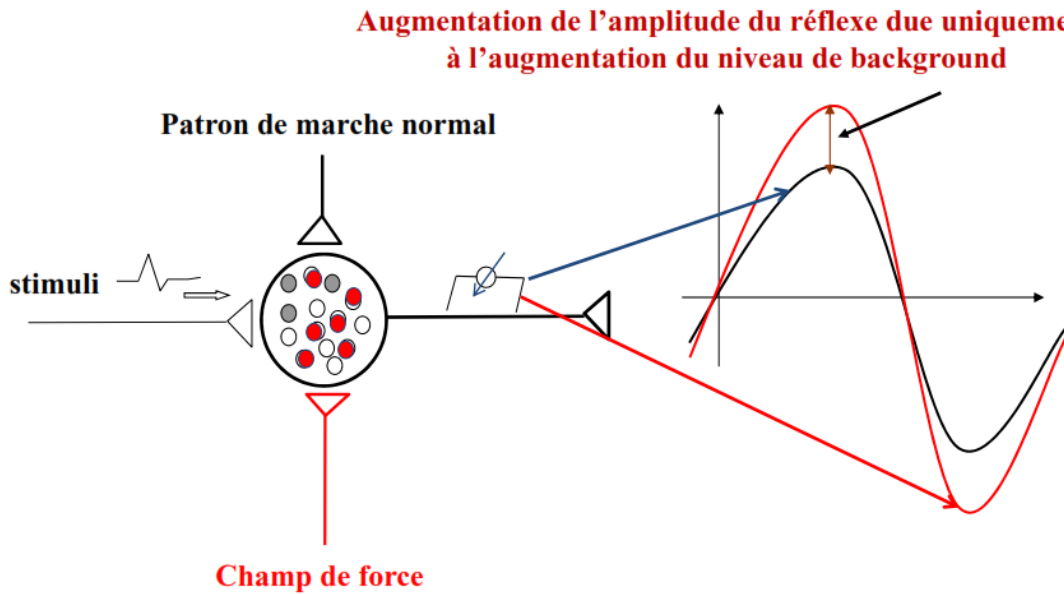
Pour utiliser des réflexes cutanés enregistrés pendant la marche dans le but d'étudier la plasticité induite par l'adaptation de la marche dans un champ de force, il faut pouvoir mesurer les changements dans l'expression des réflexes, autant que les changements en EMG de base, car ces protocoles induisent des changements dans l'EMG de base. Il faut aussi appliquer des comparaisons intra-sujet avant d'effectuer les comparaisons de groupe, à cause de la variabilité possible des mécanismes d'adaptation. Également, pour contrer cette variabilité inter-sujets, et mieux identifier les mécanismes, une approche analytique séparant les réponses facilitatrices et suppressives serait préférable. Également, les réponses à différentes latences doivent être examinées pour localiser les sites possibles de cette plasticité.

Par ailleurs, puisque l'introduction du champ de force pendant la marche induit un changement du niveau d'activité musculaire de base dans le muscle dorsiflexeur Tibial Antérieur (Barthelemy et al., 2012) l'interprétation des changements dans les réflexes observés avant et pendant la marche perturbée doit tenir compte du changement de l'activité de base musculaire. Lorsque les changements dans les réflexes peuvent entièrement être expliqués par les changements dans l'activité motoneuronale de base (par une relation linéaire proportionnelle), on dit que «le contrôle automatique de gain» (AGC, à partir de Matthews, 1986) s'applique et que des mécanismes motoneuronaux seuls sont impliqués dans les changements (Figure 1.3). Si l'AGC ne tient pas,

d'autres mécanismes (pré-motoneuroraux) peuvent être évoqués pour expliquer les changements dans les réflexes.

Grace à la méthode analytique développée dans l'Étude I, toutes ces considérations méthodologiques ont pu être prises en compte dans les Études II et III rapportées dans cette thèse.

A



B

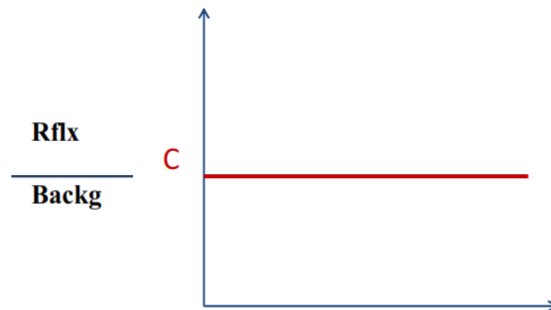


Figure 1-3 Contrôle automatique du gain de réflexe. A: Lors de la marche normale, plusieurs motoneurons dans le pool de motoneurons du TA sont activés et portés près du seuil de décharge (petits cercles gris). Lorsqu'on envoi une stimulation électrique, on obtient une réponse réflexe d'amplitude donnée (courbe noire à droite). Sous l'influence du champ de force, d'autres motoneurons du même pool sont activés et amenés plus près du seuil de décharge (petits cercles rouges) de sorte que le même stimulus électrique envoyé sur le même pool de motoneurons produit une réponse d'amplitude plus grande (courbe rouge à droite), et ce, sans l'influences des structures pré-motoneurales. B: Lorsque le changement en amplitude du réflexe (Rfx) dépend uniquement du changement de l'EMG de base (Backg), i.e en présence du contrôle automatique du gain, le rapport entre ces deux variables est une constante.

1.4.3. La marche après vibration

L'étude IV de cette thèse vise à comprendre les mécanismes sous-jacents aux effets bénéfiques de la vibration sur la marche, en utilisant un protocole de perturbation mécanique qui a été introduit en clinique. L'utilisation de plateformes vibrantes a connu un essor important depuis quelques années (Del Pozo-Cruz et al., 2012; Raschilas and Blain, 2010). Chez les adultes sains et les personnes âgées, les effets bénéfiques de la vibration globale du corps comprennent l'amélioration de la stabilité posturale, de la force musculaire et de la puissance chez les athlètes, et les personnes âgées (Raschilas and Blain, 2010; Hopkins et al., 2009; Kipp et al., 2011; Rogan S et al., 2011). Des effets bénéfiques de la vibration chez des personnes avec affection neurologique ont également été rapportés (van Nes et al., 2004). Chez des personnes ayant une lésion médullaire incomplète, on rapporte une augmentation de la vitesse de marche (Ness and Field-Fote, 2009b) ainsi qu'une diminution de la spasticité dans les muscles quadriceps (Ness and Field-Fote, 2009a). Par ailleurs, les mécanismes qui sous-tendent les avantages observés de la vibration chez les personnes en santé autant que chez les personnes avec lésions médullaires restent peu connus. La majorité des études visant à expliquer les mécanismes de la vibration du corps entier utilise un protocole basé sur le réflexe H testé avant et après vibration (Sayenko et al., 2010). Le principal mécanisme qui a été proposé pour expliquer l'amélioration de la performance motrice observée après la vibration est la facilitation de l'activité réflexe de la synapse afférente la du motoneurone (Kipp et al., 2011).

Cependant, des travaux récents ont montré que l'activité réflexe reste soit inchangée, soit diminuée après exposition à la vibration (Hopkins et al., 2009; Kipp et al., 2011). Cette diminution du reflex H a aussi été rapportée chez les personnes ayant une lésion médullaire (Sayenko et al., 2010). Ces changements unidirectionnels du reflex H n'ont donc pas aidé à expliquer les effets bénéfiques de la vibration.

Dans la quatrième étude présentée dans cette thèse, nous avons évalué les changements dans les réflexes cutanés après vibration du corps chez des personnes en santé et des personnes atteintes d'une blessure médullaire incomplète pour mieux comprendre les mécanismes neuronaux sous-jacent aux effets bénéfiques de la vibration. Pour atteindre cet objectif, d'autres considérations méthodologiques devaient être prises en compte. En effet, la vitesse lente de marche chez les personnes avec lésions médullaires ainsi que la variabilité dans la durée et la longueur de leur cycle de marche, rendent nécessaire que l'EMG de base quantifiée soit le plus proche possible du moment

où le réflexe est évoqué. Aussi, puisque ces personnes ne peuvent marcher durant de longues périodes de temps, seulement quelques réponses réflexes peuvent être évoquées. La quantification de ces réflexes doit donc être faite en utilisant très peu de cycles de marche. Ces limites ont été prises en considération dans l'étude IV de cette thèse.

1.5. Questions et objectifs de recherche

Les questions générales auxquelles nous tenteront de répondre sont : 1) Peut-on mettre en évidence une réorganisation du contrôle neural de la marche en présence d'un champ de force par l'examen des réflexes cutanés? (Étude I, II et III) ; 2) Dans un contexte réel de réadaptation, les réflexes cutanés peuvent-ils être utilisés pour expliquer certains des effets bénéfiques de la vibration du corps observés chez des personnes saines et des personnes ayant une lésion incomplète de la moelle épinière? (Étude IV)

Quatre études ont été menées pour répondre à nos questions recherche. Les objectifs liés à chacune des études seront développés ici.

1.5.1. Étude I

Les méthodes classiques utilisées présentement pour l'analyse des réflexes cutanés ne nous permettent pas d'extraire de façon optimale et objective les réponses réflexes que nous allons utiliser pour déterminer les sites de plasticité. Ainsi donc, nous nous devons de proposer une autre approche analytique. L'étude I répond à la question suivante : Peut-on quantifier les réponses réflexes de façon optimale de sorte à pouvoir les utiliser pour étudier la plasticité adaptative chez l'homme ?

Objectif général de l'étude: Développer une méthode de traitement automatique des réflexes cutanés capable d'extraire les réponses individuelles sans l'utilisation de moyennes ou de fenêtres fixes.

Objectifs spécifiques:

1. Développer une nouvelle méthode d'analyse des réflexes cutanés
2. Comparer la performance de la nouvelle méthode par rapport à la méthode classique

1.5.2. Étude II

Les réflexes cutanés empruntent des voies spinales et supraspinales. Lorsqu'ils sont évoqués avant et une fois adapté à un champ de force, comment ces voies sont-elles changées ?

Objectif général de l'étude: Décrire les modifications dans les réflexes cutanés pendant l'adaptation de la marche au champ de force chez les personnes saines.

Objectifs spécifiques:

1. Extraire les réponses réflexes évoquées pendant la marche avant et pendant l'adaptation au champ de force
2. Évaluer la contribution de l'AGC dans les changements réflexes
3. Comparer les changements spinaux et supraspinaux lors de l'adaptation au champ de force en comparant les changements réflexes à différentes latences post-stimulation.

1.5.3. Étude III

Les réflexes cutanés en provenance de différents nerfs sont contrôlés de façon spécifique. Peut-on également observer une spécificité dans les changements des réflexes cutanés évoqués par la stimulation de plusieurs nerfs lors de l'adaptation de la marche dans un champ de force? Cette spécificité pourrait-elle aider à mieux localiser les sites de la plasticité induite par le champ de force?

Objectif général de l'étude : Décrire la spécificité des changements liés à la présence du champ de force par la stimulation de trois nerfs cutanés chez des personnes saines. Proposer des sites potentiels de plasticité à partir de l'examen de cette spécificité.

Objectifs spécifiques :

1. Extraire les réponses réflexes évoquées après stimulation de 3 nerfs périphériques pendant la marche avant et pendant l'adaptation à un champ de force
2. Décrire les changements dans les réponses réflexes liés à chacun des nerfs stimulés
3. Établir la spécificité de la plasticité en comparant les changements dans les réponses réflexes entre les trois nerfs
4. Proposer des sites éventuels de plasticité en comparant les changements entre les nerfs aux différentes latences post-stimulation

1.5.4. Étude IV

La vibration du corps utilisée dans les programmes de réadaptation aurait des effets bénéfiques chez les personnes en santé et chez les personnes ayant une lésion médullaire. Les mécanismes qui sous-tendent ces effets restent inconnus. Peut-on utiliser les réflexes cutanés pour mieux expliquer les effets bénéfiques liés à la vibration du corps chez les personnes en santé et chez celles ayant une lésion médullaire incomplète?

Objectif général de l'étude : Décrire les effets de la vibration sur les réflexes cutanés enregistrés chez des personnes saines et chez des personnes ayant une lésion médullaire incomplète pendant la marche.

Objectifs spécifiques :

1. Extraire les réflexes évoqués pendant la marche avant et après vibration chez les deux populations
2. Évaluer la contribution de l'AGC dans les changements réflexes
3. Comparer les changements entre les deux populations
4. Établir si la direction des changements est liée au caractère bénéfique de la vibration, pour chaque population

2. MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE

Dans ce présent chapitre, nous exposerons la méthodologie qui a servi à l'acquisition des données analysées et présentées dans les chapitres suivants. La méthodologie présentée ici est générale. Les spécificités détaillées de chacune des études sont présentées dans la partie méthodologie liée à l'étude, dans les chapitres subséquents. Deux types de protocoles ont été utilisés : Le protocole où la perturbation est induite par un champ de force élastique, faisant l'objet des études I, II et III, et le protocole utilisant la vibration, dont traite l'étude IV. La méthodologie liée à chacun des deux types de protocole sera présentée séparément.

2.1. Projet champ de force (Études I, II et III)

2.1.1. Design expérimental

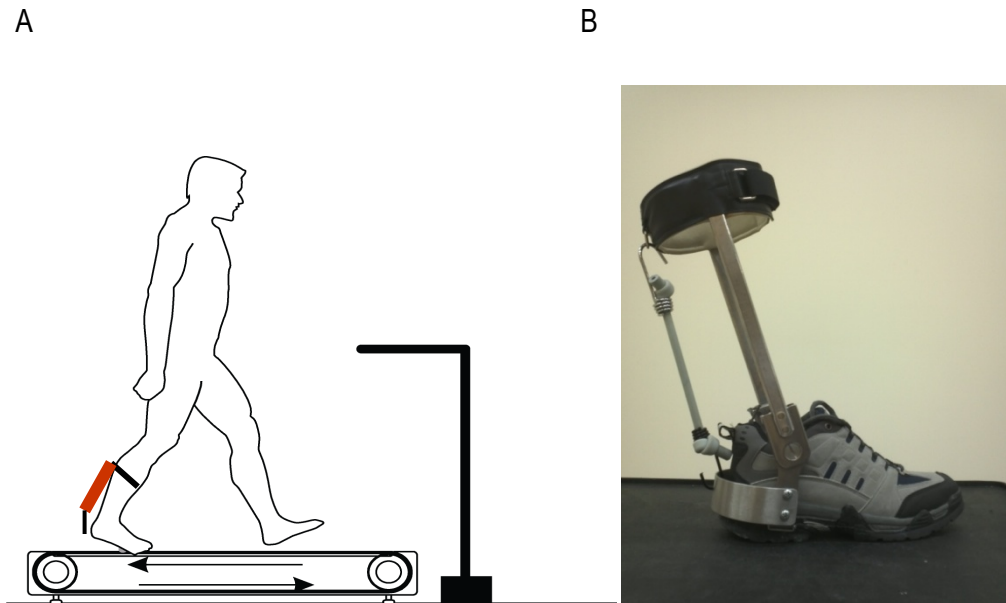


Figure 2-1 : Protocole de marche avec champ de force. A) Marche sur tapis roulant avec l'élastique attaché derrière la cheville. B) Orthèse AFO conventionnelle utilisée dans les expérimentations.

Les expérimentations liées à ce projet se sont déroulées au laboratoire clinique de marche du Centre Interdisciplinaire de Recherche en Réadaptation et Intégration Sociale (CIRRIS) qui est situé à l'Institut de Réadaptation en Déficience Physique de Québec (IRDPQ).

Le design expérimental (Figure 2.1) consistait à faire marcher les participants sur un tapis roulant et tester leurs réflexes cutanés avant et pendant une exposition à un champ de force. L'activité électromyographique des muscles principaux à l'étude (Tibialis Antérieur et Soléaire), la cinématique de la cheville ainsi que les paramètres spatio-temporels de la marche étaient enregistrés en continu. Le champ de force fut induit par un élastique attaché en arrière d'une orthèse conventionnelle. Ce champ avait pour effet de résister à la dorsiflexion de la cheville lors de la marche. La consigne donnée aux participants était : «Résistez la force afin de marcher normalement.» Le champ de force était appliqué sur toute la durée du cycle de marche. Cependant, son effet est maximal pendant la phase d'oscillation, où il résiste la flexion dorsale. En effet, lors de la phase d'appui, le pied est au sol et le torque (couple) généré par la cheville est beaucoup plus grand que celui induit par l'élastique, ce qui rend ce dernier négligeable (Voir chapitre 4 pour plus de détails sur le champ de force). Les participants marchaient à une vitesse de 4 km/h. La résistance de l'élastique était ajustée à environ 30% de la force maximale de flexion dorsale pour chaque sujet, préalablement mesurée à l'aide d'un dynamomètre Biodex System 3. L'élastique était accroché à l'arrière de l'orthèse lors des séquences de marche avec champ de force et enlevé lors des séquences de marche sans champ de force.

2.1.2.Éthique et population ciblée

Dans le cadre de ce projet de recherche, la population ciblée était celle des adultes sains. L'échantillonnage était de convenance et les participants ont été principalement recrutés parmi la population étudiante du centre de recherche et de l'Université Laval. Les critères d'inclusion étaient:

- Adultes en santé, âgés de 20 à 50 ans.
- Naïfs à la tâche demandée et ayant la capacité de collaborer à un projet de recherche.
- Sans antécédents chirurgicaux ou conditions associées à une atteinte musculosquelettique ou neurologique affectant la marche.

Étant donné le caractère fondamental de mes projets de recherche et le design de type "A-B-A" (voir section protocole expérimental), 11 participants ont été recrutés dans ce projet. Tous les participants ont été informés des risques et avantages liés à leur participation au projet et invités à signer un

formulaire de consentement éclairé (Annexe B) avant le début des expérimentations. Les participants étaient libres de mettre fin à leur engagement à n'importe quel moment au cours des projets.

2.1.3. Matériel et équipements

Afin de produire le champ de force, une orthèse conventionnelle fut utilisée (Figure 2.1B). L'élastique de type Thera-Band®, (couleur grise, *Super Heavy resistance*) attaché en arrière de l'orthèse produisait le champ de force. Cet élastique peut être étiré pendant 5700 cycles de marche avant que ses propriétés ne changent (voir (Patterson et al., 2001) pour plus de détails sur les propriétés du Thera-Band). Des électrodes de surface (KENDALL MEDI-TRACE 200, Covidien, Mansfield, USA) étaient utilisées pour faire l'enregistrement de l'EMG. De l'alcool à friction (Alcool isopropyl à 70%) était préalablement utilisé pour nettoyer la zone où les électrodes seront placées. Les électrodes étaient placées au dessus du ventre musculaire, séparées de 2 cm environ, selon les normes de SENIAM (Surface ElectroMyoGraphy for the Non-Invasive Assessment of Muscles; Freriks et al. 1999). Des préamplificateurs localisés près des électrodes d'enregistrement permettaient de limiter la contamination du signal avec des artéfacts de mouvement ou le bruit électrique ambiant. Une boîte de transmission attachée au sujet permettait de transmettre les signaux enregistrés à un amplificateur (Network Technologies Incorporated®, Québec, Canada) par fibre optique. L'activité EMG était filtrée (anti-aliasing, Butterworth, 1^{er} ordre, 10-500 Hz) et amplifiée (4000 fois) avant d'être échantillonnée (1000Hz/muscle) et stockée sur ordinateur à l'aide d'un logiciel maison. Un contact pédestre placé sous le talon droit fut utilisé pour enregistrer le moment du contact talon déterminant ainsi le début et la durée des cycles de marche. Pour mesurer l'angle relatif à la cheville de la jambe perturbée par le champ de force, un électrogoniomètre (Biometrics Ltd., Ladysmith, USA) était placé sur la chaussure et la membrure latérale de l'orthèse. Le signal de l'électrogoniomètre était enregistré en même temps que l'EMG. L'analyse des données fut réalisée à l'aide de logiciels maison dans l'environnement Matlab.

2.1.4. Protocole expérimental

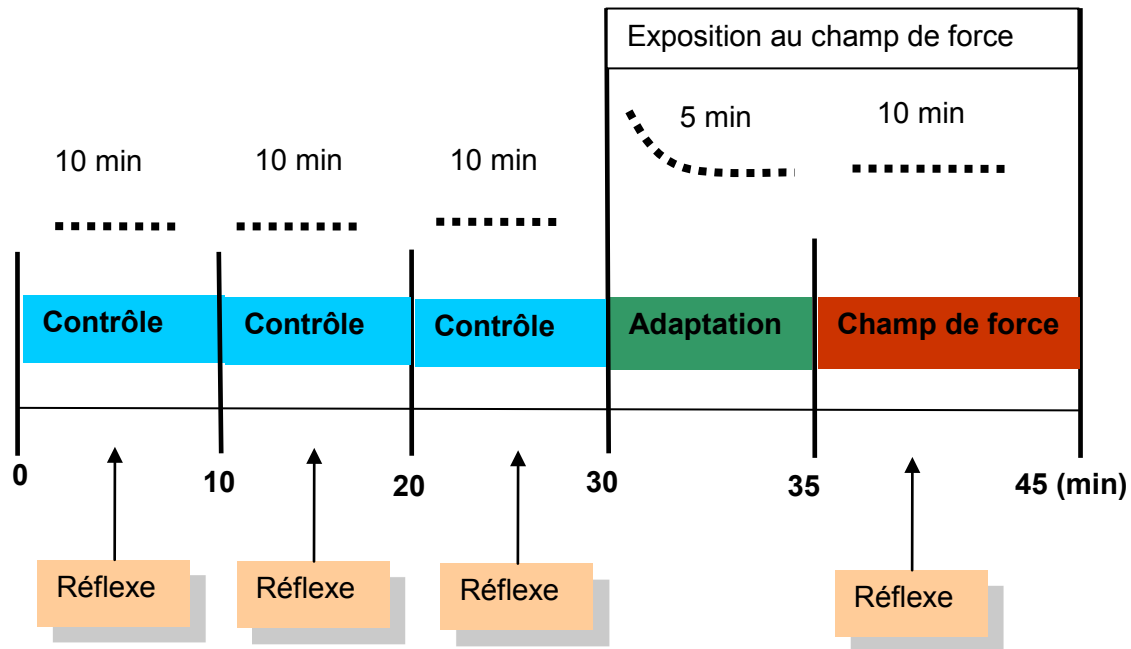


Figure 2-2: Protocole expérimental utilisé pour le projet avec champ de force élastique

Le protocole expérimental de ce projet est présenté à la figure 2.2. Le devis de cette étude était de type A-B-A. Les réflexes cutanés étaient enregistrés avant et pendant l'exposition à un champ de force. L'effet de l'exposition au champ de force est déterminé en comparant la marche avant et pendant l'exposition au champ de force chez chaque participant, avant de calculer les effets de groupe. L'évaluation des réflexes ne s'est faite que lors des séquences de marche en état adapté (« steady-state »), c'est-à-dire en contrôle et suite à 5 minutes d'adaptation au champ de force. Ce temps est basé sur notre expérience antérieure avec ce champ de force. Le protocole expérimental est décrit comme suit:

- **Marche Contrôle (CTRL)** sur tapis roulant, avec prise de mesure des paramètres de base de la locomotion (EMG, angle de la cheville) et des réflexes cutanés pendant 10 minutes. Cette séance de marche permettait de caractériser le niveau de base des variables mesurées (EMG, cinématique, réflexes) avant exposition au champ de force. Cette marche

contrôle était répétée 3 fois chez certains sujets pour démontrer la stabilité de nos mesures (voir Chapitre 4).

- **Marche d'adaptation au champ de force (Adaptation)**, au début de l'exposition au champ de force. Cette période de 5 minutes permettait au participant d'adapter sa marche avant la mesure des réponses réflexes.
- **Marche pendant le champ de force (FF, Force Field)**, d'une durée de 10 minutes. Les mesures liées à la locomotion et les réflexes étaient enregistrés dans cette séance de marche.

2.1.5. Test des réflexes cutanés

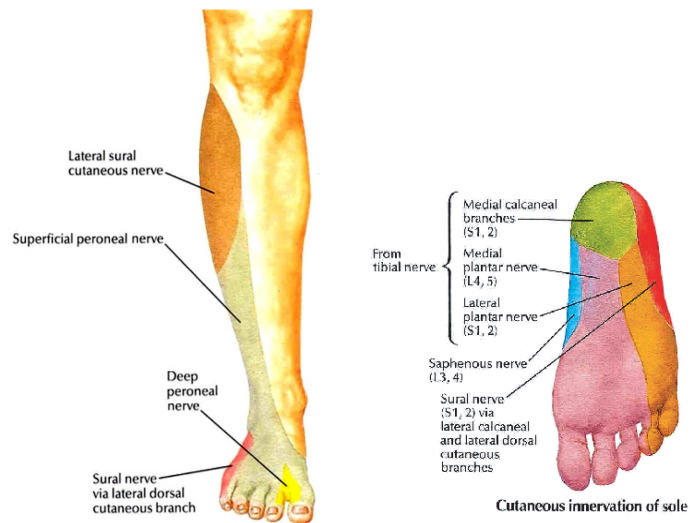


Figure 2-3 : Champs récepteurs des nerfs Tibial, Sural et Péronier Superficiel.

Trois nerfs cutanés ont été ciblés dans le cadre de cette thèse. Le nerf Tibial, le nerf Sural, et le nerf Péronier Superficiel. La figure 2.3 montre les champs récepteurs de ces 3 nerfs. Les réflexes furent évoqués par stimulation électrique transcutanée, de façon à recruter les nerfs sensoriels, et non directement la peau au niveau du champ récepteur. Ceci nécessite moins de courant et est plus pratique pendant la marche, car le sujet n'a pas à marcher sur les électrodes. Un stimulateur Grass S88 (Grass Medical Instruments, Quincy, Mass. USA) isolé du participant par un isolateur de type Grass SIU5 et un générateur de courant constant (Grass CCU1) furent utilisés pour effectuer la

stimulation des nerfs. Le stimulateur est limité en courant et laisse passer un maximum de 150 mA. Le seuil d'irradiation, représentant l'intensité de courant à partir de laquelle le participant commence à sentir la stimulation se propager dans le pied fut déterminé et utilisé comme référence.

L'intensité de stimulation utilisée ici était à 2-2.5 fois le seuil d'irradiation. A cette intensité, le participant peut ressentir un léger inconfort équivalent à un petit picotement lors de la stimulation, mais il ne ressentira pas de douleur. Le but de la présente étude n'étant pas d'évaluer l'effet de la douleur, il a été tenu d'éviter de stimuler les fibres nociceptives. Une stimulation (6 impulsions de 1 ms chacune à intervalle de 5 ms (200 Hz)) à chaque 2-3 pas était enclenchée, dans une séquence pseudo-aléatoire générée par un logiciel maison. La stimulation électrique fut effectuée à différents moments dans le cycle de marche de sorte que tout le cycle était couvert. Au total, 160 stimuli étaient donnés à chaque séance de marche où les réflexes étaient évoqués. Des électrodes de stimulation (H69P, avec hydrogel Ag/AgCl conducteur de Kendall™) étaient placées en surface de la peau et stabilisées par du ruban adhésif. Pour le nerf tibial, les électrodes étaient placées derrière la malléole interne, entre les tendons du long fléchisseur des orteils et du long fléchisseur de l'hallux. Pour le nerf péronier superficiel, elles étaient situées à la hauteur de la malléole externe, latéral au tendon du long extenseur des orteils. Pour le nerf sural, les électrodes étaient placées au niveau de la malléole externe, latéral au tendon d'Achille. Des détails supplémentaires sur la stimulation peuvent être trouvés dans chacune des études 1 à 4 présentées dans les chapitres subséquents.

2.1.6. Variables

Plusieurs variables étaient à l'étude dans cette thèse. La variable indépendante était le champ de force appliqué à la cheville résistant la flexion dorsale; les variables dépendantes étaient : l'activité électromyographique (EMG) des principaux muscles agissants à la cheville, la cinématique de la cheville sur laquelle fut appliqué le champ de force ainsi que les paramètres spatio-temporels de la marche (durée de cycle, durée de phase). Les muscles à l'étude étaient : le tibial antérieur (TA), muscle fléchisseur dorsal à la cheville et le soléaire (SOL) agissant comme fléchisseur plantaire. Les réflexes évoqués étaient enregistrés en même temps que l'EMG des muscles ciblés.

2.1.7. Acquisition et traitement des données

Une étape de prétraitement fut réalisée sur les données EMG. Un filtre anti-aliasing (Butterworth, ordre 4, 10-450Hz, double-passe) était appliqué aux signaux. Ensuite, le signal EMG était passé à travers un filtre qui rectifie le signal avant d'en extraire une enveloppe linéaire. L'ordre optimal du

filtre pour nos signaux était de 9 échantillons. Basé sur les paramètres spatio-temporels (contact talon de la jambe avec orthèse) les cycles de marche étaient séparés en 2 types : Stimulés et Non-Stimulé. Un cycle est dit stimulé s'il contient une stimulation ou est précédé par un cycle où la stimulation arrive dans les dernières 200 ms de la longueur du cycle. Autrement, il n'est pas stimulé. L'**analyse de l'adaptation au champ de force** était réalisée sur les cycles Non-stimulés. Les patrons moyens d'activation musculaire, ainsi que l'angle de la cheville étaient calculés pour voir l'effet du champ de force sur ces paramètres. Pour les besoins de ce projet, une méthode toute nouvelle d'**analyse des réflexes** a été développée (Chapitre 3). L'objectif du projet étant de déterminer des mécanismes neuronaux sous-jacents à l'adaptation de la marche dans un champ de force, l'approche classique utilisée pour l'analyse des réflexes s'est avérée insuffisante pour notre projet (voir Chapitre 1, section 1.2). Il a donc été nécessaire dans un premier temps de développer une nouvelle méthode capable d'extraire et de caractériser de façon individuelle chacune des réponses évoquées. Cette méthode fait l'objet du chapitre 3 et est à la base des analyses des 3 études subséquentes. Essentiellement, cette méthode soustrait individuellement de chacun des cycles stimulés, les 10 cycles non stimulés précédents. Si 90% des échantillons des 10 différences convergent dans le même sens, un réflexe est détecté. Pour chaque réflexe détecté, la latence exacte, la durée, l'aire, l'amplitude ainsi que le signe (facilitation ou suppression) sont déterminés. Un critère basé sur la durée des réponses réflexes permet de limiter les fausses détections. Tous les réflexes détectés au cours d'une séance de marche (donc évoqués par les 160 stimuli) sont ordonnés en fonction du temps d'arrivée du stimulus dans le cycle de marche et rapportés sur une carte d'activité réflexe (RAM, « Reflex Activity Map »). La nouvelle méthode permet aussi de quantifier le niveau de l'EMG de base au moment où le réflexe est évoqué. Plus de détails sur cette méthode peuvent être trouvés dans le chapitre 3.

Dans les études subséquentes incluant 1 nerf (chapitre 4) et 3 nerfs (chapitre 5), afin d'**analyser les changements dans les réflexes** liés à la marche dans le champ de force, les facilitations et les suppressions ont été étudiées séparément en calculant différents ratios. Ces ratios ont été contrastés aux ratios du niveau de l'EMG de base pour tenir compte du contrôle automatique du gain des réflexes. Des ratios ont aussi été calculés en tant que changements à courte, moyenne et longue latences. Plus de détails sur ces analyses peuvent être trouvés dans les chapitres 4 et 5.

2.1.8. Statistiques

Plusieurs calculs statistiques ont été faits pour comparer les changements en EMG et en réflexe, à différentes latences et pour les deux types de réflexes, facilitations et suppression. Selon l'application, des ANOVA à mesures répétées, des tests de t-pairés, des tests de Wilcoxon signés ont été utilisés. Le seuil de significativité a été établi à $p < 0.05$. Les détails spécifiques des statistiques utilisées dans chacune des études peuvent être trouvés dans le chapitre correspondant.

2.2. Projet sur la vibration (Étude IV)

2.2.1. Design expérimental

Les expérimentations liées au projet sur la vibration se sont déroulées au Neuromotor Rehabilitation Research Laboratory, The Miami Project to Cure Paralysis à Miami. Les données pour ce projet font partie d'un protocole plus large visant à déterminer les effets de la vibration sur les personnes avec lésion médullaire, comparativement aux personnes saines, sans affection neurologique. Dans le but de comprendre les mécanismes liés aux effets de la vibration, une partie de l'expérimentation consistait à enregistrer les réflexes cutanés avant et après vibration du corps entier (Whole Body Vibration, WBV). Une plate forme vibratoire (Figure 2.4) était utilisée pour perturber le corps entier. Les participants étaient en position accroupie (squat position), avec les genoux pliés à 30 degrés pendant la vibration. Les réflexes cutanés étaient évoqués pendant la marche avant et après cette vibration, en stimulant le nerf sural. L'activité électromyographique des muscles Tibial Antérieur et Soléaire était enregistrée pendant les séances de marche.



Figure 2-4: Plateforme vibratoire utilisée dans le protocole de marche après vibration

2.2.2.Éthique et population ciblée

Pour les besoins de cette étude, 10 participants en santé, sans affection neurologique et 5 participants ayant subi une lésion médullaire ont été recrutés. Les participants en santé étaient des adultes de 18 à 50 ans, sans histoire d'affection neurologique ou atteinte musculosquelettique pouvant affecter la marche. Ils ont été recrutés parmi les étudiants et personnels du centre de recherche. Pour les populations avec lésion médullaire, plusieurs critères d'inclusions étaient établis:

- Avoir une lésion médullaire de type motrice incomplète, classifiée comme AIS C ou AIS D
- Pouvoir se tenir debout sans aide pour au moins 1 minute
- Pouvoir marcher sur un tapis roulant pour au moins 5 minutes

Tous les participants ont signé un formulaire de consentement éclairé, préalablement approuvé par le Human Subjects Research Office of the University of Miami Miller School of Medicine . Les participants avec lésion médullaire pouvaient utiliser leur orthèse tibiale si nécessaire. Un harnais, ne supportant pas le poids, fut utilisé pendant les séances de marche pour prévenir les chutes.

2.2.3. Matériel et équipements

Les matériels et équipement ayant servis à évoquer les réflexes cutanés et enregistrer l'EMG et les variables cinématiques et spatio-temporelles étaient essentiellement les même que ceux utilisés dans le projet avec le champ de force élastique. La marche se déroulait sur un tapis roulant motorisé (WoodWay, USA). La vibration était induite par une plate forme vibrante (Power Plate; Northbrook, IL). Cette plate forme induit des vibrations de type sinusoïdal, de 2 mm d'amplitude à une fréquence de 50Hz.

2.2.4. Protocole expérimental

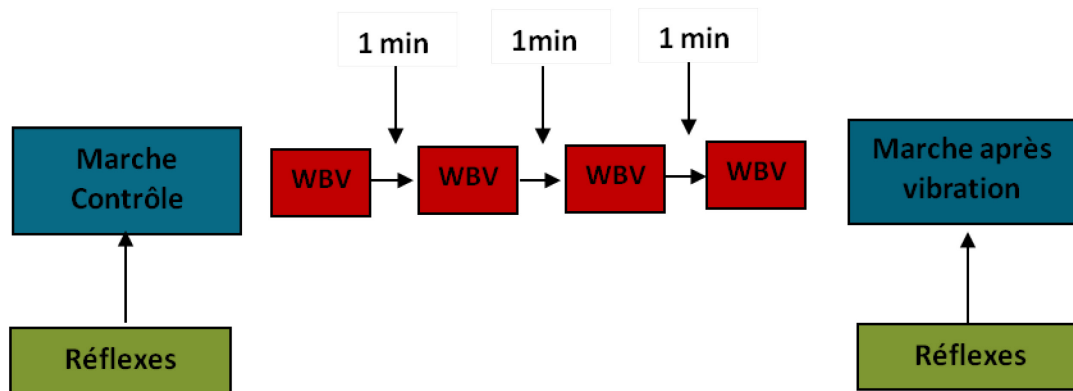


Figure 2-5: Protocole expérimental pour le projet sur la vibration

Le participant marchait d'abord sur un tapis roulant pendant que des réflexes cutanés étaient évoqués à 4 moments dans le cycle de marche: Moment de l'appui initial, à l'appui final, à l'oscillation initiale et à l'oscillation finale. Ensuite, un expérimentateur conduisait le participant à la plateforme vibratoire où il recevait 4 séances de 45s de vibration, séparées chacune de 1 minute de pause. Le participant était ensuite reconduit au tapis roulant où ses réflexes étaient à nouveau testés pendant la marche.

2.2.5. Stimulation des réflexes

La stimulation fut induite sur le nerf sural aux quatre différents moments du cycle de marche ciblés. À chacun des ces 4 moments, un total de 20 stimulations a été induit. L'ordre de stimulation était randomisé mais le même ordre était maintenu avant et après vibration.

2.2.6.Acquisition et traitement des données, Variables et Statistiques

Essentiellement, les mêmes variables (EMG du TA et du SOL), les mêmes traitements de données (avec la nouvelle méthode) et les mêmes statistiques que le projet avec champ de force ont été utilisés. Au niveau des comparaisons avant-après vibration, les ratios ici ont été calculés différemment. L'activité globale musculaire et réflexe, estimée en calculant l'aire sous les courbes EMG et réflexes au 4 temps de stimulations, a été préférée ici. Plus de détails sur cette approche peuvent être trouvés dans le chapitre 6.

3. Étude I: A New Approach for Detecting and Analyzing Cutaneous Reflexes during Locomotion.

Maimouna Bagna¹ and Laurent J. Bouyer^{1,2}

1. Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRS), Quebec City, QC, Canada

2. Department of Rehabilitation, Univ. Laval, Quebec City, QC, Canada

J Neurophysiol 105:1406-1415, 2011. First published 1 December 2010;

3.1. RÉSUMÉ

Lorsqu'évoquées pendant la marche chez l'homme, les réponses réflexes individuelles des nerfs cutanés sont difficiles à détecter dans les enregistrements EMG de surface, en raison de leur faible amplitude. Dans cette étude, nous présentons un nouvel algorithme visant à détecter automatiquement ces réponses réflexes de façon individuelle et d'en extraire la latence, l'amplitude, la durée, et le signe correspondants. Pour distinguer les réponses réflexes de la variabilité intrinsèque de l'EMG de base, chaque cycle stimulé est comparé à 10 cycles non stimulés adjacents, recherchant des différences constantes. Dans les 200 premières ms après la stimulation, les réponses réflexes sont détectées lorsque $\geq 9/10$ de ces différences sont positives ou négatives. Cette approche ne nécessite pas l'utilisation de seuils d'amplitude ou des fenêtres de temps fixe pour détecter la réponse réflexe. Pour réduire les fausses détections, une étape de post - traitement sélectionne 50 cycles non stimulés de manière aléatoire, les traite par l'algorithme comme des cycles stimulés, et établit un critère de durée minimale de réponse valide qui est ensuite utilisé pour valider les réponses détectées. Les réponses validées lors d'une session entière de test sont ensuite présentées sur une carte (carte d'activité réflexe) à partir de laquelle des réponses spécifiques peuvent être identifiées et quantifiées. La nouvelle méthode a été validée chez 10 participants, dans 3 nerfs cutanés, à l'aide de deux protocoles (modulation de phase et courbes de recrutement). Par rapport à la méthode classique, le nouvel algorithme a montré de meilleures performances en termes de précision de la détection, de spécificité et de fiabilité des réponses réflexes. Bien que testé ici pour évaluer les réflexes cutanés lors de la marche humaine, la simplicité de cette méthode est telle qu'elle pourrait facilement être utilisée avec d'autres réflexes, d'autres signaux, et même d'autres préparations.

3.2. ABSTRACT

During human walking, due to their small amplitude, individual cutaneous reflex responses are difficult to detect in surface EMG recordings. In this study, we present a new algorithm to automatically detect individual cutaneous reflex responses and to extract their corresponding onset latency, amplitude, duration, and sign. To discriminate reflex responses from the intrinsic variability of the background EMG, each stimulated cycle is compared to 10 adjacent non-stimulated cycles, looking for consistent differences. In the first 200 ms after stimulation, reflex responses are detected when $\geq 9/10$ of these differences are either positive or negative. This approach does not require amplitude thresholds or fixed time windows for reflex detection. To reduce false detections, a post-processing step selects 50 non-stimulated cycles randomly, processes them through the algorithm as stimulated cycles, and establishes a minimal reflex duration criteria that it then used to validate the detected responses. Validated responses from an entire test session are then reported on a colormap (reflex activity map) from which specific responses can be identified and quantified. The new method was validated in 10 participants, 3 cutaneous nerves, and 2 protocols (phase modulation and recruitment curves). When compared to the classical method, the new algorithm showed better performance in terms of detection accuracy, specificity and reliability. While tested here to evaluate cutaneous reflexes during human walking, the simplicity of this method is such that it could easily be used with other reflexes, signals, and preparations.

3.3. INTRODUCTION

Studying reflexes is one approach useful to improve our understanding of the organization of sensorimotor processing in humans. Cutaneous reflexes represent the link between skin afferents and motoneurons. During locomotion, cutaneous reflex responses are strongly modulated, going from excitation to inhibition from one phase of the gait cycle to another, a phenomenon called phase reversal (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992). In humans, cutaneous reflexes are signals of small amplitude, compared to those obtained in cats (e.g. (Bernard et al., 2007)), or to H-reflexes (e.g. (Tucker et al., 2005)). Identifying and quantifying them during walking has therefore been particularly challenging, due to the phase modulation of the responses and to the large variations in background EMG activity present within a gait cycle.

The classical solution to improve signal to noise ratio has been to divide the gait cycle into 16 bins of equal width, and to average several reflex responses obtained in each of these bins (Stimulus triggered averaging (STA); (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992; Van Wezel et al., 1997; Yang and Stein, 1990). Typically, 10 to 30 responses are averaged in each bin. As already pointed out by others (Brinkworth and Turker, 2003), STA presents some limitations: as individual EMG responses to the same stimulation are all somewhat different (Lavigne et al., 1983), averaging tends to blur the responses in terms of exact latency, amplitude and duration. In addition to STA, the classical method uses fixed time windows to quantify cutaneous reflex responses (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992; Van Wezel et al., 1997; Yang and Stein, 1990). During walking, as reflex responses at given gait phases change from monophasic to biphasic (e.g. see Yang and Stein, 1990 Figure. 4), averaging such responses over a fixed time window can drastically lower the reported response strength. Taken together, these factors show the need to develop computer algorithms to objectively and accurately quantify individual cutaneous reflex responses during walking.

In the present study, we introduce an original method to analyze cutaneous reflexes during walking that does not use STA or fixed time windows. To discriminate reflex responses from the intrinsic variability of background EMG, each stimulated cycle is compared to several adjacent non-stimulated cycles, looking for consistent differences. With this method, individual responses evoked by stimulation can be quantified.

There are 3 aims to the present study: 1) to present a reliable and repeatable method for cutaneous reflex response processing that can accurately estimate individual response latency, duration, and strength; 2) to show that the proposed method performs better than the classical approach (Duysens et al., 1990; Duysens et al., 1992; Van Wezel et al., 1997; Yang and Stein, 1990) in terms of detection accuracy, specificity, and reliability; 3) to demonstrate that the algorithm can also be used for other purposes, in this case objectively measuring the motor threshold for cutaneous reflex stimulation, another situation where classical methods tend to be limited. Preliminary results have appeared in Abstract form (Bagna and Bouyer, 2008).

3.4. METHODS

3.4.1. Subjects

A total of 23 experiments were performed in 10 healthy subjects (age range 23-35 years) with no reported neurological or major orthopaedic history. All participants gave informed consent to the protocol, which had been previously approved by the local ethics committee.

3.4.2. Experimental procedure

Subjects came to the laboratory for 1 to 3 visits (1 visit per nerve). Three cutaneous nerves with receptive fields (RF) located on the foot were stimulated: Superficial Peroneal (SP, RF=foot dorsum), Sural (SU, RF=lateral aspect of the foot), and Tibial (Tib, RF= foot sole). On each visit, subjects walked on a motorized treadmill at constant speed (4 km/h) for a period of 9 minutes. Pairs of disposable electrodes (Kendall SOFT-EH69P; 2.5 cm apart) were used for transcutaneous stimulation of the nerves. For SP stimulation, the electrodes were placed distal to the superior extensor retinaculum and posterior to the tendon of the extensor digitorum longus muscle. For SU stimulation, the electrodes were placed posterior to the lateral malleolus. Finally, for TIB stimulation, they were located over the flexor hallucis longus muscle, posterior to the medial malleolus. Electrical stimulation consisted of a train of 6 pulses (pulse width = 1 ms) delivered at 200 Hz once every 2-3 strides and were produced by a Grass S88 stimulator through an isolation box (Grass SIU5) and a constant current unit (Grass CCU1).

Electromyographic (EMG) activity was recorded from the Tibialis Anterior muscle (TA, ankle dorsiflexor) using surface EMG electrodes (Kendall Meditrace 200) placed in a bipolar configuration, 2 cm apart, according to SENIAM recommendations (Hermens et al., 2000). EMG activity was band-pass filtered at 10-500 Hz and sampled at 1000 samples/sec before acquisition. Heel strike (HS)

data were collected using custom-made footswitches. Stimulus intensity was recorded using a custom-made stimulus integration circuit.

Two experimental protocols were tested:

1) Modulation protocol: 160 stimulations were delivered at different moments with respect to heel strike in order to cover the entire gait cycle. The intensity of stimulation was set between 2.5 and 3 times the radiating threshold (RT; level where the subject begins to feel radiation from the stimulation electrodes towards the foot) and was kept constant over the whole test session. To reduce predictability, stimulation occurred every second or third stride, and the moment of stimulation within the gait cycle followed a pseudo-random sequence.

2) Recruitment protocol: this time, the phase of stimulation was kept constant (90% of the gait cycle, i.e. late swing) while stimulation intensity was varied from below the radiating threshold to mild discomfort (range 2-12 mA; maximum of 4 x RT). A total of 160 stimulations were delivered, once every 2-3 strides to reduce predictability.

3.4.3. New cutaneous reflex processing algorithm

Figure 3.1 presents a block diagram of the new algorithm developed for cutaneous reflex processing. It can be separated into 4 elements: pre-processing, individual reflex detection, individual reflex identification, and post-processing. Each element is described separately below.

Insert figure 3.1 near here

Pre-processing

For each 9-minute walking session, the TA EMG signal is rectified and low pass filtered using a 9-point moving average filter, in order to extract the EMG activity envelope. The signal is then divided into gait cycles based on heel strike (HS) information. Each gait cycle is tagged as stimulated (STIM) or non-stimulated (NO-STIM) based on the stimulus intensity channel. When stimulation occurs within the last 200 ms of a STIM cycle, the subsequent gait cycle is also considered as a STIM cycle due to the potential presence of a long latency response starting around 170 ms (see Yang and Stein, 1990).

Individual reflex detection

To detect the presence of a reflex, each STIM cycle is compared to “ N ” NO-STIM cycles looking for consistent differences. In the present study, the *ten* NO-STIM cycles preceding each STIM cycle were used ($N=10$). The justification for this number can be found in Appendix I.

The reflex *detection* process is presented in Figure 3.2, and can be summarized by the following 4 steps:

- 1) For each STIM cycle, the preceding 10 NO-STIM cycles are selected and time-normalized to STIM cycle duration (Figure 3.2A);
- 2) Each one of the time-normalized NO-STIM cycles is subtracted sample-by-sample from the STIM cycle, creating 10 difference signals ΔS_i where $1 \leq i \leq N$ (Figure 3.2B).
- 3) Analysis is performed in the interval ranging from 40 (to avoid contamination from the stimulus artefact) to 200 ms after stimulation.

Let N equals the number of subtracted gait cycles, and ΔS_i , $1 \leq i \leq N$ represent the difference signals. For each sample k from 40 to 200 ms, the *Confidence Index Value (CIV)* is calculated as:

$$CIV(k) = \frac{\sum_{i=1}^N (\Delta S_i(k) > 0)}{N} \quad (1)$$

where $0 \leq CIV \leq 1$ (Figure 3.2 C).

For each sample k , the CIV measures the agreement among the difference signals (ΔS_i) on the presence and sign (excitation/inhibition) of a potential reflex response, simply by counting the proportion of difference signals that are positive and negative. Indeed, for each difference signal ΔS_i , the samples that are equal to NO-STIM EMG activity have a value of 0, those above NO-STIM EMG activity have a positive value, and those below NO-STIM EMG activity are negative. This implies that if $CIV(k) = 1$, then 100% of the difference signals agree that the STIM signal at sample k is above 0, i.e. above the NO-STIM EMG activity. This sample is therefore considered to represent an excitation. Conversely, when $CIV(k) = 0$, all difference signals agree that sample k is below the NO-STIM EMG level, i.e. that it represents an inhibition. Finally, when $CIV(k) = 0.5$, then the difference signals are equally distributed around 0. There is no agreement between them on the sign of a potential response, and the sample is therefore considered to be no

different from the NO-STIM EMG activity. In this study, as 10 difference signals are used by the algorithm, the CIV value varies between 0 and 1 in steps of 0.1.

- 4) To reliably identify reflex responses, we chose that 9 out of 10 difference signals had to agree on the sign of the response (level of confidence set at 90%; $P=0.9$). In practical terms, this means that when $CIV(k) \geq 0.9$ an excitation is detected, and when $CIV(k) \leq 0.1$ an inhibition is detected (Figure 3.2C arrows).

Insert Figure 3.2 near here

Individual reflex identification

Seven parameters were defined to characterize each detected reflex response:

Parameter 1: phase of stimulation. The phase of the gait cycle where the stimulation occurred. The phase of stimulation was calculated in percentage of the gait cycle:

$$\phi(\%) = 100 \times \frac{\text{time_of_stimulation_onset}}{\text{reflex_cycle_duration}} \quad (2)$$

Parameter 2: sign. Responses are classified as excitations or inhibitions based on their CIV (see reflex detection above). A $CIV(k) \geq 0.9$ represents an excitation. A $CIV(k) \leq 0.1$ represents an inhibition.

Parameter 3: onset latency is defined as the point in time where the CIV reaches 0.9 (selected P value; see reflex detection above) for an excitation or 0.1 (1-P) for an inhibition.

Parameter 4: response duration is defined as the number of consecutive samples where the CIV remains ≥ 0.9 for an excitation, or ≤ 0.1 for an inhibition.

Parameter 5: response area is defined as the area under the mean of the difference signals (calculated using the trapezoid method) over the duration of the detected reflex. Area is positive when the reflex is an excitation and negative when it is an inhibition (Figure 3.2D).

Parameter 6: response amplitude is defined as the response area divided by its duration. Amplitude is positive when the reflex is an excitation and negative when it is an inhibition (Figure 3.2D).

Parameter 7: background EMG activity represents an estimation of the motoneuronal pool excitability at the time when the reflex response occurred. The 10 NO-STIM cycles associated with a given STIM cycle are first averaged together. Background EMG activity is then defined as the mean amplitude of this average taken from response onset to response end.

Post processing

Post processing was performed in order to increase further detection reliability by estimating and reducing type I errors (false detections). First, to estimate false detections, 50 NO-STIM cycles are randomly selected from the 9-min test session. Each one of these cycles is then processed through the algorithm as if it was a STIM cycle. In this situation, any response detected by the algorithm represents a false positive, as it did not result from a real stimulation. A frequency histogram (# of occurrences vs. response duration; Figure 3.3) is then constructed from these false positive responses to establish a minimal reliable response duration. In the representative subject illustrated in Figure 3.3 (S2), the minimal reliable response duration was set at 13 ms, as 85% of the false positive responses fell below this value. Secondly, all reflex responses detected in the real STIM cycles are scanned by the algorithm. Responses with a duration below the minimal reliable duration (13 ms in this example) are discarded. The remaining reflex responses are referred to as *validated* responses.

Insert Figure 3.3 near here

3.4.4. Classical cutaneous reflex processing algorithm

For comparison purposes, the data collected as part of this study were also processed using a previously published method used for cutaneous reflex analysis (Yang and Stein, 1990).

It can be summarized by the following 8 steps:

1. The recorded EMG signals are divided into individual gait cycles using HS information and classified as STIM or NO-STIM based on the presence/absence of stimulation, respectively.
2. All NO-STIM cycles are rectified, time-normalized to mean NO-STIM cycle duration, and averaged together to represent the mean background EMG activity present over the whole test session.
3. The gait cycle is divided into 16 bins of equal width. STIM cycles are assigned to one of these bins according to the time of arrival of stimulation in the gait cycle.

4. For each bin, STIM cycles are rectified, synchronized at stimulus onset, and the mean background EMG activity (point #2 above) is removed. Responses are then averaged together to produce a mean reflex response.
5. This process produces 16 average reflex responses, one for each bin, summarizing the reflex activation pattern present over the gait cycle.
6. The first 200 ms after stimulation are analyzed.
7. A fixed time window for reflex measurement is set by visual inspection from the experimenter, trying to accommodate responses in all bins while minimizing response truncation. Mean reflex amplitude is calculated over the entire time window length (1 output value per bin).

The two algorithms were implemented using the Matlab® software (MathWorks, Natick, USA).

3.4.5. Data analysis

As individual responses from 160 stimulations are recorded and parameterized for each 9-min walking session in this study, a practical means of graphically presenting such a large amount of data had to be developed. Plots named Reflex Activity Maps (RAMs) were therefore created.

To create a RAM of an entire recording session, validated responses from each STIM cycle are plotted for the first 200 ms after stimulation on a single horizontal line. Reflex amplitude is represented by a color scale (See Figure 3.4B); all 160 responses are stacked, ordered as a function of phase of stimulation in the gait cycle, with the bottom trace representing a phase = 0% (i.e. heel strike).

As RAMs can easily represent such a large amount of information, they were also used to present unprocessed reflexes for comparison. An example is shown in Figure 3.4A. In the unprocessed RAM, each line now represents the average of the 10 difference signals (ΔS_i), instead of the responses detected and validated by the new algorithm.

3.5. RESULTS

3.5.1. Reflex modulation experiments

Figure 3.4 compares the output of the new (Figure 3.4B) and classical (Figure 3.4C) algorithms, and relates them to the unprocessed reflexes (Figure 3.4A). By comparing the validated responses with the unprocessed reflexes, it can be seen that the detection process does not lose information or

distort the raw data, *but enhances the signal to noise ratio* of the individual responses. Compared to the 16 average reflex responses obtained with the classical method, it is clear that the new method preserves much more details from the raw data. For example, the gradual phase advance in the onset of the inhibition found around 110 ms at 80% of gait is visible in the validated RAM, but not in the average reflex responses of Figure 3.4C. It can also be noted that response amplitude tends to be larger with the new method (more details regarding amplitude comparisons will be provided in subsequent Figures).

Insert Figure 3.4 near here

Looking along the gait phase axis (y axis) of the validated RAM, it can be seen that stimulations given in the first 50 percent of the gait cycle produced only a few low amplitude detections while stimulations delivered in the last 50 percent produced a large number of detections. This is consistent with what is reported at lower resolution with the classical method, where reflex responses become visible only at bin 9 and phase reversal is seen around 85 ms between bins 14 and 16. It must be noted that while validated responses were based on detection criteria ($CIV \geq 0.9$ and removal of short duration responses associated with false positives; see Methods), the classical method is simply a mean trace without any information about the actual spread of the individual reflex responses that were actually averaged.

Detection of specific responses

The two methods also differ in the way reflex responses are extracted and quantified. With the new method, vertical cursors are manually placed on the validated RAM. All responses that are in contact with this cursor are tagged, regardless of their exact onset latency. This way, responses occurring *around* a given latency can be identified while preserving their individual onset latency, duration, and amplitude.

As an example, a cursor set at 85 ms on Figure 3.4B tags responses in a range that would be called “middle latency” (Yang and Stein, 1990). The following parameters of each tagged response are reported in Figure 3.5, left column (filled circles): background EMG activity, mean amplitude, onset latency and response duration. Only a few low amplitude responses are detected when stimulation occurs in the first 50% of the gait cycle. Then, a large and consistent excitatory response is observed between 50 and 80%, followed by a clear inhibition (reflex reversal) in the last 20%. These results

concur with a visual examination of the validated RAM (Figure 3.4B). The reported individual onset latencies spread from 52 to 84 ms, depending on the phase of gait. Response duration ranged from 14 to 49 ms.

Using the classical method to measure an equivalent response, a time window going from 70 to 110 ms was visually chosen as the best compromise, trying to include responses in all bins while at the same time avoiding response truncation. The parameters of each response are reported in Figure 3.5, left column (open circles), superimposed on the individual responses obtained with the new method (filled circles) to allow comparison. By setting a fixed time window, all responses have the same onset latency (70 ms) and duration (40 ms).

Comparing the two methods, it can be seen that the amplitude modulation of reflex responses as a function of phase keeps the same profile. However, the new method yields responses that are of higher amplitude, delayed onset latency and shorter duration. These findings are not surprising, as the constraints associated with the old method force the user to define window onset based on the bin having the response with the shortest onset latency, and window end based on the bin with the response ending last. As a result, averaging in individual bins occurs over more than the duration of actual responses, thereby underestimating mean amplitude (see Figure 3.4C). In addition, as mentioned in the Introduction, the process of averaging responses with slightly different individual onset latencies will also tend to “flatten out” the signal, further reducing the measure of mean reflex amplitude. In contrast, the new method is not affected by the flattening effect resulting from response averaging or by the constraints associated with setting a fixed time window. As a result, individual responses are quantified more accurately not only regarding actual onset times and response durations, but also in terms of amplitude measurements.

Insert figure 3.5 near here

As another example, a cursor was manually placed at 125 ms (see Figure 3.4B). Results are presented in Figure 3.5, right column. Filled circles represent individual responses obtained with the new method. Open circles represent responses obtained with the classical method using a time window going from 111 to 160 ms.

Contrary to the 85 ms response, the 125 ms response shows an inhibition at the beginning of swing, reversing to an excitation in the last 15% of the gait cycle. Onset latency of individual responses

ranges from 77 to 119 ms. Response duration ranges from 14 to 74 ms. Here also, the responses obtained with the classical method have lower amplitudes and lack details regarding onset latency and duration.

3.5.2. Validation of the new algorithm for different nerves and different subjects

The new algorithm was tested in several subjects and different nerves: Sural nerve (6 subjects), Superficial Peroneal nerve (6 subjects), and Tibial nerve (10 subjects). Results for the Sural nerve stimulation showed consistent 85 ms latency response modulation across subjects: all participants presented a phase-dependent reversal. The response was mainly excitatory from 50 to 80% of the gait cycle and then became inhibitory. Only a few small responses were detected in the first 50 percent of the gait cycle. These results are consistent with the ones reported by others (Yang and Stein, 1990; Duysens et al., 1992; van Wezel et al., 1997; Zehr et al., 1998). The 85 ms response modulation to Superficial Peroneal nerve stimulation was not as consistent across subjects. Among the 6 subjects tested, only 3 showed a reversal; in one of them, the reflex response was first inhibitory, then excitatory. Finally, in the ten subjects where the Tibial nerve was stimulated, six presented only inhibitory responses, while the other 4 showed phase-dependent reversals. This finding is also consistent with previous studies (Yang and Stein, 1990; van Wezel et al., 1997).

In order to quantify and to validate statistically the improvement in performance obtained when using the new algorithm, the size of the reflex responses measured by the two methods was compared. To be as objective as possible, the most reliable response found in all 3 nerves was chosen (onset latency ~85ms). Data from all subjects presented in the previous paragraph were processed through both algorithms. A mean reflex amplitude per test session was obtained for each method by taking the absolute value of all responses, regardless of phase. As the same data sets are used by the two algorithms, no bias is introduced and the two methods can be safely compared. Figure 3.6 presents the group results. The improvement in performance is very significant. For SU, mean reflex amplitude went from 15.6 ± 6.1 to 36.7 ± 4.0 % of peak background EMG, more than doubling ($P < 0.01$, paired t-test). For SP and TIB, mean reflex amplitude went from 7.9 ± 2.0 to 29.2 ± 2.1 % ($P < 0.01$) and 4.9 ± 0.5 to 31.4 ± 3.1 % of peak background EMG ($P < 0.01$), respectively. While the size of the improvement varied slightly across subjects, all presented an improvement with the new method.

Insert Figure 3.6 near here

3.5.3. Recruitment experiments

To define the relationship between stimulus intensity and motor response, the timing of the stimulus in the gait cycle was kept constant, while its intensity was varied (see Methods). A plot of response size as a function of stimulus intensity is called a recruitment curve. Recruitment curves have many functions (see Discussion), including providing information on the motor threshold of a given neural pathway. Another feature of the new algorithm is to enhance our ability to make recruitment curves for small responses such as human cutaneous reflexes. As each evoked response can be quantified individually, it is easy to follow the evoked responses pattern produced by gradually increasing stimulus intensity. To do this, a RAM is constructed, but this time with responses ordered vertically as a function of stimulation intensity rather than phase of gait. The Figure 3.7A RAM presents unprocessed reflex responses obtained in TA when stimulating the Sural nerve at 90% of the gait cycle (late-swing), and varying the stimulus intensity from 2 to 12 mA in subject S2. Figure 3.7B shows the corresponding validated responses. As already shown for the phase modulation experiment, the validated responses are faithful to the raw data. The RAMs show two main evoked responses, an inhibition around 100 ms followed by an excitation around 140 ms. For the inhibition, as stimulus intensity is increased, it can be seen that response duration increases more than response amplitude. This finding, obtained directly from looking at the RAM, suggests that response area is a better indication of motor pool recruitment than mean amplitude in this example. Extracted responses obtained by placing cursors at 100 and 140 ms are presented in Figure 3.7 C and D, respectively. It can be seen that while the area and duration of the inhibition co-vary, the excitation follows a different pattern, where duration remains constant, but area increases. These results suggest that care must be taken when studying biphasic responses, as their 2 components (the excitation and the inhibition) may be differentially modulated.

Insert figure 3.7 near here

3.6. DISCUSSION

3.6.1. Performance of the new algorithm: comparison with a classical method

The new algorithm presented in this study was validated in 10 subjects, and was compared to a classical method used for cutaneous reflex analysis during human walking (e.g. Yang and Stein, 1990; Duysens et al. 1990, 1992; VanWezel et al, 1997). It outperformed the classical method in

terms of detection accuracy, specificity and reliability. As shown in Figures 3.4 and 3.5, the ability to detect individual response latency and duration rather than using fixed time windows improves **detection accuracy** as shown by shorter responses having higher amplitudes (Figures 3.4 and 3.5). The reasons for these higher reflex amplitudes are: 1) that using fixed windows includes portions that do not have a reflex component or that have responses of opposite sign (see Figure 3.4C); 2) that averaging responses having slightly different onset latencies to obtain a bin average flattens out the response. In addition, the fact that the new algorithm can analyze each response individually produces at least 10 times more reflex responses within a given test session than methods based on STA, as STA requires at least 10 reflexes to be averaged to improve signal to noise ratio (see Duysens et al, 1990). As all response parameters are now conserved, data analysis can be more **specific**. For example, the new method allows seeing the relationship between response onset latency and phase of stimulation (Figure 3.4B), something that could not be studied before due to the large phase difference between the 16 bins that were used to describe the gait cycle. Finally, another important improvement with the new algorithm is the **reliability** of the reflex detection process. As no subjective input is required during processing, and as the algorithm involves statistical identification (“voting”, see below) rather than using thresholds, the consequence is that if a given data set is ran through the algorithm several times, the validated responses will always be the same. The use of the CIV for detection also provides a systematic approach that uses objective criteria for all data sets processed, thereby eliminating inter-experimenter variability, a factor that can greatly affect the size of the measured reflex responses (Lavigne et al., 1983). To the best of our knowledge, our new algorithm is currently the only method available to perform such a detailed analysis of cutaneous reflex responses during human walking.

3.6.2. Original features of the new algorithm

There are several new elements that were introduced as part of the new reflex processing algorithm presented in this study that participated to the improvement in performance described above. Probably the most important one being the *confidence index value (CIV)*.

The CIV allows individual reflex responses to be *detected* with a set level of confidence (here 90%) by using neighboring non-stimulated cycles (here 10) as a reference. When at least 9 out of 10 of the individual comparisons between STIM and NO-STIM cycles (difference signals) are either positive or negative, a reflex is detected. This “voting” approach has the advantage of not requiring a threshold

for reflex detection, and of taking into account the varying level of background activity that is present at different phases of the gait cycle. By nature, this method will self-adjust to each muscle activation profile (e.g. flexor vs. extensor), and to each participant.

The CIV is also useful for reflex response *identification*, serving to retrieve the exact onset latency, duration, and sign of detected responses. Finally, the CIV is used as a tool to reduce false positive detections (type I errors; Figure 3.3). The calculation of the CIV is so simple (see equation 1) that it can easily be used for other types of reflexes/signals and can likely help experimenters by adding statistical confidence in their measurements of small responses evoked during movement.

Another element developed as part of the new algorithm that has implications for future applications is the background EMG activity estimation based on a limited number of adjacent NO-STIM cycles. Simulations presented in Appendix I show that typical reflex responses can be identified using as little as 10 NO-STIM cycles as a reference. This feature can become very useful in situations where reflex evaluations have to be made within a short duration recording session such as for reflex evaluations in pathological gait (low subject endurance) or when background EMG is rapidly changing such as in motor adaptation studies (e.g. (Blanchette and Bouyer, 2009)). Also, individual background EMG activity estimations such as presented in Figure 3.5 (top row) allow for precise measurements of motoneuronal pool excitability near the time of reflex detection. This feature can simplify the evaluation of automatic gain control contribution to reflex response modification when comparing test sessions obtained at different levels of baseline EMG (e.g. (Bagna et al., 2010)).

Due to the large amount of data having to be presented (160 reflexes with multiple responses), this study introduced a new way of globally looking at human cutaneous reflex responses during a whole walking session: Reflex Activity Maps (RAMs). RAMs present simultaneously the 160 reflex responses, with a 1 ms resolution over the 200 ms following stimulation. They are constructed *without making any assumptions about reflex amplitude, onset latency, duration, sign, or number of responses to a single stimulation*. RAMs keep number of responses, phase and time information on the same Figure, allowing multiple comparisons to be made easily between different phases within a given test session, or across sessions or subjects. In modulation experiments, RAMs show amplitude modulations (including reversals) together with the phase at which they occur. In recruitment experiments, RAMs show the relationship between stimulus intensity and response characteristics. RAMs can also help identify when mean amplitude or area is the most appropriate variable to

describe a response (e.g. Figure 3.7). Comparing unprocessed and validated RAMs shows the real performance of the new algorithm: the identification and validation processes are extremely faithful to the raw data.

3.6.3.A re-examination of reflex modulation experiments

Classical studies of cutaneous reflex modulation during human walking have reported 3 specific responses evoked by nerve stimulation: an early (~55 ms), a middle (~80 ms) and a long (~170 ms) latency response (Yang and Stein, 1990). Looking at RAMs more carefully shows that trying to describe human cutaneous reflexes with only 3 responses is an oversimplification. The availability of this new graphical representation coupled to quantitative evaluation with the new algorithm allows reflex analysis to be pushed further. In our opinion, reflex modulation studies must therefore go beyond describing 3 particular responses and their modulations. They should also include a level of analysis where the entire evoked activity is assessed globally. RAMs provides the means of performing such a meta-analysis. Furthermore, we hypothesize that RAMs could even become a useful tool in the assessment of pathological reflex processing, by comparing the patients' RAMs to a reference RAM constructed from a bank of normal subjects.

3.6.4. Recruitment curves

Recruitment curves (experiments where the phase of stimulation was fixed, and stimulus intensity varied) are very useful in defining motor threshold as well as other parameters related to the state of the motoneuron pool and the efficacy of transmission through the pathway under study (see (Capaday, 1997) for a review). During walking, recruitment curves (also called input-output curves) have been used mainly in studies involving motor evoked potentials (e.g. (Capaday, 1997)). Due to their lower amplitude, cutaneous reflexes evoked in humans during walking have been more difficult to work with and have therefore received less attention in this protocol. This is unfortunate, as animal model experiments have shown a large change in the motor threshold and steepness of the recruitment curve after cutaneous denervation in cats (Bernard et al., 2007), suggesting that important information not directly available in phase modulation experiments can be obtained with recruitment curves. The ability of the new algorithm to extract individual reflex responses with confidence ($P \geq 0.9$) now makes it possible to study recruitment curves for cutaneous reflexes in humans. With tools such as validated RAMs where reflex responses are ordered as a function of stimulus intensity (Figure 3.7), one can now consider setting stimulation threshold based on quantitative measurements of motor threshold rather than using perceptual means such as the

radiating threshold. In addition, recruitment curves could be used to measure changes in cutaneous reflex pathways during walking associated with pathology or motor learning that cannot be addressed with modulation experiments (e.g. motor threshold, slope and peak value) and relate them to what has been reported after lesions of the nervous system in animal models (Bernard et al., 2007). This application of the new algorithm will also widen our understanding of processing in human cutaneous reflex pathways during movement.

3.6.5. Other potential applications of the new algorithm

While the new method presented here has been validated in the context of human cutaneous reflex detection and identification during walking, it is our belief that it can also be adapted to other types of reflexes (e.g. reciprocal inhibition (Kido et al., 2004), stretch reflex (Sinkjaer et al., 1996), unload reflex (Grey et al., 2004)), other types of electrophysiological signals (e.g. electroneurograms, electroencephalograms), and other preparations (e.g. animal models). The only requirement is that data be recorded for a cyclical task (e.g. walking, breathing, chewing). In addition, it should be noted that the algorithm was designed to be easily adaptable for on-line use; this is why only preceding NO-STIM cycles are used for response identification. This feature widens even more the use of our new algorithm, towards protocols that require real-time data analysis such as reflex conditioning (e.g.. (Wolpaw and Tennissen, 2001))

3.7. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank François Comeau and Stéphanie Alain for their valuable assistance during data collection. This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC). M. Bagna was supported by a Studentship from the Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ).

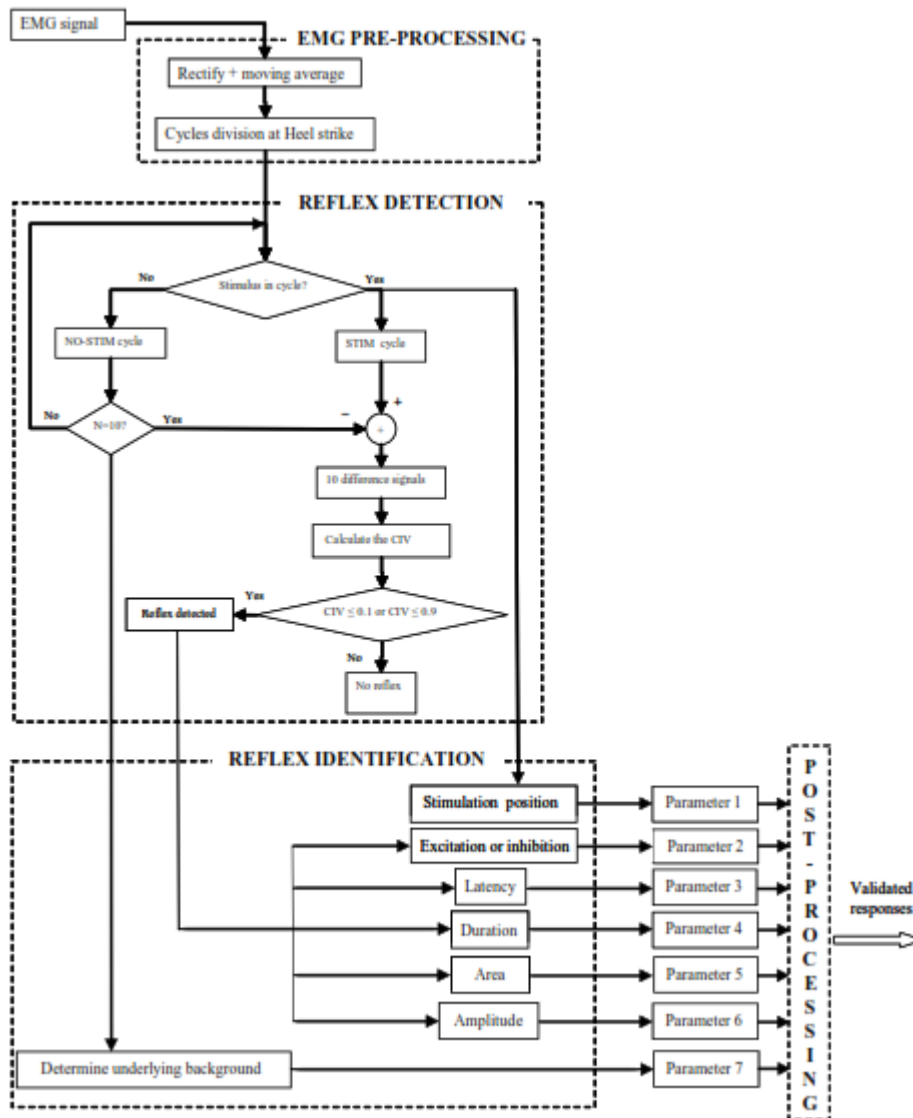


Figure 3-1: The new algorithm for cutaneous reflex processing. It is divided into 4 parts: EMG pre-processing, reflex detection, reflex identification and post-processing. The raw EMG signal is rectified and filtered before gait cycles are divided from one heel strike (HS) to the next. Stimulated (STIM) and non-stimulated (NO-STIM) cycles are then identified and tagged. Every STIM cycle is compared to the preceding 10 NO-STIM cycles. Ten 'difference signals' are constructed by subtracting each of the 10 NO-STIM from the STIM cycle. A Confidence Index Value (CIV) is calculated every millisecond, from 40 to 200 ms post-stimulation to estimate the probability of the presence of a reflex response (see text for more details). Using this CIV, individual reflex responses are identified and characterized with their respective onset latency, duration, and strength (amplitude and area) and stored in a 2 dimensional matrix. Finally, post-processing consists of removing all responses shorter than a given duration criteria (based on a false positive responses estimation procedure; see text and Fig. 3.3). Finally, background EMG activity at the time where the reflex response occurred is estimated from the average of the 10 NO-STIM cycles associated with a given STIM: the mean amplitude of this average is taken from response onset to response end.

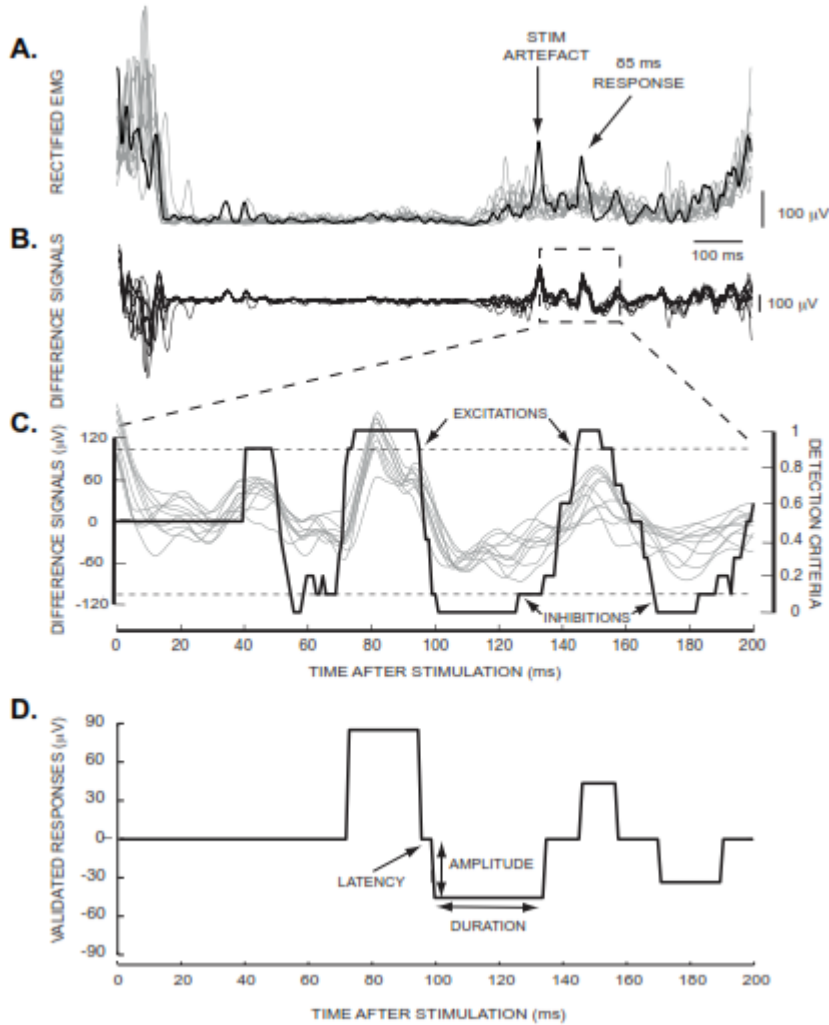


Figure 3-2: An example of cutaneous reflex analysis for one stimulated cycle evoked in the TA muscle during swing (Sural Nerve stimulation, Subject 2). A. Rectified and filtered stimulated cycle (black line), superimposed on the 10 preceding non-stimulated cycles (grey lines). The stimulus artefact and 85 ms response are shown by the arrows. B. The 10 'difference signals' constructed by subtracting each of the 10 NO-STIM from the STIM cycle. C. Expanded view of the first 200 ms after stimulation, superimposing the CIV (dark line) on top of the difference signals (grey lines). The first 40 ms after stimulation are not considered for CIV calculation to avoid contamination from the stimulus artefact. Note that the Y scales for the CIV and difference signals are different. Arrows show that the CIV value discriminates between excitations (CIV ≥ 0.9) and inhibitions (CIV ≤ 0.1). D. The validated response obtained after post-processing. It includes several excitatory and inhibitory components, each one characterized by its own onset latency, duration, and strength (amplitude and area).

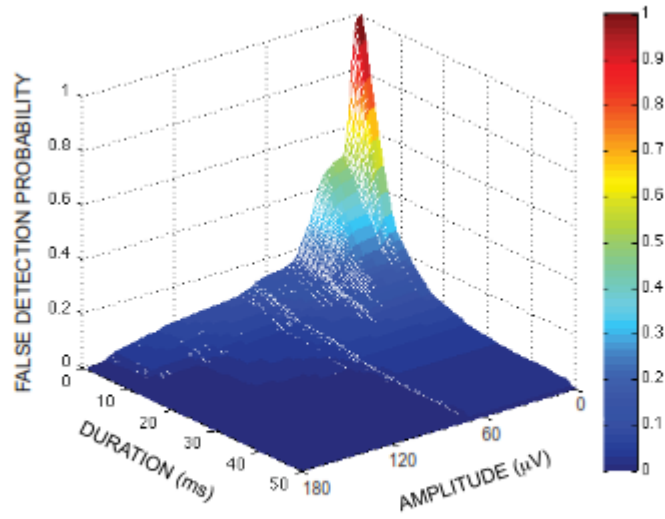


Figure 3-3: Probability distribution of false positives (type II errors) for subject S2, presented as a function of response duration and mean amplitude. Eighty-five percent of the false positives are located below 13 ms duration and 50 μV amplitude.

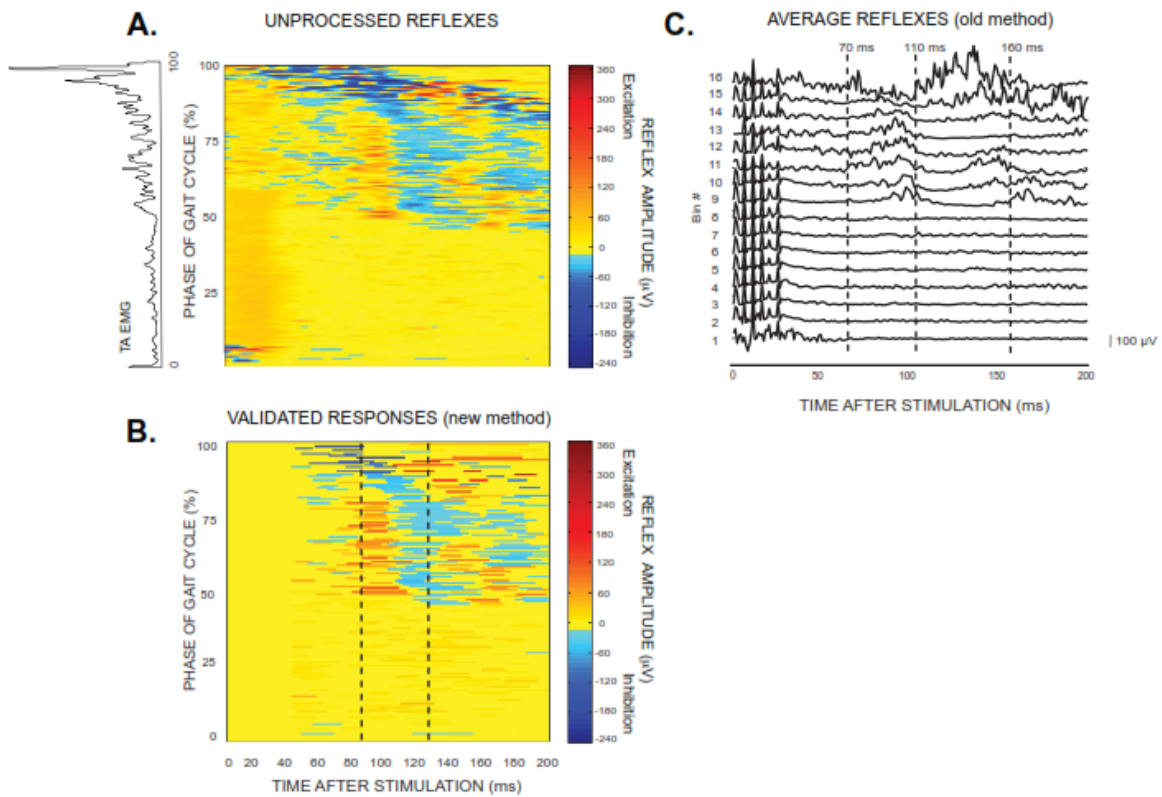


Figure 3-4: Graphical representations of the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis. Data from the same subject is presented in all panels (Subject 2); stimulation of the Sural nerve ($2.5 \times$ Radiating Threshold) and responses recorded in the TA muscle. A. Unprocessed reflexes. All evoked responses from the recording session ($n=160$) are presented, vertically ordered as a function of the phase where the stimulation occurred in the gait cycle. The color represents the amplitude of the responses B. Validated responses extracted using the new algorithm from the unprocessed reflexes presented in panel A. Amplitude, onset latency, and duration of each response component are preserved. C. The 16 average responses obtained using the classical method.

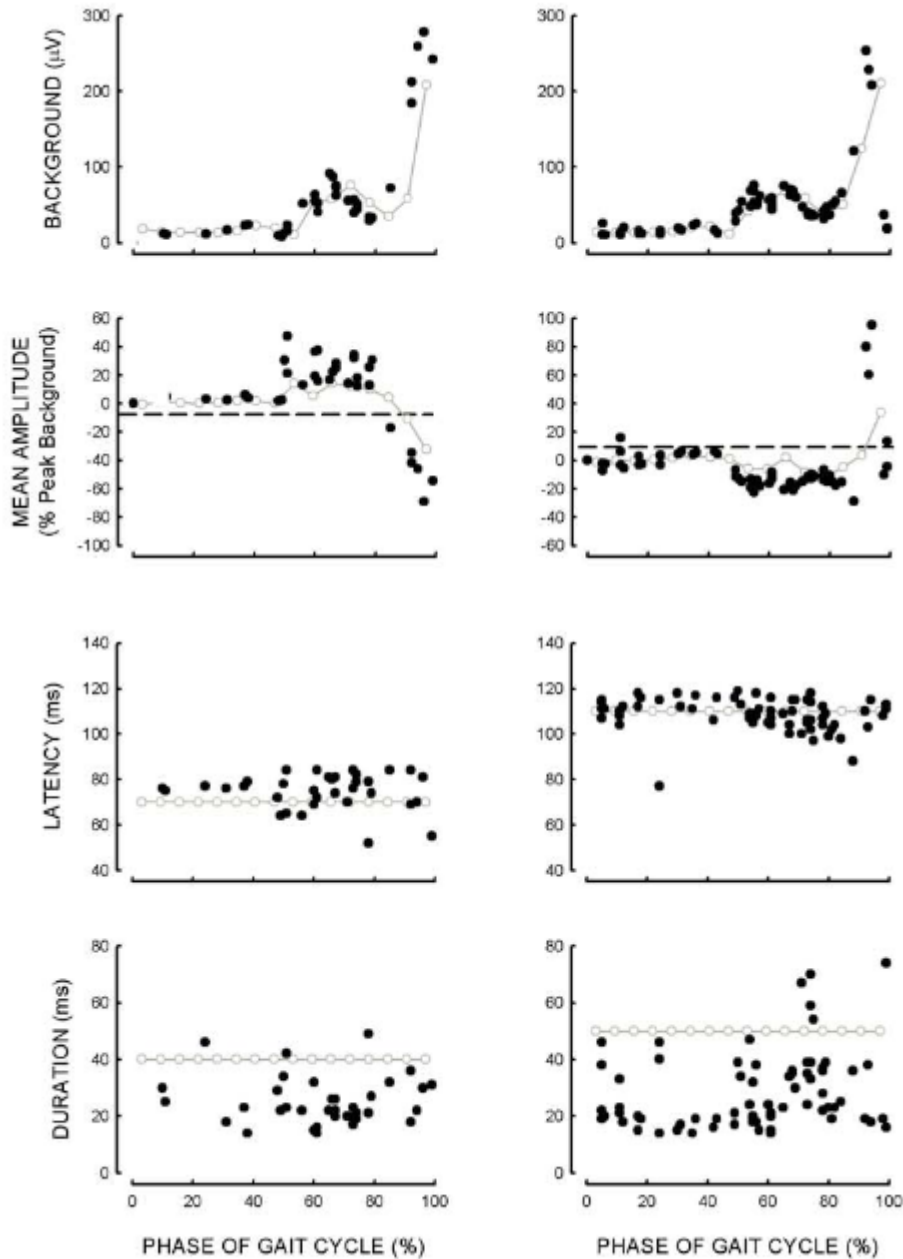


Figure 3-5: Quantitative comparison between the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis for a typical subject (S2). Estimated background EMG activity (1st row), response amplitudes (2nd row), onset latencies (3rd row), and response durations (4th row) presented as a function of phase of the gait cycle for SU nerve stimulation at 2.5 x RT during walking in subject S2. Responses were recorded in the TA muscle. Left column: A 85 ms response extracted using the new algorithm (filled circles) superimposed on a middle latency response extracted with a 70 to 110 ms fixed time window using the classical method (open circles). Right column: A 125 ms response extracted using the new algorithm (filled circles) superimposed on a response extracted with a 111-160 ms fixed time window using the classical method (open circles).

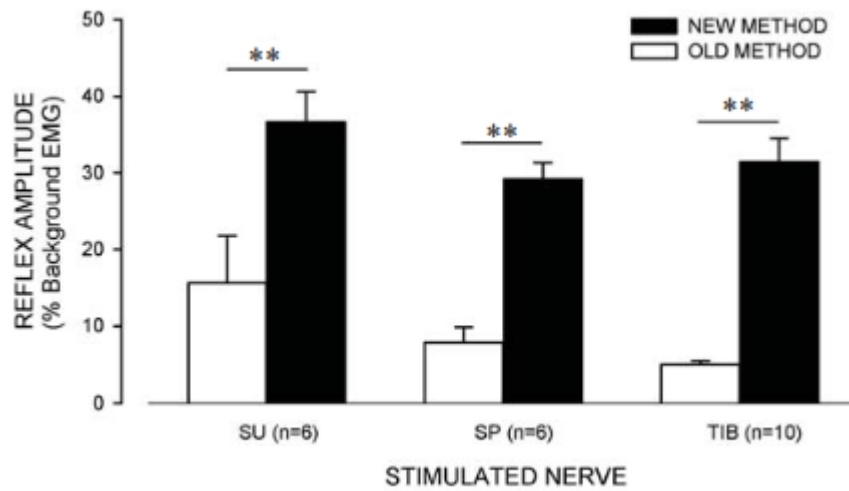


Figure 3-6: Quantitative comparison between the new and the classical methods of cutaneous reflex analysis: group results for 3 different nerves. The same data sets were processed through both algorithms, and the mean amplitude (absolute value of the response around 85 ms) of all reflexes obtained in a test session calculated for each subject. White and black columns represent the results obtained with the old and the new method, respectively. Error bars represent S.E.M. *n* represents the number of subjects in each group. **: P<0.01. Nerves stimulated: SU= Sural; SP=Superficial Peroneal; TIB=Tibial.

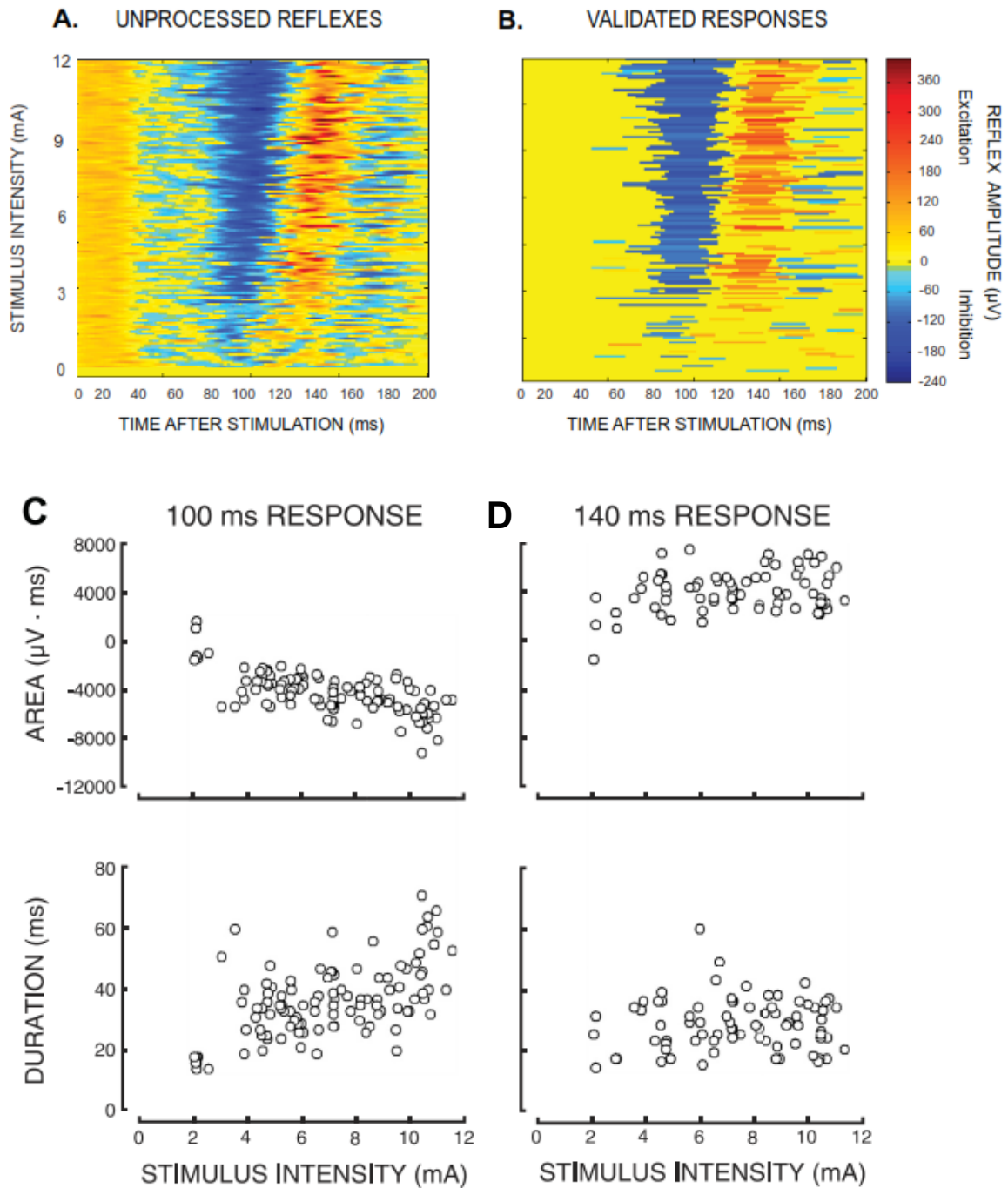


Figure 3-7: Cutaneous reflex analysis for a recruitment experiment. Stimulation of SU nerve at 90% of the gait cycle in subject S2; responses recorded in TA. A. Unprocessed reflexes ordered according to stimulus intensity. B. Validated responses, ordered the same way. C-D. Recruitment curves reconstructed from the responses occurring at 100 ms and 140 ms after stimulus onset, respectively. Area (*Top*) and duration (*Bottom*) of the validated responses

APPENDIX 1 - Sensitivity test

To calculate the minimal number of NO-STIM cycles that are necessary for a reliable reflex identification, a simulated reflex response (square wave; 50 ms duration; 90 μV amplitude; 750 ms after heel strike) was added to a randomly chosen background cycle of a normalized length of 1200 ms. This simulated reflex was inserted at a time where TA is active during the swing phase (worst case scenario).

The simulated reflex was passed through the detection algorithm with a number of associated NO-STIM cycles ranging from 2 to 50. For each situation, the detection process was run 10 times, each time using randomly chosen NO-STIM cycles. The mean error over the 10 runs was calculated for amplitude, onset latency, and duration. The results are shown in the Figure below. As can be seen from the figure 3.8, the mean error on amplitude, latency, and duration estimation stabilizes when the number of NO-STIM cycles reaches 10.

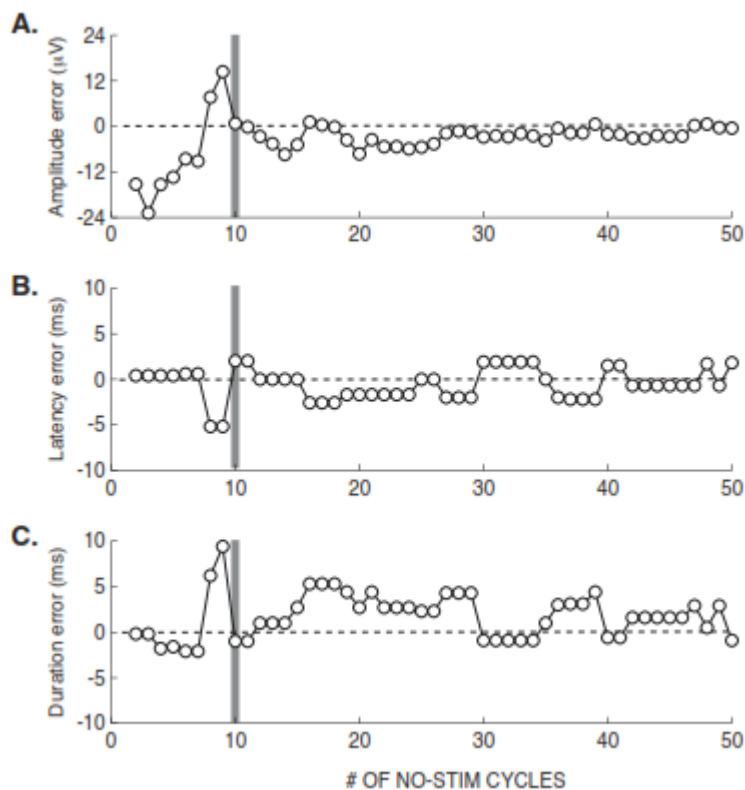


Figure 3-8 : APPENDIX: Sensitivity test. A simulated square reflex response was introduced on a NO-STIM cycle at 750 ms after heel strike (within the swing-phase TA activity; simulating a worse case scenario) and put through the reflex analysis algorithm while varying the number of NO-STIM cycles composing the background EMG activity. Mean errors on the detected amplitude (A), onset latency (B), and duration (C). It can be seen that ≥ 10 NO-STIM cycles are sufficient for reliable detection.

4. Étude II: Adaptation to an Elastic Force Field during Walking Induces Plasticity in Cutaneous Reflexes

Maimouna Bagna ¹, Carol Richards ^{1,2}, Laurent Bouyer ^{1,2}

¹ *Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRS), Université Laval, Quebec City, Canada*

² *Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec City, Canada*

Ce manuscrit sera soumis au *Journal of Neurophysiology*

4.1. RÉSUMÉ

Les protocoles impliquant l'adaptation de la marche à l'exposition à un champ de force suscitent de plus en plus d'intérêt. Plusieurs études ont démontré que, après suppression du champ de force, des effets persistants peuvent être observés. Ceux-ci peuvent être attribués à une réorganisation du système central de contrôle de la marche. Cependant, les mécanismes sous-jacents à cette réorganisation restent encore inconnus. Dans cette étude, les réflexes cutanés ont été comparés avant et après l'adaptation de la marche à un champ de force qui résiste la flexion dorsale. Les réflexes ont été évoqués chez 10 sujets sains en stimulant le nerf tibial et en enregistrant dans les muscles Tibialis Antérieur (TA) et le soléaire (SOL). Nos résultats ont montré que l'adaptation au champ de force était spécifique au muscle TA, et située principalement entre 50 et 80% du cycle de marche. Les réponses facilitatrices et suppressives ont ensuite été analysées séparément. Les changements observés étaient une augmentation des deux types de réponses réflexes à toutes les latences. Les changements à courte latence étaient égaux ou supérieurs à l'augmentation de l'activité musculaire (EMG) de base, alors qu'aux moyennes et longues latences les changements dans les réponses réflexes étaient plus faibles que les changements de l'EMG de base. Ces résultats suggèrent que lors de l'adaptation de la marche à un champ de force, des mécanismes à la fois motoneuronaux et pré-motoneuronaux sont impliqués. L'analyse de la latence des réflexes montre que les mécanismes spinaux ont tendance à s'appuyer sur ou même augmenter le contrôle automatique du gain, alors que les mécanismes pré-motoneuronaux ont tendance à réguler à la baisse les réflexes à longue latence, potentiellement dans le but d'éviter les réactions indésirables / inadaptées aux réponses mécaniques correctives.

4.2. ABSTRACT

Gait adaptation to treadmill walking during force field (FF) exposure has gained interest over the last decade. Several studies have shown that after removing the FF, after-effects persisted. These can be attributed to a recalibration of the locomotor control system. However, the mechanisms underlying this reorganization are still unknown. In the present study, cutaneous reflexes were evoked before and after gait adaptation to exposure to a FF that resisted dorsiflexion. Reflexes were evoked in 10 healthy subjects by stimulating the tibial nerve, and recording in the TA and SOL muscles. Our results showed that FF adaptation was specific to the TA muscle, between 50 and 80% of the gait cycle. Facilitation and suppressive reflex responses were analysed separately. The observed changes were an increase in all reflex response types at all latencies. The changes at short latencies were equal or greater to the change in background activity, whereas at middle and long latencies the changes in reflex responses were lower than the changes in background EMG. These results suggest that when adapting to a force field during walking, both motoneural and premotoneuronal mechanisms are involved. Reflex latency analysis shows that spinal mechanisms tend to rely or even increase automatic gain control, while premotoneuronal mechanisms tend to down-regulate longer-loop cutaneous reflexes. It is therefore proposed that the supraspinal system downregulates longer-loop reflexes, potentially to avoid unwanted/maladapted stumbling corrective reactions.

4.3. INTRODUCTION

Over the last decade, several studies have shown that while locomotor control is normally mostly automatic, manipulating the walking environment using force fields (Barthelemy et al., 2012;Blanchette and Bouyer, 2009;Blanchette et al., 2011;Bouyer, 2011;Lam et al., 2006) or split-belt treadmills (Bastian, 2008;Choi and Bastian, 2007;Choi et al., 2009;Malone et al., 2011;Reisman et al., 2007;Reisman et al., 2010) can produce modifications in the muscle activation pattern that outlasts exposure to the modified environment. These after-effects, typically lasting several tens (20-40) of strides, are an indication that walking in the perturbed environment caused implicit modifications in the motor commands.

Although these studies have indirectly provided evidence of adaptive plasticity of the locomotor control system during human walking in a FF environment, mechanisms underlying this adaptation remain unknown.

Recent studies have begun to elucidate the neurophysiological mechanisms underlying FF adaptation. Barthelemy et al (2012) studied the contribution of the corticospinal tract to force field adaptation during human gait. In their protocol, they used assistive and resistive force fields, to either assist or resist ankle dorsiflexion. They measured changes in motor evoked potentials (MEPs) in the tibialis anterior muscle (TA) in the swing phase, before, during, and after force field adaptation. They found that TA MEPs were reduced during adaptation to the assistive FF but increased when adapting to the resistive FF. These changes could not simply be explained by changes in background TA EMG activity alone and were specific to walking as they did not transfer to static dorsiflexion muscle contractions (Barthelemy et al., 2012). These findings lead the authors to conclude that corticospinal mechanisms were involved in the FF adaptation of human walking. Similar results were reported by Lam using a resistance to hip and knee movements (Zabukovec et al., 2013). Together, these studies suggest that the corticospinal tract contributes to force field adaptation. Other pathways, however, likely also contribute given the interaction of supraspinal, spinal and sensory afferents in the control of walking (for a review see (Rossignol et al., 2006)). .

In the present study, we proposed using changes in cutaneous reflexes as a tool to probe such other potential neural mechanisms. During human walking, cutaneous reflexes can be evoked reliably in a non-invasive manner by transcutaneous electrical nerve stimulation and recorded using surface electromyography (e.g. (Duysens et al., 1992;Yang and Stein, 1990). Cutaneous reflex responses

result from the activation of several parallel polysynaptic neuronal pathways influenced by spinal and supraspinal structures (Burke, 1999;Duysens et al., 2004;Yang and Stein, 1990;Zehr and Stein, 1999;Burke, 1999). This is particularly so during locomotion, wherein cutaneous reflexes are influenced not only by descending pathways from the cortex (Christensen et al., 1999;Christensen et al., 2000;Nielsen et al., 1997), but also by connections with the central pattern generators involved in the control of walking (De Serres et al., 1995;Duysens et al., 2002;Duysens et al., 2004;Zehr, 2005) . When evoked during walking, cutaneous reflexes can usually be recognized as 3 distinct responses superimposed on the locomotor EMG: a first response detected at short latency after stimulation (P1, with an onset latency around 50 ms), that is thought to be purely spinal (Baken et al., 2005), a middle latency response (P2, around 80 ms) that could be spinal (Duysens et al., 2004;Yang and Stein, 1990) with a rapid transcortical component (Nielsen et al., 1997) and a long latency responses (P3, around 120 ms), suggested to be transcortical (Bastiaanse et al., 2006;Christensen et al., 1999;Pijnappels et al., 1998;Yang and Stein, 1990;Zehr and Stein, 1999).

We hypothesise that studying the changes in the cutaneous reflex responses at these three latencies when participants walk with or without a force field that resists ankle dorsiflexion can help to shed some light on the mechanisms underlying force field adaptation.

However, as force field adaptation is known to cause changes in the muscle activation pattern, care has to be taken to separately account for reflex changes occurring at the motoneuronal and pre-motoneuronal levels. Indeed, changes at the motoneuronal level (resulting from a simple increase in muscle contraction) can lead to bigger reflex responses, without the need for any central reorganization. This phenomenon is called automatic gain control (AGC; (Matthews, 1986)). In addition, Pruszynski et al. (2009), using reflexes evoked in a planar movement of the arm with increasing or decreasing loads, have shown that AGC in reflex responses is not constant; it is high at short latency, and then rapidly declines as the latency increases (Pruszynski et al., 2009).

Evaluating the temporal contribution of AGC during locomotion, with background EMG, latencies and amplitudes of the reflexes and even the sign of the reflexes as variable parameters, is a more complicated task. Nevertheless, with the development of new methods for single reflex analysis (Bagna and Bouyer, 2011), the goal might be attainable.

4.4. METHODS

4.4.1. Subjects

Experiments were performed on 10 healthy subjects (5 males, mean age = 28 ± 4.5 years) without reported neurological or major orthopaedic history. Each subject came to the laboratory once for dynamometric evaluation and reflex testing (see below). All subjects gave informed consent to the protocol, which had been previously approved by the institutional ethics committee.

4.4.2. General Protocol

In all subjects, reflex testing was performed during treadmill walking at 4 km/h. The baseline evaluation consisted of 10 minutes of walking with reflex testing (CTRL state). In 4 of the 10 subjects, the baseline evaluation was repeated 3 times to control for inter-test variability. Participants then walked 15 min with a force field applied to the ankle (see below). During the first 5 min, no stimulation was applied to let subjects adapt to the force field and reach a steady state locomotor pattern. Reflexes were then tested over the next 10 minutes (FF state). In the presence of the force field, instructions to the subject were to: "Resist the force in order to walk normally". Total walking time for each session varied from 20 to 40 minutes depending on the number of CTRL sessions. For each subject, the tibial nerve was stimulated at ankle level and surface EMG was recorded from the Tibialis Anterior (TA) and soleus (SOL) muscles.

4.4.3. Force application

An external force increasing ankle plantarflexion was produced by exercise elastic tubing (Theraband™, Akron, Ohio, gray color) attached to a modified ankle-foot orthosis (AFO), installed on the right foot. The elastic was attached between the calf band of the AFO and the back of the shoe. The torque generated by the elastic tubing was calibrated to 30% of the average peak dorsiflexion torque (range 3.7-4.5 N*m) measured for each subject by means of a Biodex System 3 dynamometer with the ankle dorsiflexed about 90 degrees. This level of resistance to dorsiflexion required a moderate effort to be compensated (2-3 on a 0-10 point modified Borg perceived exertion scale (Borg, 1982).

As the ankle angle varied during the gait cycle, so did the applied force ($\pm 22\%$). However, this variation was systematic and predictable, hence the use of the term 'force field'. In addition, it must be noted that the stiff lateral stems of the AFO absorbed the linear forces generated by the elastic tubing. Therefore, participants experienced torque changes without joint compression. While the

elastic torque was applied on the ankle throughout the gait cycle, perturbations mainly occurred during the swing phase of walking, i.e. when the foot was in the air (Barthelemy et al., 2012).

4.4.4.Data Acquisition

Relative ankle angle was recorded using an electrogoniometer (Noraxon, Scottsdale, Arizona) attached to the AFO. Custom-made footswitches were used to determine the time of right heel contact. Electromyographic (EMG) activity was recorded from the Tibialis Anterior (TA, ankle dorsiflexor) and the Soleus (Sol, ankle plantarflexor) muscles using disposable surface EMG electrodes (Kendall meditrace 200, Ag/AgCl) placed in a bipolar configuration, 2 cm apart, just below the AFO calf band. EMG activity was band-pass filtered at 10-500 Hz and amplified 4000 times prior to acquisition. Recordings were made continuously during all walking sequences. Each signal was digitized on-line by custom data acquisition software at 1000 samples/sec.

4.4.5.Nerve stimulation

Reflex testing was performed only during steady-state periods of walking (see general protocol). Small ECG electrodes were used for transcutaneous stimulation of the tibial nerve (Kendall SOFT-E H69P), placed over the flexor hallucis longus muscle, dorsal to the medial malleolus. Overall, for each stimulation period, 160 stimuli (6 pulses, 1 ms width, 200 Hz, every 2-3 strides at 2.5-3 x Radiating Threshold, constant current) were delivered pseudo-randomly over the gait cycle. The stimulus was produced using a Grass S88 stimulator (Grass Medical Instruments, Quincy, Mass. USA), an isolation box (SIU5) and a constant current unit (CCU1).

4.4.6.Data Analysis

4.4.6.1. Adaptation to the force field

EMG analysis was performed off-line using custom software developed in Matlab (Mathworks, Natick, MA). The EMG records were digitally filtered at 10-450 Hz using an 8th order Butterworth filter with zero delay (double-pass). Strides were selected from one right heel strike to the next based on footswitch signals. Gait cycles were then assigned to a stimulated (STIM) or a non-stimulated (NO-STIM) group if they fitted the following criteria: if they contained a stimulation or were preceded by a cycle where a stimulus occurred within the last 200 ms, they were assigned to the STIM group; otherwise, they were assigned to the NO-STIM group. To estimate the overall TA and SOL EMG activity along with the ankle angle variation, for each subject and each walking condition, NO-STIM

cycles were time normalized and averaged. To compare across subjects and conditions, CTRL and FF EMG records were amplitude normalized to the peak CTRL locomotor EMG.

4.4.6.2. Reflex identification

Reflex responses were detected and quantified offline, using a recently developed method (Bagna and Bouyer, 2011). Briefly, to discriminate reflex responses from the intra- and inter-cycle variability in the locomotor EMG, each stimulated (STIM) cycle was compared with 10 adjacent non-stimulated (NO-STIM) cycles, seeking for consistent differences. In the first 200 ms after stimulation, reflex responses were detected when 9 or more of these comparisons were congruent. Reflex detection started 40 ms after stimulus onset to avoid stimulation artefact and stopped 200 ms after stimulation (Yang and Stein, 1990). A criterion based on the duration of the responses was used to discard false detections and to validate the detected responses (Bagna and Bouyer, 2011). Validated reflex responses were then identified with their individual latency, duration and amplitude and classified as either suppressive or an facilitation, depending on their sign. In addition, the 'underlying background', defined as the EMG activity at the moment the reflex occurred, was also calculated. It was estimated from the mean of the 10 NO-STIM cycles preceding the STIM cycle over the same time window as the detected reflex responses.

Reflex activity maps (RAMs) compiling all responses evoked within an entire stimulation period were then created, separately for CTRL and FF conditions, for each subject (See Figure 4.2). These maps present all validated responses ordered according to the gait phase where stimulation occurred (vertical axis, percent of gait cycle) and span from 40 to 200 ms after stimulation (horizontal axis, latency of the reflex). (More details can be found in (Bagna and Bouyer, 2011)).

4.4.6.3. Reflex responses and background EMG quantification

For each stimulated cycle, suppressive and facilitation responses were separately averaged over the 40 to 200 ms detection interval. These averages were amplitude normalized to the peak CTRL reflex value for facilitation and suppression, respectively, and plotted as a function of stimulus position in the gait cycle. The same operations were performed for the underlying background data (See Figure 4.3A and B).

After identifying a region of interest (ROI) within the gait cycle (see results), responses were averaged within this ROI. Suppressive and facilitation responses were processed separately and normalized to their corresponding peak CTRL value. Resulting values were plotted as a function of

latency. The same operations were performed on the underlying background data (see figure 4.3C and D).

To estimate the increase/reduction in reflex responses and background activity associated with walking in the force field environment, *time varying reflex and background ratios* were calculated. Values obtained in the force field state were divided by their respective CTRL values using the following formula:

For each latency k (ms) and each measure M (M being facilitation, suppression or background), the ratio $R_M(k)$ was:

$$R_M(k) = \left(\frac{M_{FF}(k)}{M_{CTRL}(k)} \right) \times 100\% \quad (1)$$

The result of this operation always yields a positive ratio (see figure 4.4 A, B and C). A value above 100 represented an increase in the measure and a value below 100 a decrease; $R_M(k) = 100$ meant no change.

To measure AGC, a *time varying gain scaling* (Pruszynski et al., 2009) was also computed. This gain was estimated by dividing $R_M(k)$ calculated for facilitations and suppressions by $R_M(k)$ calculated for the underlying background. If AGC explained all changes in the experiment, the time varying gain should always have a value near 1 at all latencies (Matthews, 1986).

4.4.7. Statistics

Paired t-test, Mann-Whitney Rank Sum test or Wilcoxon Signed Rank test were used to compare background and reflex changes before and during FF exposure, and gains in facilitations and suppressions. Significance level for all tests was set at $p = 0.05$.

4.5. RESULTS

4.5.1. Adaptation to the force field

The effects of force field exposure on ankle kinematics are summarized in Figure 4.1A for a typical subject. Initially, maximal plantar flexion during swing was increased (Figure. 4.1A dashed line). This effect is consistent with the action of the force field on the ankle (Barthelemy et al., 2012). Over the first 5 min. of force field exposure, subjects adapted, as shown by a gradual reduction in peak ankle plantarflexion, stabilizing at $1.9^\circ \pm 0.3^\circ$ more plantarflexed than control (Figure 4.1A, thick line). This

position was then maintained for the rest of the force field exposure (Steady-state, FF). Figures 4.1B and C show the group means for the locomotor EMG activity (n=10) of the SOL and TA muscles respectively.

Figure 4.1C clearly shows an increase in TA activity during 50 to 100% of the gait cycle in the presence of the force field. These results are consistent with previous work (Barthelemy et al., 2012). Group mean TA swing phase activity (50-100% of gait cycle) for CTRL ($26.7\% \pm 5\%$ of peak CTRL) and FF ($33\% \pm 5\%$ of peak CTRL) are presented in figure 4.1D. There was a significant increase of 23.6 % in TA locomotor EMG activity in the presence of the FF (Wilcoxon Signed rank test, $P < 0.001$). Also, as expected from (Barthelemy et al., 2012), no changes were observed in the SOL EMG activity (Figure 4.1B), showing that the selected force field had no effect on this muscle. The latter will therefore no longer be considered and analysis will focus on TA activity.

Insert figure 4.1 near here

4.5.2. Reflex RAMs

Reflex activity maps (RAMs) summarizing the reflex responses obtained from Subject 2 over a stimulation period are presented in Figure 4.2 (CTRL in A and FF in B). These maps show that force field adaptation did not modify phase reversal of the reflexes (switch from facilitation to suppression at the same latency). A quantitative example is presented in Figure 4.2C, where the CTRL and FF middle latency responses (responses around 90 ms post-stimulation) are averaged for all 10 subjects and superimposed. Consistent reversal of the responses is clearly observed, and made it possible to analyse facilitation and suppressive responses separately (See below).

Insert figure 4.2 near here

4.5.3. Defining a region of interest

For each stimulation, means of facilitation and suppressive responses over 40 to 200 ms are reported in figure 4.3A for one subject. This figure can be seen as a contraction of the RAM along the vertical axis, processing facilitations and suppressions separately. The same operations applied to the underlying background activity are reported in figure 4.3B. When considering both figures (4.3A and 4.3B), it can be seen that reflex responses from the 3 CTRL sessions were very similar, while the FF session was distinctively different during the last 50% of the gait cycle. These results highlight three important points: 1) reflexes evoked during controlled walking are very consistent from one session to the next (good inter-test reliability); 2) reflexes evoked during FF are different from those occurring

during normal (CTRL) walking; 3) effects of FF adaptation on reflex responses and underlying background are largely localised between 50 and 80% of the gait cycle: the remainder of the analysis will therefore focus on this region of interest (ROI).

Insert Figure 4.3 near here

4.5.4. Latency dependent changes between 50 and 80% of the gait cycle

Facilitation and suppressive reflex responses within 50 and 80% of the gait cycle were separately averaged and reported as a function of time post stimulation in figure 4.3C. This figure can be seen as a contraction of a ROI of the RAM along the horizontal axis, considering facilitations and suppressions separately. The same operation was performed for the underlying background and reported in figure 4.3D. Here again, few changes were observed between CTRL sessions but a large difference was seen with the FF condition.

4.5.5. Time varying reflex and background ratios

As both background activity and reflex amplitude were modified by FF adaptation, the next step was to quantify the amount of change in both measures. This was done by taking the ratio of FF over CTRL responses, at each point in time (see Equation (1) in methods). Figure 4.4A presents the data for one subject. Facilitation and suppression curves do not consistently overlap, but rather fluctuate around each other, both staying lower than the underlying background curve. These results suggest that facilitation and suppressive changes differ from each other and from background changes and that changes in TA background activity were larger than the change in reflex.

For each subject, the mean ratio (R_M) was calculated separately for facilitations, suppressions and background activity and reported in Figure 4.4B, evaluating the net changes in each measure. . To show the effective change, 100% was removed from the R_M values.

Figure 4.4B shows that all subjects increased their background EMG activity (range: 2.23% - 80.0%; mean= 47.6% \pm 21.1). This increase was on average higher than increases in reflex responses. Facilitation responses were increased 0.74 % to 116.8 % (mean = 33.0% \pm 27.4), except for subject 4, with a slight decrease of 4.7 %. Note that this subject also reported the smallest increase in TA background activity (2.23%). Increases in suppression were seen in all subjects (range 3.2% to 145.0%; mean= 30.2% \pm 33.6%), except for subject 9 when compared to his CTRL#1 walking. In this subject, a slight decrease of 8.7% was observed in the suppression.

Insert figure 4.4 near here

4.5.6. Time varying gain scaling (TVGS)

To compare the changes in reflexes to those in underlying background activity and hence to measure the contribution of AGC to FF adaptation, time varying facilitation and suppression ratios were then divided by time varying background ratios. If automatic gain control was to apply, changes in reflex ratios would be equal to changes in background ratios, and responses in Figure 4.5 should all be very close to 1 (Matthews, 1986; Pruszynski et al., 2009). Figure 4.5 A-C, show the results for one subject with 3 CTRL periods (subject 9), using the same layout as Figure 4.3. Note the consistency across CTRL sessions, showing here again the reliability of the measure. Taken together, these plots show that for this subject, suppressive responses (filled circles) are far below the unity line (i.e. below AGC) for the first 100 ms. Facilitation responses (open circles) in this subject are larger than suppressive responses, yet both stayed below AGC level. Figure 4.5D shows the group average for this measure. Three distinctive modulations of reflex gain can be depicted. A short latency gain (SLG), spanning from 40 to 70 ms, where suppression gains are below AGC and facilitation gains are above AGC. A middle latency gain (MLG, 70-120 ms), where the suppressions remain below AGC while facilitations approach the unity line. A long latency gain (LLG, 120-180 ms), where both facilitation and suppression gains are below AGC. Interestingly, these reflex latencies are consistent with the classical short, middle and long latency reflex responses previously reported during walking ((Baken et al., 2005)P1, P2, P3 (Yang and Stein, 1990)).

Insert figure 4.5 near here

4.5.7. Modulation of the TVGS

Calculation of the group time varying gain allowed for the separation of three responses based on latency (see above). Group averages at these 3 latencies were then calculated separately for facilitation and suppression gains. Mean values over the short (SLG), middle (MLG) and long (LLG) latencies of the group facilitation and suppressive gains are presented in figure 4.6., The gain of the facilitation responses varied from 1.04 ± 0.05 for SLG, to 0.98 ± 0.04 in MLG and 0.85 ± 0.05 for LLG. One can see the progressive decrease in the gain from shorter to longer latencies. These results are consistent with previous studies reported by Pruszynski et al (2008) in the arm. The difference in the facilitation short latency gain (SLG) was statistically significant from the long latency gain (LLG) (**paired t-test**, $t = 2.42$, $P = 0.042$) but not with the middle latency gain (MLG) (**Wilcoxon**

Signed Rank Test, $P = 0.359$). Furthermore, only LLG for facilitation responses was significantly below AGC (**Mann-Whitney Rank Sum Test**, $P = 0.038$). The gains for the suppressions, on the other hand, varied from 0.93 ± 0.05 for SLG, to 0.963 ± 0.02 for MLG and 0.94 ± 0.03 for LLG. Although these gains were not statistically different from each other, MLG and LLG were significantly lower than AGC (**Mann-Whitney Rank Sum Test**, $P = 0.003$ for MLG and $P = 0.038$ for LLG).

Insert figure 4.6 near here

4.6. DISCUSSION

The goal of the present study was to use changes in cutaneous reflex responses to probe some of the neural pathways potentially involved in force field adaptation during walking. Cutaneous reflexes were evoked before and during a force perturbation that resisted ankle dorsiflexion during swing (Barthelemy et al., 2012), and modifications in reflex responses were used to infer potential sites of neural reorganization. Our results suggest that when adapting to a force field during walking, both motoneural and premotoneuronal reorganizations occur. Using a reflex latency analysis method originally described to assess the contribution of AGC (i.e. motoneuronal) vs premotoneuronal mechanisms to the generation of stretch reflexes in the arm (Pruszynski et al., 2009), our results show that during force field adaptation, spinal mechanisms tend to rely on or even tend to increase AGC, while premotoneuronal mechanisms tend to down-regulate longer-loop/transcortical cutaneous reflexes. Combining these results with those of Barthelemy et al (2012), it is therefore proposed that once adapted to the force field, the neural control of walking is reorganized the following way: corticospinal drive is upregulated (Barthelemy et al., 2012) and at the same time long-loop reflexes are downregulated. We suggest that this reorganization may allow for more voluntary control (through increased corticospinal drive) and at the same time for a reduction in spinal reflexes. The reason for a reduction in spinal reflexes is not obvious, but could be associated with avoiding a functionally unwanted/maladapted stumbling corrective reactions that would normally result from activation of such pathways. Indeed, if stumbling were to occur in the presence of the force field, one might speculate that the functionally appropriate response might differ from the one required during baseline walking.

4.6.1. Methodological considerations

Unlike the classical studies that described phase dependent modulation in cutaneous reflexes evoked during various conditions such as walking (Duysens et al., 1992; Yang and Stein, 1990; Zehr

et al., 1997), standing (Duysens et al., 1993;Komiyama et al., 2000) , cycling (Sakamoto et al., 2006;Zehr et al., 2001;Zehr et al., 2009), running (Duysens et al., 1993), or sitting (Nakajima et al., 2006;Zehr and Stein, 1999), we were interested here in the use of cutaneous reflexes as a tool to probe neural mechanisms involved in gait adaptation.

As force field adaptation produced modifications in reflex response amplitude but did not affect phase-dependent modulation of cutaneous reflexes (Figure 4.2C), we needed to use techniques that could optimally extract changes in amplitudes. A key choice that we made early on was to analyse facilitation and suppressive responses separately. There are several reasons for this choice: 1) human cutaneous reflexes are very small in amplitude (Duysens et al., 1992;Yang and Stein, 1990;Zehr et al., 1997), and therefore simple averaging of responses, having facilitation and suppressive components peaking at slightly different latencies, could blur some amplitude changes; 2) there is evidence that even at very similar latencies, facilitation and suppressive responses are not always mediated by the same pathways (Bagna and Bouyer, 2011;De Serres et al., 1995). It is therefore possible that they might be differentially affected during force field adaptation (indeed, see Figure 4.6) and therefore, combining these two response types (e.g. by taking the absolute value) could cancel out response changes or point towards different adaptive mechanisms. 3) The third reason is to take into account the well-known inter-subject variability in cutaneous reflexes (Bagna and Bouyer, 2011;Haridas et al., 2005;Hoogkamer et al., 2012;Yang and Stein, 1990;Zehr et al., 1997) when looking at group effects.

We are well aware that surface EMG has limitations when trying to quantify suppressive responses, specifically when background EMG is low and response saturation is possible. We did our best to look for such situations, and considered this phenomenon in our interpretations (see below). Technically, to separately quantify facilitation and suppressive cutaneous reflex responses, we used a recently developed analysis method that separately detects individual reflex responses during human walking (Bagna and Bouyer, 2011).

4.6.2.Modifications in Background EMG and Cutaneous reflexes during force field adaptation are amplitude, phase and sign specific

Our results show that background TA EMG activity increased during walking in a resistive FF environment, compared to CTRL walking. Rapid changes in cutaneous reflexes associated with FF adaptation were also observed between 50 and 80% of the gait cycle, where the force field has the

largest effect on the walking pattern, and hence where motor control modifications are most functionally relevant to dorsiflex the foot at swing initiation, and to clear the foot in mid swing.

Cutaneous reflexes showed changes in amplitude but not in phase modulation (c.f. RAMs in figure 4.2). Using RAMs, we analysed separately changes in suppressive and facilitation responses (see above). These two response types were differentially modified by FF adaptation (Figures 4.4-4.5). The results showed large differential modulation of these two types of responses both at a single subject level and in the group data, with consistent modulation from session to session in individual subjects (figure 4.5). Furthermore, it was also shown that this differential modulation differs at various reflex response latencies. Short, middle and long latency gains showed different facilitation and suppressive response amplitudes (Figure 4.6). These results strengthen the fact that facilitation and suppressive responses are not necessarily tied into the same circuitry.

4.6.3. Automatic gain control did not explain all the changes observed

As the changes in reflex amplitude occurred concurrently with changes in TA locomotor EMG, it could be argued that automatic gain control (Matthews, 1986) is the mechanism behind this rapid reflex adaptation. By calculating the time varying gain scaling for facilitation and suppressive responses, results from this study clearly show that changes in reflex amplitude cannot fully be explained by changes in background activity.

A progressive decrease in gain scaling from short (40-70 ms) to middle (70-120 ms) and long (120-180) latency gains in the facilitation responses was observed. These findings are compatible with the work of Pruszynski et al (2009) for the stretch reflex in the arm. They demonstrated a progressive decrease in gain scaling from short to long latency during static holds of the upper limb at different background EMG levels (Pruszynski et al., 2009). It is of great interest to observe that similar mechanisms are now reported for cutaneous reflexes evoked in the lower limb while walking in a force field. Suppressive responses were also below AGC, with a significant difference from AGC in the middle and long latency responses. Contrary to facilitation responses however, suppressive responses did not show a progressive decrease in the gain scaling. This difference will be discussed in the next sections.

It has been proposed that during walking, the middle latency cutaneous reflex response is mediated by spinal and transcortical pathways (Nielsen et al., 1997) and that long latency reflexes might also

include a transcortical component (Yang and Stein, 1990). Pruszynski et al (2009) suggested a number of different mechanisms to explain the reflex gain scaling reduction, including reduction in efficacy of descending motor commands at the level of the motoneural pool, reduction of descending commands in proportion to background, and a circumvention of the size-principle by longer-latency motor commands. The progressive decrease observed was attributed to independent neural circuits that mediate each response (SLR, MLR, LLR and VOL) and progressively correct for the gain scaling (Pruszynski et al., 2009). In another study, Pruszynski et al (2011) have shown that the long latency reflex was mediated by two components that overlap in time. They concluded therefore that the spinal component would show gain scaling whereas the supra-spinal component could correct for gain scaling (Pruszynski et al., 2011). We suggest that an up-regulation of a neural control mechanism similar to what Pruszynski and collaborators proposed could explain part of the changes in the facilitation responses observed after FF adaptation in our study.

Regarding the suppressive responses, the lower variations in these responses could be attributed to EMG saturation. This phenomenon happens when the background EMG activity is low, and therefore total EMG reduction caused by an evoked suppressive response cannot be fully expressed. Suppressive response gain is therefore limited by the available background activity (Duysens et al., 1992). Consequently, even though TA EMG burst amplitude was increased by the task of walking in the FF environment, if this increase is lower than the actual changes in suppressive responses, the complete effect cannot be captured. This is a major limitation of surface EMG in assessing suppressive responses (Rogasch et al., 2012) that persists even when using the new single response data processing algorithm (Bagna and Bouyer, 2011). However, separating facilitations and suppressions prevented this saturation from affecting the facilitation responses, and this is an advantage of our method.

In conclusion, while a contribution from automatic gain control cannot be ruled out, it cannot account for all the changes in reflex responses reported in this study. Conversely, premotoneural down-regulation of the reflexes potentially governed by supra-spinal motor commands could intervene in facilitation reflex response changes following FF adaptation. In the case of suppressive responses, as no significant difference was seen across latencies, saturation is a likely one of the explanations.

4.6.4. Potential sites of modification

In the present study, we hypothesized that analysing changes in cutaneous reflexes during force field adaptation would help unravel sites in the CNS where adaptive plasticity of the neural control of human walking occurred. Figure 4.5D is a summary of the data presented in this paper: each point represents the average change in cutaneous reflex response (tibial nerve stimulation) of 10 subjects, taking into account AGC, for the first 200 ms after stimulation. If force field adaptation would not have changed cutaneous reflexes, all data points on this plot would be aligned to the 1.0 line (AGC line). Instead, departures from this line can easily be seen. Furthermore, such departures are not random, but are organized around 4 peaks: 55, 95, 120, and 170 ms. Most interestingly, these peaks are at similar latencies to the 3 cutaneous reflex responses seen during walking (Yang and Stein, 1990), known to transit through different neural structures (spinal vs transcortical). Finally, these departures from 1.0 are not all identical, suggesting that sensorimotor processing is modified differently in these neural structures.

While much remains to be learned about the actual neural sites contributing to the generation of the longer latency components of cutaneous reflexes, Peterson and collaborators have shown that the motor cortex contributes to the middle latency response (Christensen et al., 2000; Petersen et al., 1998). Therefore, our results tend to suggest that the motor cortex is part of the adaptive circuitry. This finding is compatible with the work of (Barthelemy et al., 2012) and (Zabukovec et al., 2013), who also found a cortical contribution to force field adaptation using a different, yet complementary approach, i.e. TMS over the motor cortex. As MEPs were increased, and middle latency cutaneous reflexes decreased, it can be proposed that upregulation of corticospinal drive and concomitant long-loop reflexes downregulation could serve to allow more voluntary control and at the same time a reduction of potentially unwanted/maladapted stumbling reactions during this initial period of walking in the “new environment” generated by the force field. Future work is required to determine if this downregulation of longer loop reflexes is specific to the tibial nerve (receptive field under the foot), or generalizes to all cutaneous nerves on the foot.

4.7. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Stephanie Alain for valuable contribution to data recording and Joel Filion for his help with data processing.

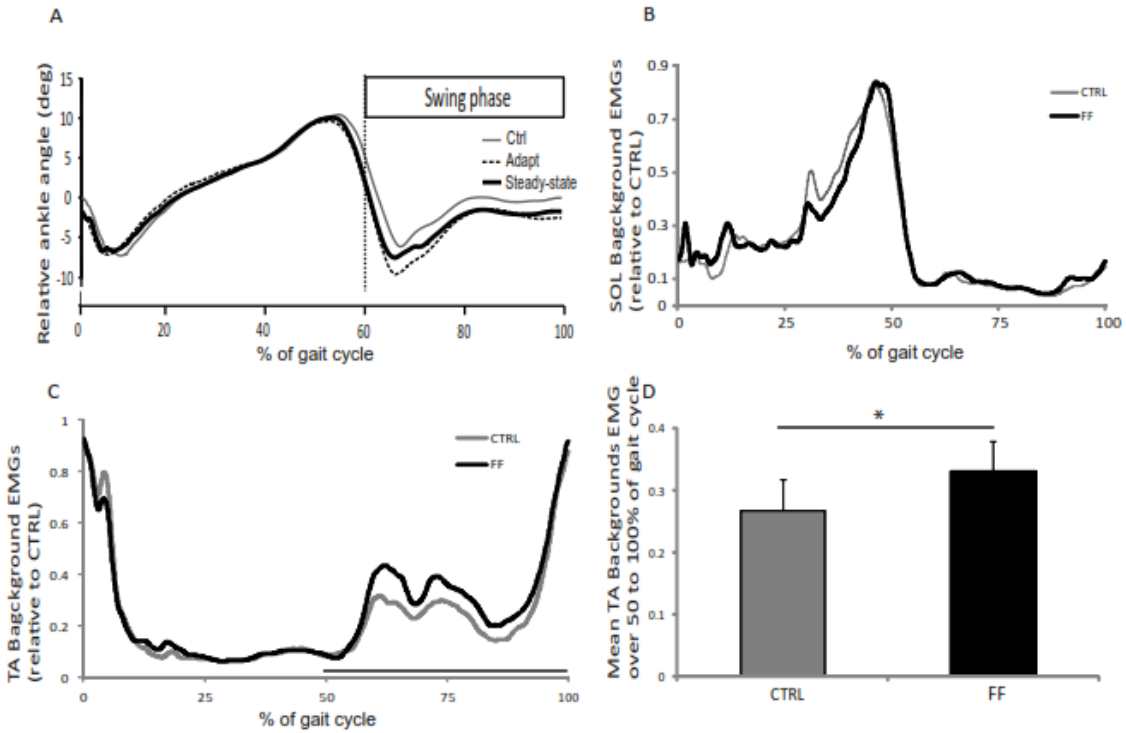


Figure 4-1: Angular and background EMGs variations: A) Ankle angular variation before (thin line), during FF adaptation (dashed line) and during steady state FF walking (thick line). B and C, Group's mean SOL (B) and TA (C) EMG background activity for n= 10 subjects in CTRL (grey line) and FF (black line) conditions. Thick horizontal line represents the interval used to calculate means reported in part D. D: Mean TA background EMGs values of the CTRL (grey bar) and FF (black bar) calculated over 50 to 100% of gait cycle (mean \pm 1sd. *= $p < 0,05$)

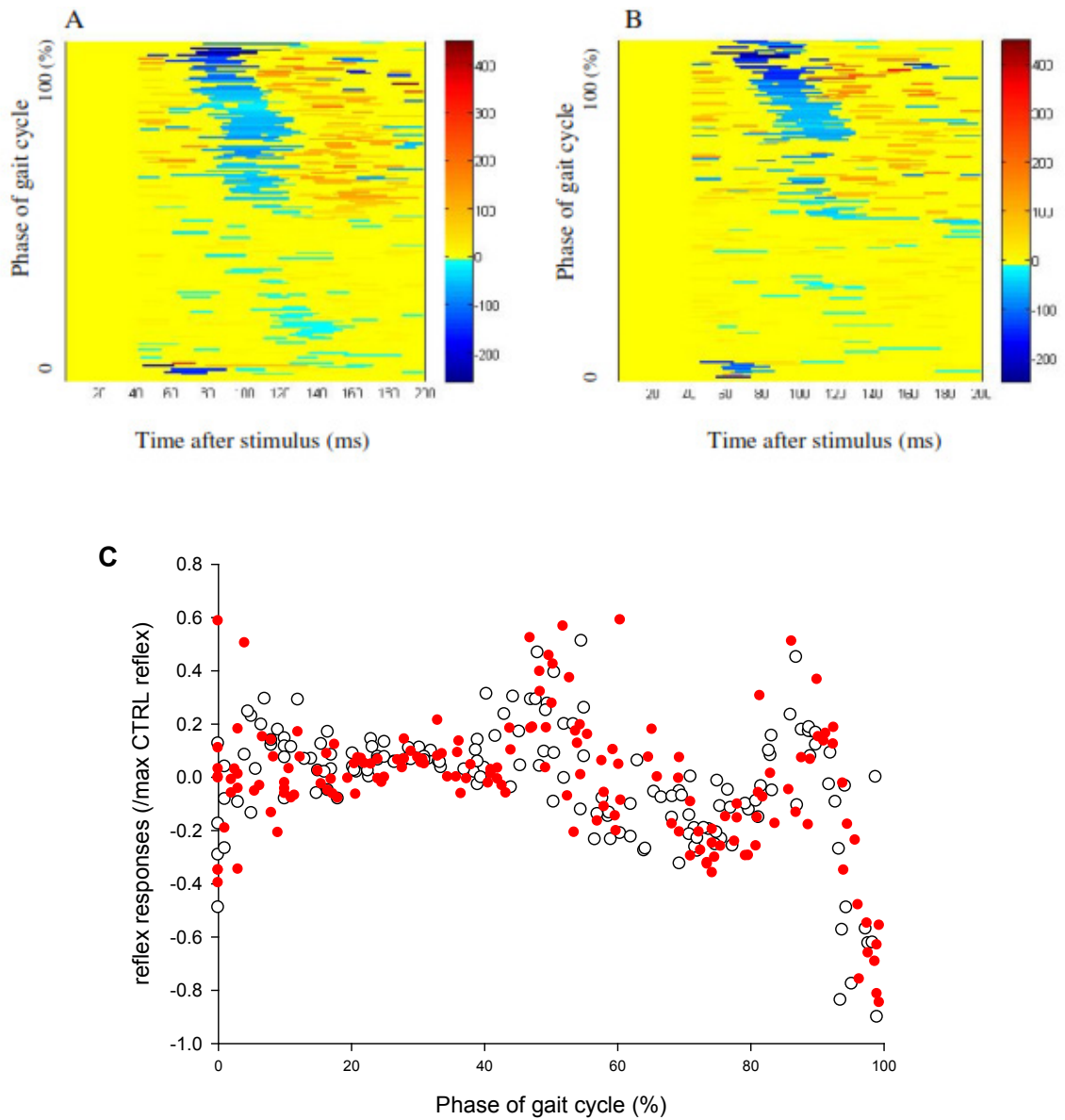


Figure 4-2: Reflex responses evoked in TA muscle before and during FF exposure: A and B) Reflex activity maps (RAMs) summarizing an entire recording session obtained for CTRL (A) and FF (B) conditions in subject 2. Vertical axis represents percent of gait cycle where the stimulus was given and horizontal axis presents the latency art with reflexes responses were detected for each stimulus. Reflexes amplitudes are color-coded. C) Superimposed middle latency responses for CTRL (white circles) and FF (red circles) averaged for the 10 subjects of the group. The responses were extracted at a fixed latency of 90 ms for all subjects.

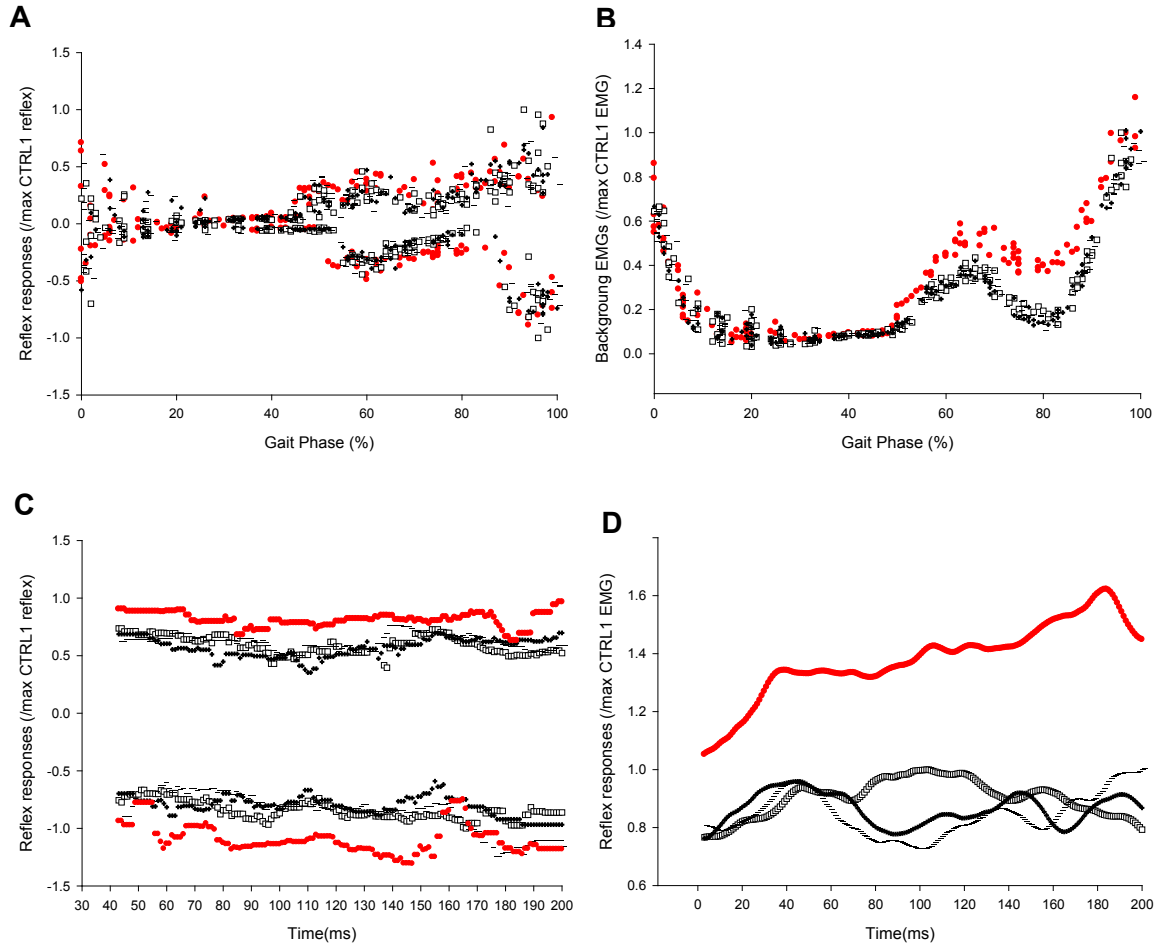
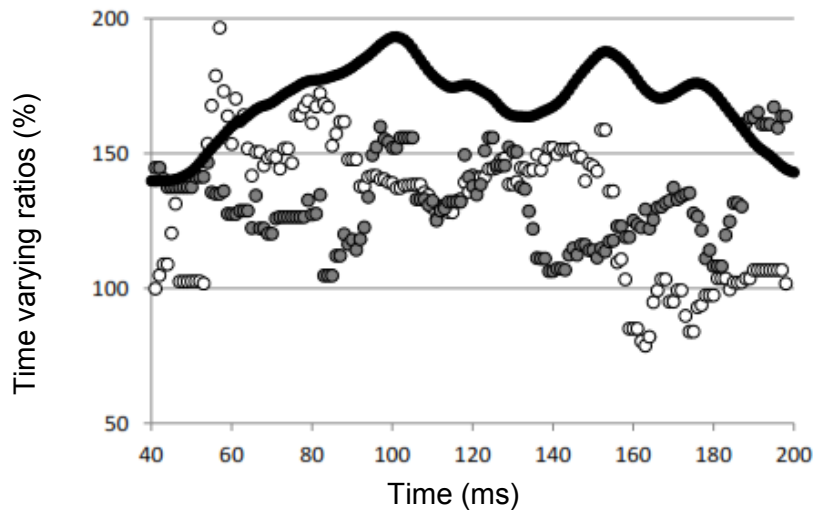


Figure 4-3: Variations in reflex responses and background EMGs: Upper panels: Phase dependant changes in one subject with 3 CTRL sessions (subject8). A: Reflex responses separated in facilitation (positive values) and suppressive responses (negative values) B: Underlying background relative to the reflex responses occurrence. Data for all measures (facilitation, suppression and background) are normalized to the maximum CTRL1 respective values. Lower panels: Latency dependant (time varying) changes between 50 and 80% of gait cycle. C) Reflexes separated in facilitation responses (positive values) and suppressive responses (negative values). D) Underlying background relative to the reflex responses occurrence. Data for all measures (facilitation, suppression and background) are normalized to the maximum of CTRL1 respective values. CTRLs= black dots, FF=red dots.

A



B

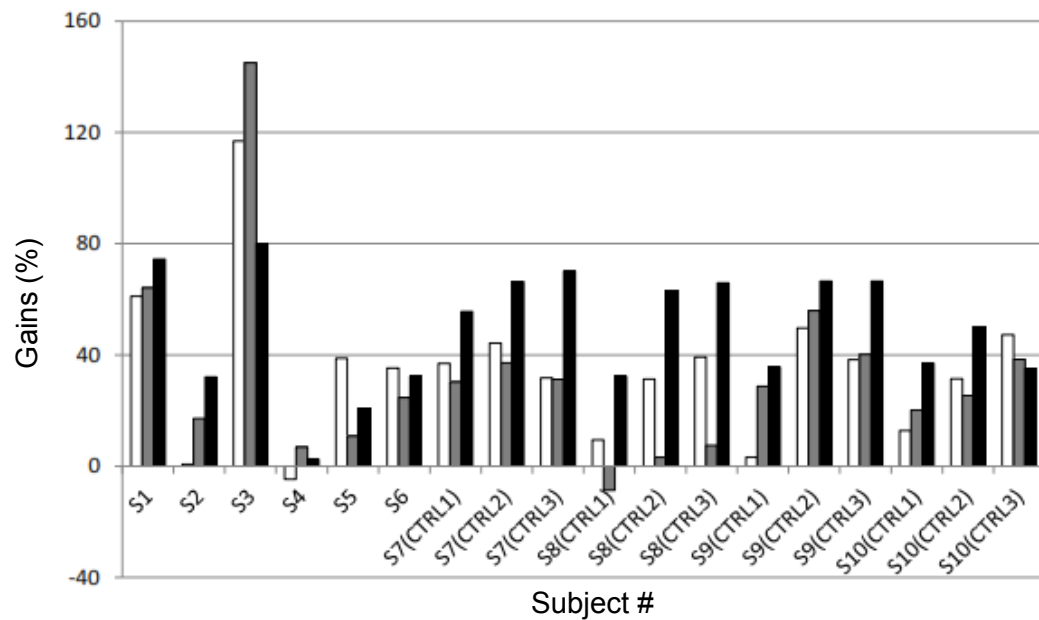


Figure 4-4: Time varying reflex and background EMG ratios A) Time varying facilitation (white circles), suppression (grey circles) and backgrounds (black circles) gains in one subject. B) Population data for the effective gains mean values (percentages of changes) over 40 to 200 ms in background, facilitation and suppression for each recorded subject. White bars = facilitation, grey bars = suppression, black bars = background.

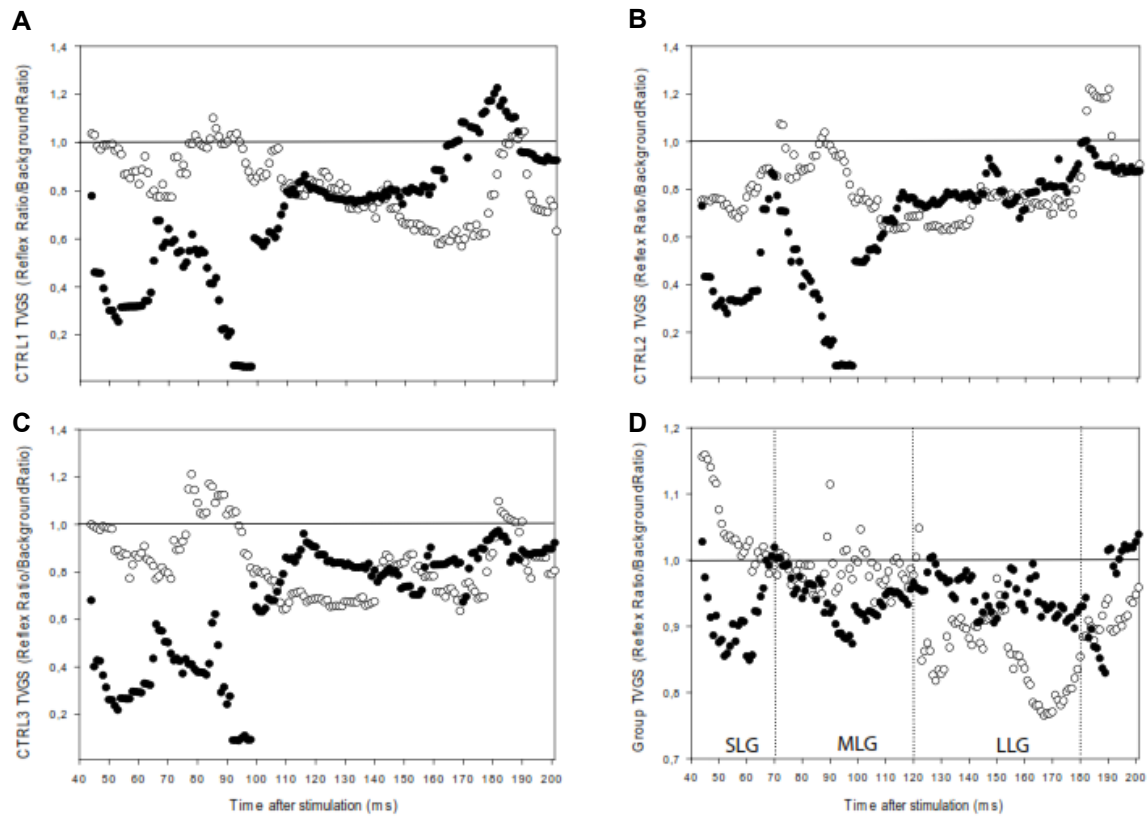


Figure 4-5: Time-varying gain scaling of the reflex responses, for facilitations (open cycles) and suppressions (filled cycles) gains separately calculated by dividing reflex ratios by background ratios. : A, B, C: Results in one subject with 3 CTRL sessions (subject9). Note the consistent modulation in reflex gains. D: Population data average gain scaling modulation. Distinctive intervals representing short (SL, 40-70 ms) middle (ML, 70-120) and late (LL, 120-180) was clearly determined.

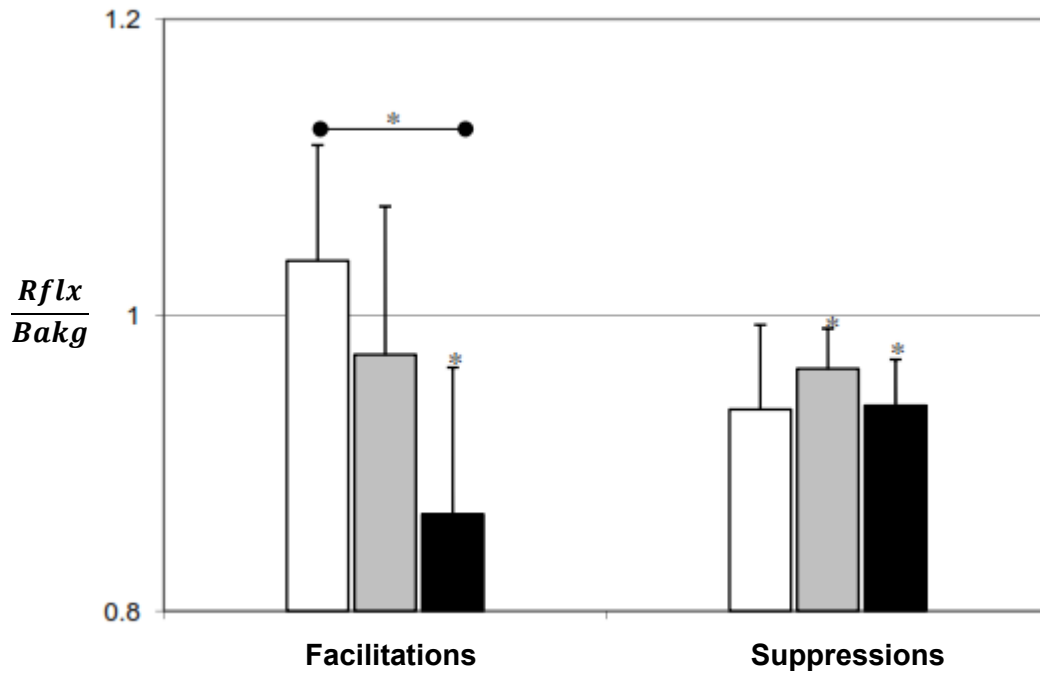


Figure 4-6: Group data in gain scaling for the short latency responses gain, (SLG (40-70 ms), white bars), middle latency responses gain (MLG (70-120 ms), grey bars) and late latency responses gain (LLG (120-180 ms) black bars) separately extracted for facilitations and suppressions. 1-line represent the ratio were changes in reflex amplitudes are equal to changes in background EMG (AGC line). Stars above the bars mean statistically significant from 1 ($P < 0, 05$). The star between SL and LL in facilitations means that these two measures were statistically different ($P < 0, 05$).

5. Étude III: Adaptation to Force Field Exposure during Walking is Nerve Specific

Maimouna Bagna ¹, Carol Richards ^{1,2}, Laurent Bouyer ^{1,2}

¹ *Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRS), Université Laval, Quebec City, Canada*

² *Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec City, Canada*

Ce manuscrit sera soumis au *Journal of Neurophysiology*

5.1. RÉSUMÉ

Les réflexes cutanés évoqués par la stimulation des nerfs périphériques sont contrôlés de façon dynamique lors de la marche. De plus, lorsque la stabilité posturale est perturbée pendant la marche, ces réflexes s'adaptent de façon spécifique. Dans cette étude, nous nous intéressons à l'utilisation des réflexes cutanés comme un outil pour sonder les mécanismes neuronaux sous-jacents à l'adaptation de la marche à un champ de force. Des travaux antérieurs ont montré que les réponses réflexes évoquées par la stimulation du nerf tibial sont modifiées pendant l'exposition à un champ de force. Cette réorganisation implique des mécanismes prémotoneuronaux. Le but de cette étude était d'examiner la spécificité de cette réorganisation selon le nerf stimulé. Les réflexes ont été évoqués chez onze participants en bonne santé avant et après adaptation à un champ de force résistant la flexion dorsale du pied. Trois nerfs cutanés ont été stimulés au niveau de la cheville : le nerf tibial (TIB), le nerf sural (SU) et le nerf péronier superficiel (SP). Les réponses facilitatrices et suppressives évoquées par la stimulation de chacun de ces nerfs ont été analysées séparément. Les principaux changements observés étaient une augmentation des réponses réflexes et de l'activité musculaire (EMG) de base chez tous les participants, pour chacun des trois nerfs. En outre, pour tous les nerfs, les réponses facilitatrices ont montré une diminution progressive de l'amplitude de la réponse, des courtes latences vers les longues latences. Par ailleurs, les réponses suppressives ont montré une modulation différente pour chacun des trois nerfs. Nos résultats suggèrent que, lors de l'adaptation de la marche au champ de force, la régulation des voies des réflexes cutanés n'est pas guidée par un mécanisme commun, mais plutôt que les commandes prémotoneurales ont spécifiquement adapté les réponses réflexes en fonction de leur champ récepteur. Ces commandes spécifiques d'adaptation pourraient être médiées principalement par les interneurones spinaux .

5.2. ABSTRACT

Cutaneous reflexes evoked by stimulation of nerves with receptive fields on the foot are dynamically controlled during walking and show nerve-specific adaptation to postural instability during walking. In the present work, we were interested in using cutaneous reflexes as a tool to probe the neural mechanisms underlying force field adaptation during walking. Previous work has shown that tibial nerve facilitation and suppressive reflex responses changed differently during force field (FF) adaptation. This reorganization involved pre-motoneural mechanisms. The aim of the present study was to address the nerve-specificity of this reorganization. Reflexes were evoked in eleven healthy participants before and after adaptation to a FF that resisted ankle dorsiflexion. Three cutaneous nerves were stimulated at ankle level: tibial (TIB), sural (SU) and superficial peroneal (SP). Facilitation and suppressive responses evoked by stimulating each of these nerves were analyzed separately. The main changes observed were an increase in reflex responses and background EMG activity in all participants, for all three nerves. In addition, for all nerves, facilitation responses showed a progressive decrease in response amplitude from short to longer latencies. On the contrary, suppressive responses showed differential modulation for each of the three nerves. Our results suggested that, during FF adaptation, the regulation of cutaneous reflex pathways was not induced by a common mechanism, but rather that premotoneural commands specifically adapted reflexes according to their receptive field, and that such specific adaptation commands might be mediated predominantly by spinal interneurons.

5.3. INTRODUCTION

Previous studies using force field (FF) adaptation protocols have shown that the pattern of muscle activation during gait can be rapidly modified (Barthelemy et al., 2012;Blanchette and Bouyer, 2009). For example, it has been shown that Tibialis Anterior (TA) muscle activity can significantly increase during walking in a FF environment that resists ankle dorsiflexion during swing (Barthelemy et al., 2012). Of interest for future applications in gait rehabilitation, the adapted walking pattern persisted temporally AFTER the force field was removed (Barthelemy et al., 2012;Blanchette and Bouyer, 2009;Lam et al., 2006). These persisting effects (“aftereffects”) suggest that the central nervous system is reorganized as part of the adaptation process (Barthelemy et al., 2012;Blanchette and Bouyer, 2009;Lam et al., 2006;Zabukovec et al., 2013). The mechanisms underlying this central reorganization remain unknown. Understanding such mechanisms is important for our basic understanding of locomotor learning, and also for clinical applications wherein such paradigms could potentially be used to design tailored exercises for patients with walking deficits (see (Blanchette et al., 2011). First, however, it is important to localize the sites where this adaptive plasticity occurs and determine the types of changes mediating this plasticity before clinical applications can be envisaged.

A few studies have investigated the neural mechanisms involved in gait adaptation to FF environments. Barthelemy et al (2012) studied the contribution of the corticospinal tract using transcranial magnetic stimulation (TMS) over the motor cortex in healthy participants. They showed that motor evoked potentials (MEPs) in the TA muscle were modulated upwards when adapting to a FF resisting dorsiflexion (and hence requiring increased TA activation) and downwards when adapting to a FF assisting dorsiflexion (and hence requiring a reduced TA activation). As these changes could not be explained by changes in background TA activity alone, the authors concluded that the corticospinal tract contributed to the adaptation of human walking to the force field environment. This finding was recently corroborated by Zabukovec et al (2013), who also found changes in corticospinal activity when adapting to a force field resisting hip and knee movement (Zabukovec et al., 2013).

In another study, Bagna et al (Chapter 4) tested cutaneous reflexes evoked during walking before and during adaptation to a FF resisting ankle dorsiflexion in healthy participants. Reflex responses were evoked by stimulating the tibial nerve at ankle level and recording responses in the TA muscle. They reported specific adaptations of the TA muscle to this FF environment. While the FF adaptation

did not change the reflex modulation pattern, cutaneous reflexes were increased after FF adaptation in a latency-specific pattern. Here again, this increase could not completely be explained by changes in background EMG activity. Longer latency responses were more affected by force field adaptation than shorter ones. If changes in motoneuronal excitability were taken into account, the longer-latency responses were downregulated by pre-motoneuronal mechanisms (see Chapter 4). As longer latency responses have a supraspinal/cortical component, this led the authors to suggest that during rapid adaptation to a force field applied during the swing phase of walking, voluntary drive might be augmented, as per Barthelemy et al (2012), and reflex responses downregulated, perhaps to avoid unlatching pre-programmed stumbling corrective reactions that might now be maladapted to the force field environment. If this were to be the case, all cutaneous reflexes from the foot should be equally suppressed.

There is an alternative possibility, however. The suppression of tibial nerve responses might be part of the reorganization occurring during force field adaptation. If that were to be the case, then other cutaneous reflexes from the foot would not necessarily be modified/suppressed the same way by the force field adaptation.

The aim of the present study was therefore to further our understanding of the neural mechanisms underlying FF adaptation by studying the specific adaptation of cutaneous reflexes evoked by electrical stimulation of three cutaneous nerves with a receptive field on the foot: tibial (TIB; foot planta), sural (SU; lateral aspect of the foot) and superficial peroneal (SP; foot dorsum).

Previous studies (Van Wezel et al., 1997) have reported that when SP, SU and TIB are stimulated during human walking, the reflex responses recorded in various lower limb muscles (biceps femoris (BF), rectus femoris (RF) Semitendinosus (ST) and TA) show a differential modulation that depends on the nerve stimulated. These authors concluded that such differential modulation pointed to a dynamic control of location specific information from cutaneous nerves from the foot. In line with this idea, Harridas et al (2005) showed that postural uncertainty leads to dynamic control of cutaneous reflexes during walking. They evoked reflex responses in five ipsi- and contralateral muscles (TA, SOL, BF, vastus lateralis (VL) and medial gastrocnemius (MG)) by stimulating SP and TIB during walking in conditions where stability was threatened. They showed that reflex responses were modified during stability challenged-walking compared to usual walking and that this modification varied according to the nerve stimulated. Furthermore, they reported that modifications were mainly

increases in reflex response amplitudes that rose with increasing stability challenges (Haridas et al., 2005).

In the present study, we hypothesized that as cutaneous reflexes evoked by stimulating various nerves from the foot are dynamically controlled during walking and show nerve-specific adaptation to postural perturbations, they should also show specific modifications during adaptation to the force field environment.

5.4. MATERIAL AND METHODS

5.4.1. Participants

Eleven subjects (7 males; age range 23-35y) without reported neurological or major orthopaedic history participated in a series of 23 experiments with informed, written consent to a protocol approved by the local ethics committee.

5.4.2. Protocol

Cutaneous reflexes were evoked from three nerves during walking: tibial (TIB; plantar aspect of the foot), sural (SU; lateral margin) and superficial peroneal (SP; foot dorsum). Participants came to the laboratory for 3 separate testing sessions, one for the testing of each nerve (randomized testing order; at least 1 week between 2 sessions). In each session, they walked on a motorized treadmill at 4 km/h for two bouts of 15 min., one without (CTRL) and another with the force field (FF). Cutaneous reflexes were tested in each bout. A 5 min. adaptation period preceded reflex testing in the FF to allow participants to reach a steady-state walking pattern. Total walking time in a given recording session was therefore about 25 minutes.

A total of 11 subjects participated to the study. Six performed all three nerve stimulation protocols, another 4 participated in the TIB nerve stimulation protocol only, and one additional subject performed the SU nerve stimulation protocol only.

5.4.3. Force generation

The perturbation consisted of an external force that resisted ankle dorsiflexion. It was produced by an exercise elastic tubing (Theraband TM, Akron, Ohio) attached to a modified ankle-foot orthosis (AFO), installed on the right foot. Details on the procedure have been previously described ((Barthelemy et al., 2012), (Bagna et al, chapter 4)). Briefly, the elastic was attached between the calf band and the back of the shoe. The torque applied ranged from 3-4 Nm. In the presence of the force

field, instructions to the subjects were to: "Resist the force in order to walk normally". During stance, as the foot is in contact with the ground, the resistance created by the elastic is negligible compared to the torque generated by the calf muscles. During swing however, the foot is free in the air and the elastic resists ankle dorsiflexion.

5.4.4. Nerve stimulation

Cutaneous reflexes were evoked by trains (6 pulses, 1 ms width, 200 Hz) of isolated constant current stimulations (Grass S88 stimulator with SIU5 and CCU1 units, AstroMed Inc) applied to TIB, SU, or SP nerve of the right leg. Small ECG electrodes (Kendall SOFT-E H69P), placed in a bipolar configuration were used for transcutaneous stimulation of the nerves. For SP stimulation, the electrodes were placed rostral to the superior extensor retinaculum and lateral to the tendon of the extensor digitorum longus muscle. For SU stimulation, electrodes were placed dorsal to the lateral malleolus. Finally, for TIB stimulation, electrodes were located dorsal to the medial malleolus.

For each subject, the intensity of stimulation was set as 2 times the radiating threshold ($2 \times RT$) evaluated in a standing position. At this value, the stimulus is strong enough to evoke a reflex, but is not painful (Duysens et al., 1992; Yang and Stein, 1990; Zehr et al., 1997). Electrical stimuli ($n=160$) were randomly delivered every 2 to 3 strides, following a pre-programmed pseudo-random sequence that spanned the entire gait cycle (see Chapter 4).

5.4.5. Recordings

All recordings were obtained from the muscles of the stimulated and AFO-wearing limb. Ankle angle was recorded using an electrogoniometer (Biometrics, Noraxon, Scottsdale, Arizona). Custom-made footswitches placed under the heel of the right foot were used to determine the time of heel contact. Electromyographic (EMG) activity was recorded from the Tibialis Anterior (TA, ankle dorsiflexor) and Soleus (SOL, ankle plantarflexor) muscles using surface EMG electrodes (Kendall meditrace 200, Ag/AgCl) placed in a bipolar configuration, 2 cm apart, and located just below the calf band of the AFO. EMG activity was band-pass filtered at 10-500 Hz and amplified 4000 times prior to acquisition. Each signal was digitized on-line by custom data acquisition software at 1000 samples/sec. Recordings were made continuously during both walking bouts.

5.4.6. Data analysis

Data analysis was performed off-line using software routines developed in Matlab (Mathworks, Natick, MA). EMG recordings were digitally filtered (10-450 Hz; 8th order Butterworth; zero delay) and full wave rectified.

Analysis was performed separately for each subject, each nerve and each walking condition (CTRL and FF). The procedure was similar to the one previously reported in Chapter 4. Briefly, strides were selected from one right heel strike to the next based on footswitch signals. Gait cycles were then assigned to a stimulated (STIM) or a non-stimulated (NO-STIM) group. A cycle was assigned to STIM group if stimulation occurred during this stride, or within the last 200 ms of the preceding stride; all other cycles were assigned to the NO-STIM group. NO-STIM strides were time-normalized to 1200 points covering 100% of the gait cycle and averaged for each walking condition (figure 5.3-1).

Cutaneous reflexes were analyzed from the EMG of the STIM cycles. A recently developed method based on individual reflex detection and extraction was used (see (Bagna and Bouyer, 2011)). Briefly, this method compared each STIM cycle to the preceding 10 NO-STIM cycles seeking for consistent differences. If 9 of the 10 difference signals had the same sign, a reflex response was detected. Reflex detection was performed within an interval from 40 to 200 ms after stimulation, to avoid stimulation artefacts. Each detected reflex response was identified with its own sign, onset latency, duration and amplitude. This procedure made it possible to separately extract facilitation and suppressive responses. The underlying background EMG activity was also calculated from the mean of the selected NO-STIM cycles over the duration of the reflex.

To estimate the changes in reflex response amplitude and in the underlying background, time-varying *reflex ratios* were calculated. For each subject, the mean of the facilitations and suppressions between 50 and 80% of the gait cycle were calculated and FF values were divided by CTRL. These ratios were calculated for all reflex responses at each time point between 40 and 200 ms post stimulation. The same time-varying ratio was calculated for the underlying background (figure 5.2).

To compare the changes in reflex response amplitudes to the changes in the underlying background, a time-varying *reflex gain scaling* was calculated as the reflex time-varying ratios divided by the underlying background time-varying ratios (figure 5.3).

Finally, three latency-related reflex gains at short (50-70 ms, short latency gain, SLG), middle (70-120 ms, middle latency gain, MLG) and long (120-180 ms, long latency gain, LLG) latencies were extracted for each reflex type (facilitation and suppression) and each stimulated nerve by taking the average of the time-varying reflex gains within the intervals defined in the brackets above. More details on the reflex analysis procedure can be found in Chapter 4.

5.4.7. Statistics

To address the specific objectives of the study, several statistical tests were performed including a two way repeated measures ANOVA with 2 factors (nerve (3) x condition (2)) and a three way repeated measures ANOVA with 3 factors (nerve (3) x response type (2) x latency (3)). For all tests, statistical significance level was set at $p < 0.05$.

5.5. RESULTS

5.5.1. Force field adaptation

In Figure 5.1, left panels show group results for TA activity during walking before (CTRL) and once adapted to the force field (FF), for each of the three nerves. All show a similar increase in TA swing phase activity during FF. Right panels show mean TA amplitude from 50 to 80% of the gait cycle. A two way ANOVA showed that there was a significant increase when comparing FF to CTRL ($p=0.007$), but no difference across nerves ($p= 0.670$). Together, these results show that the force field adaptation was the same regardless of the nerve tested, and therefore that any change in reflex responses across stimulated nerves reported below is due to reorganization specificity and not to differences in adaptation level.

Insert figure 5.1 near here

5.5.2. Changes in reflex response amplitudes and corresponding background

Mean time-varying reflex ratios (shown separately for facilitations and suppressions) and corresponding underlying backgrounds are presented in figure 5.2, subject-by-subject, for each stimulated nerve. To better visualize the net change in responses, 100% was subtracted from the means.

Results for the TIB nerve are shown in figure 5.2-A. For all subjects except subject 4, there was an increase in reflex amplitude and in the underlying background. Note that subject 4 also had the lowest background EMG increase in the presence of the force field, suggesting a lack of adaptation.

Mean reflex response increases were 38.61% for facilitations and 36.75% for suppressions, while the underlying background increased by 47.65 %. SU (Figure 5.2-B) and SP (figure 5.2-C) nerve stimulations resulted in increases in reflex responses and underlying background in all participants. For SU, facilitation responses increased by 25.8 % and suppressive responses by 30.21%, respectively. Meanwhile, the underlying background increased by 38.07%. For SP, a mean increase of 30.84 % was observed in facilitation responses while suppressive responses increased by 32.43%. Underlying TA background EMG activity in this case augmented by 39.13 %. It can be seen in the figure that increases in underlying background activity were generally larger than increases in reflex responses.

Insert figure 5.2 near here

5.5.3. Reflex changes as a function of latency

To evaluate the contribution of AGC on reflex response amplitudes, time-varying reflex ratios were divided by background ratios to obtain time varying gain scaling (figure 5.3, left panels). These plots show the relationship between the changes in reflex response amplitudes and the changes in background activity. If AGC accounted for all of the measured changes in reflex amplitude, responses in Figure 5.3 would all be 1.0 ((Matthews, 1986) see also discussion). Looking at the actual figures, it can be seen that this was not the case: not only were the responses different from unity for each of the three stimulated nerves, facilitation and suppressive responses did not have the same time varying gain scaling. For example, TIB nerve stimulation (figure 5.3-A, left panel) showed facilitation responses at short latencies that were greater than AGC. At longer latencies, facilitation responses became less than 1.0. Meanwhile, suppressive responses were below 1.0 at all latencies. For SU nerve stimulation (figure 5.3-B, left panel), facilitation responses were near AGC (i.e. 1.0) at short latencies, and distributed across the unity line at middle latencies. At long latencies, they were lower than AGC. Similar to TIB nerve stimulation, suppressive responses remained under AGC at all latencies. For SP nerve stimulation (figure 5.3-C, left panel), facilitation responses were greater than AGC at short latencies, distributed at middle latencies, and lower than AGC at long latencies. Suppressive responses were near AGC at short latencies and went below AGC as the latency increased. Therefore, time-varying gain scaling followed a different pattern for each of the nerve tested.

To quantify these patterns, mean reflex gains were calculated by averaging the time varying gain scaling values over the following time windows: 40-70 ms, 70-120 ms and 120-180 ms. Results are shown in figure 5.3, right panels. For the facilitation responses, all three nerves showed a progressive decrease from short to long latency reflex gains. In contrast, no consistent changes were observed between nerves for the suppressive responses. While TIB nerve stimulation produced suppressive gains that were similar at all three latencies, SU nerve stimulation showed similar changes for short and middle latency responses, but the long latency response was higher. For SP nerve, suppressive gains showed a progressive decrease as was observed in facilitation reflex gains.

Nerve, latency and reflex type specificity were tested using a three way repeated measures Anova, with three factors (nerve (3) x response type (2) x latency (3)) with pairwise multiple comparison procedures (Holm-Sidak method). Responses were significantly different across nerves: SU was different from TIB and SP ($P < 0.01$), but TIB and SP were not significantly different ($p = 0.39$). Facilitation responses were significantly different from suppressive responses ($p = 0.0008$), for each stimulated nerve. Finally, when considering response latency, SLG gains were significantly different from MLG gains ($p = 0.025$) and from LLG gains ($p = 0.005$). MLG gains were also different from LLG gains ($p = 0.024$).

Insert Figure 5.3 near here

5.6. DISCUSSION

In the present study, we compared modifications induced by force field adaptation on cutaneous reflexes originating from three different areas of the foot to gain insight into the specificity of the adaptive response. Two types of results were possible: 1) if changes in reflex responses from all three nerves were similar, then the reported findings would represent a general strategy aimed at controlling reflex output; 2) on the contrary, if changes in reflex responses from the three nerves differed, then they would represent a goal-directed adaptive modification of the circuits probed by the stimulation that may have a functional meaning. The main findings were that during force field adaptation: (1) changes in cutaneous reflexes varied across nerves; (2) the largest differences were observed in suppressive responses more than in facilitation responses.

5.6.1. Adaptation to FF leads to increases in cutaneous reflex amplitudes

One important finding in the present study was that all individuals that adapted to the force field showed increases in their TA muscle activity and in net facilitation and suppressive reflex responses,

irrespective of the nerve stimulated (see figure 5.2). Another key finding was that increases in reflex responses were generally lower than increases in background EMG, as shown by time-varying gain scalings smaller than 1.0 (Figure 5.3). Therefore, automatic gain control (AGC) could not explain our findings. These results are in line with previous studies (Haridas et al., 2005; Lamont and Zehr, 2006), that showed increases in cutaneous reflexes in environments where gait stability was threatened, that did not correlate to changes in background EMG amplitudes. The present results support the involvement of pre-motoneural mechanisms in the downregulation of facilitation and suppressive reflex responses. Moreover, our results show reflex latency-dependent (short, middle and long latencies) changes. Because previous studies have focussed on the middle latency response (Haridas, Zehr et al., 2005; Lamont and Zehr, 2006), it is not known if it is also the case with other types of perturbations.

5.6.2. Facilitation versus suppressive response changes

Facilitation responses evoked during SP, SU and TIB stimulation showed the same pattern of change; a progressive decrease in responses from short to long latencies. Statistical analysis revealed that SP and TIB changes were different from those of SU.

Progressive decreases from shorter to longer latencies responses have also been reported in arm muscles, when stretch reflex responses are compared at different static loads (Pruszynski et al., 2009). The latter authors attributed this phenomenon to a gradually larger contribution of descending drive (including transcortical) as the latency increases.

A more surprising result from our study was that the suppressive responses showed differences across nerves. In a recent study reporting results after TIB nerve stimulation only (Chapter 4), we attributed the observed lack of modulation of the suppressive responses across latencies to EMG saturation. Therefore, in the present study, we initially expected that saturation would prevent the observation of any modulation in these responses. On the contrary, SU and SP nerves clearly showed different patterns of changes in their suppressive responses across latencies. We are well aware that saturation might still hinder some of the findings, but the statistical difference across nerves is sufficient here to demonstrate nerve specificity. Previous studies examining differential adaptation of cutaneous reflexes to perturbed walking have reported changes in reflex response amplitudes extracted at the middle latency (Haridas et al., 2005). For the first time, we report here that changes can also occur at short and long latencies, in both facilitation and suppressive

responses, and that suppressive responses are more likely to express the observed nerve-specificity in adaptation.

5.6.3. Potential adaptive mechanisms

The results in the present study have shown that adaptation to a FF environment led to increased reflex responses that were not predictable from increases in the background EMG activity. In addition, changes were observed at all latencies in the reflex responses, according to a nerve-specific pattern. This indicates that the regulation of specific reflex pathways was not due to a generalized downregulation, but rather that central commands specifically adapted reflexes from each nerve.

In addition, we reported a large short latency reflex augmentation that was beyond AGC after TIB and SP nerve stimulations. This “first reaction” to the FF, seems to be a general and non-specific augmentation in the reflex amplitude that can be interpreted as being a strategy to cope for the instability brought to the gait by the FF. Such reflex augmentation as a response to gait instability has been previously reported (Haridas et al., 2005; Lamont and Zehr, 2006).

Sonnenborg et al (2000) demonstrated a functional organization of facilitation and suppressive cutaneous reflexes in the TA by electrical stimulation of the plantar aspect of the foot during voluntary contractions (Sonnenborg et al., 2000). Results in the present study suggest the same functional organisation during walking.

5.6.4. Possible sites of modifications

In the present study, reflex responses originating from 3 different nerves were measured in the same muscle (TA). As changes in responses associated with force field adaptation differed across nerves, the site of adaptive plasticity must therefore be pre-motoneural. In addition, the fact that both facilitations and even more so, suppressions, were differentially modified as a function of nerve and latency suggests that “private pathways” (Hagbarth, 1952) were reorganized. But where in such pathways could the reorganization occur?

In a review of his extensive work on cutaneous reflexes during locomotion in the cat, Burke et al (2001) proposed that interactions between cutaneous inputs, central pattern generator (CPG) and descending drive occur at multiple levels in the CNS: at the level of motoneurons, last order interneurons, pattern formation networks, and rhythm generation networks (see their figure 11,

(Burke et al., 2001)). Such a model will be used here to propose possible sites of adaptive plasticity after force field adaptation in humans. As we evoked responses in one motoneuron pool using 3 inputs, we can proceed by elimination. First, as increases in reflex responses were smaller than AGC, changes in motoneuronal excitability can be eliminated. Second, the fact that the 3 nerves produced different patterns of changes at the same latency eliminates direct cortico-motoneuronal facilitation/suppression. Changes must therefore have occurred at the level of interneurons. Since phase modulation of reflexes did not change (see chapter 4), the rhythm generator was not the site of plasticity either. The fact that changes were seen at short latency suggests that modifications were in part spinal: premotoneuronal interneurons or pattern formation interneurons would be good candidates for the spinal modifications. As additional changes were seen at longer latencies, transcortical pathways were likely also involved in the adaptive process. Since direct cortico-motoneuronal modifications are unlikely (see above), changes in cortical drive to premotoneuronal interneurons or pattern formation interneurons may be involved. Finally, presynaptic suppression of primary afferents can also be ruled out as for a given nerve, modifications (and even sign; see SP facilitations in figure 5.3) vary as a function of latency. We therefore suggest that premotoneuronal interneurons or pattern formation interneurons are the site of plasticity and they in turn are likely influenced by both spinal and cortical drive.

5.7. CONCLUSION

In the present study, cutaneous reflexes were used as a tool to probe and study mechanisms of gait adaptation in a FF environment. The observed nerve-specific adaptations at various latencies and especially in suppressive responses were attributed to modulation mechanisms at pre-motoneuronal sites that are influenced by descending commands. In an interesting review, Zehr (2006) argued that cutaneous reflexes were too complex to study detailed training-induced plasticity such as that reported using the H reflex (Carp and Wolpaw, 1994), and highlighted the lack of specific data on the modulation of cutaneous reflexes with training (Zehr, 2006). For the first time therefore, our study supports the existence of specific pathways from cutaneous nerves to TA motoneurons that could influence gait adaptation to a FF.

5.8. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Stephanie Alain for valuable contribution to data collection and Joel Filion for his help in data processing.

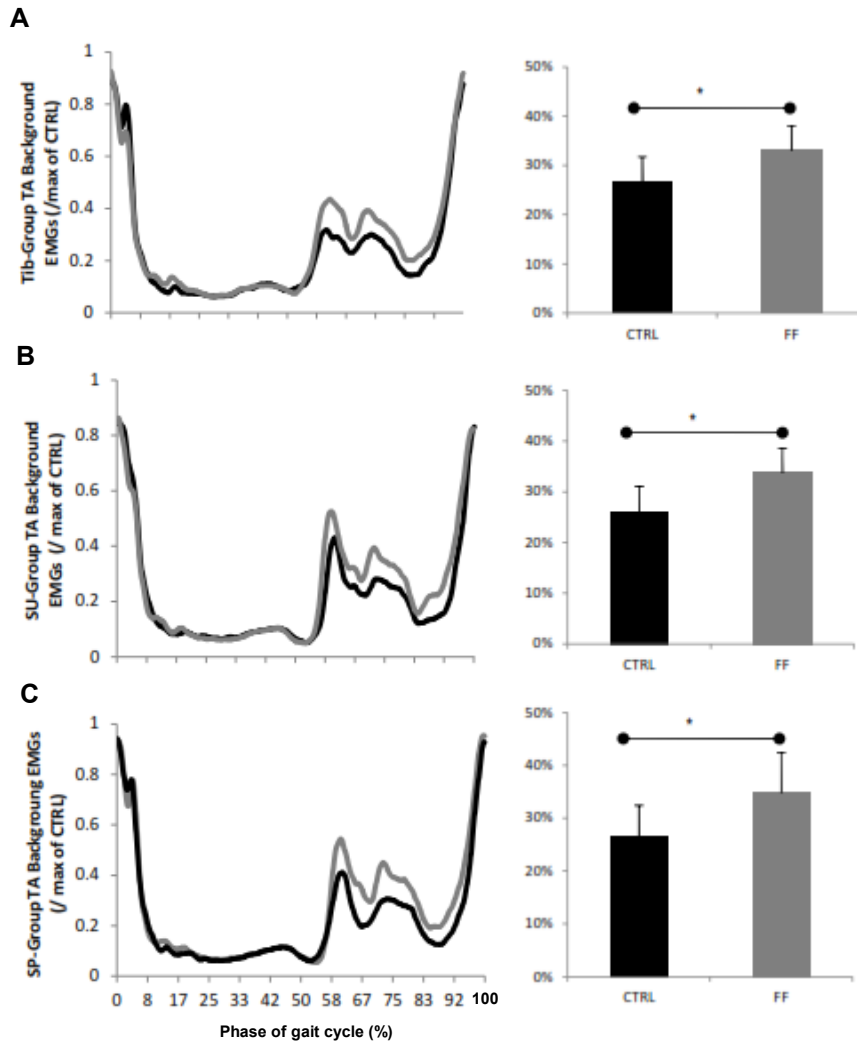


Figure 5-1: Groups results on the effect of FF exposure on background TA EMG activity for A: Tibial nerve stimulation (n=10), B: Sural nerve stimulation (n=6) and C: Superficial Peroneal nerve stimulation (n=6). Left panels show averages of non-stimulated gait cycles of TA activity during walking before (black) and during (grey) FF exposure. Right panels show means of the TA activity over the swing phase (50 to 100%) of the gait cycle, where the increases in TA activity were localised (presented as percentage of corresponding maximum CTRL EMGs). (* p<0.05)

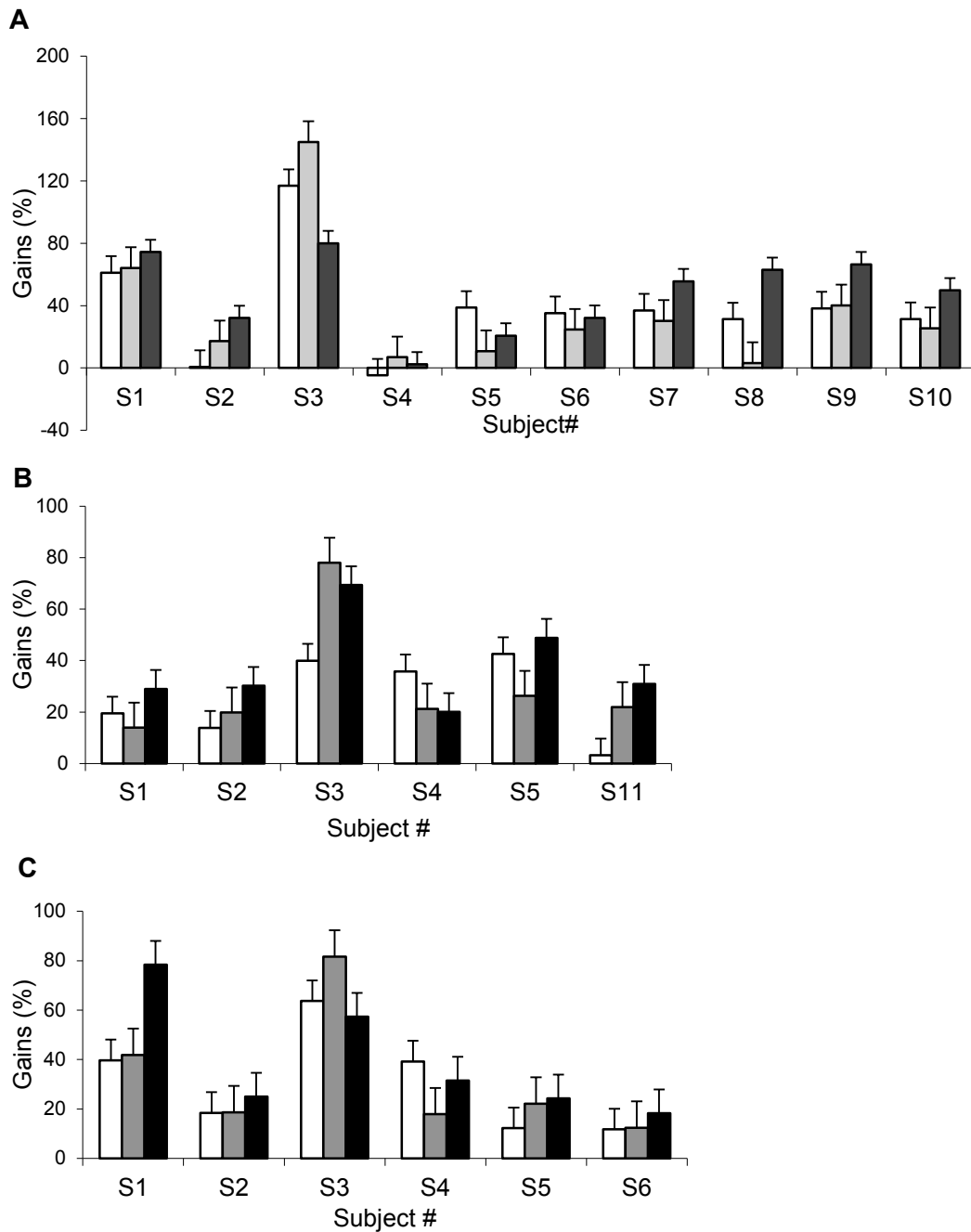


Figure 5-2: Individual ratios of changes (%) in reflexes and background EMGs, calculated as the ratios of FF condition over CTRL condition for Facilitations (white bars), suppressions (gray bars) and background(black) bars during stimulation of A) Tibial nerve, B) Sural nerve, and C) Superficial peroneal nerve stimulation. 100% value was subtracted from the ratios to show the effective changes. Error bars are 1 standard error (SE).

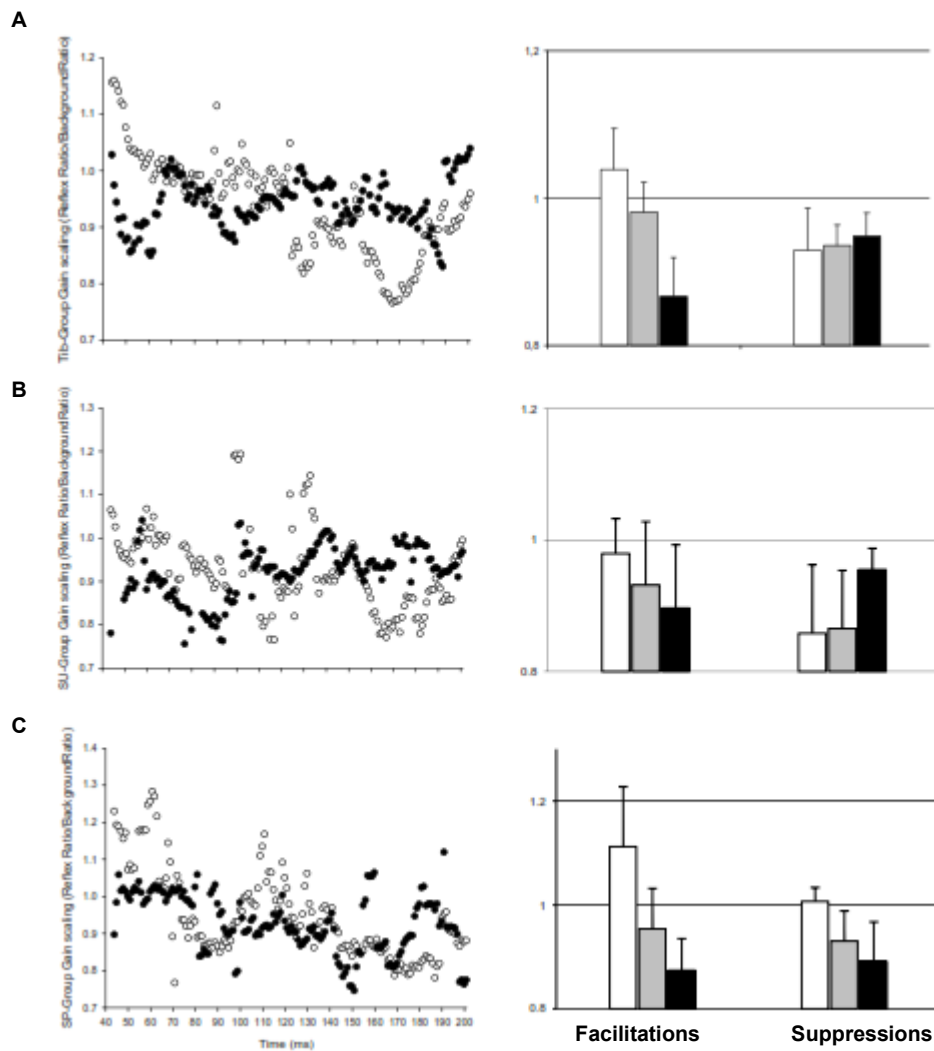


Figure 5-3: Time varying gain scaling for the three nerves: Left Panels: Time-Varying gain scaling (TGVS) calculated for the three stimulated nerves for facilitation (open circles) and suppressive (filled circles) responses. Right Panels: Short (white bars, 40-70 ms), middle (grey bars, 70-120 ms) and long (black bars, 120-180 ms) latency responses calculated separately for suppressions and facilitations, for each of the three stimulated nerves. A) Tibial (TIB) nerve stimulation, B) sural (SU) nerve stimulation, C) Superficial Peroneal (SP) nerve stimulation. Error bars represent 1SD.

6. Étude IV: Cutaneous Reflexes during Walking are Decreased in Persons with SCI but Increased in Non Disabled Persons after Whole Body Vibration: a pilot study

Maimouna Bagna¹, Edelle C. Field-Fote², Carol L. Richards^{1,3}, Laurent J. Bouyer^{1,3*}

¹*Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRS), Université Laval, Quebec City, Canada G1M 2S8*

²*The Miami Project to Cure Paralysis, University of Miami Miller School of Medicine, 1095 NW 14 Terr (R-48), Miami, FL 33136, USA*

³*Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec City, Canada*

Ce manuscrit sera soumis au *Journal of Gait and Posture*

6.1. RÉSUMÉ

INTRODUCTION. Chez les personnes souffrant d'une hypertonie spastique due à une lésion de la moelle épinière (SCI), l'exposition répétée à la vibration du corps entier est associée à une diminution de la spasticité du quadriceps et une augmentation de la vitesse de marche. Cette étude vise à étudier les mécanismes sous-jacents aux effets bénéfiques de la vibration du corps entier sur la marche. Les réflexes cutanés évoqués pendant la marche sur tapis roulant avant et après vibration du corps entier (4 x 45s @ 50Hz. 1 min de repos entre les expositions) ont été comparés chez les personnes atteintes de lésion médullaire motrice incomplète (MISCI, n=5) et des personnes contrôles (ND, n=10). **MÉTHODES.** Le nerf sural a été stimulé au niveau de la malléole latérale à 4 moments clés dans le cycle de la marche: début et fin de la phase d'appui, et le début et la fin de la phase d'oscillation. Les réponses réflexes ont été regroupées en fonction du moment de stimulation. La moyenne et l'aire totale de la réponse entre 40 et 200 ms après la stimulation ont été calculées. **RÉSULTATS.** Après vibration, les réponses réflexes ont augmenté de 11,2 % chez les ND et diminué de 17,5% chez les MISCI, une différence statistiquement significative entre les deux groupes ($p = 0,01$). Dans les deux populations, les changements dans l'activité musculaire (EMG) de base (-4,4 % pour ND et 4,9% pour MISCI) étaient inférieurs aux changements dans les réponses réflexes. **CONCLUSION.** Ces expériences suggèrent qu'une seule exposition à la vibration du corps entier change la transmission dans les voies des réflexes cutanés évoqués pendant la marche. En outre, la vibration du corps entier semble avoir des effets différents chez les sujets MISCI et chez les sujets ND, en particulier moment où l'orteil quitte le sol. Chez les personnes ayant une lésion médullaire incomplète (MISCI), la régulation négative du réflexe peut être utile pour améliorer le contrôle de la cheville autour de la poussée plantaire.

6.2. ABSTRACT

INTRODUCTION. In individuals with spastic hypertonia due to spinal cord injury (SCI), repeated exposure to whole body vibration (WBV) is associated with decreased quadriceps spasticity and increased walking speed. This study aims to investigate the mechanisms underlying the positive influence of WBV on walking. Responses to cutaneous reflex stimulation evoked during treadmill walking PRE and POST whole body vibration (WBV; 4 x 45s @ 50Hz; 1 min. rest between bouts) were compared in individuals with motor-incomplete SCI (MISCI; n=5) and non-disabled controls (ND; n=10). **METHODS.** The sural nerve was stimulated at the level of the lateral malleolus during 4 key time points in the gait cycle: early and late stance, and early and late swing. Reflex responses were grouped according to the stimulation phase then averaged, and the total area of the response between 40 and 200 ms post stimulation was calculated. **RESULTS.** Post WBV, cutaneous reflexes were increased by 11.2% in ND and reduced by 17.5 % in MISCI, a statistically significant between-group difference ($p = 0.01$). In both populations, the changes in background EMG activity (-4.4% for ND and 4.9% for MISCI) were lower than reflex modulations. **CONCLUSION.** These experiments suggest that a single exposure to WBV changes transmission through cutaneous reflex pathways during walking. Furthermore, WBV seems to have different effects in MISCI and ND subjects, especially around the time of toe off. In persons with MISCI, reflex downregulation may be useful to improve ankle control around push-off.

6.3. INTRODUCTION

Several studies have shown beneficial effects of whole body vibration (WBV) on non-disabled (ND) persons and persons with neurological conditions (van Nes et al., 2004). Repetitive exposure to whole-body vibration (WBV) in persons with spinal cord injury (SCI) has been shown to significantly increase walking speed and cadence and to decrease quadriceps muscle reflex responsiveness to stretch (Ness and Field-Fote, 2009a). WBV has also been reported to improve postural stability and muscle force in healthy young and elderly adults (Cardinale and Lim, 2003; Rogan S et al., 2011).

Only a few studies however, have addressed the neural mechanisms underlying these beneficial effects. Sayenko et al. (Sayenko et al., 2010) reported a significant inhibition of the H-reflex following a 1-minute exposure to WBV in both ND participants and participants with motor-incomplete spinal cord injury (MISCI). In those with MISCI, however, this inhibition was less pronounced and persisted for only 6 seconds following WBV, while in the ND participants the H-reflex remained depressed for approximately 40 seconds. The authors attributed this reflex reduction to either presynaptic inhibition with primary afferent depolarisation and/or changes in post-activation depression. Their results were in concordance with others that reported decreases in H-reflex after WBV in persons with neurological conditions (Hopkins et al., 2009; Kipp et al., 2011).

While excitability of the Ia reflex circuit (including both the H- and stretch reflexes) is an important aspect of motor output, this circuit is only one of many spinal circuits contributing to motoneuronal excitability. Given the myriad effects attributed to WBV, it is likely that the neural mechanisms underlying the beneficial effects of WBV also involve polysynaptic spinal and/or supraspinal pathways. To better understand the effects of WBV on motor control, it is therefore necessary to test its influence on more complex pathways that are capable of tapping into spinal and supraspinal mechanisms beyond the Ia reflex circuit.

In the present study, we quantified changes in cutaneous reflexes during walking before and after WBV. When evoked during walking, cutaneous reflexes produce up to three separate responses in the post-stimulus muscle electromyogram. These responses arise from sensorimotor integration of circuits with graded complexity: the early response is purely spinal, while the middle and long latency responses include transcortical components (Christensen et al., 1999; Duysens et al., 1992; Nielsen et al., 1997; Yang and Stein, 1990). Furthermore, during walking, cutaneous reflex responses are modulated in relation to the phase of the gait cycle, suggesting that they might play a meaningful role

in motor control (Zehr and Stein, 1999). Together, these characteristics make cutaneous reflexes a good candidate to address potential polysynaptic mechanisms associated with the beneficial effects of WBV on human walking.

In the present study, cutaneous reflexes were evoked in ND participants and participants with MISCI. We focussed on four key time points in the gait cycle: early and late stance, and early and late swing. These key phases of gait cycle related to a sequence of challenging events: weight acceptance, push-off, foot clearance and balance, respectively (Perry J and Burnfield J, 2010; Winter, 1987). Our hypothesis is that by evoking polysynaptic reflexes at these key time points, we will be able to unravel how sensorimotor processing is affected by WBV and observe if these changes correlate with improved locomotor function.

Part of this work has been presented in abstract form (Bagna M et al., 2011).

6.4. METHODS

6.4.1. Participants

Fifteen individuals participated in this study: 5 persons with MISCI (47+/-7 years; 5 men) and 10 ND individuals (40+/-12 years; 4 men). All subjects gave their informed consent to participate in the protocol, which had been previously approved by the local ethics committee. ND persons had no reported orthopaedic or neurological history. Participants with MISCI had motor-incomplete injury, classified by the American Spinal Injury Association (ASIA) Impairment Scale (AIS) (Marino RJ et al., 2003) as AIS C or D (see Table 1). All participants with MISCI used a wheelchair as their primary means of mobility, i.e. they were not considered functional community walkers. Additional inclusion criteria for the participants with MISCI were: ability to stand without assistance of another person for at least 1 min. and ability to walk on a motorized treadmill with handrail support as needed for at least 5 minutes. Participants with MISCI were allowed to wear an ankle-foot orthosis if needed, but no other assistance for stepping was provided.

Insert table 1 near here

6.4.2. General Protocol

Participants came to the laboratory for a single visit. They walked on a motorized treadmill (Woodway, USA) before (PRE) and after (POST) a period of whole body vibration. During treadmill walking, cutaneous reflexes were evoked and the electromyographic activity (EMG) of ankle

dorsiflexors was recorded. As a safety measure in the event of a fall, participants wore a harness that was suspended from an overhead lift, but no body weight support was provided. Subjects were allowed to use the treadmill handrails for stabilization/balance, but were discouraged from using their upper extremities for weight bearing on the handrails. For participants with MISC1, treadmill speed was adjusted to their comfortable range (0.1 – 0.3 m/s). The treadmill speed for the ND subjects was set at 0.3 m/s because gait kinematics of ND subjects have been shown to be more comparable to those of participants with MISC1 when walking speeds are similar (Nooijen et al., 2009).

6.4.3. Nerve stimulation

The sural nerve was stimulated transcutaneously at the level of the lateral malleolus with disposable self-adhesive electrodes (Ag/Ag-Cl; 1-cm diameter; Cleartrace, ConMed Andover Medical, Haverhill, MA). Stimulus trains (6 pulses @ 200 Hz, 1 ms width, 1.5-3.75 X radiating threshold; see (Duysens et al., 1992) were delivered every 2 to 3 strides, at 4 key time points in the gait cycle: early and late stance, and early and late swing. Stimulating pulses were produced by a Grass S88 stimulator constant current unit and a stimulus isolation box (Astro-Med, RI). Stimulations were given as blocks (one block per stimulation time point; 20 stimulations per block, with non-stimulated strides interweaved between stimulated strides), and block order was randomized across subjects. The same stimulation parameters and sequence of stimuli were used before and after WBV.

6.4.4. Whole body vibration

A vibrating platform (Power Plate; Northbrook, IL), was used to deliver whole body vibration, according to the protocol of Ness et al. (Ness and Field-Fote, 2009b). Briefly, sinusoidal vibrations were given at a frequency of 50 Hz with 2 mm amplitude. Participants stood on the vibrating platform with knees flexed at approximately 30 degrees. Four periods of 45 s of whole body vibration were administered to each participant. Periods of vibration were separated by 1 min rests. After the fourth period of vibration, all subjects were immediately wheeled by an investigator between the power plate and the treadmill to limit movement before the onset of post WBV reflex testing.

6.4.5. Recordings

Electromyographic (EMG) activity was recorded from the tibialis anterior muscle (TA, ankle dorsiflexor) using surface EMG electrodes (Kendall meditrace 200, Ag/AgCl; ConMed Andover Medical, MA) placed in a bipolar configuration, 2 cm apart, according to SENIAM recommendations (Hermens et al., 2000). EMG activity was sampled at 2 kHz, amplified (Myopac, Run Technologies,

Laguna Hills, CA; gain: 1000) and high-pass filtered at 10Hz to reduce movement artefacts. Custom foot switches were placed under the heel, mid-foot and great toe of the stimulated leg to record spatio-temporal gait parameters. EMG data was sampled concurrently with footswitch data and stored for offline analysis.

6.4.6. Data analysis

Recorded EMG signals were analyzed using custom software developed in Matlab (Natick, MA). The analysis sequence consisted of removing DC bias and band-pass filtering (Butterworth, 10-500 Hz) before dividing the TA EMG signal into individual gait cycles based on foot switch data. Gait cycles were then classified as stimulated or not stimulated. Reflex responses were small and superimposed on the ongoing muscle activations related to walking (locomotor EMG). In addition, participants with MISC1 tended to have more variability in their walking pattern than ND participants, precluding the use of classical averaging methods. We therefore used a recently developed analysis method based on a small number of gait cycles (Bagna and Bouyer, 2011). This algorithm uses only 10 neighbouring gait cycles for each calculation, thereby limiting the effects of gait variability on reflex measurements. Briefly, to discriminate reflex responses from the intrinsic variability of the locomotor EMG, each stimulated cycle is compared with 10 adjacent non-stimulated cycles, seeking consistent differences. In the first 200 ms after stimulation, reflex responses are detected when $\geq 9/10$ of these differences are either positive or negative. Reflex detection starts 40 ms after stimulus onset to exclude stimulation artefacts, and stops 200 ms after stimulation. Detected reflexes are then grouped according to the time point where stimulation occurred, and averaged.

Total reflex area was calculated as the area under the rectified mean response between 40 and 200 ms post stimulation. To allow comparison between participants, changes in reflex responses POST vibration were reported as response ratios relative to PRE vibration according to the following equation:

$$ratio(\%) = \left(\frac{\sum_{40}^{200} |POST| - \sum_{40}^{200} |PRE|}{\sum_{40}^{200} |PRE|} \right) \times 100$$

Based on this formula, if there were no changes in reflex responses after vibration, the equation would yield a value of 0%. Any value different from zero implies a change in reflex response, in either the positive (increase in reflex response) or negative (reduction in reflex response) direction.

As reflex responses were subtracted from the locomotor EMG, it was also important to estimate the level of background muscle activity at the time of the reflex response. Background EMG activity was estimated based on the mean of the 10 non-stimulated cycles adjacent to each stimulated cycle (Bagna and Bouyer, 2011). Changes in the background EMG activity were quantified using the same method as for reflex responses.

6.4.7. Statistics

Two-way repeated measures ANOVAs were used to make statistical comparisons between groups (MISCI and ND) and between responses at the 4 different stimulus time points (early and late stance, early and late swing). Significance level was set at $p = 0.05$

6.5. RESULTS

6.5.1. General results

To take into consideration differences in reflex modulation during walking across subjects (Bagna and Bouyer, 2011; Burke, 1999; Jones and Yang, 1994; Yang and Stein, 1990), the group data was presented as percentage of change POST vs PRE WBV (see equation 1). Data from three participants, two ND and one MISCI were discarded due to technical problems during data acquisition (recording or stimulation). Data from the remaining 12 participants (8 ND and 4 MISCI) are illustrated in Figure. 6.1.

This figure shows that when WBV induced changes in cutaneous reflex amplitude, they tended to be reductions in response amplitude in subjects with MISCI, while response amplitudes tended to be increased in ND subjects.

Insert figure 6.1 near here

Examining reflex responses according to the stimulus time point (Figure 6.1A) revealed that the largest difference was in late stance ($P = 0.03$). Changes in background EMG activity (Figure 6.1B) were smaller than changes in reflex ratios at all stimulus time points, both in ND and MISCI participants. No significant changes were observed in the background EMG activity across groups or

stimulus time points ($P > 0.05$). While changes in background activity were also present, they did not correspond to changes in reflex responses, and tended to be lower in amplitude. Overall, WBV produced an increase of 11.2% in cutaneous reflexes in ND participants and a reduction of 17.5% in MISC1 participants. The between-group (ND vs MISC1) difference was statistically significant ($p = 0.01$). The background activity of the ND group decreased by 4.4%, while that of the MISC1 group increased by 4.9%, but these opposite changes were not statistically significant (ND vs MISC1, $P = 0.2$). Note also that the direction of changes in background EMG differed from that of the reflexes.

The 4 targeted stimulation time points in the gait cycle corresponded to: $5 \pm 2\%$ (early stance), $55 \pm 1.8\%$ (late stance), $67 \pm 1.5\%$ (early swing), and $92 \pm 2\%$ (late swing). There were no significant differences in the timing of the stimulation between PRE and POST WBV testing, or between ND and MISC1 participants. The effective number of stimulations given at each time point ranged from 10 to 20.

6.5.2. Individual subjects

Figure 6.2 presents the effects of WBV on cutaneous reflex responses for a ND participant (Figure 6.2A) and a participant with MISC1 (Figure 6.2B). Reflex responses before and after WBV are shown in black and grey, respectively, in upper panels and corresponding background EMG are shown in lower panels. It can be seen that WBV led to increased responses in late stance, had little (early swing) or no effects (early stance, late swing) at the other time points in the ND participant. WBV-induced changes in reflex responses were different in the participant with MISC1. When changes were present, they tended to be reductions in response amplitude, rather than increases. The effects were most marked in late stance and early swing as with the ND participant. While changes in background activity were also present, they did not vary necessarily in the same direction as changes in reflex responses and tended to be lower in amplitude.

Insert figure 6.2 near here

To further address the differential effect of WBV on ND and MISC1 participants, Figure 6.3 presents the reflex and background ratios for each participant at each time point. An examination of the reflex responses (Figure 6.3A), reveals that increases in the response occurred in 17/32 measures (53%) post WBV in the ND participants but in only 2/16 (12.5%) in the MISC1 participants. In contrast, all ND participants presented at least one reflex increase. All 4 MISC1 participants showed a decreased

reflex response in late stance and early swing. Background activity changes, on the other hand, (Figure. 6.3B) were low in all participants and did not follow any consistent pattern across groups or time points.

6.6. DISCUSSION

The aim of the present study was to increase our understanding of the mechanisms underlying the beneficial effects of WBV in persons with MISCI and ND participants. Considering the diversity of effects attributed to WBV, we hypothesized that the short-term neural reorganization triggered by WBV would not only involve modifications at the motoneuronal level (as reported by recent studies using H-reflexes), but also at pre-motoneuronal level in polysynaptic spinal and/or supraspinal pathways. Using cutaneous sural nerve stimulation as our probe, we studied some of these pathways. The novelties in this study were therefore: 1) the use of cutaneous reflexes to probe the central nervous system reorganisation after WBV, and 2) testing these pathways during the execution of a functional task, namely walking.

Previous work has shown that in persons with MISCI, responses to cutaneous nerve stimulation during walking persist and these responses can show phase-dependent modulation, although this modulation is different from healthy subjects (Jones and Yang, 1994). After WBV, we measured an increase in cutaneous reflex response amplitudes in ND participants and a reduction in MISCI participants, with changes more pronounced in late stance and initial swing. Quantification of background EMG activity showed that the observed changes in reflex responses could not simply be explained by changes in motoneuron excitability, because such a change would be reflected as a modulation of both the background and reflex responses in the same direction, something that we did not observe. These findings thus support our hypothesis that the reported changes in cutaneous reflexes occurred at a pre-motoneuronal level, in pathways not previously evaluated with the H-reflex method. The main finding of this study is therefore that WBV likely changes sensorimotor integration.

To our knowledge, these results are the first to demonstrate opposite effects of WBV in cutaneous reflex pathways in non-disabled and MISCI participants. A parallel can be made with previous work, wherein effects of prolonged tendon vibration on reciprocal inhibition were shown to be different in subjects with MISCI compared to ND subjects (Perez MA et al., 2004); in this case, vibration increased the efficacy of reciprocal inhibition in MISCI, but had no effect on this circuit in ND subjects.

The opposite effects of WBV in ND and MISCI participants may be related to the different baseline state of the nervous system in these two groups. After SCI, the excitability of the nervous system is changed. Reflex pathways tend to be upregulated or poorly modulated during isolated voluntary movements (Morita et al., 2001) and during walking (Fung and Barbeau, 1994; Yang et al., 1991). Beneficial effects of an intervention might therefore require reflex downregulation at specific time points in the gait cycle. Such an association between cutaneous reflex downregulation and improvement in locomotor capacity has been recently reported in cats after experimentally-induced SCI (Cote and Gossard, 2004). The trained SCI animals had higher locomotor capacity and lower cutaneous reflexes than untrained SCI animals. It is therefore conceivable that WBV-induced reflex reduction in MISCI participants could be a reflection of similar underlying neural modifications.

The greatest differences in reflex responses to WBV between the ND and MISCI participants occurred around the time of toe off, a moment that is very challenging during gait, as the body weight is being transferred to the contralateral leg (Perry J and Burnfield J, 2010). This is also the period in the gait cycle when H-reflex activity is most highly modulated in non-disabled persons (Edamura et al., 1991). The reflex modulation at this time point is lost or greatly reduced after SCI (Yang et al., 1991). However, there is evidence that this modulation can be restored with electrical stimulation of cutaneous nerves (Fung and Barbeau, 1994), supporting the findings of the present study that sensory input (be it stimulation or vibration) can modify reflex responses in a manner that is supportive of more normal motor function.

6.7. FUTURE WORK

This pilot study has clearly demonstrated that cutaneous reflexes evoked during walking can be used to provide insight into the mechanisms underlying the beneficial effects of whole body vibration in ND and MISCI participants. These initial findings on the acute effects of WBV need to be confirmed and extended in larger cohort studies to provide a more complete understanding of the influence of WBV on polysynaptic reflex pathways, and on sensorimotor integration at large. Further studies are also required to determine the time course of the effects of WBV after single and multiple exposures.

6.8. ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported in part by NIH Grant HD41487 and by The Miami Project to Cure Paralysis.

Table 1: Demographic and level of impairment information for participants with motor incomplete spinal cord injury (MISCI)

Participant	Age	Gender	Stimulated leg and stimulus intensity	Condition	LOI/AIS	LEMS score	Drug
					Classification		
MISCI1	47	Male	2000 mv stim	Reasonable voluntary Dorsiflexion, No AFO	C6 / AIS D	38/50	Baclofen 60mg/day
			Right, (1.3XRT)			R = 16 L = 22	
MISCI2	35	Male	1500 mv stim	Unable to dorsiflex, needs AFO on Left	T5 / AIS C	29/50	None
			Right, (3,75 RT)			R=22 L=7	
MISCI3	53	Male	2000 mv stim	Very good left dorsiflexion, AFO on right leg	T7 / AIS D	32/50	20 mg on occasion
			Left, (2XRT)			R=12 L = 20	
MISCI4	49	Male	2000 mv Stim	Good dorsiflexion Right leg is weaker	C5 / AIS C	30/50	Baclofen 25 mg/day
			Right, (2,8XRT)			R=14 L=19	
MISCI5	54	Male	2000 mv stim	Left leg is weaker but requires AFO	T8 / AIS D	36/50	None
			Right,(2,5XRT)			R= 23 L = 13	

LEMS = Lower Extremity Motor Score from ASIA examination

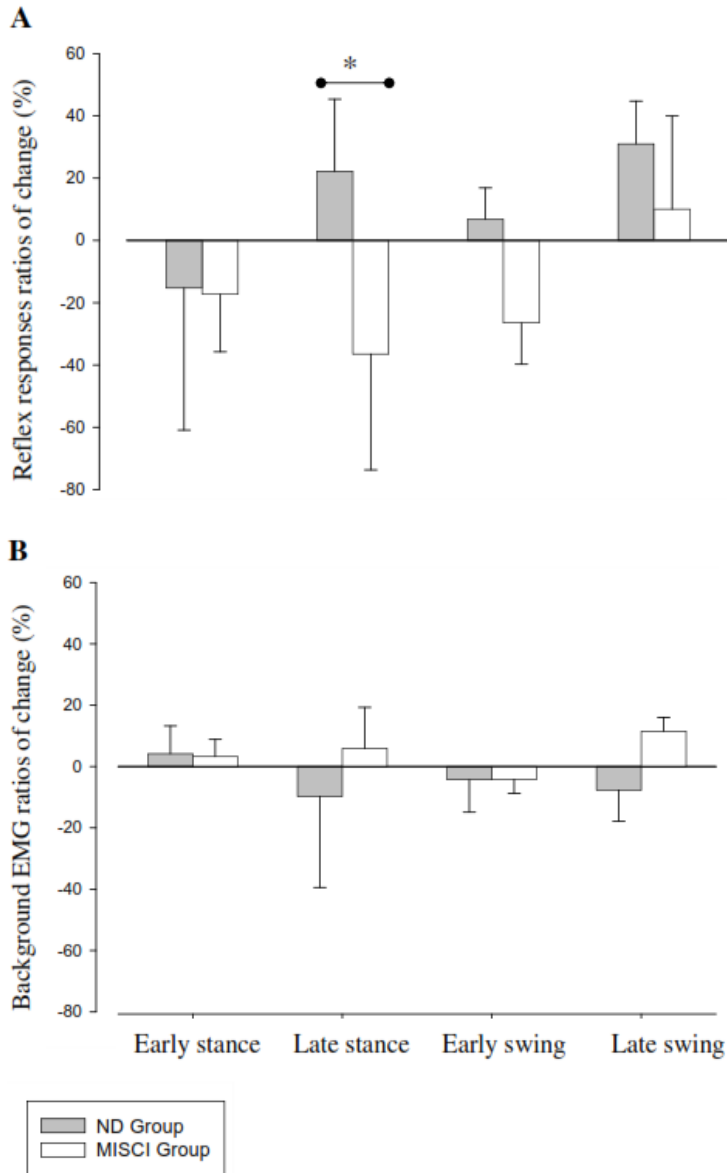


Figure 6-1: Groups ratios of change for reflex responses and background EMG. A: Changes in reflexes, B: Changes in backgrounds. Here, ratios of changes of reflex responses and background EMG are separately merged for each of the ND (n=8, grey bars) and MISC1 (n=4, white bars) group and for each of the 4 time points of stimulation (Early stance, Late stance, Early swing, Late swing). ND subjects showed a clear augmentation of their reflex responses at 3 time of the 4 time points (Late stance, early swing and late swing) while MISC1 participants showed a clear inhibition of their reflex responses at the same 3 time points. However, only reflex responses given in late stance showed statistical difference between groups (P=0.03), although early swing responses also showed a clear difference. Background EMG changes at all 4 time points are lower than reflex changes in both groups, and background changes are not necessary in the same direction then reflex changes. (* p< 0.05).

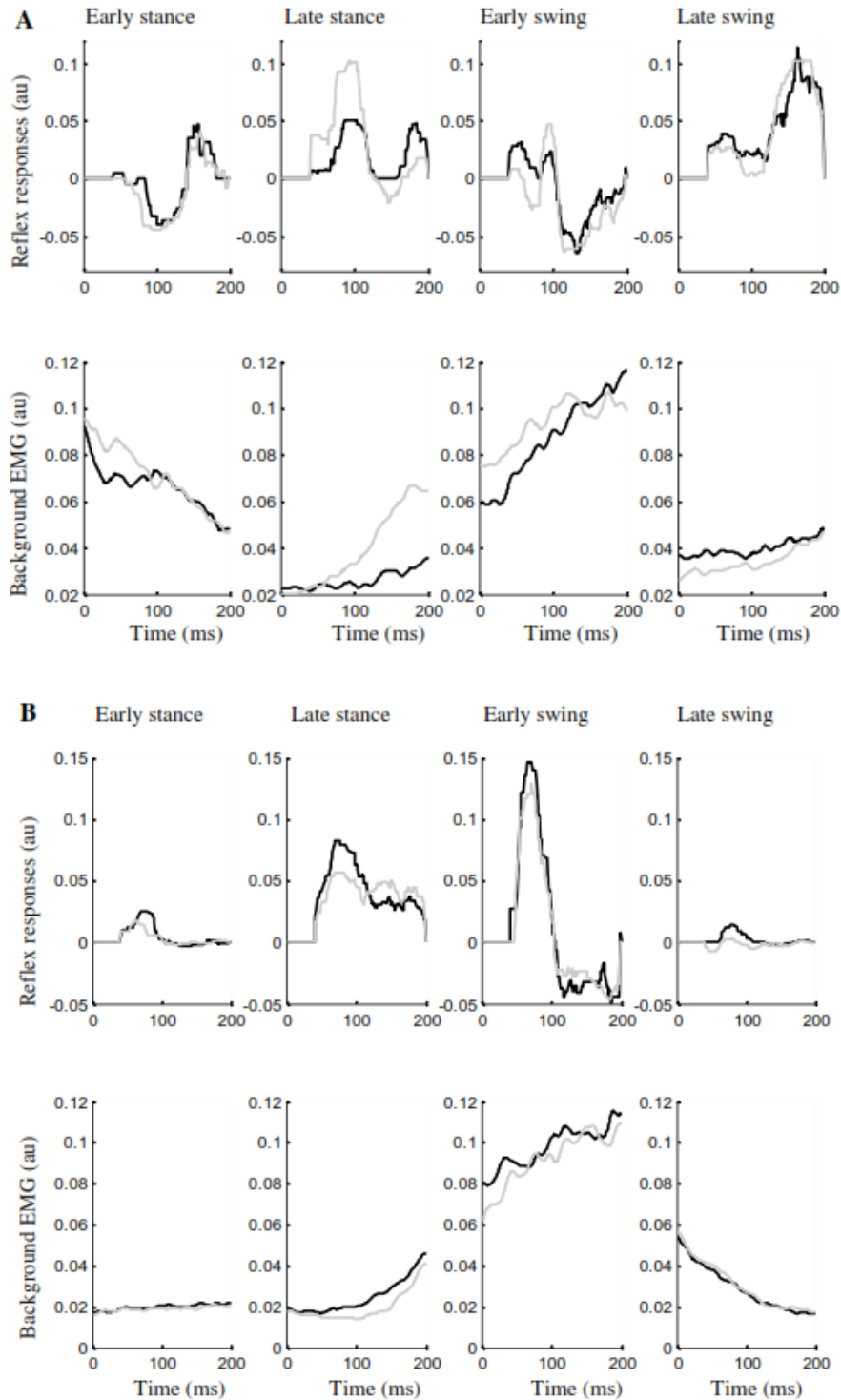


Figure 6-2: Example of reflex and background activities recorded in A: 1 single Non-disabled participant (ND8) B: 1 single SCI participant (MISCI4) before (black line) and after (grey line) whole body vibration (WBV). Upper panels present the mean reflex responses while lower panels show the underlying background activity (background EMG, see methods). Each trace is obtained by averaging responses of 10 to 20 stimulations given in one of the four targeted time points in a gait cycle (Early stance, Late stance, Early swing, Late swing). Reflex responses and background EMG are expressed in arbitrary units.

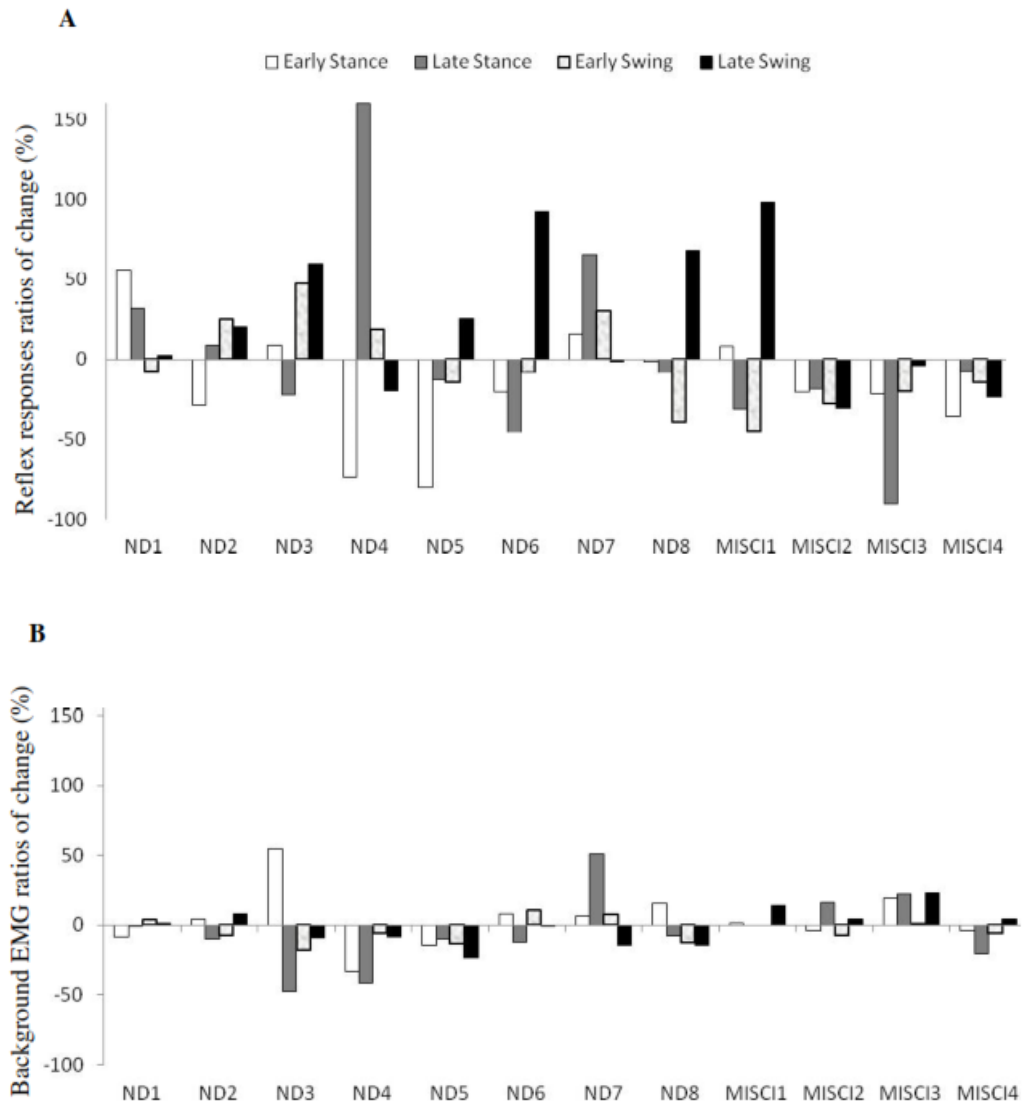


Figure 6-3: Individual Ratios in A: reflexes and B: background EMG after whole body vibration. Each group of 4 bars indicates the changes observed in one individual participant, for each of the 4 time points of stimulation (Early stance, Late stance, Early swing, Late swing, respectively). ND individuals expressed more reflex increases (in number and amplitude) than MISC1 participants, and in 3 over 4 of MISC1 participants, a decrease of reflex responses was seen at all 4 time points of stimulation. Background EMG changes were generally lower than reflex changes for all individuals, at all time-points of stimulation.

7. DISCUSSION GENERALE

Ce chapitre fait un résumé des principaux résultats des 4 études présentées dans cette thèse et met en évidence les principales contributions de nos travaux. Il sera aussi discuté des limites des études, de futures pistes de recherche et de quelques implications possibles de nos résultats.

7.1. Résumé des études

Le but général de cette thèse était d'utiliser les réflexes cutanés enregistrés pendant la marche, pour sonder les mécanismes sous-jacents à la plasticité adaptative locomotrice chez l'homme. Dans un premier temps, les mécanismes d'adaptation de la marche chez des personnes en santé marchant dans un champ de force ont été examinés dans les études II et III. L'étude IV a quant à elle examiné les mécanismes d'adaptation de la marche après vibration du corps entier, chez des personnes en santé et chez personnes avec lésions médullaires incomplètes. Dans chacune des études II à IV, les réflexes cutanés enregistrés pendant la marche ont été utilisés comme moyen pour sonder les mécanismes de la plasticité locomotrice. La latence d'un réflexe est liée aux voies spinales ou supra-spinales qu'il emprunte avant de rejoindre les motoneurones. Ainsi, une réponse réflexe à courte latence emprunte uniquement des voies spinales (Nielsen et al., 1997; Yang and Stein, 1990) tandis qu'une réponse réflexe à moyenne et longue latences aurait des composantes supra-spinales et corticales (Duysens et al., 2004; Nielsen et al., 1997). L'idée générale était d'examiner les changements à différentes latences afin d'inférer sur les sites possible de la plasticité.

Mais avant, l'étude I présentée dans cette thèse a été indispensable pour poser les balises nécessaires qui ont servi à atteindre notre objectif d'étudier les mécanismes impliqués dans la plasticité à l'aide des réflexes cutanés. En effet, devant l'insuffisance des méthodes classiques utilisées jusqu'alors pour faire l'analyse détaillée nécessaire de ces réflexes, nous avons proposé et développé une nouvelle approche pour extraire et quantifier les réponses réflexes évoquées pendant la marche. Contrairement aux méthodes classiques qui moyennent plusieurs réponses avant de les extraire, notre méthode était basée sur l'extraction des réponses individuelles. Ainsi donc, elle était capable d'extraire chaque réponse évoquée et de la caractériser par sa propre latence, sa propre amplitude et sa propre durée. En plus, elle identifiait clairement les réponses suppressives et facilitatrices. Cette nouvelle méthode, surpassait les anciennes méthodes en termes de capacité de détection et d'extraction et en termes de robustesse et d'objectivité. En effet, comparée à la méthode

classique (Yang and Stein, 1990), notre méthode pouvait extraire des réflexes avec des amplitudes 2 à 6 fois plus grandes que l'ancienne méthode (voir l'Étude I). De plus, puisqu'elle était basée sur un critère de détection objectif, aucun biais de subjectivité n'était induit et favorisait ainsi la reproductibilité des analyses, et des résultats. Autant dans un protocole de modulation de réflexes que dans un protocole de courbe de recrutement, notre méthode a démontré une performance supérieure. La méthode, présentée dans l'étude I de cette thèse constitue une grande contribution de nos travaux à bien des égards, comme il en sera discuté plus loin.

Les études II et III s'intéressaient aux mécanismes d'adaptation du contrôle locomoteur chez l'humain dans un champ de force. Les champs de force ont gagné de l'intérêt récemment dans la recherche en réadaptation locomotrice. Des études du contrôle moteur au membre supérieur (Shadmehr et al., 1993) ont inspiré l'application aux membres inférieurs en utilisant un protocole de marche sur tapis roulant (revue dans (Bouyer, 2011)). Il a été rapporté qu'une recalibration du système central de contrôle de la marche s'effectue après aussi peu que 50 cycles de marche pendant l'exposition à un champ de force (Fortin et al., 2009). Cette recalibration, démontrée par les 'after-effects' observés après que le champ de force soit enlevé, est signe d'une réorganisation du système de contrôle de la marche. Les mécanismes entourant cette réorganisation sont encore mal connus. Une meilleure compréhension de ces mécanismes pourrait aider à cibler le type de clientèle qui bénéficierait le plus de ce type d'intervention, lors d'un éventuel transfert de ces protocoles en clinique. Le premier objectif de cette thèse était donc de mieux comprendre les mécanismes de cette réorganisation ou la plasticité adaptative de la marche dans un champ de force.

Pour cela, l'étude II présentée dans cette thèse compare les réflexes cutanés enregistrés pendant la marche avant et pendant l'adaptation au champ de force. Les réflexes ont été évoqués en stimulant un seul nerf, le nerf tibial et enregistrés dans les muscles tibialis antérieur (TA) et soléaire (SOL). L'adaptation au champ de force était spécifique au muscle TA, lors de la phase l'oscillation, et plus précisément entre 50 et 80% du cycle de marche. Nos analyses se sont donc concentrées sur ce muscle et cet intervalle du cycle de marche. La méthode développée dans l'étude I a été utilisée pour extraire les réponses réflexes. Pour quantifier les changements dans les réflexes, les réponses facilitatrices et suppressives ont été analysées séparément. Les réponses à trois latences différentes (courte, moyenne et longue) ont été investiguée en séparant les réponses facilitatrices et suppressives. Lorsque les changements dans les réflexes ont été comparés aux changements dans

l'EMG locomoteur de base (background), il a été constaté que la réponse facilitatrice à courte latence ne présentait pas de réorganisation, car son changement n'était pas significativement différent du changement de background. Par contre les changements dans les réponses à moyenne et longue latence étaient plus petits que les changements dans l'EMG de base. Nous avons donc suggéré une réorganisation au niveau pré-motoneural dans ces voies. Un phénomène de 'down-regulation' des réflexes se serait produit, possiblement sous l'influence des structures supra-spinales. Les changements dans les réponses suppressives aux 3 latences étaient tous inférieures au changement en 'background' et similaires d'une latence à l'autre. Nous avons suggéré que, puisque les réflexes étaient enregistrés par l'EMG de surface, la saturation aurait probablement influencé ces réponses suppressives. Les résultats présentés dans l'étude II ne nous ont pas permis de trancher sur les sites possibles de la plasticité adaptative de la marche dans le champ de force car nous ne pouvions pas suggérer lesquels des sites spinaux ou supra-spinaux étaient responsables des changements observés. Nous avons donc poussé l'analyse un peu plus loin avec l'étude III.

Tandis que l'étude II s'est intéressée aux changements réflexes suite à la stimulation du nerf tibial lors de l'adaptation de la marche dans un champ de force, l'étude III a ajouté la stimulation de deux autres nerfs (sural et péronier superficiel) pour étudier la spécificité de cette adaptation. L'hypothèse émise quand à cette exploration est que la spécificité d'adaptation des nerfs nous aiderait à mieux localiser les sites plastiques lors de l'adaptation de la marche au champ de force. En effet, des études antérieures avaient montré que ces trois nerfs étaient contrôlés de façon spécifique et dynamique lors de la marche habituelle (Van Wezel et al., 1997), et s'adaptaient de façon spécifique lorsque la stabilité de la marche est perturbée (Haridas et al., 2005). La même approche analytique que dans l'étude II a été utilisée. Dans l'étude III, nous avons démontré que lorsque 3 nerfs différents sont stimulés pendant l'adaptation de la marche à un champ de force, l'effet général sur les réflexes est le même, c'est-à-dire une augmentation des réflexes lors de la marche adaptée, par rapport à la marche avant exposition au champ de force. Aussi, pour tous les nerfs, les changements dans les réflexes étaient inférieurs aux changements en 'background', sauf pour la réponse à courte latence qui était soit égale aux changements en 'background' pour les nerfs tibial et sural, soit supérieure au changement de 'background', pour le nerf péronier superficiel. Pour les trois nerfs, les réponses facilitatrices suivaient la même modulation aux 3 latences, c'est-à-dire un déclin progressif du gain en amplitude des réflexes, des réponses à courte latence vers les réponses à longue latence.

Le résultat le plus surprenant de cette étude était que la spécificité des réponses était observée seulement dans les réponses suppressives. Ce résultat n'était pas du tout attendu car comme dans l'étude II, nous nous attendions à ce que le phénomène de saturation influence ces réponses dans les trois nerfs testés. Bien qu'une contribution de la saturation ne puisse être totalement exclue, le fait est que les changements des gains en amplitude des réponses suppressives étaient aussi modulés dépendamment de la latence, et que cette modulation était différente d'un nerf à l'autre. Basé sur ces résultats, nous avons suggéré que le rôle de la moelle épinière dans les mécanismes d'adaptation serait plus grand que ce que laissait suggérer l'étude II. En effet, la modulation différentielle des réponses suppressives seules, laisse croire que l'adaptation n'est pas simplement induite par un input général des structures supra-spinales, mais que ces inputs sont modulés au niveau spinal pour induire un gain adaptatif spécifique au nerf testé. A la lumière des résultats obtenus dans les études II et III, la conclusion générale de ces études était que le CPG (à travers le site du 'Pattern formation') et les interneurons pré-moteurs dans la moelle épinière, sous l'influence des inputs supra-spinaux, orchestreraient les mécanismes d'adaptation de la marche au champ de force.

Le deuxième objectif de cette thèse était d'étudier les mécanismes sous-jacents à la vibration, une intervention déjà utilisée en clinique. Ces travaux ont été rapportés dans l'étude IV. Des études avaient rapporté que lorsque le réflexe H était utilisé pour sonder les mécanismes sous-jacents aux effets de la vibration, des effets inhibiteurs dans ce réflexe autant chez les personnes en santé que chez des personnes ayant une lésion médullaire étaient observés. Dans notre étude utilisant les réflexes cutanés comme sonde, des effets différents ont été décelés dans les deux populations. En effet, nos résultats ont montré que les personnes en santé ont réagi à la vibration en augmentant leur réponses réflexes tandis que les personnes avec lésions médullaires incomplètes avaient une diminution de leurs réflexes après la même intervention. Les changements réflexes, chez les deux populations étaient beaucoup plus grands que les changements dans l'EMG de base. Puisque la vibration avait une amplitude très faible (2mm) et que la mesure des réflexes était effectuée après les séances de vibration, on ne s'attendait pas à un grand changement dans l'EMG de base. Par contre, la direction des changements observés, autant chez les personnes en santé que chez les blessés médullaires, supporte les effets bénéfiques de cette intervention. Pour la première fois, les résultats rapportés dans cette étude ne se confrontent pas au 'paradoxe de la vibration', émis par les auteurs

qui ont rapporté une diminution du réflexe H, qui serait en contradiction avec un effet positif de la vibration chez les personnes en santé.

7.2. Contributions de la thèse

Dans la lignée des études visant à comprendre les mécanismes de la plasticité locomotrice liée à l'adaptation de la marche dans un environnement perturbé, les résultats rapportés par nos travaux ont apporté une contribution significative à plusieurs niveaux.

7.2.1. Contribution au niveau de l'approche expérimentale

L'approche expérimentale utilisée dans cette thèse était de comparer des réflexes cutanés évoqués pendant la marche chez l'homme, avant et pendant (champ de force) ou après (vibration) adaptation à une perturbation, dans le but de mieux comprendre la plasticité locomotrice induite par cette perturbation. A notre connaissance, cette approche est une première, dans les études visant à comprendre les mécanismes de la plasticité locomotrice chez l'homme. L'utilisation des réflexes cutanés comme moyen pour étudier la plasticité locomotrice a déjà été expérimentée chez le chat, dans les travaux rapportés par Alain Frigon (Frigon and Rossignol, 2007; Frigon and Rossignol, 2008b; Frigon and Rossignol, 2008a). Dans ces travaux, les réflexes sont évoqués avant et après spinalisation des animaux. Chez l'homme ces réponses sont beaucoup plus petites en amplitude, par rapport au chat. Ainsi donc, même si la modulation des réflexes avait été démontrée autant chez l'animal (Drew and Rossignol, 1987; Duysens and Pearson, 1976; Forssberg et al., 1975) que chez l'humain (Duysens et al., 1992; Duysens et al., 2004; Yang and Stein, 1990), qu'un rôle important leur avait été attribué dans le contrôle de la marche (Duysens et al., 2002; Rossignol et al., 2006) et suite à une perturbation de la stabilité de la marche (Haridas et al., 2005), l'utilisation de ces réponses comme « sonde » chez l'homme revêtait une difficulté supplémentaire. Ceci expliquerait probablement pourquoi cette approche expérimentale a été peu explorée. Dans cette thèse, nous nous sommes donc heurtés à ce problème. Ainsi donc, nous avons dû développer des méthodes toutes nouvelles d'analyse des réflexes cutanés qui nous ont permis d'aller de l'avant dans leur utilisation pour explorer les mécanismes de la plasticité locomotrice chez l'homme.

7.2.2. Contributions au niveau des méthodes d'analyse

Dans les études présentées dans cette thèse, plusieurs approches méthodologiques nouvelles ont été développées.

7.2.2.1. Une nouvelle façon d'analyser les réflexes cutanés

Dans l'étude I, une toute nouvelle méthode d'analyse des réflexes cutanés a été développée et testée avec succès sur des réflexes en utilisant un protocole de modulation et un autre de courbe de recrutement. A notre connaissance, notre algorithme est la seule méthode pouvant effectuer une analyse aussi détaillée des réflexes cutanés. En effet, en extrayant et en caractérisant chacune des réponses réflexes de façon individuelle, nous avons été en mesure de quantifier de façon optimale l'amplitude, le signe, la durée, mais aussi la latence exacte des réflexes. Sans une quantification exacte des latences des réflexes, nous n'aurions pas été en mesure de bien explorer les mécanismes de la plasticité. La méthode présentait aussi une façon de représenter les réflexes cutanés évoqués pendant toute une session expérimentale à travers des cartes appelées RAMs (Reflex Activity Maps, voir Étude I). A partir de ces cartes, on pouvait distinguer le nombre de réponses évoquées, la modulation des réponses, et en extraire aux latences voulues, sans ajouter aucune distorsion aux réponses. A cet effet, cette méthode était bien supérieure aux méthodes classiques qui sont utilisées.

7.2.2.2. Analyse séparée des réponses facilitatrices et suppressives

Le fait de pouvoir caractériser les réponses unitaires par leur signe individuel, nous a permis de faire une analyse séparée des changements dans les réponses facilitatrices et suppressives, tels que montré dans les études II et III. Cette approche aussi est une première dans l'analyse des réflexes cutanés enregistrés par l'EMG de surface. L'analyse séparée des réponses facilitatrices et suppressives permet de contrer un problème bien connu qui est la variabilité des réponses réflexes, selon les sujets. Dans nos travaux, puisque l'étude de la modulation des réflexes n'était pas le but (et que l'adaptation de la marche dans notre modèle de champ de force n'affectait pas la modulation phase-dépendante des réflexes, voir étude II), nous étions en mesure de faire une analyse intra-sujet et ensuite faire des comparaisons par groupes de sujets, en séparant les réponses facilitatrices et suppressives. Aussi, la séparation des deux types de réponses a montré des mécanismes d'adaptation jusqu'alors inconnus, car inexplorés. Nous avons pu démontrer dans l'étude III, par exemple, que la spécificité d'adaptation des 3 différents nerfs testés était présente dans les réponses suppressives et non facilitatrices, ce qui nous a permis de suggérer des sites plus précis de la plasticité locomotrice induite par l'adaptation de la marche à un champ de force.

7.2.2.3. Des changements réflexes variant dans le temps

Les études II et III présentaient aussi des gains « réflexes » et « background » variant dans le temps. Ces gains ont permis de déterminer des zones de changements explicables simplement par une modification de l'excitabilité motoneuronale (automatic gain control) et d'autres où ils le sont moins. Cette technique a permis de localiser les latences qui présentent le plus de changement et d'inférer sur les sites potentiels de plasticité.

7.2.2.4. Tout un champ d'applications possibles

Nous sommes convaincus que les approches méthodologiques d'analyse systématique et rigoureuse présentées dans nos études ont été garantes des résultats prometteurs rapportés dans cette thèse. Nous pensons également que cette approche d'analyse peut avoir plusieurs domaines d'utilisation. Par exemple, la méthode de caractérisation des réponses individuelles peut être applicable aux études de modulation de phase car elle permettrait de mieux localiser le temps exact d'inversion du signe des réflexes, puisque notre méthode préserve mieux l'amplitude et le temps de stimulus exact. Les RAMs, permettent également d'avoir une vue d'ensemble sur la modulation des réflexes, mais aussi sur le nombre de réponses évoquées. D'autres applications comme les courbes de recrutement ont aussi été explorées. Également, l'idée derrière l'algorithme est applicable à d'autres types de signaux comme l'analyse des ENG, EEG et ECG, mais aussi de l'imagerie médicale, comme le fMRI. Ceci confère donc à notre approche d'analyse de larges champs d'application potentiels en recherche biomédicale et en neurosciences.

7.3. Limites de nos études et travaux futurs

7.3.1. Utilisation des réflexes cutanés comme moyen pour sonder les mécanismes de la plasticité

Il existe une polémique quand à l'utilisation des réflexes cutanés pour étudier le rôle des afférences cutanées dans le contrôle de la marche. Selon (Nielsen and Sinkjaer, 2002), la stimulation électrique utilisée pour évoquer les réponses réflexes induit une synchronisation des unités motrices au niveau des motoneurones, ce qui ne représenterait pas la forme 'naturelle' d'activation et de fonctionnement des voies issues des afférences cutanées. Cependant, des études ont rapporté des amplitudes quantitativement similaires entre des réflexes évoqués par un contact avec des obstacles et des réflexes cutanés évoqués par stimulation électriques (Eng et al., 1994; Schillings et al., 1996). Zher et Stein (1999) ont aussi montré qu'une perturbation mécanique induit des réflexes similaires à ceux évoqués par la stimulation électrique (Zehr and Stein, 1999), ce qui permettrait de soutenir que

l'utilisation des réflexes cutanés pour étudier le rôle des afférences cutanées dans le contrôle de la marche est possible. Cependant, dans cette thèse, les réflexes cutanés ont été évoqués dans le but d'étudier des mécanismes de la plasticité locomotrice chez l'homme. Nous sommes donc intéressés par les changements dans ces réponses, et les lieux de ces changements dus à l'adaptation de la marche à une perturbation externe, plutôt qu'à leur rôle dans le contrôle de la marche. Puisque ces mêmes réflexes sont évoqués avant et pendant la perturbation, et que des méthodes de comparaison intra-sujet sont utilisées, cette polémique ne s'applique pas à nos travaux.

7.3.2. Protocole expérimental (5 minutes d'adaptation au champ de force)

Dans le protocole expérimental utilisé pour le projet d'adaptation de la marche au champ de force (Étude II et III), une période de 5 minutes d'adaptation est insérée entre la marche contrôle et l'état adapté au champ de force pendant lesquelles des réflexes ne sont pas évoqués. L'hypothèse derrière ce choix était que la marche serait très perturbée pendant ces cycles et que l'EMG de base ne pourrait pas être assez stable d'un cycle à l'autre pour permettre d'extraire les réponses réflexes dans les cycles stimulés. Au moment où ce protocole a été conçu et les données enregistrées, la méthode d'analyse développée dans l'étude I de nos travaux n'existait pas. Aujourd'hui, nous savons qu'en utilisant nos approches d'analyse, nous sommes en mesure de quantifier les réflexes évoqués même si la marche n'est pas stabilisée. En regard avec les résultats obtenus, nous sommes portés à croire que si les réflexes avaient été évoqués dès les tous premiers cycles de marche dans le champ de force, ces cycles nous donneraient probablement des informations pertinentes sur les mécanismes d'adaptation à court temps. L'évolution de ces mécanismes en fonction du temps serait aussi une information de taille. On pourrait envisager de savoir combien de cycles de marche par exemple seraient nécessaires pour que les mécanismes de la plasticité s'installent et ne changent plus. Ce résultat serait très pertinent en clinique pour limiter le temps d'entraînement et donc des protocoles incluant l'enregistrement des réflexes dans les tous premiers cycles de marche pendant l'adaptation doivent être envisagés.

7.3.3. Zones d'analyse délimitée à 50-80% du cycle de marche

Dans les études II et III, l'analyse des réflexes a été limitée dans l'intervalle entre 50 et 80% du cycle de marche où le champ de force avait le plus d'effet sur l'EMG de base du muscle TA. On est en droit de se demander ce qui se passe au niveau des réflexes sur 80 et 100% du cycle, où il y avait aussi des changements modérés en EMG. Le choix de l'intervalle entre 50-80% du cycle était tout simplement méthodologique, dans le but de mieux camper nos analyses et les interprétations.

Cependant, des études conduites par de Serres et Yang ont montré que les mêmes motoneurones du TA sont impliqués lors d'une stimulation du nerf sural dans les deux bouffées, c'est-à-dire entre 50 et 80% et entre 80 et 100% du cycle de marche (De Serres et al., 1995). A la lumière de ces résultats, nous émettons l'hypothèse que les mêmes changements observés dans ce muscle entre 50 et 80% du cycle de marche seraient observés entre 80 et 100% du cycle. Ceci reste une hypothèse et donc des analyses supplémentaires sont nécessaires pour la confirmer.

7.3.4. Projet SCI (peu de sujets)

Dans l'étude IV présentée dans cette thèse, les mécanismes sous-jacents à la vibration ont été évalués chez des personnes en santé et des personnes avec lésion médullaire incomplète. Dans cette étude, un petit échantillon de personnes avec lésion a participé à l'étude, (5 sujets, dont les données chez 1 ont été rejetées). Ce projet était donc un projet pilote. D'autres études avec un plus grand nombre de sujets sont nécessaires pour confirmer nos résultats.

7.4. Implications possibles de nos travaux de recherche

Dans une perspective de recherche fondamentale, l'approche expérimentale proposée ici, c'est-à-dire l'utilisation des réflexes cutanés pour sonder les mécanismes de la plasticité locomotrice chez l'homme et les nouvelles méthodes analytiques développées ouvrent la voie à des questions de recherche jusqu'alors inexplorées. Par exemple, les travaux récents d'Andréanne Blanchette et collègues (Articles en préparation) ont montré que chez les blessés médullaires autant que chez les personnes ayant subi un AVC, l'adaptation à un champ de force était possible. On pourrait envisager donc d'évoquer des réflexes cutanés chez ces personnes pendant la marche pour investiguer les mécanismes de la plasticité locomotrice chez ces populations. Les méthodes d'analyse développées ici nous permettent aujourd'hui d'adresser les mécanismes d'adaptation chez des personnes ayant un patron de marche instable, ou qui ne peuvent pas exercer la marche sur une longue période de temps.

Dans une perspective clinique, les résultats de nos travaux ont proposé que les structures localisées dans la moelle épinière soient responsables des mécanismes adaptatifs. On pourrait donc envisager que les personnes avec lésion médullaire incomplète pourraient bénéficier de marcher dans un champ de force pour améliorer le contrôle des muscles fléchisseurs dorsaux pendant la marche.

Les résultats de l'étude IV soutiennent également que la vibration du corps est bénéfique autant chez les personnes en santé, que chez les personnes avec lésion médullaire incomplète.

ANNEXE A

Autre publication de l'étudiante

Bagna M, Bouyer LJ, Richards CL, *Effect of a single exposure to a force field on the reorganization of human cutaneous reflexes*, Proceedings of the 9th annual Symposium on Computer Methods in Biomechanics and biomedical Engineering (CMBBE2010), February 24-27, Valencia, Spain.

MODIFICATIONS IN CUTANEOUS REFLEXES DURING FORCE FIELD WALKING IN HUMANS: CONTRIBUTION OF AUTOMATIC GAIN CONTROL.

Maimouna Bagna¹, Carol L. Richards² and Laurent J. Bouyer³

1. ABSTRACT

Recent studies have shown that ankle dorsiflexor activation can be recalibrated by walking in a force field. Little is known, however, on the adaptive neural mechanisms underlying this recalibration. Cutaneous reflexes are believed to participate in the normal control of walking and have been associated with locomotor recovery after injury. In the present study, we tested the hypothesis that force field adaptation during walking would be associated with modifications in cutaneous reflexes evoked by stimulating the sural nerve before and during force field walking. Reflex responses were recorded in the tibialis anterior using surface electromyography. Using mathematical modeling, it was shown that pre-motoneuronal modifications were likely involved in a down-regulation of cutaneous afferent inputs onto TA motoneurons. These results represent a first step in the characterization of the neural structures involved in motor adaptation to force field exposure during walking.

2. INTRODUCTION

Previous work (Alain and Bouyer, 2005) has shown that walking while resisting a force field tending to plantarflex the ankle during the swing phase induces adaptations in the muscle activation pattern of the tibialis anterior (TA) muscle. After force field removal, aftereffects are observed suggesting that some of the mechanisms underlying ankle movement control have been reorganized. Our interest is to determine where in the central nervous system this reorganization is taking place. To address this objective we used cutaneous reflexes to probe the central nervous system. Cutaneous reflexes are complex responses composed of spinal and supraspinal polysynaptic neural pathways, some of which are involved in the control of locomotion (reviewed in Burke, 1999). When evoked during normal walking, cutaneous reflexes present up to three responses with distinct onset latencies (Yang & Stein 1990), resulting from the processing of sensory information by different neural structures (spinal and supra-spinal; Duysens et al. 1997; Christensen et al. 1999). By comparing cutaneous reflex responses evoked during normal and force field walking, latencies at which changes occur can be identified, and neural structures involved in the reorganization can be inferred.

3. HYPHOTHESES

We hypothesize that force field adaptation will lead to an increase in TA muscle activation associated with an increase in the TA motoneuron pool excitability. As a result, a given sensory input should produce a larger reflex response simply due to the excitability increase of the motoneuron pool (Automatic Gain Control: AGC, Mathews, 1986). It must be noted that a larger reflex response due to AGC does not require central nervous reorganization. Therefore, as a first step in our "localization process" of the structures involved in force field adaptation, the present study will address the contribution of changes occurring at the level of the motoneuron pool

¹Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration (CIRRIS), Université Laval, Quebec city, Canada

² Professor, CIRRIS and Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec city, Canada

³ Associate Professor , CIRRIS and Department of Rehabilitation, Université Laval, Quebec city, Canada

(AGC). Our hypothesis is that if AGC cannot fully predict the changes measured in cutaneous reflex responses, then pre-motoneuronal structures (e.g. spinal interneurons, transcortical loops, etc) must also be involved in the process of force field adaptation.

4. METHODS

Five healthy human subjects (age: 23-35 years), with no history of neurological or orthopedic problems participated in the study. All participants gave informed consent to their participation in the study previously approved by the local ethics committee. The force field (3.7-4.5 Nm) was generated by an elastic tubing (Theraband™ "silver") attached to the back of a modified ankle foot orthosis. Surface electrodes were placed over the TA muscle to record electromyographic (EMG) activity according to the SENIAM recommendations (Freriks et al., 1999). Cutaneous reflexes were evoked by stimulating the sural nerve near the lateral malleolus using non noxious transcutaneous stimulation (5 pulse-train, 1 ms pulse width, 200 Hz; 2.5 x radiating threshold, constant current). Subjects walked on a treadmill at constant speed (4 km/h), before (10 min), during (15 min), and after (5 min) exposure to the force field with the instruction to « walk normally while resisting the force ». A total of 160 stimuli were delivered at equal spacing over the gait cycle. Figure 1 summarizes the protocol used in the present study. Cutaneous reflexes were evoked during control walking (no force field) and during steady-state walking with the force field. Custom-designed signal processing software was used offline (Bagna and Bouyer 2008) to identify and analyze the cutaneous reflexes evoked in the TA muscle. The gait cycle was time normalized and divided into 16 bins of equal width and the amplitude of the excitatory (positive responses) and inhibitory (negative responses) reflex responses evoked within each bin (approximately 10 responses per bin) were averaged separately. Background TA EMG activity was also estimated for each bin, based on averages of non-stimulated gait cycles.

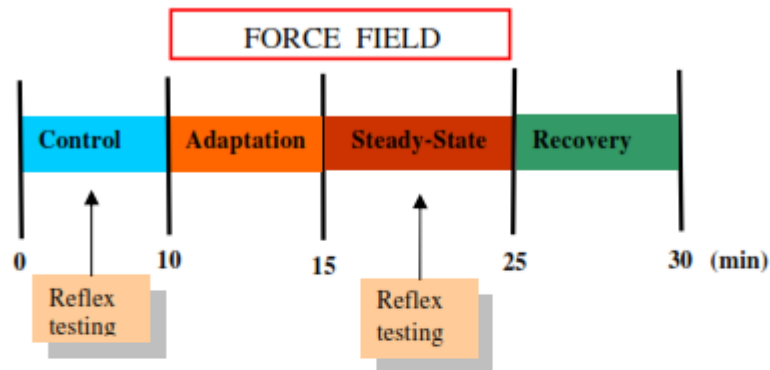


Figure 1: Experimental protocol for cutaneous reflex testing. Reflexes were evoked during control walking prior to force field exposure and in the force field, after an initial adaptation period of five minutes.

5. RESULTS

5.1 Reflex stability testing

Before comparing cutaneous reflexes obtained during control and force field walking, the inter-session stability of the responses was tested during 3 consecutive control walking sessions in one subject (Figure 2). For the sake of clarity, background EMG activity and reflex responses were expressed as percentage of the first session.

One can see that the normalized background TA EMG activity was stable from session to session (Figure 2A). For the evoked reflex responses, while there is an intrinsic variability from session to session, the differences were not statistically significant as sessions two and three lay within the confidence interval (CI: calculated using the two-tailed t-test method) of session one results.

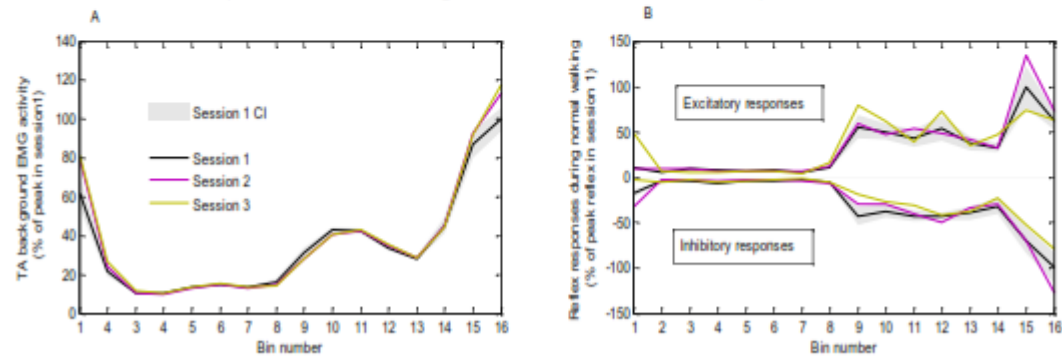


Figure 2: Stability testing: A: Background TA EMG during 3 sessions of normal walking. B: Excitatory and inhibitory reflex responses show similar patterns over the 3 test sessions and did not differ significantly.

5.2 Force Field Exposure versus Baseline

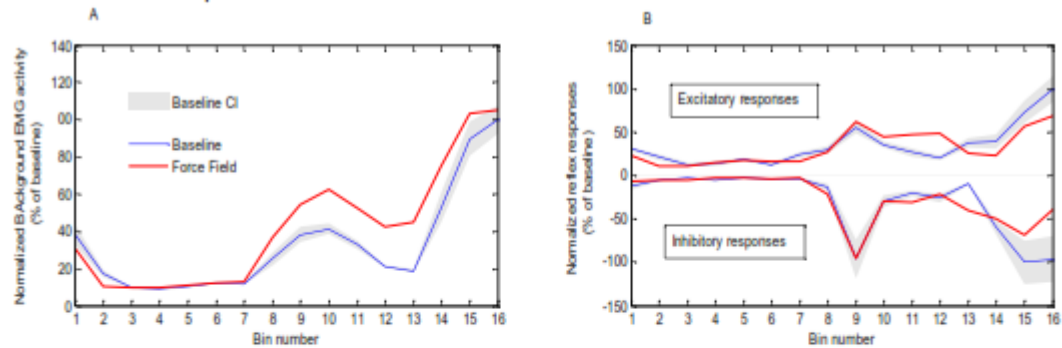


Figure 3: Force field versus control walking A: Background EMG activity. B: Reflex responses

Background TA EMG and reflex responses obtained during steady state walking with the force field (percentage of peak control value) were compared to the same signals obtained during control walking. Figure 3 shows background TA EMG activity for the two sessions in subject 1. Background TA EMG activity is significantly increased during walking while resisting the force, as reported previously (Alain and Bouyer, 2005). Reflex responses shown in Figure 3B demonstrate different patterns in the reflex activity and significant differences in several bins. The changes in the reflex responses are not directly correlated to the changes in background EMG activity and differ for excitatory and inhibitory responses.

The results for all subjects are presented in Figure 4. To allow comparison, differences between force field and control data are presented for each bin. In all subjects tested, a significant increase in background TA EMG activity was measured during the swing phase. Changes in the

reflex responses observed during force field exposure did not correlate to changes in background TA EMG activity as was shown in Figure 3 for subject 1. Finally, excitatory and inhibitory reflexes varied independently across bins as well as between subjects.

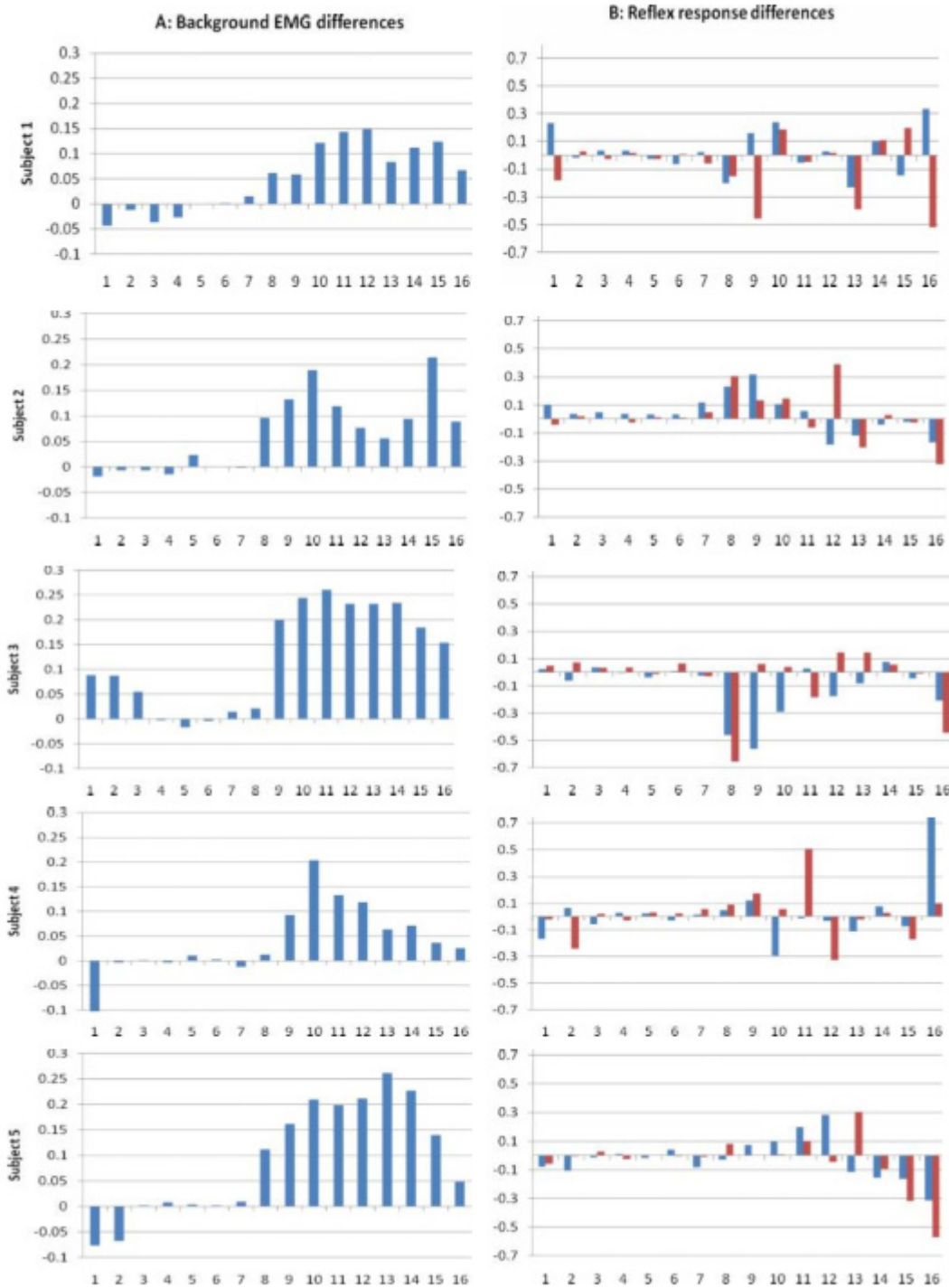


Figure 4: Differences (Force Field - Control) in background EMG activity (A) and reflex responses (B) in all subjects. Excitatory (blue) and Inhibitory (red) reflex response differences.

5.3 Simulation of Automatic Gain Control

As presented above, the measured changes in cutaneous reflex responses during force field walking did not correlate with the changes measured in background EMG activity. We used a model to analyze and quantify the difference between responses expected from Automatic Gain Control and the actual responses measured. This comparison enables inference of the type of pre-motoneural modification (increased excitation, reduced inhibition, etc) that was likely used by the central nervous system circuitry.

If Automatic Gain Control was to account for all the changes reported in reflex responses, the modulation in reflex activity should be predicted by the modulation in background EMG activity. Let's set:

$$K = \frac{\text{Force Field Background EMG}}{\text{Baseline Background EMG}} \quad (1)$$

the gain relating EMG amplitude during force field exposure to control walking. Using this equation, simulated reflex activity becomes:

$$\text{Simulated Force Field Reflex} = K * \text{Baseline Reflex} \quad (2)$$

The simulated reflex responses are superimposed on actual responses in Figure 5. It can be seen that the two traces differ significantly. Furthermore, in all subjects tested, the simulated reflexes are usually larger than the actual reflexes. We therefore hypothesize that a premotoneural down regulation could be involved during force field adaptation.

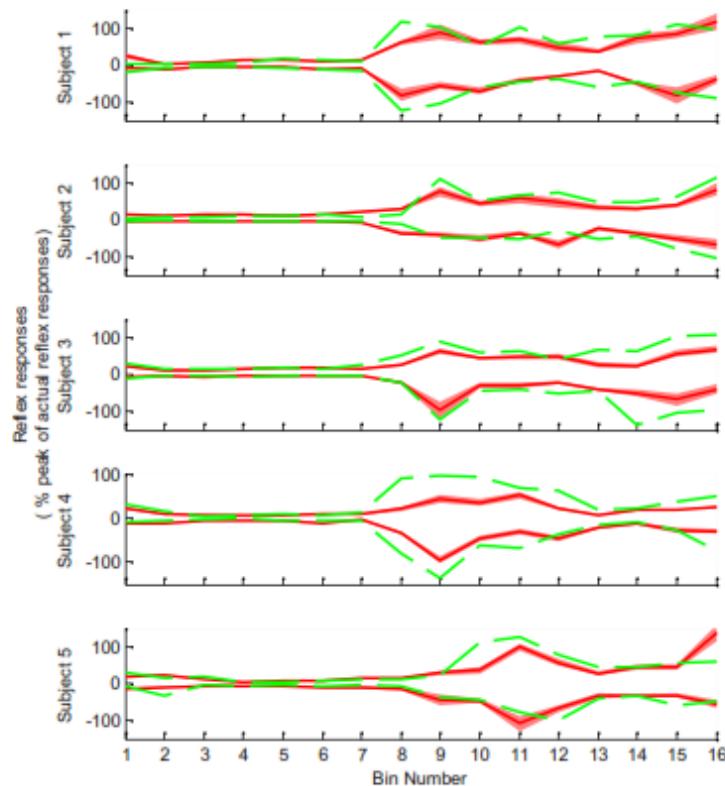


Figure 5: Simulated reflexes (green-dashed lines) compared to actual (red solid lines) evoked responses in subjects 1 to 5.

6. DISCUSSION

Our results suggest that the changes in cutaneous reflex response amplitude measured during walking in a force field could not be fully explained by AGC. Therefore, central neural reorganization had to occur at sites prior to the motoneuron pool. Based on computer simulations, the fact that actual reflexes were smaller than predicted by AGC suggests that pre-motoneuronal processing tended to reduce overall response amplitude, a process called "down regulation". Now that our model can take into account ACG effects, the next step in the "localization process" of the neural structures involved in force field adaptation will be to define which of the 3 reflex responses evoked by cutaneous stimulation during walking is most affected.

7. REFERENCES

1. Alain, S, Cantin, B, & Bouyer, L.J.G. Human cutaneous reflexes while walking in an elastic force field applied to the ankle. Society for Neuroscience Abstracts, 2005; 864.12.
2. Burke RE. The use of state-dependent modulation of spinal reflexes as a tool to investigate the organization of spinal interneurons. *Exp. Brain Res.*, 1999; 128: 263-77.
3. Yang JF, Stein RB. Phase-dependent reflex reversal in human leg muscles during walking. *J. Neurophysiol.*, 1990; 63: 1109-17
4. Duysens J, Toebak M, van Wezel BMH, Berger W. Short- (P1) and medium-latency (P2) cutaneous reflexes show different phase-dependent modulation during human walking. *Journal of Physiology-London*, 1997
5. Christensen LO, Morita H, Petersen N, Nielsen J. Evidence suggesting that a transcortical reflex pathway contributes to cutaneous reflexes in the tibialis anterior muscle during walking in man. *Exp. Brain Res.*, 1999; 124: 59-68.
6. Matthews PB, Observations on the Automatic Compensation of Reflex gain on Varying the Pre-existing Level of Motor Discharge in Man, *J. Physiol.* 1986; 374, pp. 73-90
7. Freriks B, Hermens H, Disselhorst-Klug C and Rau G, The recommendations for sensors and sensor placement procedures for surface electromyography. In: SENIAM 8: European recommendations for surface electromyography. H. Hermens, L. Freriks, R. Merletti, G. Hägg, D. Stegeman, J. Blok, G. Rau and C. Disselhorst-Klugs, Editors, Roessingh Research and Development BV, Enschede, The Netherlands, 1999; pp. 15-53
8. Bagna M, Bouyer LJ, An automatic method to analyse single-response cutaneous reflexes during human locomotion. Society for Neuroscience Abstracts, 2008; 377.4

This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC); MB received a Studentship from Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ).

ANNEXE B

Formulaires pour le projet sur le champ de force

FEUILLET D'INFORMATION

ET

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ

(N-REF-C)

TITRE DU PROJET :

Effets de l'entraînement locomoteur en présence de forces externes sur la modulation des réflexes cutanés.

CHERCHEUR RESPONSABLE :

Docteur Laurent Bouyer, Ph.D.

Professeur associé, Dép. Réadaptation, Univ. Laval

Chercheur régulier, CIRRS

IRD PQ-Site François-Charon
525, boulevard Wilfrid-Hamel,
Québec (Québec) G1M 2S8
Téléphone : (418) 529-9141 poste 6661
Fax : (418) 529-3548

Projet de recherche approuvé par le comité d'éthique de la recherche de l'IRD PQ le _____

RENSEIGNEMENTS GÉNÉRAUX ET BUTS DE L'ÉTUDE

Chez l'homme, bien peu est connu présentement sur la capacité de récupération de la marche suite à un accident ou une maladie affectant le système nerveux (cerveau et moelle épinière). L'entraînement sur tapis roulant semble être bénéfique au blessé parce qu'il amène des changements, que l'on dit compensatoires, au niveau des parties restantes en bon état dans le système nerveux malade. Le thème de recherche dans mon laboratoire est de mieux comprendre les mécanismes de compensation qui sont responsables de la récupération de la marche suite à un tel entraînement sur tapis roulant.

Le but général de ce projet est de comprendre comment le système nerveux s'adapte à des changements environnementaux particuliers qui auront un effet sur la marche. Il s'agit donc plus précisément d'apprendre comment change l'un des mécanismes de compensation du système nerveux chez un sujet sain sans déficit neurologique, lorsqu'il s'adapte à une situation qui lui demande de modifier sa façon de marcher. Le mécanisme particulier que nous allons étudier porte le nom de *réflexes cutanés*. Ce sont des *réactions réflexes* qui sont déclenchées par une *stimulation cutanée de la peau*, c'est-à-dire par une sensation de toucher. Il s'agira donc de réflexes déclenchés par une stimulation électrique non-douloureuse (sensation de toucher) de la peau du pied. Ceci nous permettra d'étudier le mécanisme mentionné ci-haut.

NATURE DE LA PARTICIPATION

Si vous acceptez de participer à cette étude, il vous sera demandé de marcher sur un tapis roulant avec une orthèse articulée au niveau de votre cheville, sur laquelle sera fixé un élastique reliant le bout de votre pied et l'orthèse au niveau du tibia. De plus, des électrodes de stimulation seront disposées sur votre jambe près de votre cheville. Vous devrez vous présenter au laboratoire pour un nombre prédéfini allant de 5 à un maximum de 10 séances, d'une durée approximative de 3 heures chacune, réparties sur 3 semaines. Chacune de ses séances sera enregistrée sur vidéo. Au cours de ces périodes, vous serez familiarisé avec l'équipement et participerez à 3 séquences d'enregistrement de données de marche, qui dureront environ 20 à 25 minutes. Chaque séance aura un déroulement semblable : premièrement nous installerons les électrodes de surface, d'enregistrement et de stimulation, sur les deux jambes ainsi que les goniomètres pour mesurer les angles au genou et à la cheville. Cette première étape se déroule sur une période de 30 minutes. Ensuite viendront les séquences de marche sur le tapis.

RISQUES POTENTIELS ET AVANTAGES POSSIBLES

Le premier risque potentiel est dû à l'utilisation de la stimulation électrique. Il est contrôlé. Le stimulateur est limité en courant et laisse passer au maximum 150 mA de courant électrique, ce qui est de beaucoup sous l'intensité de courant nécessaire pour causer un dommage quelconque à l'organisme. De plus, vous êtes isolé du stimulateur et de tout autre source de courant grâce à un isolateur optique de grande qualité. Nous sommes intéressés par les effets d'une sensation de toucher, et non par ceux de la douleur sur la marche. Les stimulations utilisées seront donc de faible intensité et ne causeront pas de douleur. Cependant vous sentirez un léger pincement, qui chez certains participants pourrait devenir source d'un certain inconfort.

Le mouvement des jambes sera mesuré avec un système d'électrogoniomètres qui enregistrera les angles de la cheville et du genou. Ils ne causent pas d'inconfort.

Projet de recherche approuvé par le comité d'éthique de la recherche de l'IRDPQ le _____

Les réflexes seront évalués en mesurant l'activité de 14 muscles, à l'aide d'électrodes de surface. Celles-ci sont auto-adhésives et d'usage unique. L'adhésif est hypoallergène, mais une légère rougeur peut cependant apparaître sur la peau pour quelques heures après l'exercice si vous avez la peau très sensible.

L'orthèse munie de l'élastique pourrait également augmenter les risques de chute pendant la marche sur le tapis roulant. Ce risque sera réduit par le port d'un harnais commercial qui sera ajusté non pas pour vous soutenir, mais pour vous rattraper en cas de chute.

Cette étude permettra de mieux comprendre certains des mécanismes utilisés par le cerveau pour compenser les effets des changements ayant lieu pendant la marche. Elle est importante car elle aidera à développer de nouvelles méthodes de réadaptation de la marche pour des sujets ayant un déficit neurologique, qui seront plus efficaces et mieux adaptées.

DROITS DU PARTICIPANT

La participation à cette étude est sur une base volontaire. Vous avez le droit de vous retirer du projet à tout moment, et ce, sans préjudice.

QUESTIONS AU SUJET DE L'ÉTUDE

Pour toute question supplémentaire, ou pour signaler un changement de condition inhabituel (douleur, prise de médicaments, effets secondaires, etc.), veuillez contacter le Dr. Bouyer au 529-9141 poste 6661.

Pour des questions d'ordre éthique veuillez communiquer avec Mme Johanne Trahan au 529-9141 poste 6036.

COMPENSATION

Les frais de déplacement (taxi ou stationnement à l'IRDPQ) ainsi que les repas du midi, lorsque applicable, vous seront remboursés par le responsable du projet sur présentation des reçus.

CONFIDENTIALITÉ ET UTILISATION DES RÉSULTATS

La confidentialité des informations recueillies sera assurée et respectée. Les données de cette étude seront seulement utilisées à des fins scientifiques, lors de présentations à des conférences et dans des publications scientifiques avec comité de lecture. Un système de codification est en place au laboratoire, de façon à identifier chaque sujet sans en référer à son nom. Les images vidéo enregistrées au laboratoire serviront uniquement à l'analyse qualitative du comportement locomoteur. Cette analyse est nécessaire pour mettre en perspective les analyses détaillées faites à l'aide du système de détection du mouvement. Les enregistrements vidéo seront conservés pour une période maximale de 5 ans. Si un besoin particulier nécessite leur garde pour une plus longue période, vous serez contacté et déciderez si vous permettez le prolongement de l'utilisation de vos données. Les dossiers de recherche contenant les renseignements personnels et les images vidéo sont conservés sous clé, et seul le chercheur principal et son équipe y ont accès.

Projet de recherche approuvé par le comité d'éthique de la recherche de l'IRDPQ le _____

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Titre du projet : *Effets de l'entraînement locomoteur en présence de forces externes sur la modulation des réflexes cutanés.*

Responsable du projet : Docteur Laurent Bouyer, Ph.D.

- 1) On m'a informé(e) de la nature et des buts de ce projet de recherche, ainsi que de son déroulement.
- 2) On m'a informé(e) des risques et inconvénients associés à ma participation.
- 3) Ma participation à cette étude est volontaire et je peux me retirer en tout temps sans préjudice.
- 4) Les données de cette étude seront traitées en toute confidentialité et elles ne seront utilisées qu'à des fins scientifiques par les partenaires identifiés au formulaire d'information.
- 5) J'ai pu poser toutes les questions voulues concernant ce projet et j'ai obtenu des réponses satisfaisantes.
- 6) Ma décision de participer à cette étude ne libère ni les chercheurs, ni l'établissement hôte de leurs obligations professionnelles et légales envers moi.
- 7) Je sais qu'aucune rémunération n'est rattachée à ma participation.

8) On m'a remis un exemplaire du feuillet d'information et du formulaire de consentement.

9) J'ai lu le présent formulaire et je consens volontairement à participer à cette étude.

Nom du sujet Date Signature

Nom du chercheur Date Signature

*Nom du témoin Date Signature

***Sauf exemption à cet effet**

Bibliographie

Bagna M, Bouyer LJ, Richards CL, Field-Fote EC (2011) Effects of Whole Body Vibration on cutaneous reflexes evoked during walking in persons with Incomplete Spinal Cord injury and non-disabled controls.

Bagna M, Bouyer LJ (2008) An automatic method to analyse single-response cutaneous reflexes during human locomotion.

Bagna M, Bouyer LJ (2011) A new approach for detecting and analyzing cutaneous reflexes during locomotion. *J Neurophysiol* 105:1406-1415.

Bagna M, Bouyer LJ, Richards CL (2010) Modifications in cutaneous reflexes during force field walking in humans: contribution of automatic gain control.

Baken BC, Dietz V, Duysens J (2005) Phase-dependent modulation of short latency cutaneous reflexes during walking in man. *Brain Res* 1031:268-275.

Barthelemy D, Alain S, Grey MJ, Nielsen JB, Bouyer LJ (2012) Rapid changes in corticospinal excitability during force field adaptation of human walking. *Exp Brain Res* 217:99-115.

Bastiaanse CM, Degen S, Baken BC, Dietz V, Duysens J (2006) Suppression of cutaneous reflexes by a conditioning pulse during human walking. *Exp Brain Res* 172:67-76.

Bastian AJ (2008) Understanding sensorimotor adaptation and learning for rehabilitation. *Curr Opin Neurol* 21:628-633.

Bernard G, Bouyer L, Provencher J, Rossignol S (2007) Study of cutaneous reflex compensation during locomotion after nerve section in the cat. *J Neurophysiol* 97:4173-4185.

Blanchette A, Bouyer LJ (2009) Timing-specific transfer of adapted muscle activity after walking in an elastic force field. *J Neurophysiol* 102:568-577.

Blanchette A, Lambert S, Richards CL, Bouyer LJ (2011) Walking while resisting a perturbation: Effects on ankle dorsiflexor activation during swing and potential for rehabilitation. *Gait Posture* 34:358-363.

Blanchette A, Moffet H, Roy JS, Bouyer LJ (2012) Effects of repeated walking in a perturbing environment: a 4-day locomotor learning study. *J Neurophysiol* 108:275-284.

Borg GA (1982) Psychophysical basis of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 14:377-381.

Bouyer LJ (2005) Animal models for studying potential training strategies in persons with spinal cord injury. *J Neurol Phys Ther* 29:117-125.

Bouyer LJ (2011) Chapter 8--challenging the adaptive capacity of rhythmic movement control: from denervation to force field adaptation. *Prog Brain Res* 188:119-134.

Brinkworth RS, Turker KS (2003) A method for quantifying reflex responses from intramuscular and surface electromyogram. *J Neurosci Methods* 122:179-193.

Burke RE (1999) The use of state-dependent modulation of spinal reflexes as a tool to investigate the organization of spinal interneurons. *Exp Brain Res* 128:263-277.

Burke RE, Degtyarenko AM, Simon ES (2001) Patterns of locomotor drive to motoneurons and last-order interneurons: clues to the structure of the CPG. *J Neurophysiol* 86:447-462.

Capaday C (1997) Neurophysiological methods for studies of the motor system in freely moving human subjects. *J Neurosci Methods* 74:201-218.

Cardinale M, Lim J (2003) Electromyography activity of vastus lateralis muscle during whole-body vibrations of different frequencies. *Journal of Strength and Conditioning Research* 17:621-624.

Carp JS, Wolpaw JR (1994) Motoneuron plasticity underlying operantly conditioned decrease in primate H-reflex. *J Neurophysiol* 72:431-442.

Choi JT, Bastian AJ (2007) Adaptation reveals independent control networks for human walking. *Nat Neurosci* 10:1055-1062.

Choi JT, Vining EP, Reisman DS, Bastian AJ (2009) Walking flexibility after hemispherectomy: split-belt treadmill adaptation and feedback control. *Brain* 132:722-733.

Christensen LO, Morita H, Petersen N, Nielsen J (1999) Evidence suggesting that a transcortical reflex pathway contributes to cutaneous reflexes in the tibialis anterior muscle during walking in man. *Exp Brain Res* 124:59-68.

Christensen LO, Petersen N, Andersen JB, Sinkjaer T, Nielsen JB (2000) Evidence for transcortical reflex pathways in the lower limb of man. *Prog Neurobiol* 62:251-272.

Cote MP, Gossard JP (2004) Step training-dependent plasticity in spinal cutaneous pathways. *J Neurosci* 24:11317-11327.

Cramer SC (2011) An overview of therapies to promote repair of the brain after stroke. *Head Neck* 33 Suppl 1:S5-S7.

De Serres SJ, Yang JF, Patrick SK (1995) Mechanism for reflex reversal during walking in human tibialis anterior muscle revealed by single motor unit recording. *J Physiol* 488 (Pt 1):249-258.

Del Pozo-Cruz B, Adsuar JC, Parraca JA, Del Pozo-Cruz J, Olivares PR, Gusi N (2012) Using whole-body vibration training in patients affected with common neurological diseases: a systematic literature review. *J Altern Complement Med* 18:29-41.

- Drew T, Rossignol S (1987) A kinematic and electromyographic study of cutaneous reflexes evoked from the forelimb of unrestrained walking cats. *J Neurophysiol* 57:1160-1184.
- Duysens J, Bastiaanse CM, Smits-Engelsman BC, Dietz V (2004) Gait acts as a gate for reflexes from the foot. *Can J Physiol Pharmacol* 82:715-722.
- Duysens J, Pearson KG (1976) The role of cutaneous afferents from the distal hindlimb in the regulation of the step cycle of thalamic cats. *Exp Brain Res* 24:245-255.
- Duysens J, Tax AA, Murrer L, Dietz V (1996) Backward and forward walking use different patterns of phase-dependent modulation of cutaneous reflexes in humans. *J Neurophysiol* 76:301-310.
- Duysens J, Tax AA, Trippel M, Dietz V (1992) Phase-dependent reversal of reflexly induced movements during human gait. *Exp Brain Res* 90:404-414.
- Duysens J, Tax AA, Trippel M, Dietz V (1993) Increased amplitude of cutaneous reflexes during human running as compared to standing. *Brain Res* 613:230-238.
- Duysens J, Trippel M, Horstmann GA, Dietz V (1990) Gating and reversal of reflexes in ankle muscles during human walking. *Exp Brain Res* 82:351-358.
- Duysens J, Van de Crommert HW, Smits-Engelsman BC, Van der Helm FC (2002) A walking robot called human: lessons to be learned from neural control of locomotion. *J Biomech* 35:447-453.
- Duysens J, Van Wezel BM, Van de Crommert HW, Faist M, Kooloos JG (1998) The role of afferent feedback in the control of hamstrings activity during human gait. *Eur J Morphol* 36:293-299.
- Edamura M, Yang JF, Stein RB (1991) Factors That Determine the Magnitude and Time Course of Human H-Reflexes in Locomotion. *Journal of Neuroscience* 11:420-427.
- Emken JL, Reinkensmeyer DJ (2005) Robot-enhanced motor learning: accelerating internal model formation during locomotion by transient dynamic amplification. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 13:33-39.
- Eng JJ, Winter DA, Patla AE (1994) Strategies for recovery from a trip in early and late swing during human walking. *Exp Brain Res* 102:339-349.
- Enzinger C, Dawes H, Johansen-Berg H, Wade D, Bogdanovic M, Collett J, Guy C, Kischka U, Ropele S, Fazekas F, Matthews PM (2009) Brain activity changes associated with treadmill training after stroke. *Stroke* 40:2460-2467.
- Forsberg H, Grillner S, Rossignol S (1975) Phase dependent reflex reversal during walking in chronic spinal cats. *Brain Res* 85:103-107.
- Fortin K, Blanchette A, McFadyen BJ, Bouyer LJ (2009) Effects of walking in a force field for varying durations on aftereffects and on next day performance. *Exp Brain Res* 199:145-155.

Frigon A, Rossignol S (2007) Plasticity of reflexes from the foot during locomotion after denervating ankle extensors in intact cats. *J Neurophysiol* 98:2122-2132.

Frigon A, Rossignol S (2008a) Adaptive changes of the locomotor pattern and cutaneous reflexes during locomotion studied in the same cats before and after spinalization. *J Physiol* 586:2927-2945.

Frigon A, Rossignol S (2008b) Locomotor and reflex adaptation after partial denervation of ankle extensors in chronic spinal cats. *J Neurophysiol* 100:1513-1522.

Fung J, Barbeau H (1994) Effects of Conditioning Cutaneomuscular Stimulation on the Soleus H-Reflex in Normal and Spastic Paretic Subjects During Walking and Standing. *Journal of Neurophysiology* 72:2090-2104.

Grey MJ, Mazzaro N, Nielsen JB, Sinkjaer T (2004) Ankle extensor proprioceptors contribute to the enhancement of the soleus EMG during the stance phase of human walking. *Can J Physiol Pharmacol* 82:610-616.

Hagbarth KE (1952) Excitatory and inhibitory skin areas for flexor and extensor motoneurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 26:1-58.

Haridas C, Zehr EP, Misiaszek JE (2005) Postural uncertainty leads to dynamic control of cutaneous reflexes from the foot during human walking. *Brain Res* 1062:48-62.

Hermens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G (2000) Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 10:361-374.

Hoogkamer W, Massaad F, Jansen K, Bruijn SM, Duysens J (2012) Selective bilateral activation of leg muscles after cutaneous nerve stimulation during backward walking. *J Neurophysiol* 108:1933-1941.

Hopkins JT, Fredericks D, Guyon PW, Parker S, Gage M, Feland JB, Hunter I (2009) Whole Body Vibration Does Not Potentiate the Stretch Reflex. *International Journal of Sports Medicine* 30:124-129.

Jones CA, Yang JF (1994) Reflex behavior during walking in incomplete spinal-cord-injured subjects. *Exp Neurol* 128:239-248.

Kido A, Tanaka N, Stein RB (2004) Spinal reciprocal inhibition in human locomotion. *J Appl Physiol* (1985) 96:1969-1977.

Kipp K, Johnson ST, Doeringer JR, Hoffman MA (2011) Spinal Reflex Excitability and Homosynaptic Depression After A Bout of Whole-Body Vibration. *Muscle & Nerve* 43:259-262.

Komiyama T, Zehr EP, Stein RB (2000) Absence of nerve specificity in human cutaneous reflexes during standing. *Exp Brain Res* 133:267-272.

Lackner JR, Dizio P (1994) Rapid adaptation to Coriolis force perturbations of arm trajectory. *J Neurophysiol* 72:299-313.

Lam T, Anderschitz M, Dietz V (2006) Contribution of feedback and feedforward strategies to locomotor adaptations. *J Neurophysiol* 95:766-773.

Lamont EV, Zehr EP (2006) Task-specific modulation of cutaneous reflexes expressed at functionally relevant gait cycle phases during level and incline walking and stair climbing. *Exp Brain Res* 173:185-192.

Lavigne G, Frysinger R, Lund JP (1983) Human factors in the measurement of the masseteric silent period. *J Dent Res* 62:985-988.

Lippert-Gruner M (2010) Early rehabilitation of comatose patients after traumatic brain injury. *Neurol Neurochir Pol* 44:475-480.

Lippert-Gruner M, Maegele M, Pokorny J, Angelov DN, Svestkova O, Wittner M, Trojan S (2007) Early rehabilitation model shows positive effects on neural degeneration and recovery from neuromotor deficits following traumatic brain injury. *Physiol Res* 56:359-368.

Malone LA, Vasudevan EV, Bastian AJ (2011) Motor adaptation training for faster relearning. *J Neurosci* 31:15136-15143.

Marino RJ, Barros T, Biering-Sorensen F, Burns SP, Donovan WH, Graves DE, Haak M, Hudson LM, Priebe MM, ASIA Neurological Standards Committee 2002 (2003) International standards for neurological classification of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 26:S50-S56.

Matthews PB (1986) Observations on the automatic compensation of reflex gain on varying the pre-existing level of motor discharge in man. *J Physiol* 374:73-90.

Miyai I, Suzuki M, Hatakenaka M, Kubota K (2006) Effect of body weight support on cortical activation during gait in patients with stroke. *Exp Brain Res* 169:85-91.

Morita H, Crone C, Christenhuis D, Petersen N, Nielsen J (2001) Modulation of presynaptic inhibition and disynaptic reciprocal Ia inhibition during voluntary movement in spasticity. pp 826-837.

Nakajima T, Sakamoto M, Tazoe T, Endoh T, Komiyama T (2006) Location specificity of plantar cutaneous reflexes involving lower limb muscles in humans. *Exp Brain Res* 175:514-525.

Ness LL, Field-Fote EC (2009a) Effect of whole-body vibration on quadriceps spasticity in individuals with spastic hypertonia due to spinal cord injury. *Restor Neurol Neurosci* 27:621-631.

Ness LL, Field-Fote EC (2009b) Whole-body vibration improves walking function in individuals with spinal cord injury: a pilot study. *Gait Posture* 30:436-440.

Nielsen J, Petersen N, Fedirchuk B (1997) Evidence suggesting a transcortical pathway from cutaneous foot afferents to tibialis anterior motoneurons in man. *J Physiol* 501 (Pt 2):473-484.

Nielsen JB, Sinkjaer T (2002) Afferent feedback in the control of human gait. *J Electromyogr Kinesiol* 12:213-217.

Noble JW, Prentice SD (2008) Intersegmental coordination while walking up inclined surfaces: age and ramp angle effects. *Exp Brain Res* 189:249-255.

Noel M, Fortin K, Bouyer LJ (2009) Using an electrohydraulic ankle foot orthosis to study modifications in feedforward control during locomotor adaptation to force fields applied in stance. *J Neuroeng Rehabil* 6:16.

Nooijen CFJ, ter Hoeve N, Field-Fote EC (2009) Gait quality is improved by locomotor training in individuals with SCI regardless of training approach. *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation* 6.

Patterson RM, Stegink Jansen CW, Hogan HA, Nassif MD (2001) Material properties of Thera-Band Tubing. *Phys Ther* 81:1437-1445.

Perez MA, Floeter MK, Field-Fote EC (2004) Repetitive sensory input increases reciprocal Ia inhibition in individuals with incomplete spinal cord injury. pp 114-121.

Perry J, Burnfield J (2010) *Gait Analysis: Normal and Pathological Function*.

Petersen N, Christensen LO, Morita H, Sinkjaer T, Nielsen J (1998) Evidence that a transcortical pathway contributes to stretch reflexes in the tibialis anterior muscle in man. *J Physiol* 512 (Pt 1):267-276.

Petersen TH, Willerslev-Olsen M, Conway BA, Nielsen JB (2012) The motor cortex drives the muscles during walking in human subjects. *J Physiol* 590:2443-2452.

Pijnappels M, Van Wezel BM, Colombo G, Dietz V, Duysens J (1998) Cortical facilitation of cutaneous reflexes in leg muscles during human gait. *Brain Res* 787:149-153.

Pruszynski JA, Kurtzer I, Lillicrap TP, Scott SH (2009) Temporal evolution of "automatic gain-scaling". *J Neurophysiol* 102:992-1003.

Pruszynski JA, Kurtzer I, Scott SH (2011) The long-latency reflex is composed of at least two functionally independent processes. *J Neurophysiol* 106:449-459.

Raschilas F, Blain H (2010) [What can we think about whole-body-vibration in elderly people?]. *Presse Med* 39:1032-1037.

Reisman DS, Bastian AJ, Morton SM (2010) Neurophysiologic and rehabilitation insights from the split-belt and other locomotor adaptation paradigms. *Phys Ther* 90:187-195.

Reisman DS, Wityk R, Silver K, Bastian AJ (2007) Locomotor adaptation on a split-belt treadmill can improve walking symmetry post-stroke. *Brain* 130:1861-1872.

Rogan S, Hilfiker R, Herren K, Radlinger L, de Bruin ED (2011) Effects of whole-body vibration on postural control in elderly: a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatrics* 11.

- Rogasch NC, Burne JA, Turker KS (2012) Comparison of the inhibitory response to tendon and cutaneous afferent stimulation in the human lower limb. *J Neurophysiol* 107:564-572.
- Rossignol S, Dubuc R, Gossard JP (2006) Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev* 86:89-154.
- Sakamoto M, Endoh T, Nakajima T, Tazoe T, Shiozawa S, Komiyama T (2006) Modulations of interlimb and intralimb cutaneous reflexes during simultaneous arm and leg cycling in humans. *Clin Neurophysiol* 117:1301-1311.
- Sayenko DG, Masani K, Alizadeh-Meghbrazi M, Popovic MR, Craven BC (2010) Acute effects of whole body vibration during passive standing on soleus H-reflex in subjects with and without spinal cord injury. *Neuroscience Letters* 482:66-70.
- Schillings AM, Van Wezel BM, Duysens J (1996) Mechanically induced stumbling during human treadmill walking. *J Neurosci Methods* 67:11-17.
- Shadmehr R, Mussa-Ivaldi FA (1994) Adaptive representation of dynamics during learning of a motor task. *J Neurosci* 14:3208-3224.
- Shadmehr R, Mussa-Ivaldi FA, Bizzi E (1993) Postural force fields of the human arm and their role in generating multijoint movements. *J Neurosci* 13:45-62.
- Sinkjaer T, Andersen JB, Larsen B (1996) Soleus stretch reflex modulation during gait in humans. *J Neurophysiol* 76:1112-1120.
- Sonnenborg FA, Andersen OK, Arendt-Nielsen L (2000) Modular organization of excitatory and inhibitory reflex receptive fields elicited by electrical stimulation of the foot sole in man. *Clin Neurophysiol* 111:2160-2169.
- Stein RB, Capaday C (1988) The modulation of human reflexes during functional motor tasks. *Trends Neurosci* 11:328-332.
- Stein RB, Everaert DG, Roy FD, Chong S, Soleimani M (2013) Facilitation of corticospinal connections in able-bodied people and people with central nervous system disorders using eight interventions. *J Clin Neurophysiol* 30:66-78.
- Stein RB, Yang JF, Belanger M, Pearson KG (1993) Modification of reflexes in normal and abnormal movements. *Prog Brain Res* 97:189-196.
- Torres-Oviedo G, Vasudevan E, Malone L, Bastian AJ (2011) Locomotor adaptation. *Prog Brain Res* 191:65-74.
- Tucker KJ, Tuncer M, Turker KS (2005) A review of the H-reflex and M-wave in the human triceps surae. *Hum Mov Sci* 24:667-688.
- van Nes IJ, Geurts AC, Hendricks HT, Duysens J (2004) Short-term effects of whole-body vibration on postural control in unilateral chronic stroke patients: preliminary evidence. *Am J Phys Med Rehabil* 83:867-873.

Van Wezel BM, Ottenhoff FA, Duysens J (1997) Dynamic control of location-specific information in tactile cutaneous reflexes from the foot during human walking. *J Neurosci* 17:3804-3814.

Winter DA (1987) *The biomechanics and motor control of human gait*. University of Waterloo Press.

Wolpaw JR, Tennissen AM (2001) Activity-dependent spinal cord plasticity in health and disease. *Annu Rev Neurosci* 24:807-843.

Yang JF, Fung J, Edamura M, Blunt R, Stein RB, Barbeau H (1991) H-Reflex Modulation During Walking in Spastic Paretic Subjects. *Canadian Journal of Neurological Sciences* 18:443-452.

Yang JF, Stein RB (1990) Phase-dependent reflex reversal in human leg muscles during walking. *J Neurophysiol* 63:1109-1117.

Zabukovec JR, Boyd LA, Linsdell MA, Lam T (2013) Changes in corticospinal excitability following adaptive modification to human walking. *Exp Brain Res* 226:557-564.

Zehr EP (2005) Neural control of rhythmic human movement: the common core hypothesis. *Exerc Sport Sci Rev* 33:54-60.

Zehr EP (2006) Training-induced adaptive plasticity in human somatosensory reflex pathways. *J Appl Physiol* (1985) 101:1783-1794.

Zehr EP, Hesketh KL, Chua R (2001) Differential regulation of cutaneous and H-reflexes during leg cycling in humans. *J Neurophysiol* 85:1178-1184.

Zehr EP, Hundza SR, Balter JE, Loadman PM (2009) Context-dependent modulation of cutaneous reflex amplitudes during forward and backward leg cycling. *Motor Control* 13:368-386.

Zehr EP, Komiyama T, Stein RB (1997) Cutaneous reflexes during human gait: electromyographic and kinematic responses to electrical stimulation. *J Neurophysiol* 77:3311-3325.

Zehr EP, Stein RB (1999) What functions do reflexes serve during human locomotion? *Prog Neurobiol* 58:185-205.

Zehr EP, Stein RB, Komiyama T (1998) Function of sural nerve reflexes during human walking. *J Physiol* 507 (Pt 1):305-314.