

## Viabilidade da estimulação elétrica vagal com pulsos bifásicos

**Autores: Amanda Rodrigues Correa Frota Gomes<sup>1</sup>, Daniel Penteado Martins Dias<sup>1</sup>**

**Colaboradores: Leonardo Guimarães Subar<sup>1</sup>, Raianne Stéfane Dias Ribeiro<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup>Centro Universitário Barão de Mauá**

*amandafrotagomes@gmail.com, daniel.penteado@baraodemaua.br,  
leonardogsubar@hotmail.com, raiannestefanemed@gmail.com*

### Resumo

A estimulação elétrica de vias neurais vem sendo utilizada no tratamento de condições clínicas há muitos anos. O presente estudo avaliou a bradicardia decorrente da estimulação elétrica vagal em ratos utilizando um regime de pulsos bifásicos. Observou-se que a estimulação vagal foi eficaz em promover bradicardia consistente sem perda de magnitude ao longo dos sucessivos estímulos. Esses achados são importantes para o aprimoramento da técnica terapêutica.

### Introdução

A estimulação neural tem sido amplamente utilizada no âmbito clínico e experimental (KOOPMAN et al. 2016; BASSI et al. 2015; BASSI et al. 2017; BROGNARA et al. 2018) e baseia-se no conceito fisiológico da diferença de cargas elétricas entre os meios celulares. A permeabilidade celular e a diferença elétrica entre o meio intracelular e o meio extracelular permitem que as células sofram alterações no seu gradiente eletroquímico, podendo gerar um potencial de ação quando houver uma despolarização suficiente para alcançar o limiar de excitabilidade da célula (VOGEL, 2017).

Ao se posicionar eletrodos bipolares nas fibras neurais, as mesmas sofrem despolarização sob o cátodo e hiperpolarização sob o ânodo. Uma vez hiperpolarizada nesta região, o potencial de ação é incapaz de se propagar ao longo da via neural no sentido do ânodo (VOGEL, 2017). Nesta situação, a condução do sinal nervoso terá uma direção específica possibilitando a observação das respostas desejadas (HALL; GUYTON, 2011).

Os circuitos neurais são excelentes alvos para intervenções terapêuticas, uma vez que podem ser ativados por diferentes padrões de potenciais de ação, personalizados para o tratamento de cada comorbidade (FAMM et al. 2013). Muitos estudos já mostraram o potencial terapêutico da

estimulação elétrica do nervo vago no tratamento de diversas condições clínicas como a epilepsia, depressão, ansiedade, migrânea, artrite reumatoide e obesidade (VANOLI et al 1991, LI et al 2004, TOSATO et al 2006; VUCKOVIC et al. 2008). A exemplo disso, dispositivos para estimulação elétrica vagal foram criados e têm sido aplicados para o tratamento de algumas dessas condições. A maioria dos pacientes com Epilepsia, por exemplo, conseguem ser tratados com um ou mais medicamentos antiepiléticos. Entretanto, 20-30% sofrerão resistência ao medicamento. A estimulação elétrica do nervo vago (VNS) por meio de dispositivos eletrônicos é frequentemente descrita como um tratamento neuromodulador a longo prazo, de baixo risco, bem tolerável, adjuvante ao tratamento medicamentoso para Epilepsia em crianças e adultos (RÉVÉSZ; FRÓJD; RYDENHAG; BEN-MENACHEM, 2018). Além dos relatos de melhora nas dores referidas (MOISSET et al, 2019). Além disso, a estimulação elétrica vagal melhorou a inflamação e os sinais de severidade da doença em pacientes com artrite reumatóide (KOOPMAN et al. 2016).

A maioria dos estudos experimentais envolvendo estimulação elétrica neural utilizam pulsos monofásicos. No entanto, esse padrão de pulso implica na formação de oxigênio livre e ácido no ânodo, reduzindo o oxigênio dissolvido e formando um meio alcalino no cátodo (MILLAR; BARNETT, 1997). Essa mudança de pH e oxigênio, a longo prazo, pode causar irritação e danos eletrolíticos ao tecido nervoso (MILLAR; BARNETT, 1997). Por esta razão, pulsos monofásicos não são considerados a melhor técnica empregada em protocolos de estimulação elétrica de vias neurais (MILLAR; BARNETT, 1997).

Dessa maneira, para minimizar tais danos, recomenda-se o uso de correntes elétricas com pulsos bifásicos (MILLAR; BARNETT, 1997), uma vez que há simetria no eixo tempo, na escala tempo/amplitude da exposição ao estímulo neural. Sendo assim, a carga resultante no pulso bifásico se torna nula e, portanto, não ocorrem danos

eletrolíticos como observado nos estímulos com pulso monofásico (VUCKOVIC; TOSATO; STRUIJK, 2008).

Assim, a estimulação elétrica de vias neurais por meio de pulsos bifásicos pode ser mais eficiente tanto na resposta do nervo ao estímulo elétrico, quanto na longevidade da preparação, contribuindo com a melhor eficácia da técnica em estudos crônicos e agudos para o desenvolvimento de eletrodos de estimulação neural.

## Objetivos

Avaliar a efetividade e a longevidade da estimulação elétrica do nervo vago com pulsos bifásicos por meio da resposta bradicárdica em ratos anestesiados.

## Métodos

Os protocolos deste estudo foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal do Centro Universitário Barão de Mauá (Nº 344/18; 08 de março de 2019). Foram utilizados ratos Wistar pesando entre 200 g e 250 g (n=3). Os animais foram anestesiados sob a orientação do médico veterinário responsável pela sala de experimentação do Biotério da Unidade Central do Centro Universitário Barão de Mauá (Ribeirão Preto, SP), com auxílio dos estagiários do curso de Ciências Biológicas, com uma mistura de quetamina e xilazina [(50 mg/kg; 10 mg/kg, respectivamente) 0,1 mL/kg; i.m.]. Em seguida, eletrodos para registro do eletrocardiograma foram implantados por meio de dois fios fixados no tecido subcutâneo na região anterior do tórax. Após incisão medial na região cervical ventral, a porção cervical do nervo vago esquerdo foi cuidadosamente isolada com o auxílio de uma lupa cirúrgica e posicionada sobre um par de eletrodos de aço inoxidável para realização do estímulo elétrico do nervo vago.

Os eletrodos para registro do eletrocardiograma foram conectados ao sistema de registro, o qual era composto por um amplificador e conversor analógico-digital (PowerLab 26T, ADInstruments, Bella Vista, Australia) acoplado a um microcomputador portátil. O sistema de registro permitiu o processamento em tempo real dos dados e geração de séries temporais com valores de frequência cardíaca a partir do eletrocardiograma. Todos os equipamentos foram organizados em um aparato metálico móvel, facilitando o posicionamento dos equipamentos em relação aos pesquisadores durante os procedimentos experimentais.

O estimulador elétrico foi programado para gerar pulsos bifásicos com largura de pulso total de 100  $\mu$ s (porção positiva: 50  $\mu$ s e porção negativa: 50

$\mu$ s), com frequência de 10 Hz e tensão máxima de 1 V. O eletrocardiograma foi registrado primeiramente em condições basais para determinação da frequência cardíaca de repouso e, em seguida, foram realizadas três sessões de estimulação elétrica com 30 s de duração cada, com intervalo de 3 min entre as sessões.

Foram quantificadas as respostas bradicárdicas observadas após os 30 s de VNS em cada uma das três sessões de estimulação, considerando-se sempre o valor de frequência cardíaca que antecedia o início da estimulação elétrica como nível basal.

## Resultados

O uso de eletrodos subcutâneos bipolares forneceu registros de eletrocardiograma livres de ruídos, facilitando o reconhecimento dos ciclos cardíacos individuais e identificação de pontos de inflexão que permitiram a geração de séries temporais, batimento-a-batimento, com os valores das frequências cardíacas.

A frequência cardíaca adquirida momento-a-momento, por meio do registro eletrocardiográfico, possibilitou o cálculo da resposta bradicárdica à estimulação elétrica vagal em cada sessão de estímulo.

As linhas 1, 2 e 3 (momentos de estimulação) da Tabela 1 representam os valores de frequência cardíaca basal, frequência cardíaca após VNS e magnitude da bradicardia (delta), obtidos após cálculo da média entre os 3 animais em cada um dos momentos de estimulação.

No período basal, ou seja, antes da primeira sessão de estimulação elétrica do nervo vago, a frequência cardíaca dos animais era de  $235 \pm 17$  batimentos por minuto (bpm) (Tabela 1). O primeiro estímulo elétrico realizado com o pulso bifásico promoveu uma resposta bradicárdica com magnitude de  $83 \pm 14$  bpm (Tabela 1). Já o segundo estímulo reduziu a frequência cardíaca em  $61 \pm 3$  bpm (Tabela 1). Por fim, o terceiro e último estímulo gerou uma bradicardia de  $60 \pm 1$  bpm nos animais anestesiados (Tabela 1).

Assim, apesar da disparidade do primeiro estímulo, os dados apresentados na Tabela 1 mostram que a magnitude da resposta bradicárdica nos estímulos seguintes é praticamente a mesma. Observando-se a média dos três estímulos elétricos, a estimulação vagal promoveu redução da frequência cardíaca de  $70 \pm 5$  bpm, como pode ser visto na Tabela 1.

**Tabela 1. Valores de frequência cardíaca (bpm) antes e depois de cada estímulo elétrico**

Estímulo	Basal	Estimulação	Delta
1	235±17	152±25	-83±14
2	193±3	132±5	-61±3
3	186±2	126±3	-60±1
<b>Média</b>	<b>222±23</b>	<b>152±24</b>	<b>-70±5</b>

Dados apresentados como média ± erro padrão da média.

Fonte: dados obtidos no presente estudo.

## Discussão

As informações obtidas por meio do presente estudo permitiram uma melhor compreensão de como o estímulo elétrico do nervo vago utilizando-se corrente pulsada do tipo bifásica influencia a resposta bradicárdica em ratos anestesiados. Os resultados apresentados mostram que a estimulação do nervo vago por meio de eletrodos bipolares com pulsos bifásicos é viável, uma vez que foram presenciadas quedas consideráveis e consistentes na frequência cardíaca ao longo das três sessões de estímulos realizadas. Além disso, apesar do primeiro estímulo ter proporcionado uma bradicardia ligeiramente maior em relação aos demais (-83±14 bpm), o padrão de queda da frequência cardíaca, observado na segunda sessão (-61±3 bpm), foi semelhante àquele obtido na terceira sessão (-60±1 bpm). Tais dados indicam que o nervo se manteve adequadamente responsivo mesmo após sucessivos estímulos, diferente do que é observado na literatura para estimulação elétrica com pulso monofásico. Pode-se inferir que isto tenha ocorrido devido a simetria no eixo tempo, na escala tempo/amplitude da exposição ao estímulo neural, o que gera uma carga resultante nula e, portanto, não ocorrem danos eletrolíticos à via neural, ao contrário do que é observado, por exemplo, nos estímulos com pulsos monofásicos (VUCKOVIC; TOSATO; STRUIJK, 2008). Tais considerações são relevantes para o desenvolvimento futuro de protocolos para estimulação elétrica crônica de vias neurais, uma vez observado que pulsos bifásicos causam menor dano ao nervo vago, aumentando a longevidade da preparação ao garantir bradicardia em sucessivas estimulações elétricas.

## Conclusão

O presente estudo mostrou que a estimulação elétrica do nervo vago, em ratos anestesiados, por meio de pulsos bifásicos é eficaz em ativar o nervo vago e promover bradicardia, mesmo em

protocolos que envolvam mais de uma sessão de estímulo. Estes dados contribuem com o desenvolvimento de protocolos clínicos e experimentais, tanto agudos quanto crônicos, que envolvam a estimulação elétrica de vias neurais, favorecendo o aprimoramento desta ferramenta para uso no tratamento de diversas condições clínicas.

## Referências

- BASSI, Gabriel S. et al. Baroreflex activation in conscious rats modulates the joint inflammatory response via sympathetic function. **Brain, Behavior, And Immunity**, [s.l.], v. 49, p.140-147, out. 2015. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2015.05.002>.
- BASSI, Gabriel Shimizu et al. Modulation of experimental arthritis by vagal sensory and central brain stimulation. **Brain, Behavior, And Immunity**, [s.l.], v. 64, p.330-343, ago. 2017. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2017.04.003>.
- BROGNARA, Fernanda et al. Baroreflex stimulation attenuates central but not peripheral inflammation in conscious endotoxemic rats. **Brain Research**, [s.l.], v. 1682, p.54-60, mar. 2018. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2018.01.003>.
- FAMM, Kristoffer et al. A jump-start for electroceuticals. **Nature**, [s.l.], v. 496, n. 7444, p.159-161, abr. 2013. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1038/496159a>.
- HALL, J. E. e GUYTON, A. C. Tratado de fisiologia médica. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- KOOPMAN, Frieda A. et al. Vagus nerve stimulation inhibits cytokine production and attenuates disease severity in rheumatoid arthritis. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 113, n. 29, p.8284-8289, 5 jul. 2016. Proceedings of the National Academy of Sciences.  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1605635113>.
- MILLAR, J; BARNETT, T.g. The Zeta pulse: a new stimulus waveform for use in electrical stimulation of the nervous system. **Journal Of Neuroscience Methods**, [s.l.], v. 77, n. 1, p.1-8, nov. 1997. Elsevier BV.  
[http://dx.doi.org/10.1016/s0165-0270\(97\)00101-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-0270(97)00101-5).
- MOISSET, X. et al. **J Neural Transm** (2019).  
<https://doi.org/10.1007/s00702-019-02092-y>
- RÉVÉSZ, David; FRÖJD, Victoria; RYDENHAG, Bertil; BEN-MENACHEM, Elinor. Estimating Long-Term Vagus Nerve Stimulation Effectiveness: Accounting for Antiepileptic Drug Treatment

Changes. **Neuromodulation: Technology at the Neural Interface**, [s.l.], v. 21, n. 8, p.797-804, 2 abr. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ner.12775>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ner.12775>. Acesso em: 14 mar. 2020.

VOGEL, R. W. Understanding Anodal and Cathodal Stimulation. 2017. Disponível em: <<https://www.asnm.org/blogpost/1635804/290597/Understanding-Anodal-and-Cathodal-Stimulation>>. Acesso em: 02 nov. 2019.

VUCKOVIC, Aleksandra; TOSATO, Marco; STRUIJK, Johannes J. A comparative study of three techniques for diameter selective fiber activation in the vagal nerve: anodal block, depolarizing prepulses and slowly rising pulses. **Journal Of Neural Engineering**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.275-286, 20 jun. 2008. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1741-2560/5/3/002>.