



Nuno Miguel Prata Gomes

Licenciado em Ciências de Engenharia Biomédica

Concepção e teste de eléctrodos para pacemaker de estimulação diafragmática

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Presidente: Professor Doutor Mário Forjaz Secca, FCT/UNL

Orientadora: Professora Doutora Isabel Rocha, FMUL

Arguente: Professora Doutora Valentina Vassilenko, FCT/UNL

Concepção e teste de eléctrodos para pacemaker de estimulação diafragmática

©2012 – Todos os direitos reservados. Nuno Miguel Prata Gomes. Faculdade de Ciências e Tecnologias. Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologias e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Este trabalho só foi possível graças à ajuda de várias pessoas. Os meus sinceros agradecimentos:

À minha orientadora, a Professora Doutora Isabel Rocha, pela oportunidade que me deu de realizar este trabalho no Instituto de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, pela disponibilidade, atenção e apoio.

Ao meu amigo interno de Anatomia Patológica, Hélder Coelho, que me deu a conhecer o Instituto de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, possibilitando-me assim a elaboração desta tese neste instituto.

Ao Engenheiro Cristiano Tavares dos Santos e ao Médico Veterinário Nataniel Gonçalves Rosa pelo acompanhamento durante todos os processos cirúrgicos, sugestões e apoio incondicional.

A todos aqueles que comigo partilharam o laboratório dezoito do Instituto de Fisiologia, nestes últimos meses, pela simpatia, conselhos e partilha de conhecimentos, que tão importantes foram para tomar algumas decisões relativamente ao meu futuro percurso académico, profissional e pessoal.

A todos os amigos, colegas e professores que fizeram parte da minha vida ao longo desta grande etapa, acolhendo-me sempre nos momentos bons e nos menos bons, permitindo-me prosseguir sempre com a certeza que iria atravessar esta meta brevemente.

Aos colegas de medicina que me acolheram na sua faculdade e que incansavelmente me demonstraram todas as características que os tornarão um dia grandes médicos. À colega de bioquímica por todo o incentivo e pela sua presença diária na minha vida, obrigado netinha.

Ao David dos Santos pelo companheirismo demonstrado, às longas discussões sobre o meu projecto e às divagações horas a fio; à casmurrice e à exigência na procura da razão das coisas, sem ele nada disto seria possível ou faria sentido.

Às duas pessoas que partiram no decorrer desta jornada, com tão pouco tempo de intervalo entre elas. Deixaram a sua marca na minha vida e devo-lhes pouco menos que tudo o que sou hoje, com todas as implicações que daí advenham, tenho orgulho delas e foram muitas vezes as memórias dos seus conselhos que me permitiram não desistir.

Finalmente, à minha família pela quantidade exorbitante de vezes que me perguntaram quando estaria terminada a minha tese, pela paciência que tiveram para aturar o meu mau humor durante estes últimos meses e, sobretudo, pela força que me deram, principalmente à minha avó que tanto teve de batalhar para que perante todas as adversidades ainda conseguisse ter o papel principal no que toca a dar-me o apoio incondicional que me permitiu concluí-la.

Resumo

Existem actualmente diversos mecanismos de ventilação artificial que, ao funcionarem a pressão positiva, forçam a entrada de ar para dentro dos pulmões, apresentando-se como a principal forma de ventilação utilizada. Existem ainda outras alternativas no que toca a promover a respiração artificial, nomeadamente estimulação do nervo frénico por eléctrodos, com a consequente contracção do diafragma; contudo, estes acabam por provocar irritação ou mesmo lesões na pele e no próprio nervo frénico ou, em casos extremos, conduzir a arritmias cardíacas. A insuficiência respiratória apresenta-se principalmente como consequência de patologias do foro respiratório, por exemplo a doença pulmonar obstrutiva crónica. Nesta, existem trocas inadequadas de gases no sistema respiratório, existindo uma incapacidade de manter os níveis normais de oxigénio e dióxido de carbono.

O trabalho desenvolvido incidiu sobre o desenho e construção de um protótipo de eléctrodos de estimulação diafragmática e encontra-se inserido noutro mais vasto, que teve por objectivo a construção de um pacemaker diafragmático fisiológico. Para a execução do trabalho foi necessária a consolidação de conhecimentos na área da fisiologia respiratória e engenharia biomédica.

De modo a atingir os objectivos propostos foram construídos diversos eléctrodos de estimulação, com diversos materiais e formas, sendo efectuada uma modulação constante do sinal, tentando que a respiração fosse o mais semelhante possível à respiração fisiológica normal. Para a escolha dos materiais a utilizar na construção destes eléctrodos, foi tida em conta a sua condutibilidade, maleabilidade e biocompatibilidade, uma vez que estes eléctrodos serão implantados na superfície diafragmática. Nesse âmbito tiveram-se, também, em atenção a forma e localização relativa dos eléctrodos na superfície diafragmática. Para isso foi feito o mapeamento eléctrico do diafragma e foram simulados diferentes sinais para a sua estimulação eléctrica. Numa segunda fase, trataram-se as combinações de forma, localização e estimulação eléctrica mais favoráveis em modelos animais; tendo sido testados eléctrodos de cobre, alumínio, estanho e latão.

Foram obtidos resultados compatíveis com o padrão de ventilação normal. No entanto diversos assuntos ficaram por explorar, nomeadamente a difícil adesão dos eléctrodos

à musculatura diafragmática e aumento do tempo de ventilação útil, uma vez que a fadiga diafragmática impedia a contracção eficaz do mesmo ao fim de algum tempo.

Deste conjunto de experiências foi possível concluir que embora ainda exista algum trabalho a ser feito quanto ao material ideal a utilizar nos eléctrodos e sinal de estimulação, de facto é possível, através da estimulação diafragmática, a concepção de um pacemaker diafragmático de uso continuado que permita uma solução viável aos doentes com insuficiência respiratória.

Termos chave: Respiração, nervo frénico, diafragma, ventilação artificial, pacemaker diafragmático.

Abstract

In our days there are several artificial ventilation mechanisms that, recurring to positive pressure, force the entry of oxygen into the lungs, presenting itself as the most used mechanism to acute pulmonary pathology. There are also other alternatives to promote artificial respiration, such as phrenic nerve stimulation by electrodes, which will induce the contraction of the diaphragm; however, these cause skin and phrenic irritation or injury or, in extreme cases, lead to cardiac arrhythmias. Respiratory failure is presented as a consequence of certain respiratory diseases, for example chronic obstructive pulmonary disease. In this disease, there are inadequate gas exchanges in the respiratory system, and there is an inability to maintain the normal levels of oxygen and carbon dioxide.

This work focused on the design and construction of a prototype for diaphragmatic pacing and is inserted in a wider project which aimed to build a physiological diaphragmatic pacemaker. This work required the consolidation of knowledge in the area of respiratory physiology and biomedical engineering.

To achieve these goals stimulating electrodes were built with different materials and shapes, with constant signal modulation, to achieve an artificial breathing as similar as possible to the normal physiological breathing. The materials used for these electrodes design were tested for conductivity, flexibility and biocompatibility, because they have the purpose of being implanted in direct contact with the diaphragm; in that context, the shape and relative localization of the electrodes on the diaphragm were taken into account, and an electric mapping of the diaphragm was made, using simulations of different signals for electric stimulation; electrodes of copper, aluminium, tin, silver and brass were tested. Several surgeries were performed to test the prototype, always monitoring the vital functions of the animal models used.

Results consistent with the normal breathing were obtained. However, many problems are still to be explored, including the difficult adhesion of the electrodes to the diaphragmatic muscles and the elongation of breathing time, which didn't allow the possibility of obtaining consistent results with life for more than four minutes.

With this set of experiments we can conclude that although there is still some work to be done about the ideal material to construct the electrodes and the stimulating signal

modulation, it is, in fact, possible, through the diaphragmatic stimulation, to design a diaphragmatic pacemaker that allows a continued use and a viable solution for patients with respiratory failure.

Keywords: Respiration, phrenic nerve, artificial ventilation, diaphragmatic pacing

Lista de Símbolos e Abreviaturas

Cpm	Ciclos por minuto
CO ₂	Dióxido de carbono
ECG	Electrocardiograma
H ⁺	Protão/ião de hidrogénio
Hz	Hertz
mA	miliampere
mL	mililitros
mmHg	milímetros de mercúrio
ms	milissegundos
mV	milivolts
NiTi	Ligas de Níquel-Titânio
O ₂	Oxigénio molecular
pO ₂	Pressão parcial de oxigénio molecular
pCO ₂	Pressão parcial de dióxido de carbono
T1-T12	Vértebras torácicas
ua	Unidades arbitrárias
V	Volts
μA	microampére

Índice

Agradecimentos.....	v
Resumo	viii
Abstract	ix
Lista de Símbolos e Abreviaturas.....	xii
Índice	xiii
Índice de Figuras	xv
Índice de Tabelas	xviii
Introdução.....	1
Capítulo 1: Fundamentos Teóricos	5
1.1. Respiração	5
1.1.1. Ventilação pulmonar	5
1.1.1.1. Músculos expiratórios.....	6
1.1.1.2. Músculos inspiratórios	7
1.1.1.3. O nervo frénico	13
1.1.2. Difusão e transporte de oxigénio e dióxido de carbono	14
1.1.3. Regulação da respiração.....	15
1.1.3.1. O centro respiratório	15
1.1.3.2. Controlo reflexo da respiração	18
1.2. Materiais utilizados em dispositivos médicos.....	21
1.2.1. Alumínio	22
1.2.2. Estanho	22
1.2.3. Cobre	22
Capítulo 2: Materiais e Métodos.....	23
2.1. Registo da actividade do nervo frénico	24
2.2. Simulações computacionais de sinais de estimulação eléctrica.....	24
2.3. Mapeamento eléctrico do diafragma	26
2.4. Desenho e concepção de eléctrodos	27
2.4.1. Escolha do material	27
2.4.2. Forma, número e localização relativa dos eléctrodos	28
2.4.3. Fixação dos eléctrodos ao diafragma.....	29
2.4.4. Montagem do gerador de sinais de estimulação.....	29
2.4.5. Eléctrodos	30
2.4.5.1. Eléctrodos de papel de alumínio	30
2.4.5.2. Eléctrodos de cobre e estanho.....	30
2.4.5.3. Eléctrodos de folha de cobre.....	30
2.4.5.4. Eléctrodos perfurantes do diafragma	30
2.5. Teste dos diferentes conjuntos de eléctrodos de estimulação	31

Capítulo 3: Resultados	33
3.1. Registo da actividade do nervo frénico	33
3.2. Mapeamento eléctrico do diafragma	33
3.3. Sinais de estimulação diafragmática	36
3.3.1. Impulso de onda quadrada	37
3.3.2. Sinais de simulação da “rampa” frénica	37
3.4. Desenho dos eléctrodos	38
3.4.1. Eléctrodos de cobre e estanho	38
3.4.2. Eléctrodos de folha de cobre	40
3.4.3. Eléctrodos perfurantes do diafragma	42
3.5. Resultados da estimulação diafragmática	43
Capítulo 4: Discussão	45
4.1. Registo da actividade do nervo frénico	45
4.2. Mapeamento eléctrico do diafragma	46
4.3. Sinais de estimulação diafragmática	46
4.3.1. Impulso de onda quadrada	47
4.3.2. Sinais de simulação da “rampa” frénica	48
4.4. Desenho dos eléctrodos	48
4.4.1. Eléctrodos de cobre e estanho	49
4.4.2. Eléctrodos de folha de cobre	49
4.4.3. Eléctrodos perfurantes do diafragma	51
4.5. Conclusões gerais e limitações do estudo	43
Capítulo 5: Conclusão e Perspectivas Futuras	55
Referências	57

Índice de Figuras

Figura 1.1: Músculos do recto abdominal	6
Figura 1.2: Músculos intercostais internos dissecados	7
Figura 1.3: a) Vista superior ou torácica do diafragma; b) Vista inferior ou abdominal do diafragma	9
Figura 1.4: Músculos intercostais externos	10
Figura 1.5: Músculo esternocleidomastoideu com as suas inserções a nível da apófise mastoideia, clavícula e esterno.....	11
Figura 1.6: Músculos dentados anteriores	11
Figura 1.7: Músculos escalenos anteriores, médios e posteriores	12
Figura 1.8: Esquema representativo dos músculos envolvidos na respiração	12
Figura 1.9: Origem do nervo frénico a partir do plexo cervical	13
Figura 1.10: Organização do centro respiratório.....	16
Figura 1.11: Sinal de potenciais de despolarização do nervo frénico mostrando o fenómeno em rampa	16
Figura 1.12: Amplitude em função da frequência do sinal do nervo frénico - em condições normais e durante hipoxia	17
Figura 1.13: Controlo respiratório promovido pelos quimiorreceptores periféricos nos corpos carotídeos.....	19
Figura 1.14: Diagrama mostrando a interacção reflexa envolvida no controlo respiratório pelos quimiorreceptores periféricos localizados nos corpos carotídeos, aórticos e pelos quimiorreceptores centrais.....	20
Figura 1.15: Esquema representativo da estimulação da área inspiratória do tronco cerebral por sinais de proveniência da área quimiossensível, localizada bilateralmente no bulbo	21
Figura 2.1: Representação dos sinais programados para estimulação diafragmática	25
Figura 2.2: Sinal utilizado para estimulação do músculo diafragmático – modulado com recurso ao sinal de pressão negativa biológico.	26
Figura 2.3: Esquema representativo de pontos de colocação dos eléctrodos de estimulação..	27
Figura 3.1: Exemplo de apresentação dos sinais no decorrer de uma experiência.....	33
Figura 3.2: Aquisição de potenciais eléctricos para mapeamento da dispersão de corrente no diafragma.....	34
Figura 3.3: Mapeamento da dispersão de corrente no diafragma	35

Figura 3.4: a) Diafragma “ex vivo” para estudo dos potenciais propagados; b) Sobreposição da tabela de potenciais adquiridos com a imagem do diafragma “ex vivo”	36
Figura 3.5: a) Eléctrodos de estimulação; b) Colocação dos eléctrodos de estimulação no diafragma do modelo animal	36
Figura 3.6: a) Ventilação artificial com pressão positiva; b) Efeitos da estimulação diafragmática com impulso de onda quadrada	37
Figura 3.7: a) Ventilação artificial em sistema fechado; b) Estimulação diafragmática	38
Figura 3.8: a) Eléctrodos de estimulação; b) Cavidade peritoneal de acesso ao diafragma	39
Figura 3.9: a) Ventilação artificial por pressão positiva; b) Estimulação diafragmática – pressão negativa; c) Estimulação diafragmática – sistema aberto	39
Figura 3.10: Eléctrodo de folha de cobre com face aderente	40
Figura 3.11: a) Ventilação fisiológica normal; b) Respiração artificial por pressão positiva	40
Figura 3.12: a) Ventilação fisiológica normal; b) Estimulação diafragmática – sistema fechado para o exterior	41
Figura 3.13: a) Ventilação fisiológica normal; b) Estimulação diafragmática – sistema aberto para o exterior	41
Figura 3.14: a) Ventilação artificial; b) Estimulação diafragmática – sistema aberto para o exterior	42

Índice de Tabelas

Tabela 3.1: Valores médios adquiridos no LabChart® e respectiva conversão em valores entre 0 e 255.....	35
Tabela 3.2: Análise da relação entre o número de eléctrodos de estimulação diafragmática e volume corrente de ar efectivamente inspirado.	43
Tabela 3.3: Tabela de comparação dos protótipos de eléctrodos testados	44

Introdução

A insuficiência respiratória crónica é geralmente tratada através do recurso a mecanismos de ventilação assistida, equipamentos que usam pressão positiva de modo a forçar a entrada de oxigénio nos pulmões. Descrita pela primeira vez em 1777 por Cavallo, a estimulação eléctrica foi mostrada como uma possível alternativa aos métodos de ventilação artificial anteriormente utilizados. Em 1783 foi proposta por Hufeland a estimulação do nervo frénico em recém-nascidos vítimas de asfixia, sendo ele o primeiro a propor que a estimulação deste nervo podia induzir a ventilação [Duchene, 1872]. Durante os cinco anos seguintes, diversos grupos dedicaram-se a este mesmo assunto, demonstrando com sucesso que a estimulação do nervo frénico e a estimulação diafragmática eram capazes de promover ou recuperar a ventilação normal. Contudo, a possibilidade de execução de mais estudos para futuras aplicações desta técnica teve pouca adesão, tendo o assunto sido abandonado até meados do século vinte.

Deste modo, em 1948, Sarnoff e os seus colaboradores deram início a estudos de electroestimulação prolongada em modelo animal e no Homem, tendo demonstrado que esta estimulação permite uma troca volumétrica e gasosa normal, compatível com a vida [Sarnoff, 1948].

Mais tarde, Glenn e os seus colaboradores associaram a radiofrequência à estimulação prolongada do nervo frénico através da utilização de dispositivos com eléctrodos para estimulação nervosa, intramuscular e do epimísio [Glenn, 1970]. Nos últimos quinze anos do século vinte, cerca de mil doentes com insuficiência respiratória foram tratados com este sistema.

Métodos de ventilação artificial

O método mais utilizado para a ventilação artificial continua a ser o ventilador artificial por pressão positiva, que força a entrada de ar nos pulmões por, fisiologicamente, não existir capacidade de garantir pressão negativa suficiente para a entrada do ar nos pulmões. O uso continuado deste dispositivo acaba por criar dependência, principalmente devido à atrofia diafragmática, sendo difícil que o doente volte a ter uma ventilação independente do equipamento.

Existem ainda outros métodos de ventilação artificial como os eléctrodos epidérmicos, que estimulam indirectamente o nervo frénico e, conseqüentemente, induzem a contracção do diafragma. Este método tem como principal desvantagem o facto do contacto eléctrodo/pele provocar irritação cutânea ou, em casos extremos, dar origem a arritmias cardíacas.

Tal como o diafragma, os músculos intercostais externos são, também, responsáveis pela entrada de ar nos pulmões, podendo ser utilizados como alternativa à estimulação do nervo frénico, apesar de apenas contribuírem para 40% da ventilação normal. Estudos em quatro doentes, demonstram um aumento de volume de ar de 470 para 850ml num teste com duração de três horas, quando aplicado um único eléctrodo bilateral ao nível da segunda vértebra torácica (T2). Já a estimulação directa do nervo frénico deu origem ao aumento de uma capacidade de 600ml para 1200ml, num teste que durou doze horas [DiMarco, 1989, 2005].

Os dispositivos actualmente comercializados apresentam uma necessidade de existência de componentes quer externos quer internos, não atravessando nenhum deles a pele. Os sinais de estimulação são enviados por radiofrequência do dispositivo exterior para antenas internas que o convertem num sinal eléctrico de estimulação. Existem grandes desvantagens na aplicação deste dispositivo, nomeadamente o facto de serem necessárias sequências de impulsos para uma correcta estimulação, o que conduz a um grande dispêndio de energia, sendo a autonomia actual destes de apenas de poucas centenas de horas. A outra grande desvantagem prende-se com a necessidade de um ajuste periódico do equipamento devido ao funcionamento por indução das antenas internas [Avery, 2011].

A Avery Biomedical Devices© é uma dessas empresas, comercializando um pacemaker do nervo frénico que possibilita a estimulação directa do mesmo. Os eléctrodos encontram-se em contacto com nervo e o sinal de estimulação é transmitido por um dispositivo colocado junto ao corpo, sem necessidade de contacto, no entanto, este apresenta todos os problemas descritos anteriormente, estando muito aquém do ideal.

A indústria dos dispositivos médicos continua a ser claramente uma indústria em expansão, apresentando soluções cada vez mais adaptáveis a um sem número de patologias, cada vez com mais funcionalidades e mais práticas quer quanto à sua utilização quer quanto à sua manutenção. Actualmente, as aplicações da tecnologia na área

médica dependem essencialmente do financiamento para o seu desenvolvimento, quer seja ele público ou privado, existindo para além deste principal factor limitação quanto ao desenvolvimento da ciência actual, cada vez mais à nanoescala, e da imaginação humana.

As condições anteriormente descritas reuniram factores suficientes para impulsionar um estudo aprofundado nesta área – concepção e implementação de um pacemaker diafragmático.

Capítulo 1: Fundamentos Teóricos

1.1. Respiração

A respiração, que é essencial à vida, tem por objectivo a promoção das trocas gasosas entre o meio ambiente e o organismo. Para isso, apresenta dois componentes principais: a inspiração e a expiração que, do ponto de vista mecânico, podem ser genericamente referidas como respiração activa e passiva, respectivamente [Guyton & Hall, 2006].

Durante a inspiração normal, a expansão da caixa torácica tracciona os pulmões para fora criando uma pressão negativa, sendo esta responsável por um aumento de volume pulmonar em cerca de meio litro. Este ciclo repete-se entre 12 a 20 vezes por minuto nos indivíduos normais. Para que os seus objectivos se cumpram, a função respiratória encontra-se dividida em quatro funções principais:

- a) Ventilação pulmonar;
- b) Difusão do oxigénio e dióxido de carbono entre os alvéolos e o sangue;
- c) Transporte do oxigénio e dióxido de carbono do sangue de e para as células;
- d) Regulação da ventilação.

1.1.1. Ventilação pulmonar

A ventilação pulmonar é realizada quase inteiramente pelo movimento do diafragma. Este adere às faces inferiores dos pulmões, deslocando-as para baixo. Durante a expiração, o diafragma relaxa permitindo o recuo elástico dos pulmões, parede torácica e estruturas abdominais, comprimindo, desta forma, os pulmões e expelindo o ar. Na ventilação rápida, as forças elásticas não são suficientemente fortes para produzir a expiração rápida necessária, sendo então recrutada uma força adicional, proveniente da musculatura abdominal, que empurra todo o conteúdo abdominal para cima contra a parte inferior do diafragma, contraindo desta maneira os pulmões [Guyton & Hall, 2006].

Além do movimento do diafragma, a elevação da caixa torácica é um método para expansão pulmonar. As costelas projectam-se quase directamente para a frente, mo-

vendo o esterno também anteriormente e afastando-o da coluna, o que aumenta o seu diâmetro antero-posterior em cerca de 20% durante uma inspiração máxima. Em oposição a este movimento, na posição de repouso e no fim da expiração, as costelas encontram-se inclinadas inferiormente, possibilitando o recuo do esterno, em direcção à coluna vertebral.

Os músculos que auxiliam a depressão da caixa torácica são designados como músculos expiratórios e aqueles que elevam a caixa torácica classificados como músculos inspiratórios.

1.1.1.1. Músculos expiratórios

Os músculos que mais auxiliam a retracção da caixa torácica durante a expiração são principalmente o grande recto abdominal e os intercostais internos.

O *grande recto abdominal* é um músculo largo e plano, que se estende ao longo da linha média tendo origem na sínfise e crista púbica e inserção ao nível da quinta à sétima cartilagem costal e apêndice xifóideu (figura 1.1). A contracção deste músculo exerce uma forte depressão nas costelas inferiores, ao mesmo tempo que, em conjunto com outros músculos abdominais, comprime o conteúdo abdominal elevando-o contra o diafragma.

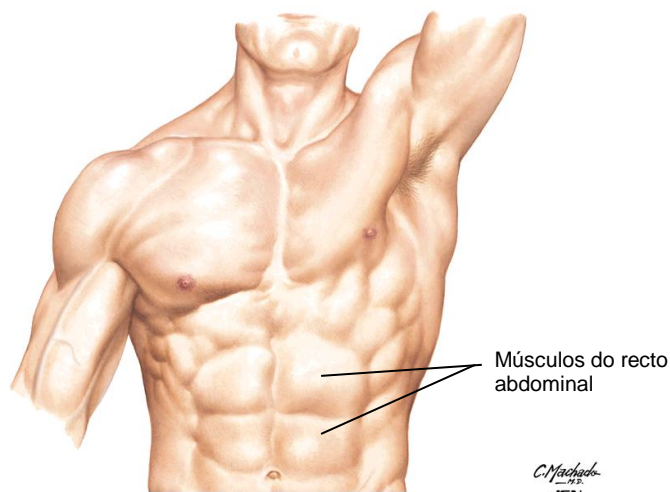


Figura 1.1: Músculos do recto abdominal [Netter, 2010].

O músculo *intercostal interno* é medial ao músculo intercostal externo. A sua inserção superior é medial em relação ao músculo intercostal externo e ao longo de toda a ver-

tente externa do sulco costal (figura 1.2). As suas fibras descendem obliquamente no sentido inferior e posterior e terminam no bordo superior da costela subjacente [Rouvière & Delmas, 2005].

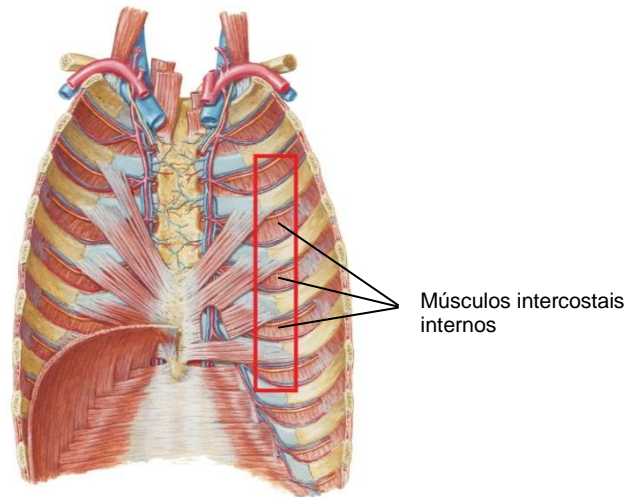


Figura 1.2: Músculos intercostais internos dissecados [Netter, 2010].

1.1.1.2. Músculos inspiratórios

Neste grupo incluem-se o *diafragma* e os músculos mais importantes que contribuem para a elevação da caixa torácica: os *intecostais externos*, cuja acção é auxiliada pelos músculos *esternocleidomastoideu*, *dentado anterior* e *escaleno*.

O Diafragma

O diafragma é o principal músculo da inspiração, sendo innervado pelo nervo frénico, que emerge do plexo cervical começando a formar-se a partir de neurónios localizados no complexo de pré-Botzinger situado no bulbo [Rouvière & Delmas, 2005].

Anatomia

O diafragma apresenta-se como uma lâmina músculo-tendinosa larga e fina que separa a cavidade torácica da cavidade abdominal. Encontra-se dividido em duas porções laterais, direita e esquerda, através de uma chanfradura posterior, ocupada pela coluna vertebral, e por uma depressão na linha média na qual se apoia o coração. Apresenta, também, uma concavidade mais acentuada na porção direita que na porção esquerda devido à presença do coração. O contorno do diafragma encontra-se

mais ou menos elevado consoante o tamanho das costelas, a posição e a fase do ciclo respiratório.

O diafragma é constituído por duas porções principais: uma central e tendinosa, denominada de centro frénico, e uma outra periférica e muscular, formada por feixes com inserção no rebordo do orifício inferior da cavidade torácica (figura 1.3).

O diafragma, também, se designa por músculo digástrico pois é constituído por um conjunto de músculos digástricos. Os seus ventres musculares constituem uma porção periférica e os seus tendões intermédios entrecruzam-se na sua porção central, dando origem ao centro frénico [Rouvière & Delmas, 2005] onde é possível identificar três folíolos distintos: anterior, direito e esquerdo.

O *folíolo esquerdo* apresenta-se como o mais pequeno com um eixo maior e oblíquo para fora e para trás. O *folíolo anterior* é o maior dos três sendo alargado transversalmente e aproximando-se, à frente, da face posterior do esterno.

As fibras tendinosas do centro frénico apresentam diversas direcções, unindo-se algumas delas de modo a formar dois feixes distintos: uma fita semicircular superior, oblíqua, que se situa na face convexa do diafragma e que rodeia, posterior e internamente, o orifício da veia cava inferior que está localizado na união do folíolo anterior com o folíolo direito, e a fita semicircular inferior ou arciforme que se estende do folíolo direito ao esquerdo, descrevendo uma curvatura côncava para trás e cuja parte média rodeia, externa e anteriormente, o orifício da veia cava inferior (figura 1.3).

No bordo interior do orifício inferior do tórax convergem fibras nervosas periféricas que irão formar o centro frénico. Estas fibras periféricas classificam-se, de acordo com o seu local de inserção, vértebras, costelas e esterno, em porção vertebral, costal ou esternal.

É a porção vertebral do diafragma que deixa delineada, de ambos os lados da linha média, uma parte interna e uma parte externa, correspondente respectivamente aos pilares do diafragma e à arcada do psoas, sendo os primeiros responsáveis, juntamente com a coluna vertebral, pela criação dos orifícios aórtico e esofágico.

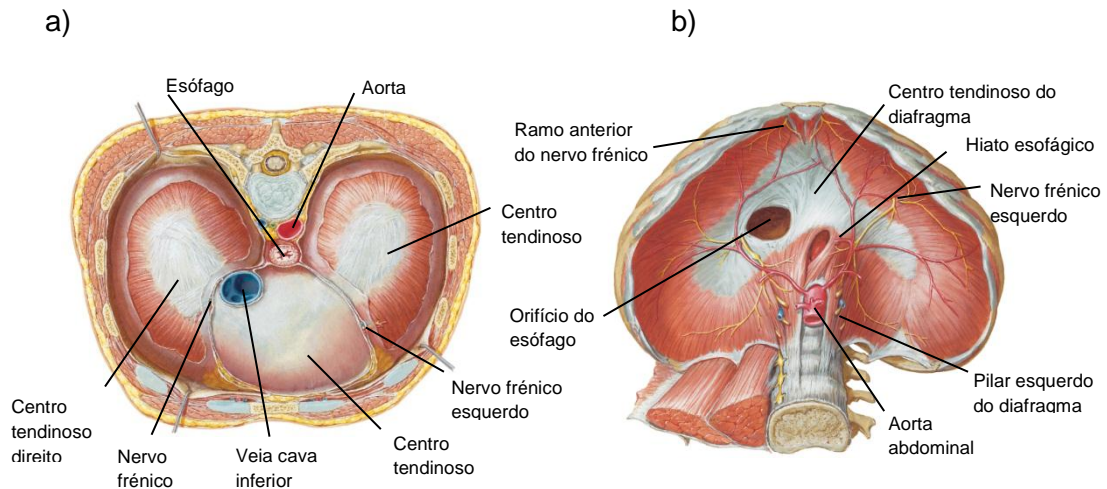


Figura 1.3: a) Vista superior ou torácica do diafragma; b) Vista inferior ou abdominal do diafragma [Netter, 2010].

O diafragma é constituído por três grandes orifícios principais onde passam a veia cava inferior, a artéria aorta e o esófago, apresentando ainda orifícios secundários por onde passam raízes internas das veias ázigos e hemi-ázigos, os nervos esplâncnicos e a cadeia simpática.

O *orifício aórtico* é fibroso, rodeado por um arco tendinoso e por um prolongamento interno dos pilares diafragmáticos, pertencentes à porção vertebral do diafragma. É neste orifício que passa a artéria aorta, unida à parte anterior, e o canal torácico, na parte posterior.

O *orifício da veia cava inferior* apresenta-se como o maior dos três orifícios principais e situa-se no centro frênico com uma geometria oval. A veia cava inferior apresenta uma adesão total a todo o contorno tendinoso deste orifício, no qual passa também o ramo abdominal do nervo frênico direito, com função determinante na regulação da respiração.

O *hiato esofágico* é formado pelo cruzamento de fibras musculares internas dos pilares diafragmático, dando também passagem, para além do esófago, aos nervos pneumogástricos. Tem uma forma elíptica e situa-se à esquerda da linha média e anteriormente e à esquerda do orifício aórtico.

Função diafragmática

Quando existe contracção diafragmática ocorre o aumento de todos os diâmetros do tórax. As fibras musculares do diafragma diminuem a sua curvatura abatendo ligeiramente o centro frénico, resultando num aumento do diâmetro vertical do tórax. As fibras musculares têm como ponto fixo o centro frénico que imobilizado devido ao pericárdio e às vísceras abdominais actua sobre as costelas, elevando-as, e alargando a parte inferior do tórax. Sempre que existe o movimento ascendente de uma costela, esta desloca-se para fora, enquanto projecta o esterno para a frente, aumentando os diâmetros ântero-posteriores e transversais do tórax [Rouvière & Delmas, 2005].

Músculos acessórios

Os músculos *intercostais externos* inserem-se posteriormente próximo das articulações costo-transversas e anteriores próximas das articulações costo-condrais e continuam-se, anteriormente, com a membrana intercostal externa. Têm como inserções verticais o sulco costal da costela superior e o bordo superior da costela inferior interna (figura 1.4).

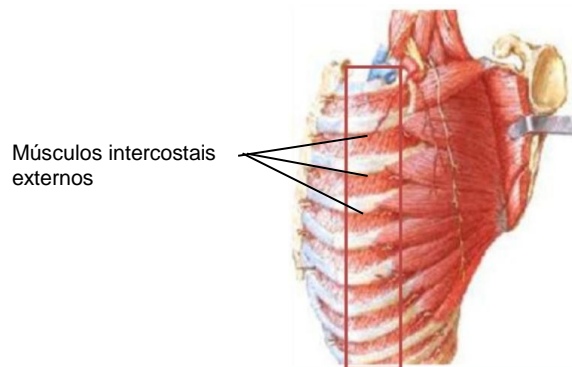


Figura 1.4: Músculos intercostais externos [Netter, 2010].

O músculo *esternocleidomastoideu* torna a cabeça flexível permitindo-lhe o movimento de rotação (figura 1.5). Tomando o seu ponto fixo na cabeça, este músculo eleva o esterno e as costelas, sendo, por isso, classificado como um músculo inspiratório [Rouvière & Delmas, 2005].

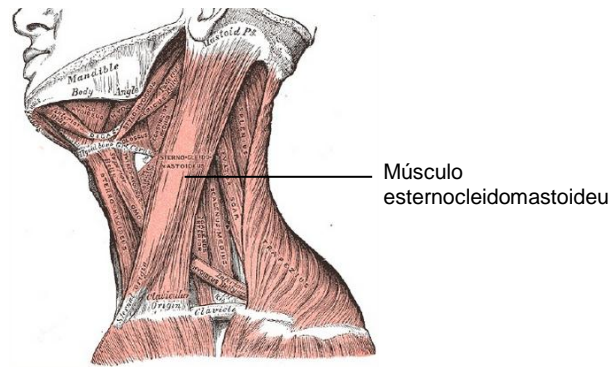


Figura 1.5: Músculo esternocleidomastoideu com as suas inserções a nível da apófise mastoideia, clavícula e esterno [Drake, 2009].

Os músculos *dentados anteriores* encontram-se na parede lateral do tórax (figura 1.6) inserindo-se nas primeiras oito costelas.

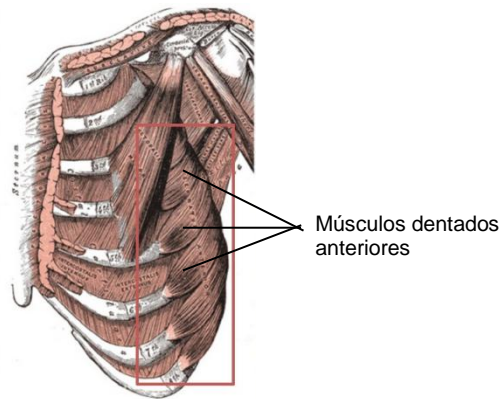


Figura 1.6: Músculos dentados anteriores [Drake, 2009].

Os músculos *escalenos* descem oblíqua e lateralmente à coluna cervical até às duas primeiras costelas. Existem três músculos escalenos - anterior, médio e posterior - tendo os dois primeiros inserção na primeira costela e o último na segunda (figura 1.7). Os músculos escalenos têm o seu ponto fixo na coluna cervical e dão origem a movimentos elevatórios das duas primeiras costelas, logo são músculos inspiratórios [Rouvière & Delmas, 2005].

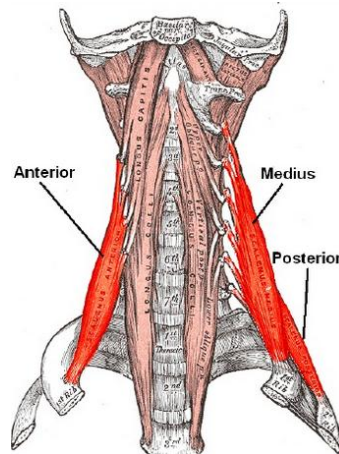


Figura 1.7: Músculos escalenos anteriores, médios e posteriores [Drake, 2009].

Em resumo, como mostra a figura 1.8, o alargamento do tórax provocado pela contração do diafragma deve-se à intervenção de dois mecanismos principais: tracção exercida sobre as últimas costelas pelos feixes costais do diafragma e pela pressão produzida sobre a face inferior do tórax pelos órgãos abdominais empurrados pela contração do diafragma.

Músculos Inspiratórios

Músculos Expiratórios

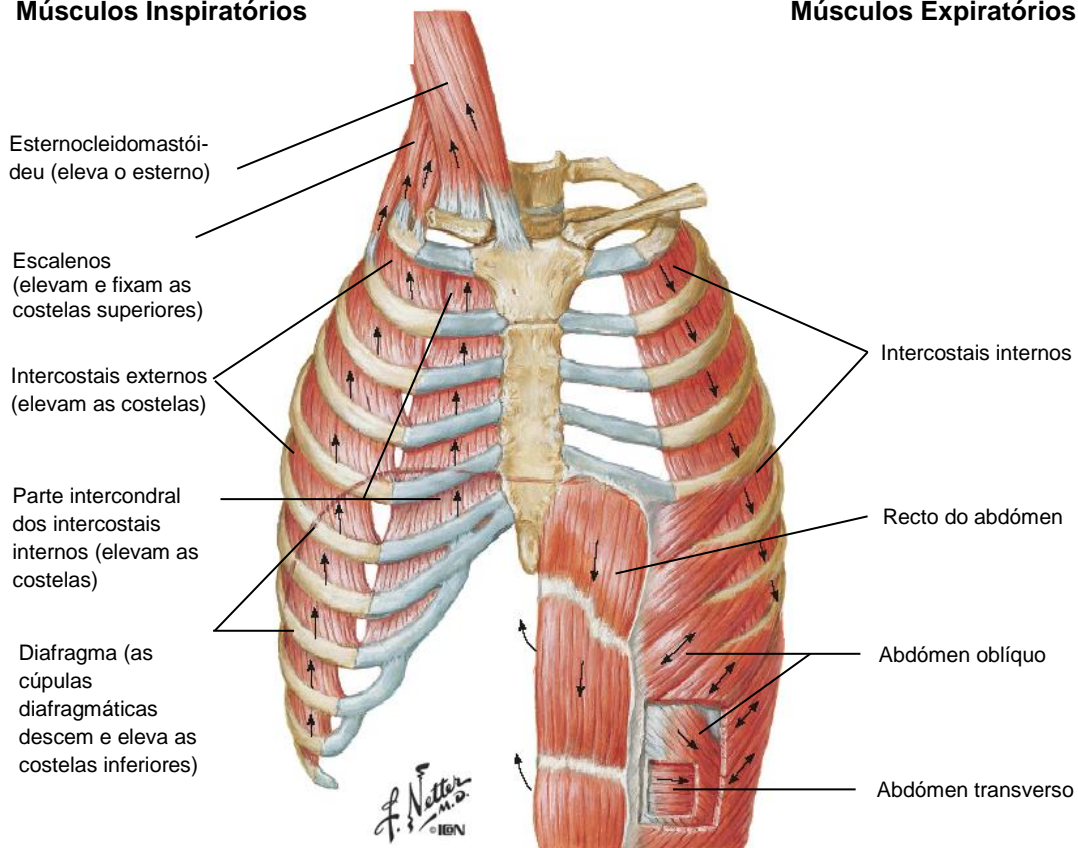


Figura 1.8: Esquema representativo dos músculos envolvidos na respiração [Netter, 2010].

1.1.1.3. O nervo frênico

Do plexo cervical partem três tipos de ramos, um dos quais motor de onde emerge, anatomicamente, o nervo frênico que é o responsável pela inervação e contracção do diafragma e da musculatura intercostal.

O nervo frênico nasce de uma raiz principal do quarto nervo cervical, podendo apresentar duas raízes secundárias no terceiro e quinto nervos cervicais (figura 1.9).

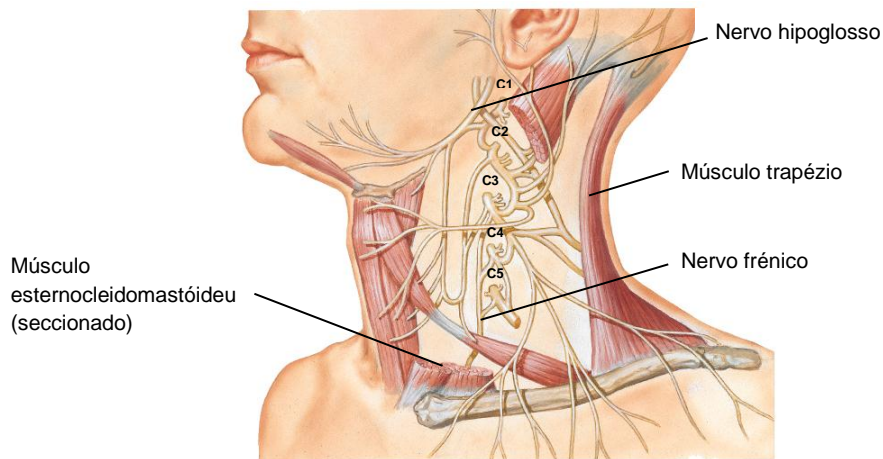


Figura 1.9: Origem do nervo frênico a partir do plexo cervical [Netter, 2010].

O nervo frênico desce através do músculo escaleno anterior. O nervo frênico direito passa entre a artéria e a veia subclávias e apresenta-se sempre externamente ao nervo pneumogástrico e à ansa subclávia. Desce postero-externamente ao tronco braquio-cefálico direito, passa anteriormente ao pedículo pulmonar direito e desce até ao diafragma. O nervo frênico esquerdo, um pouco mais longo que o direito, desce anteriormente ao nervo pneumogástrico, passa à frente do pedículo pulmonar esquerdo intersectando o diafragma posteriormente ao ápex do coração, atravessando-o por isso mais anterior e externamente que o nervo frênico direito. Um pouco acima do diafragma, o nervo frênico direito divide-se em três ou quatro ramos – um que atravessa o diafragma juntamente com a veia cava, que vai dar origem ao ramo abdominal, responsável pela inervação dos pilares do diafragma e filetes nervosos do peritoneu e glândula supra-renal direita, e os restantes denominados por ramos musculares superiores, que inervam a porção esterno-costal do diafragma, até perto da sua inserção óssea [Rouvière & Delmas, 2005]. O nervo frênico esquerdo divide-se de forma semelhante. Varia do anterior no ramo abdominal, que é mais fino, e ao não enviar nenhum filete nervoso para a glândula supra-renal.

O nervo frénico apresenta-se, assim, como o principal nervo envolvido na regulação da mecânica ventilatória, pelo que o seu dano total ou parcial provoca não só dificuldades no controlo da respiração mas, também, em mecanismos relacionados com a protecção das vias respiratórias: a tosse ou o espirro.

1.1.2. Difusão e transporte do oxigénio e dióxido de carbono

As trocas respiratórias dão-se por um processo de difusão que ocorre após entrada de ar atmosférico nas vias respiratórias. Nestas, o ar passa por estruturas que modificam a sua pressão parcial, num fluxo aleatório de moléculas através da membrana respiratória e líquidos adjacentes.

A difusão é possível sempre que exista um gradiente de pressão que lhe seja favorável, isto é, sempre que exista uma maior concentração de uma qualquer molécula num dos lados de uma câmara que noutro e os mesmos se encontrem divididos por uma membrana permeável a estas moléculas [Guyton & Hall, 2006].

O ar atmosférico é composto principalmente por azoto, oxigénio, gases inertes e compostos moleculares: azoto molecular (78%), oxigénio molecular (21%), dióxido de carbono (0,04%). A pressão parcial de cada um destes gases no gás respiratório, a nível alveolar, tende a forçar essas mesmas moléculas a fluírem para a solução sanguínea presente nos capilares alveolares. Por outro lado, as moléculas já dissolvidas no sangue movem-se aleatoriamente, escapando algumas delas de volta aos alvéolos, sendo a taxa a que as mesmas escapam directamente proporcional à pressão parcial das mesmas no sangue. Esta difusão acontece, então, por gradientes de pressão, existindo maioritariamente fluxo de moléculas no sentido da menor pressão possível. No caso do dióxido de carbono, a sua pressão parcial é superior quando está dissolvido no sangue, logo, a difusão líquida ocorrerá para a fase gasosa nos alvéolos. Assim, como balanço final destas trocas gasosas, o oxigénio tende a fluir para o sangue e o dióxido de carbono a ser expelido para o ar atmosférico, sempre que a composição do ar atmosférico se mantenha a anteriormente descrita [Guyton & Hall, 2006].

1.1.3. Regulação da Respiração

É o sistema nervoso que ajusta a taxa de ventilação parcial, consoante as necessidades do organismo, de modo a que as pressões parciais de dióxido de carbono (PCO_2) e de oxigénio (PO_2) sofram apenas ligeiras alterações mesmo durante uma actividade física intensa. A regulação da respiração, localização dos seus centros e funções, ainda se mantém como assunto de investigação com diferenças conceptuais entre autores pelo que neste trabalho, e uma vez que ela não constitui o seu fulcro, apenas se fará uma apresentação da sua fisiologia básica, necessária à compreensão dos objectivos do trabalho.

1.1.3.1. O Centro Respiratório

O centro respiratório é composto por diversos grupos neuronais localizados no tronco cerebral. Os três principais grupos de neurónios são: o grupo respiratório dorsal e o grupo respiratório ventral localizados no bulbo e o centro pneumotácico situado na protuberância (figura 1.10) [Guyton & Hall, 2006].

(a) Grupo respiratório dorsal

O grupo respiratório dorsal tem como função principal a regulação da inspiração, sendo dos três centros, aquele que apresenta um papel mais importante no controlo da respiração pois é o responsável pela manutenção do ritmo respiratório normal [Guyton & Hall, 2006].

Encontra-se situado na porção dorsal do bulbo, junto ao núcleo do trato solitário que é a principal zona de integração de informação sensorial periférica, e nomeadamente do ponto de vista respiratório, com origem em quimiorreceptores periféricos e barorreceptores e receptores pulmonares [Guyton & Hall, 2006].

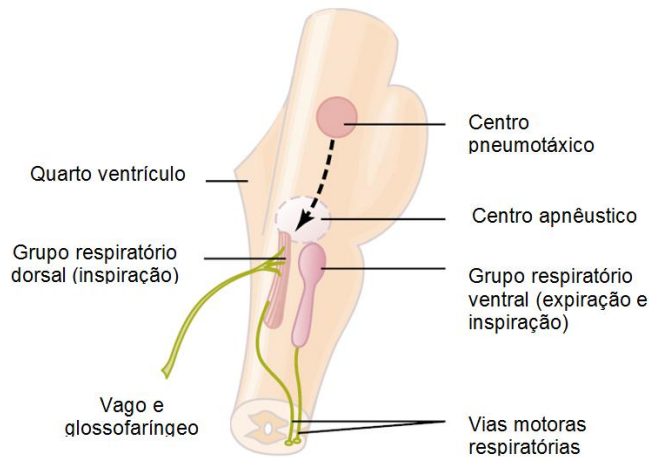


Figura 1.10: Organização do centro respiratório [Guyton & Hall, 2006].

O sinal nervoso que é transmitido aos músculos inspiratórios e, principalmente, ao diafragma apresenta-se em rampa, ou seja, exibe ao início uma intensidade mínima que se vai elevando até se interromper abruptamente. Esta excitação neuronal que corresponde à inspiração é seguida por um período de pausa que tem a duração suficiente para a retracção elástica dos pulmões e parede torácica, coincidindo com a expiração (figura 1.11) [Guyton & Hall, 2006].



Figura 1.11: Sinal de potenciais de despolarização do nervo frênico mostrando o fenômeno em rampa [Lalley, Mifflin, 2012].

Esta variação em rampa da excitabilidade neuronal permite a noção intuitiva de continuidade no aumento de volume dos pulmões durante a inspiração. Existem duas características desta rampa que podem ser controladas: o declive, correspondente à velocidade do aumento do sinal, que promove uma expansão mais ou menos rápida dos pulmões, e ponto terminal da rampa, que controlando a duração da inspiração e, conseqüentemente da expiração, regula a frequência respiratória (figura 1.12) [Guyton & Hall, 2006].

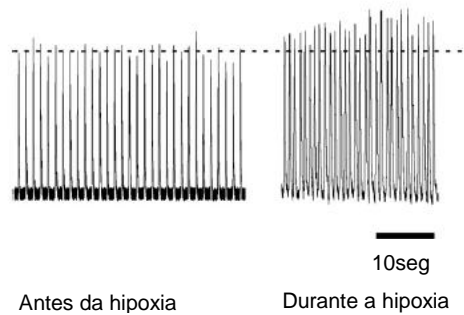


Figura 1.12: Amplitude em função da frequência do sinal do nervo frênico - em condições normais e durante hipoxia – cada traço vertical representa uma sequência de sinais do nervo frênico (ver figura anterior), sendo a escala vertical representante da sua amplitude eléctrica relativa. Durante a hipoxia a concentração de O_2 diminui, conduzindo a um aumento de intensidade e de frequência dos sinais [Toyama, Sakurai, 2009].

(b) *Grupo respiratório ventral*

Este grupo situa-se na parte ventrolateral do bulbo, encontrando-se totalmente inactivado quando a ventilação é normal apenas sendo activado por sinais inspiratórios, repetitivos, com origem no grupo respiratório dorsal e pela posterior retracção elástica dos pulmões e caixa torácica, que promovem a expiração. Quando a frequência respiratória aumenta, os sinais ventilatórios propagam-se aos neurónios respiratórios ventrais, funcionando este grupo neuronal como controlo respiratório de compensação. Embora, no grupo ventral existam neurónios inspiratórios e expiratórios, são os segundos os que apresentam uma maior importância no envio de sinais expiratórios vigorosos aos músculos abdominais durante uma ventilação muito intensa, como acontece no caso da actividade física de maior intensidade.

(c) *Centro pneumotáxico*

O centro pneumotáxico pode ser encontrado na porção dorsal superior da protuberância no núcleo parabraqueal. Tem como principal função a limitação da inspiração assegurando, secundariamente, o controlo da frequência e da profundidade respiratória, por controlo do ponto de supressão da actividade neuronal (figura 1.10, ver página anterior) [Guyton & Hall, 2006]. Desta forma, regula a duração da insuflação pulmonar. Assim, a estimulação intensa do centro pneumotáxico aumenta a frequência respiratória mas diminui o volume de ar inspirado, enquanto um sinal mais fraco ao reduzir a frequência respiratória permite uma maior insuflação.

1.1.3.2. Controlo reflexo da Respiração

O controlo reflexo da respiração é feito pelo sistema nervoso autónomo através da activação de diferentes reflexos.

Reflexo de Hering-Breuer

A acção do centro pneumotáxico é complementada pelo reflexo de Hering-Breuer. Este mecanismo reflexo protege o pulmão da insuflação excessiva ao interromper a rampa inspiratória quando os receptores de estiramento situados nas paredes dos brônquios e bronquíolos detectam um estiramento excessivo [Guyton, A. & Hall, J., 2006].

Quimiorreflexos periféricos

A regulação da concentração de oxigénio no sangue apresenta-se por um processo indirecto de quimiorrecepção, actuando quase em exclusividade sobre os quimiorreceptores periféricos presentes nos corpos carotídeos e aórticos, que transmitem sinais neuronais adequados ao centro respiratório para o controlo da respiração. Estes também respondem a variações na concentração de dióxido de carbono e iões de hidrogénio, embora não sejam tão significativas.

Os corpos carotídeos apresentam-se bilateralmente junto às bifurcações das artérias carótidas comuns, em carótida interna e externa, sendo as fibras nervosas aferentes desses corpos parte integrante dos nervos glossofaríngeos que se dirigem para o núcleo do tracto solitário. Já os corpos aórticos encontram-se ao longo da crossa da aorta, tendo como via aferente o nervo vago. A sua informação vai ser integrada no núcleo do tracto solitário (figura 1.12) [Guyton, A. & Hall, J., 2006].

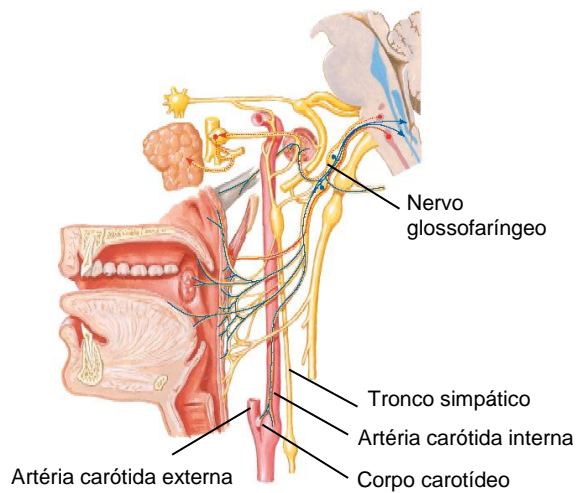


Figura 1.13: Controlo respiratório promovido pelos quimiorreceptores periféricos nos corpos carotídeos [Netter, 2010].

Quimiorreceptores centrais

O excesso de dióxido de carbono ou de iões de hidrogénio, ao contrário do processo de compensação dos níveis de oxigénio, trata-se de um processo directo sobre o centro respiratório, existindo uma área quimiossensível situada bilateralmente na zona ventral do próprio bulbo, na área prostrema (figura 1.14) [Guyton & Hall, 2006].

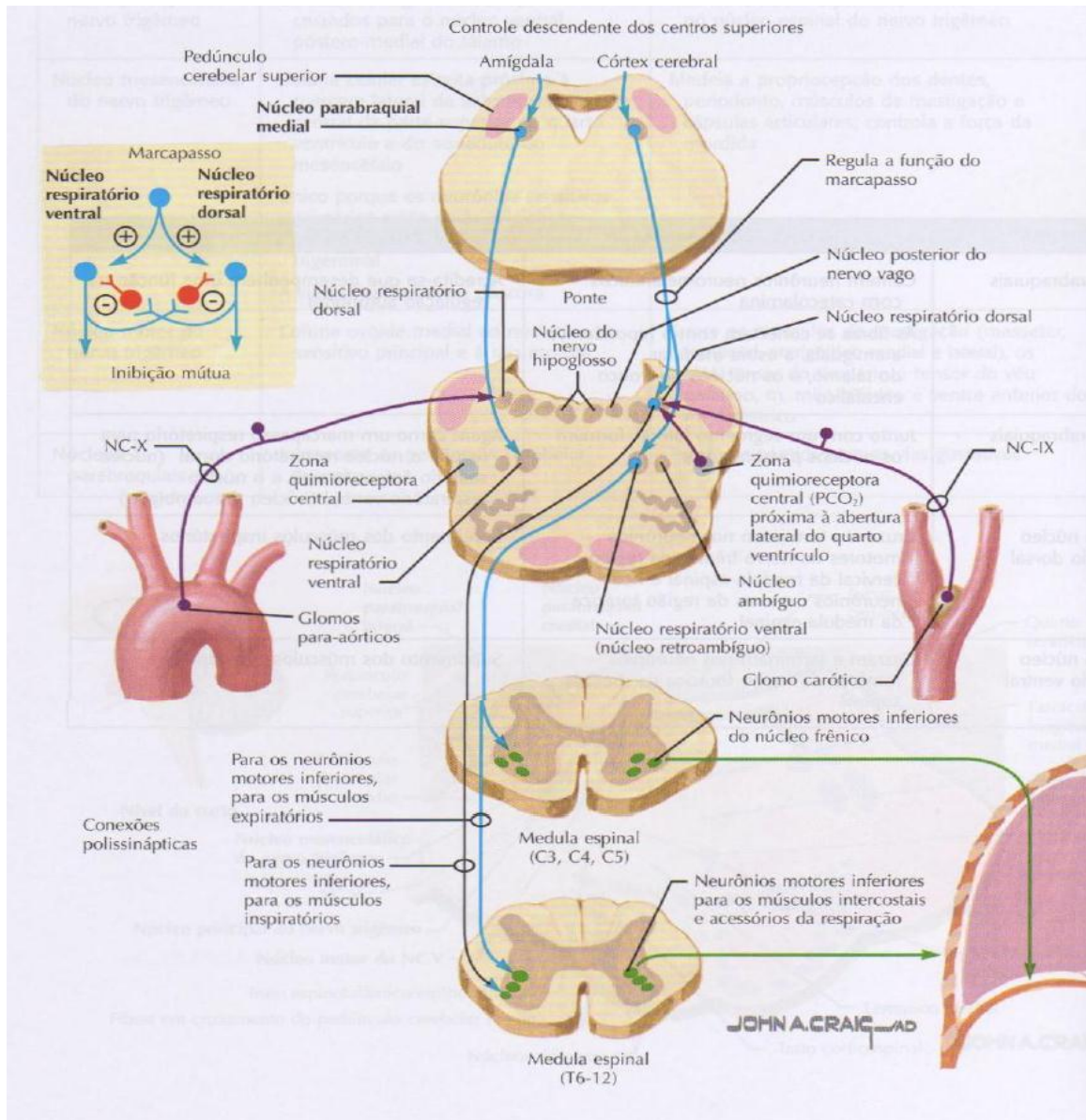


Figura 1.14: Diagrama mostrando a interação reflexa envolvida no controle respiratório pelos quimiorreceptores periféricos localizados nos corpos carotídeos, aórticos e pelos quimiorreceptores centrais [Netter, 2010].

Uma vez que se supõe que o dióxido de carbono não interage directamente com os quimiorreceptores e os iões de hidrogénio não atravessam a barreira hematoencefálica com facilidade, supõe-se que existe uma reacção do dióxido de carbono com a água dos tecidos de modo a formar ácido carbónico, que por sua vez se dissocia em iões de hidrogénio e iões bicarbonato, já passada a barreira hematoencefálica, estimulando os primeiros directamente os quimiorreceptores centrais com consequências na ventilação (figura 1.15). Devido à alta permeabilidade da barreira hematoencefálica ao dióxido de carbono, sempre que a PCO_2 sanguínea

sofre um aumento, a PCO_2 do líquido intersticial do bulbo e do líquido cefalorraquidiano também aumenta.



Figura 1.15: Esquema representativo da estimulação da área inspiratória do tronco cerebral por sinais de proveniência da área quimiossível, localizada bilateralmente no bulbo. É o dióxido de carbono que dá origem a grande parte dos íons de hidrogénio, responsáveis pela estimulação da área quimiossível [Guyton & Hall, 2006].

1.2 Materiais utilizados em dispositivos médicos

Um material deve obedecer a determinadas características para poder ser utilizado em contexto biológico, nomeadamente condições de resistência à função que se propõe a desempenhar, não apresentando degradação não desejável, e, principalmente biocompatibilidade.

Os biomateriais apresentam-se como materiais desenvolvidos para uso na área da saúde, tendo como principal objectivo restituir funções biológicas, fisiológicas e anatómicas perdidas. Actualmente, estes materiais são encontrados sob as mais diversas formas e utilizações – polímeros, cerâmicos e ligas. Assim, por exemplo, na ortopedia são utilizados como próteses, parafusos ou mesmo cimentos e, na cardiologia, como cateteres, próteses endovasculares, válvulas cardíacas, desfibrilhadores e pace-makers.

Estes materiais apresentam bons níveis de biocompatibilidade, dadas as suas características físico-químicas, integrando-se no organismo sem desencadear processos de reacção inflamatória, o que poderia conduzir à sua rejeição pelo organismo [Brown, Bursten, 2005]

1.2.1. Alumínio

A folha de alumínio apresenta-se como um material leve, maleável e com uma boa condutividade eléctrica ($34,2 \text{ S.m/mm}^2$). O alumínio tem um ponto de fusão a $660,32^\circ\text{C}$ e uma elevada resistência à corrosão, embora oxide muito mais facilmente que a grande maioria dos restantes metais. Apresenta contudo algumas dificuldades na soldadura. O alumínio tem ainda uma toxicidade não tolerável quando em valores superiores a $0,1\text{mg}$ de alumínio por cada 100g de massa corporal [Villate, 2013].

1.2.2. Estanho

O estanho apresenta-se, tal como a folha de alumínio, como um metal bastante maleável e altamente resistente à corrosão, sendo apenas corroído por ácidos e bases fortes, e por sais ácidos. Apresenta um ponto de fusão bastante mais baixo ($231,93^\circ\text{C}$) e, embora tenha uma condutividade eléctrica bastante inferior à do alumínio ($8,6 \text{ S.m/mm}^2$), é usado na electrónica como o principal composto da solda. Não existem situações relatadas de intoxicações por estanho, somente pelos seus compostos voláteis [Villate, 2013].

1.2.3. Cobre

O cobre apresenta a melhor condutividade eléctrica de todos os metais, logo a seguir à prata ($61,7 \text{ S.m/mm}^2$). É um material com propriedades de ductilidade e maleabilidade que fazem com que seja material de eleição para aplicações eléctricas. Embora lenta, o cobre exhibe uma oxidação gradual quando em contacto com o oxigénio atmosférico, podendo constituir um problema quanto à sua aplicação em meio fisiológico [Villate, 2013].

1.2.4. Latão

O latão é uma liga metálica constituída por cobre e zinco, podendo variar a percentagem deste último entre 5 e 45% de modo a alterar as propriedades da liga: maleabilidade, ductilidade e condutibilidade eléctrica – sendo esta última de aproximadamente $14,9 \text{ S.m/mm}^2$, dependendo da percentagem relativa dos metais que a constituem [Villate, 2013].

Capítulo 2: Materiais e Métodos

A metodologia utilizada para o teste dos diferentes tipos de eléctrodos encontra-se dividida em cinco partes, efectuadas de acordo com a seguinte ordem:

1. Registo da actividade do nervo frénico;
2. Simulação computacional de sinais de estimulação eléctrica a ser usados;
3. Mapeamento eléctrico do diafragma;
4. Desenho e construção de eléctrodos de estimulação, tendo em conta o seu número, forma e material;
5. Teste em modelos animais dos protótipos de eléctrodos construídos.

Para a parte 1, 3, 4 e 5 foi necessária a utilização de modelos animais (ratos Wistar (n=24) e coelhos neozelandeses albinos (n=5)), cujos protocolos cirúrgicos foram sempre semelhantes e serão descritos de seguida.

Anestesia e protocolo cirúrgico

Todos os animais foram anestesiados com pentobarbital de sódio, solução de concentração de 60mg/mL/Kg. A indução da anestesia foi feita por via intraperitoneal no rato e por via intravenosa (na veia marginal da orelha) do coelho. A manutenção da anestesia foi feita com uma solução de 20% (v/v) do mesmo fármaco, sempre que necessário e após teste do reflexo de retirada, quando o animal não se encontrava sobre efeito de bloqueadores neuromusculares ou por observação das alterações da pressão arterial e frequência cardíaca após estimulação nociceptiva na para quando se encontrava curarizado.

Uma vez que se tratam de cirurgias agudas, todos os animais são eutanasiados no fim da experiência com recurso a uma overdose da solução de pentobarbital de sódio preparada para a anestesia geral, concentração de 60mg/mL, injectada intravenosamente, até se verificar paragem cardíaca total.

Para permitir ventilação assistida e medição da pressão traqueal e do volume corrente, foi efectuada, em todos os animais, uma traqueostomia baixa para inserção de cânula traqueal com duas derivações. A artéria e veia femorais direitas foram identificadas e

cateterizadas para, respectivamente, medição contínua da pressão arterial e administração de soro e fármacos, sempre que necessário. O electrocardiograma foi registado usando três eléctrodos inseridos subcutaneamente em três das quatro patas e dele derivou-se a frequência cardíaca. A temperatura corporal foi mantida constante entre $38.5 \pm 1.0^\circ\text{C}$ através de uma sonda rectal ligada a um cobertor homeotérmico. Monitorizaram-se continuamente e em tempo real a pressão arterial, a pressão traqueal e/ou volume corrente, a temperatura corporal, a frequência cardíaca e a actividade eléctrica cardíaca.

Todos os procedimentos envolvendo animais seguiram a legislação vigente sobre experimentação animal e tiveram a aprovação do conselho de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

2.1. Registo da actividade do nervo frénico

Dada a importância da aplicação de um sinal de estimulação semelhante ao fisiológico, foi estudado o sinal eléctrico real, que se propaga ao longo do nervo frénico, e a sua dispersão no músculo diafragmático em cada ciclo ventilatório.

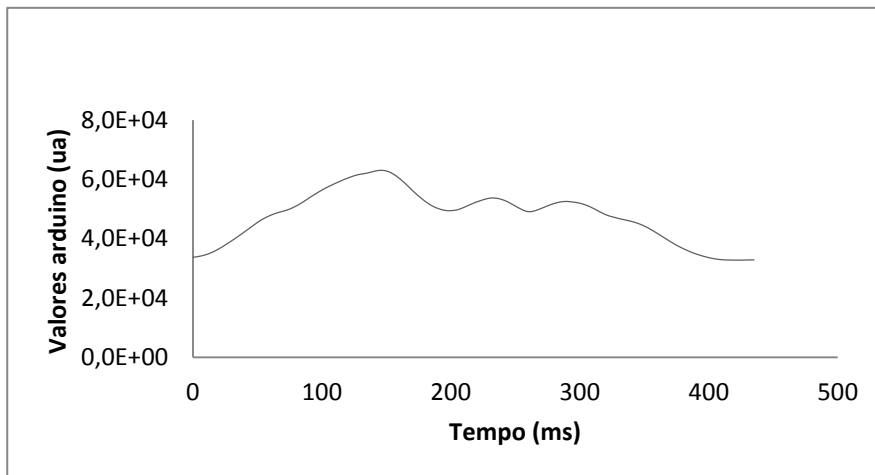
Efectuando o protocolo descrito anteriormente, foi adquirido, com recurso a um eléctrodo bipolar de prata, o sinal do nervo frénico, com a finalidade de ser utilizado na modulação dos sinais de estimulação utilizados posteriormente. O acesso ao nervo frénico foi feito a nível cervical, uma vez que, como visto na descrição anatómica deste nervo, é o local de melhor acessibilidade (n=3).

2.2. Simulações computacionais de sinais de estimulação eléctrica

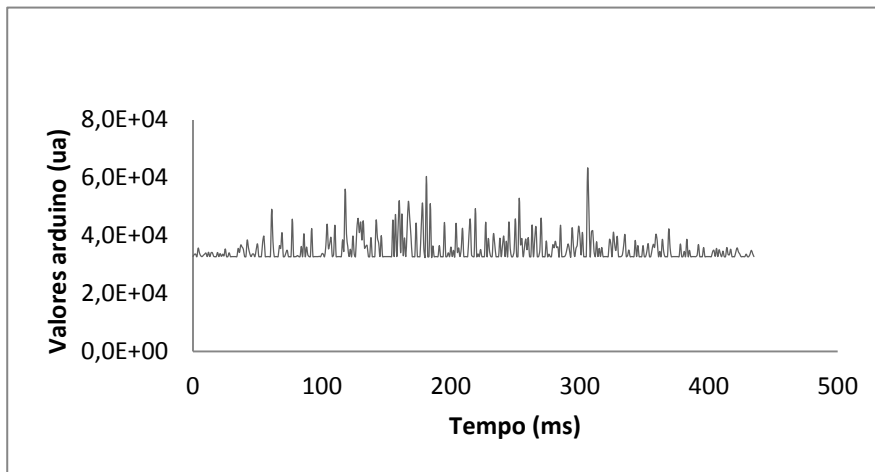
Sendo o objectivo deste trabalho a estimulação eléctrica do diafragma, foram simulados computacionalmente sinais de estimulação eléctrica, tendo como modelo o sinal da actividade do nervo frénico adquirido anteriormente em modelos animais. Assim, foram simulados três sinais:

- Sinal 1 – “Envelope” da porção positiva da actividade eléctrica do nervo frénico (figura 2.1 a));
- Sinal 2 – Porção positiva da actividade eléctrica do nervo frénico (figura 2.1 b));
- Sinal 3 – Sinal da actividade eléctrica do nervo frénico (figura 2.1 c)).

a)



b)



c)

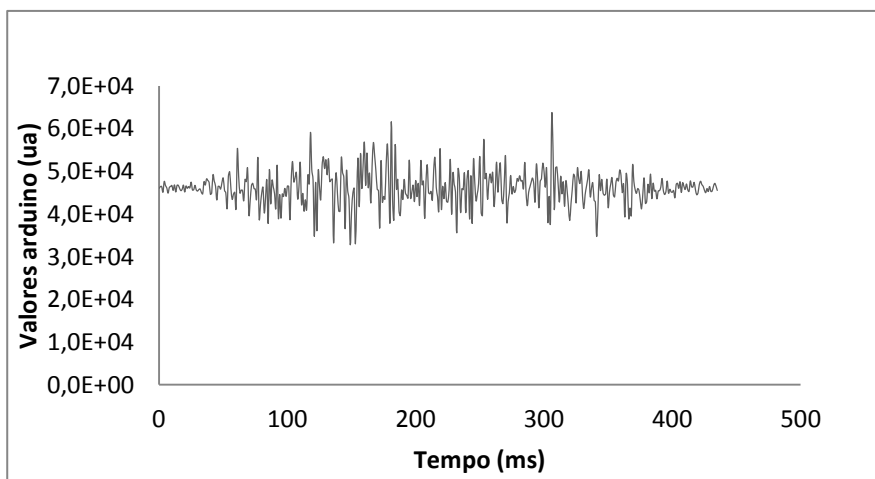


Figura 2.1: Representação dos sinais programados para a estimulação diafragmática na placa Arduino Nano® (AT mega328).

Finalmente, foi simulado um quarto sinal que teve por base avaliações de pressão traqueal, ao longo do ciclo respiratório, efectuadas e adquiridas em projectos de investigação semelhantes (figura 2.2).

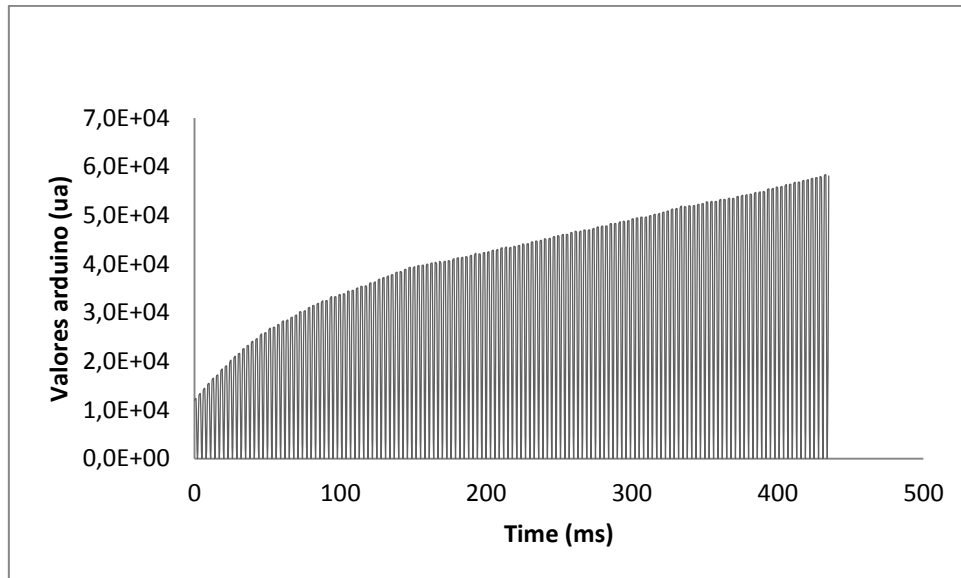


Figura 2.2: Sinal utilizado para estimulação do músculo diafragmático – modulado com recurso ao sinal de pressão negativa biológico – programado na placa Arduino Nano® (AT mega328).

2.3. Mapeamento eléctrico do diafragma

De modo a dar continuidade ao estudo prévio do diafragma, e antes de se proceder à estimulação diafragmática, foi efectuado um mapeamento de potenciais eléctricos neste músculo. Para o efeito, foram colocados eléctrodos de estimulação nas posições ilustradas na figura 2.3 do músculo diafragmático *in vivo* e *ex vivo*, de modo a verificar possíveis interacções electrofisiológicas com as medições efectuadas. Foi utilizado um eléctrodo unipolar com isolamento de vidro e ponta de prata (diâmetro de 0,5mm) para aquisição dos potenciais (impedância= $400 \pm 20 \Omega$), tendo sido adquiridos quinze pontos em cada porção do diafragma, esquerda e direita. Para estas experiências o modelo animal foi o rato ($n=5$).

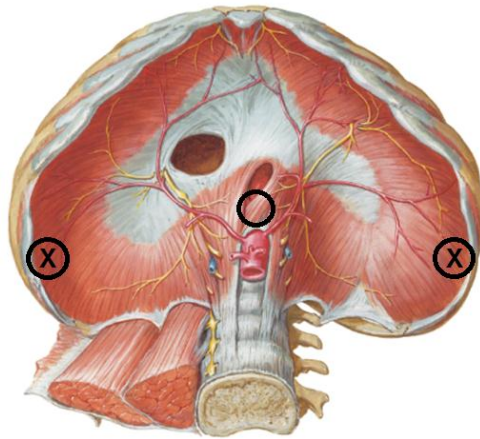


Figura 2.3: Esquema representativo de pontos de colocação dos eléctrodos de estimulação – eléctrodos laterais, marcados com “X”, são pontos de injeção de corrente no músculo e o eléctrodo central, o eléctrodo de fuga de corrente.

2.4. Desenho e concepção de eléctrodos

A construção dos eléctrodos de estimulação é o principal objectivo do presente trabalho. Para isso, abordaram-se os três aspectos fundamentais com ela relacionados:

- Tipo de material a ser utilizado na construção dos eléctrodos;
- Identificação da melhor forma, número e da localização relativa no diafragma dos eléctrodos construídos;
- O método mais eficaz de fixação dos eléctrodos ao diafragma.

2.4.1. Escolha do material

A escolha do material a utilizar para a construção dos eléctrodos de estimulação começa desde logo com a escolha de materiais que sejam bons condutores eléctricos, apresentando uma baixa resistividade à passagem de corrente eléctrica. A maleabilidade e resistência do mesmo à tracção e torção são características importantes para o objectivo pretendido, uma vez que é esperado que estes materiais acompanhem o movimento da musculatura diafragmática. É de ter ainda em conta a importância da utilização de materiais que não oxidem em meio biológico, uma vez que facilmente deixariam de ser bons condutores eléctricos e os produtos de oxidação poderão causar lesão tecidual.

Tendo em consideração as características enumeradas anteriormente, a indústria da electrónica apresenta já um conjunto de materiais com estas propriedades, de fácil

obtenção e manuseamento e com provas dadas nesta área – cobre, estanho e alumínio -, tendo sido estes os materiais escolhidos para implementação nos eléctrodos de estimulação - materiais muito utilizados na concepção de equipamentos como desfibrilhadores e pacemakers.

Dada a fase de experimentação do projecto em questão, a utilização de materiais biocompatíveis não se demonstrou necessária a este nível, fazendo com que tenham sido estudados apenas a nível teórico, tendo em conta a sua necessidade para a concepção final dos eléctrodos do pacemaker.

2.4.2. Forma, número e localização relativa dos eléctrodos

Todos os protótipos de eléctrodos foram construídos tentando acompanhar a distribuição da inervação do nervo frénico no diafragma, uma vez que a actividade muscular se desenvolve ao longo do tempo com base na estimulação que é efectuada por esse nervo. É sabido da descrição anatómica do nervo frénico que este tem uma distribuição essencialmente lateral no diafragma, contornando-o mesmo quase na sua totalidade. Contudo, dado que estamos a inserir corrente no músculo diafragmático, é necessário conceder a este circuito um ponto de fuga de corrente, de modo a direccionar, assim, a corrente que queremos que o atravesse; a não existir este segundo eléctrodo de fuga de corrente ou não existiria de toda passagem de corrente eléctrica, no caso da resistência eléctrica ser bastante elevada, e tendencialmente infinita, ou, criticamente, existiria uma dispersão de corrente de tal forma que poderia lesar as estruturas adjacentes – fígado, coração, estômago, baço e vasos circundantes.

Assim, fizeram-se as seguintes montagens de eléctrodos:

- Aro lateral com eléctrodo central – variando material, tamanho e método de fixação;
- Eléctrodos de estimulação múltiplos, com eléctrodo central – 4, 6 e 8 eléctrodos laterais.

2.4.3. Fixação dos eléctrodos ao diafragma

Neste protocolo, foram utilizados diferentes materiais na construção dos eléctrodos de estimulação do diafragma. Os protótipos dos eléctrodos construídos e implementados dividiram-se em dois grandes grupos:

- Eléctrodos de superfície;
- Eléctrodos perfurantes do diafragma.

Uma vez que o diafragma é uma estrutura móvel foram utilizadas as seguintes formas de fixação dos eléctrodos ao músculo diafragmático:

- Sutura dos eléctrodos ao diafragma;
- Colagem com recurso a n-butil cianoacrilato, cola de uso cirúrgico;
- Fixação por compressão das estruturas abdominais;
- Perfuração da superfície abdominal do músculo diafragmático e fixação na superfície torácica.

2.4.4. Montagem do gerador de sinais de estimulação

Os diferentes protótipos de eléctrodos construídos foram ligados a uma caixa de estimulação composta por um módulo de processamento baseado na placa Arduino Nano® (AT mega328) de 32K de memória flash. Nesta placa podem ser carregados os sinais a ser utilizados na estimulação. O protótipo tem um gerador de corrente controlado através de um potenciómetro ou por instrução programada. A frequência de estimulação pode também ser calculada automaticamente através de algoritmos internos ou através de um potenciómetro existente na caixa. Este gerador funciona a -12V a +12V de corrente contínua, conseguindo debitar uma corrente até 10mA. Esta caixa de estimulação foi construída em projecto anterior da equipa de investigação.

2.4.5. Eléctrodos

2.4.5.1. Eléctrodos de papel de alumínio

Foi construído um eléctrodo de estimulação em papel de alumínio; no eléctrodo exterior foram criadas abas de alumínio para serem coladas com n-butil cianoacrilato ao tecido muscular do diafragma, de modo a fixar este eléctrodo o máximo possível ao músculo. Já o eléctrodo central foi fixado apenas por contacto, no que foi auxiliado pela pressão exercida pelo fígado sobre a superfície abdominal do diafragma. O modelo animal utilizado para estas experiências foi o rato (n=6).

2.4.5.2. Eléctrodos de cobre e estanho

Para este protótipo foi projectado um tipo de eléctrodo diferente do anterior, efectuado com alumínio. O arco lateral foi construído com recurso a fio de cobre e o central com recurso a estanho. Foi tida em consideração a tentativa de minimização da dispersão de corrente eléctrica para os órgãos abdominais, tendo sido isolados os eléctrodos condutores com recurso a tecido de polipropileno. O modelo animal utilizado para estas experiências foi o rato (n=5).

2.4.5.3. Eléctrodos de folha de cobre

Neste tipo de eléctrodos, feitos de fita de folha de cobre, com cola de um dos lados, foi colada a uma folha de papel de feltro para servir de isolador eléctrico, de modo a não existir dispersão de corrente eléctrica para as estruturas abdominais adjacentes ao diafragma. O modelo animal utilizado para esta experiência foi o rato (n=5).

2.4.5.4. Eléctrodos perfurantes do diafragma

De modo a sobrepor o mais possível os eléctrodos de estimulação às inserções do nervo frénico no diafragma foi deixada de parte a ideia de ter um arco externo contínuo para a distribuição da corrente eléctrica no músculo do diafragma e foi implementada a ideia de ter pontos de estimulação. Estes pontos foram efectuados nestas experiências com recurso a espigões de latão, dobrados na ponta a cerca de 90°, soldados a fios de cobre e isolados electricamente na sua cápsula superior com verniz. Estes foram utilizados para perfurar o diafragma e ficar presos do lado torácico

de modo a aumentar a área de contacto com o mesmo e apresentar uma boa fixação ao músculo. Para estas experiências o modelo animal foi o coelho (n=5).

2.5. Teste dos diferentes conjuntos de eléctrodos de estimulação

Para o teste dos diferentes conjuntos de eléctrodos construídos no tópico anterior, foram efectuadas experiências em animais (rato e coelho), de forma a observar a sua eficácia a promover a ventilação.

Após o protocolo cirúrgico descrito anteriormente (página 23), os registos das funções vitais (pressão arterial, frequência cardíaca e pressão traqueal) permitem que sejam efectuadas um conjunto de experiências de modo a testar os protótipos construídos, sob diversas condições que são descritas de seguida.

- a) Animal anestesiado, com entubação traqueal, em ventilação espontânea e com o circuito de ventilação aberto para o exterior;
- b) Animal anestesiado, com entubação traqueal, em ventilação espontânea e com o circuito de ventilação fechado para o exterior;
- c) Animal anestesiado, com entubação, sob bloqueio neuromuscular e ventilação assistida;
- d) Animal anestesiado, com entubação traqueal, sob bloqueio neuromuscular, com estimulação diafragmática e com o circuito de ventilação fechado para o exterior;
- e) Animal anestesiado, com entubação traqueal, sob bloqueio neuromuscular, com estimulação diafragmática e com o circuito de ventilação aberto para o exterior.

As condições de estimulação foram optimizadas para um efeito máximo em cada protótipo testado através da regulação de determinadas variáveis:

- Intensidade de corrente do sinal de estimulação [10µA - 100µA];
- Frequência [20Hz-50Hz];
- Duração de pulso [3ms].

Com o intuito de verificar a viabilidade de uma estimulação directamente com os eléctrodos no diafragma, capaz de provocar alterações ventilatórias, foram gerados

Capítulo 2: Materiais e Métodos

impulsos de onda quadrada, com uma intensidade de corrente eléctrica variável, através da utilização de um potenciómetro, entre 10 e 100 μ A, com 3ms de duração e uma frequência de 20 a 50Hz. Para estas experiências o modelo animal foi o rato (n=3).

Capítulo 3: Resultados

3.1. Registo da actividade do nervo frénico

Todas as aquisições do sinal do nervo frénico foram efectuadas com recurso a um eléctrodo bipolar de prata, como descrito anteriormente (n=3). A figura 3.1 representa o sinal uniforme adquirido ao longo destas experiências.

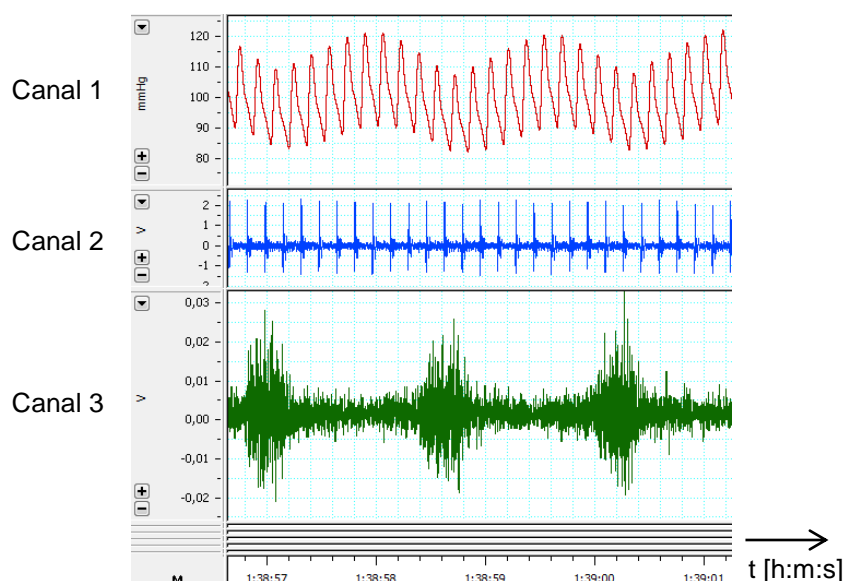


Figura 3.1: Exemplo de apresentação dos sinais no decorrer de uma experiência: canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – actividade do nervo frénico.

Este sinal em rampa, de duração de aproximadamente 0,5 segundos, corresponde ao sinal de estimulação diafragmática, durante o qual existe a inspiração; durante o segundo seguinte a cada inspiração existe a expiração.

3.2. Mapeamento eléctrico do diafragma

Foram adquiridos os valores dos potenciais de quinze pontos em cada porção do diafragma, à esquerda e à direita. A figura 3.2 exemplifica o tipo de sinal eléctrico obtido ao longo destas experiências.

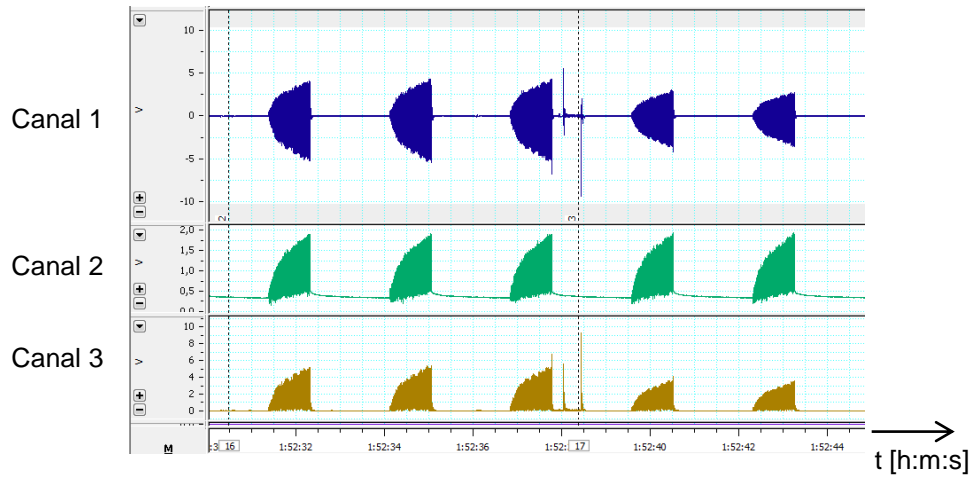


Figura 3.2: Aquisição de potenciais eléctricos para mapeamento da dispersão de corrente no diafragma. Canal 1 – registo do eléctrodo bipolar; canal 2 – sinal de estimulação do diafragma; canal 3 – valor absoluto do canal 1.

Após aquisição do sinal da figura 3.2 – canal 1, foi calculado e representado, através de uma função do programa LabChart®, o valor absoluto deste no canal 3 dessa mesma figura. Através deste último, é seleccionado com o cursor o pico a analisar e calculado, o seu valor médio. Estes valores foram convertidos para tomarem valores entre 0 e 255, através de uma regra de três simples, correspondendo os 4 V ao valor 255 (tabela 3.1); foi adoptada esta normalização uma vez que se trata de um intervalo facilmente convertido numa escala de cores.

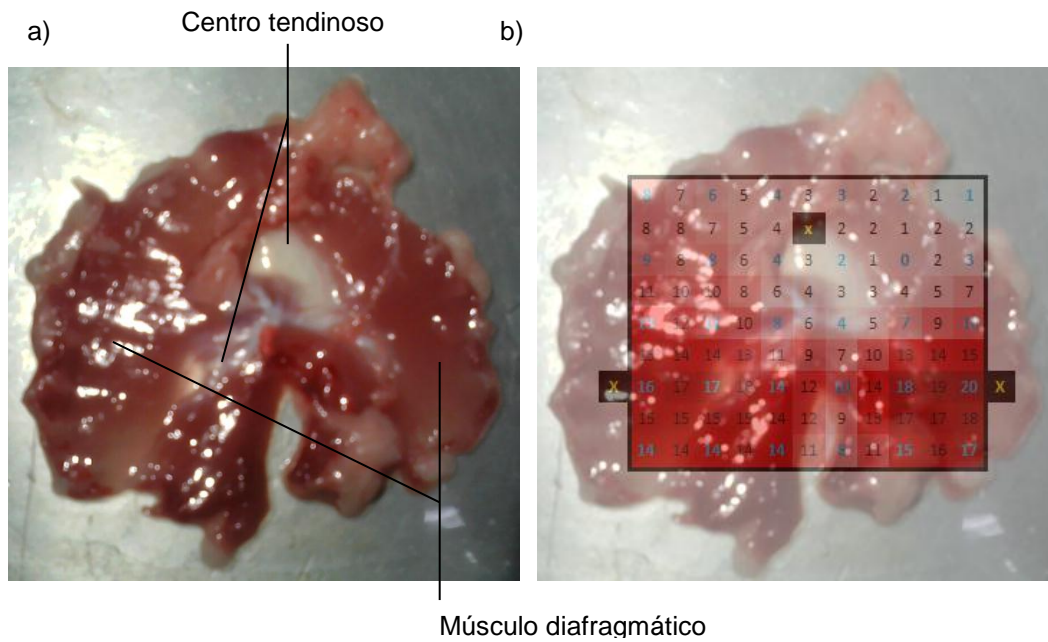


Figura 3.4: a) Diafragma “ex vivo” para estudo dos potenciais propagados; b) Sobreposição da tabela de potenciais adquiridos com a imagem do diafragma “ex vivo”.

Estes resultados mostram que a distribuição de tensão não é homogénea em todo o diafragma sendo predominantemente uniforme no hemidiafragma direito (figura 3.3 e figura 3.4).

3.3. Sinais de estimulação diafragmática

Este conjunto de experiências foi efectuado com o objectivo de otimizar o sinal de estimulação a ser utilizado. Para isso foram utilizados os eléctrodos da figura 3.5 a).

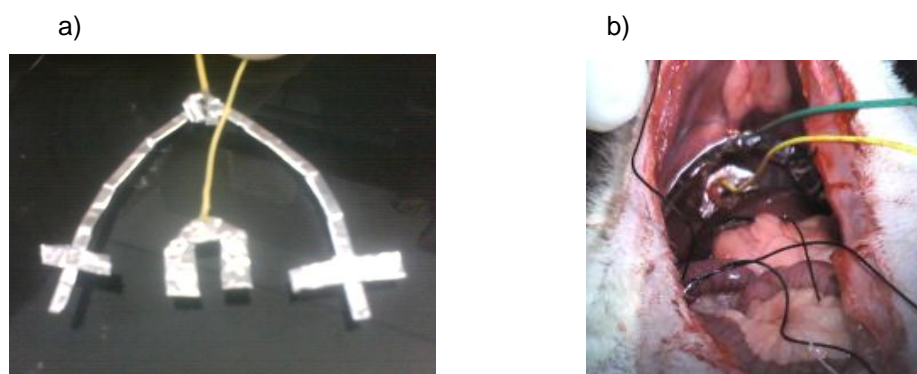


Figura 3.5: a) Eléctrodos de estimulação - aro externo com abas para colagem, com cola cirúrgica, ao músculo diafragmático e aro interno para colocação por pressão entre vísceras abdominais e tecido tendinoso central; b) Colocação dos eléctrodos de estimulação no diafragma do modelo animal.

3.3.1. Impulso de onda quadrada

Esta estimulação diafragmática foi feita com recurso a um gerador de impulsos e eléctrodos construídos com papel de alumínio, obtendo-se os sinais de pressão arterial, electrocardiograma e pressão traqueal (figura 3.6).

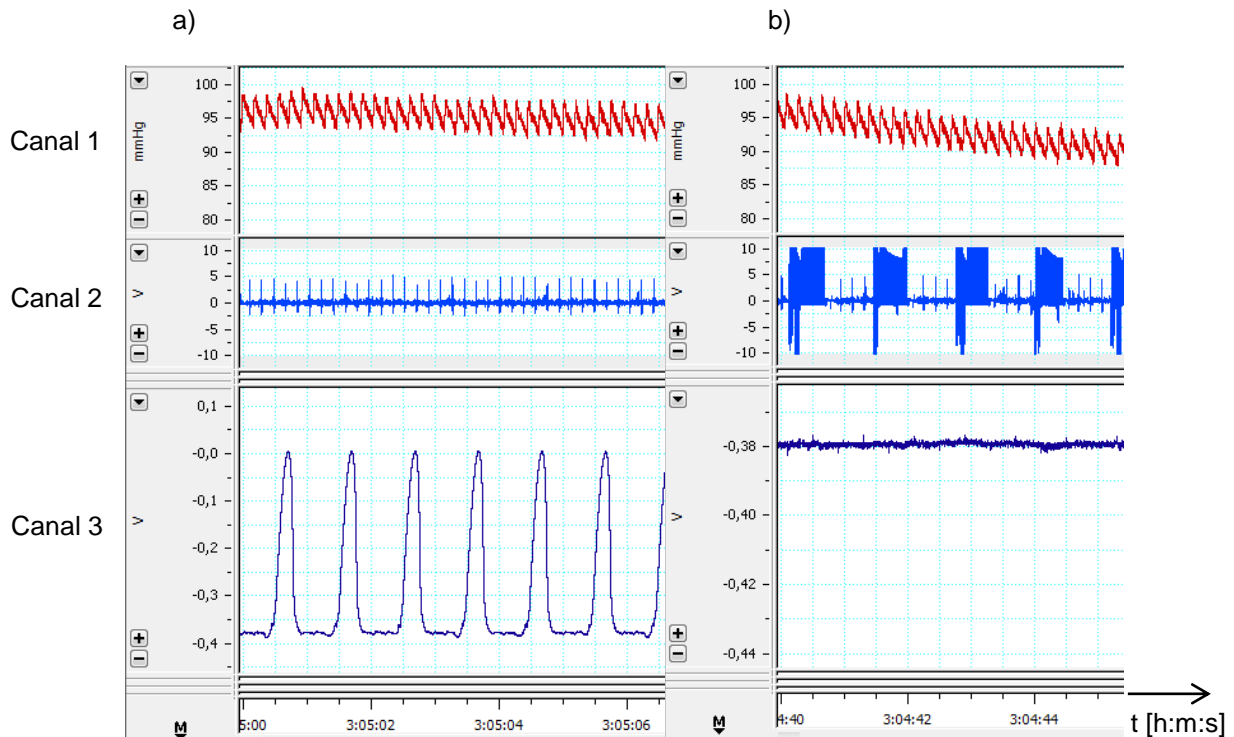


Figura 3.6: a) Ventilação artificial com pressão positiva; b) Efeitos da estimulação diafragmática com impulso de onda quadrada. Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – pressão traqueal.

3.3.2. Sinais de simulação da “rampa” frénica

Os sinais de estimulação diafragmática utilizados tiveram como modelo o sinal recolhido dos potenciais de despolarização do nervo frénico.

Apenas o sinal modulado directamente do registo da actividade eléctrica do nervo frénico (figura 3.1) se traduziu numa alteração significativa da pressão traqueal, estando os sinais adquiridos nessa mesma experiência representados na figura 3.7.

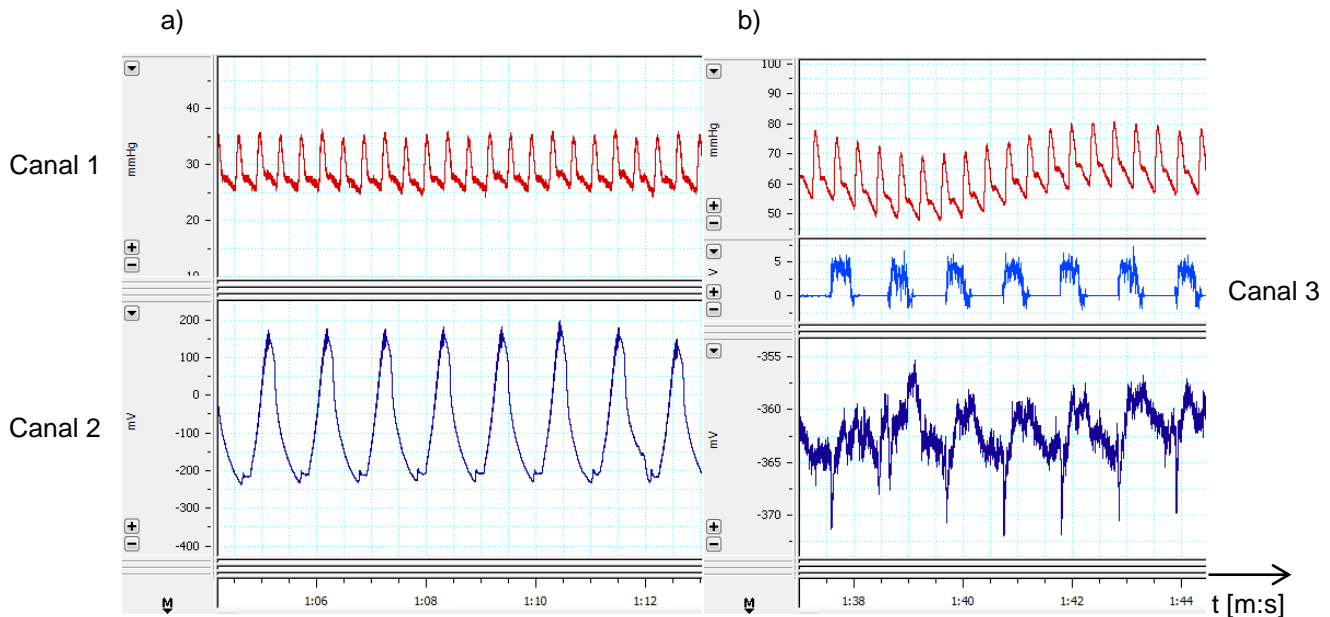


Figura 3.7: a) Ventilação artificial em sistema fechado; b) Estimulação diafragmática. Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – pressão traqueal; canal 3 – sinal de estimulação.

Aqui já é possível visualizar alterações, embora bastante ténues em valor absoluto, no valor da pressão, coincidentes com o estímulo diafragmático, evidenciando assim uma criação de pressão negativa suficiente para a entrada de um volume mínimo de ar nos pulmões.

3.4. Desenho dos eléctrodos

Conforme descrito anteriormente, para este conjunto de experiências foram construídos eléctrodos de superfície e eléctrodos de perfuração do músculo diafragmático de modo a obter um conjunto de dados consistentes, que permitissem afirmar qual o melhor material, forma, quantidade de eléctrodos e modo de fixação à superfície diafragmática.

3.4.1. Eléctrodos de cobre e estanho

O sinal para este conjunto de experiências manteve-se inalterado, sinal modulado directamente da actividade eléctrica do nervo frénico (figura 3.1), sendo utilizado um eléctrodo de cobre e estanho com uma membrana electricamente isolante, como é possível ver na figura 3.8.

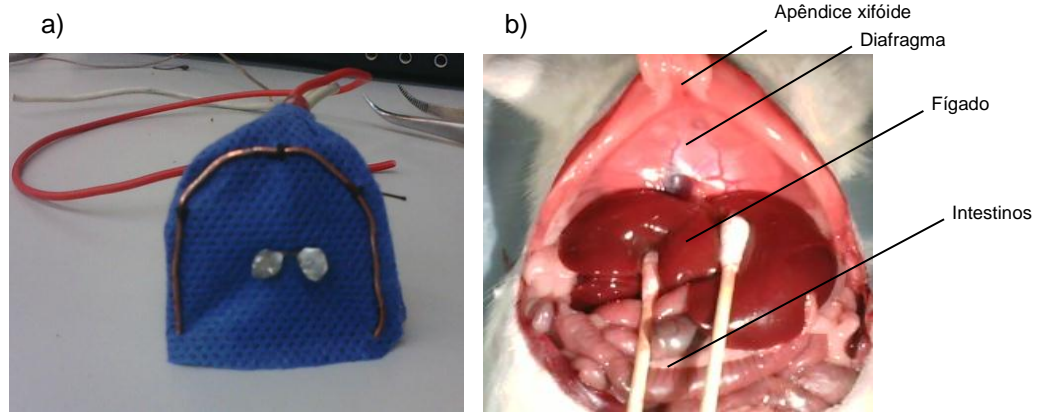


Figura 3.8: a) Eléctrodos de estimulação – aro exterior de fio de cobre e eléctrodo central de estanho; b) Cavidade peritoneal de acesso ao diafragma.

Foram registadas a pressão ventilatória, canal 1, e o sinal a utilizar na estimulação diafragmática, canal 2. Na figura 3.9 a) é representada a pressão ventilatória artificial em sistema fechado. Na figura 3.9 b), imediatamente após o começo da estimulação diafragmática, foi mantido o sistema fechado de modo a permitir a visualização das pressões negativas efectivamente criadas aquando a estimulação, após abrir o sistema para a atmosfera vemos que as pressões efectivamente baixam mas que existe entrada de ar para dentro dos pulmões (figura 3.9 c)).

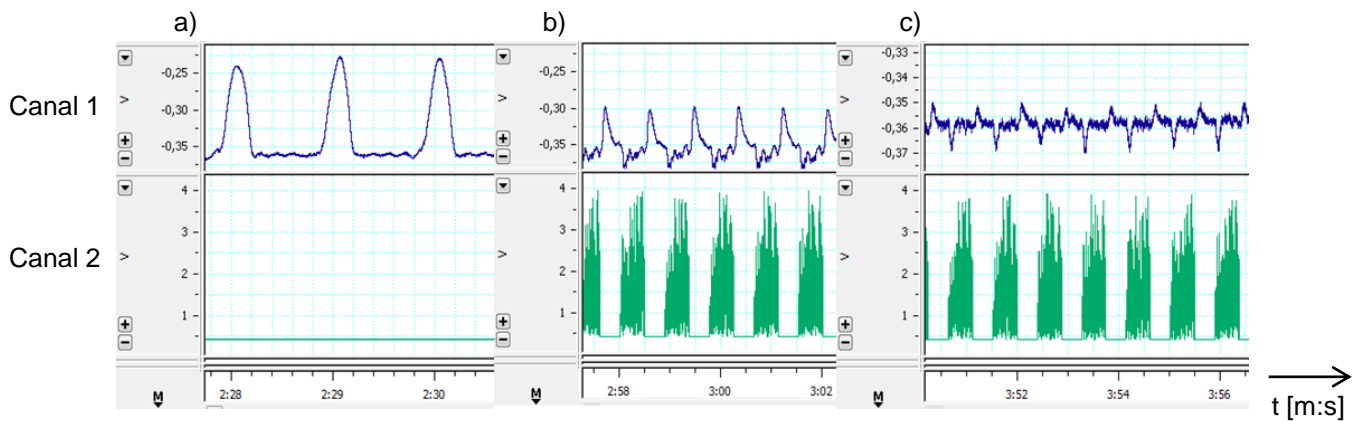


Figura 3.9: a) Ventilação artificial por pressão positiva; b) Estimulação diafragmática – pressão negativa – inspiração para baixo; c) Estimulação diafragmática – sistema aberto – inspiração para baixo. Canal 1 – pressão traqueal; canal 2 – sinal de estimulação diafragmática.

3.4.2. Eléctrodos de folha de cobre

Para este conjunto de experiências o sinal manteve-se uma vez mais inalterado, sendo usada a folha de cobre como eléctrodo de estimulação.



Figura 3.10: Eléctrodo de folha de cobre com face aderente – soldado a fio de cobre.

Na figura 3.11 é possível verificar a relação entre a ventilação normal do modelo animal (a), sistema aberto para o exterior, com a respiração artificial por pressão positiva (b).

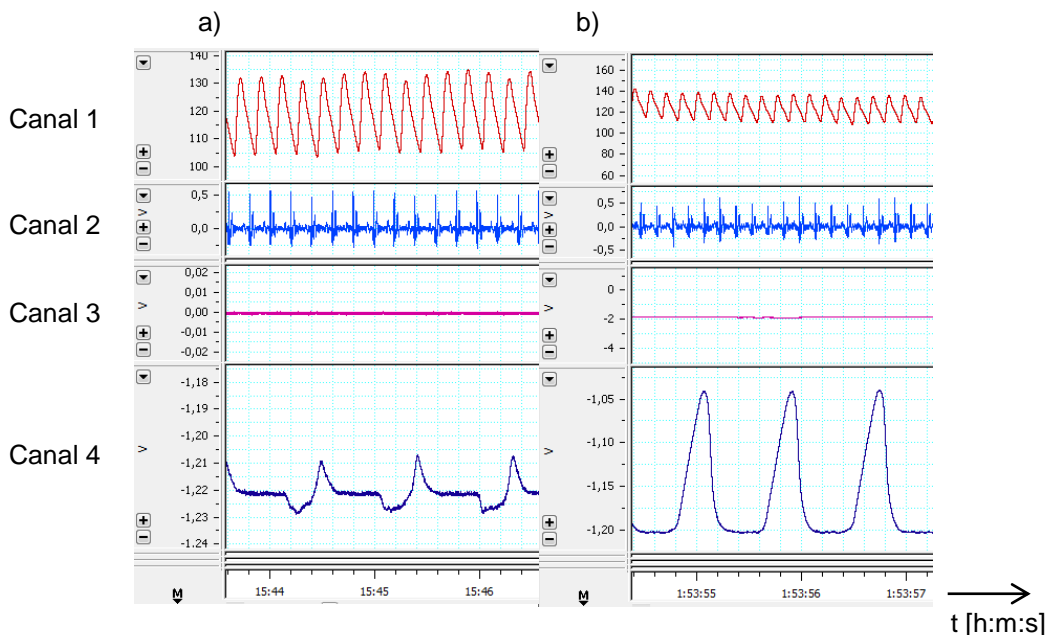


Figura 3.11: a) Ventilação fisiológica normal - sistema aberto para o exterior; b) Respiração artificial por pressão positiva. Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – sinal de estimulação diafragmática, não existe estimulação neste ponto; canal 4 – pressão traqueal;

Na figura 3.12 é possível verificar a relação entre as pressões negativas criadas aquando a ventilação fisiológica normal (a), sistema fechado para o exterior, com as

pressões negativas criadas aquando a estimulação diafragmática (b), sistema fechado também para o exterior.

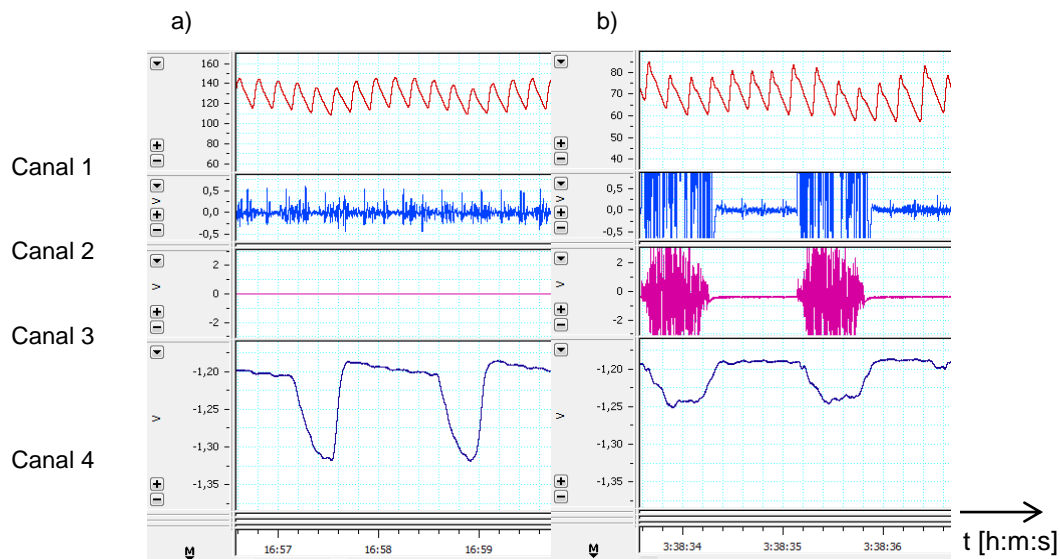


Figura 3.12: a) Ventilação fisiológica normal – pressão negativa - sistema fechado para o exterior; b) Estimulação diafragmática – pressão negativa – sistema fechado para o exterior.

Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – sinal de estimulação diafragmática (b); canal 4 – pressão traqueal;

Na figura 3.13 é possível verificar a relação entre a ventilação fisiológica normal (a), sistema aberto para o exterior, com a ventilação aquando a estimulação diafragmática (b), sistema aberto para o exterior.

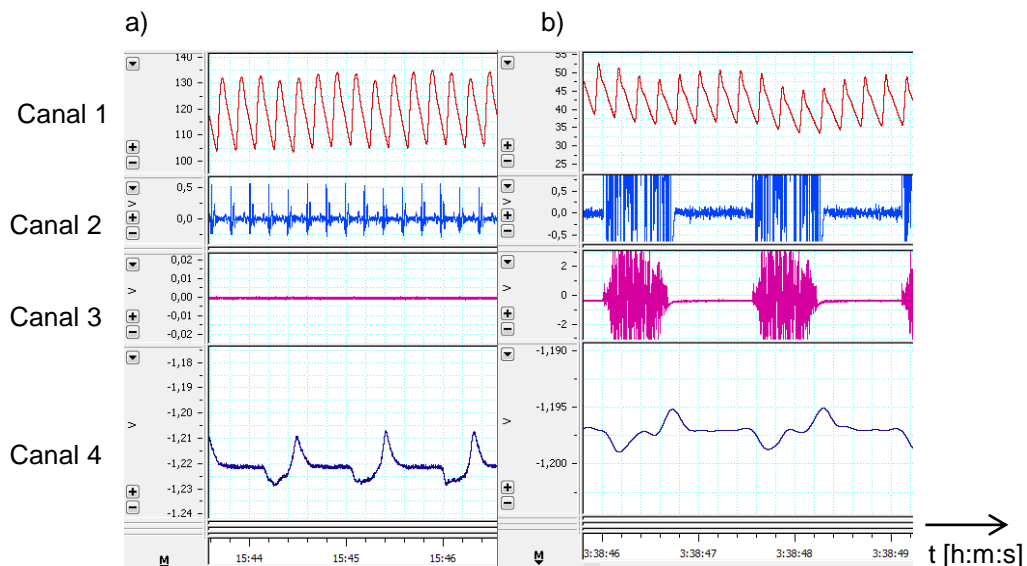


Figura 3.13: a) Ventilação fisiológica normal - sistema aberto para a atmosfera; b) Estimulação diafragmática – sistema aberto para o exterior. Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – sinal de estimulação diafragmática (b); canal 4 – pressão traqueal;

É possível verificar que após a ventilação artificial ser desligada e a estimulação diafragmática começar, são criadas pressões negativas consideráveis (figura 3.12 b)) e, em sistema aberto (figura 3.13 b)), é mesmo possível verificar a existência de entrada de ar atmosférico na traqueia.

3.4.3. Eléctrodos perfurantes do diafragma

O sinal utilizado neste conjunto de experiências foi modulado com recurso ao sinal de pressão negativa traqueal de experiências anteriores. Os eléctrodos utilizados foram projectados de modo a serem semelhantes à existência de diversas inervações do nervo frénico no diafragma, utilizando para o efeito espigões de latão, dobrados segundo um ângulo de $\pm 90^\circ$, perfurando o diafragma e ficando presos, devido à sua conformação, do lado torácico do diafragma.

Através deste conjunto de cirurgias foi possível relacionar a quantidade de eléctrodos e o seu local de inserção com o volume corrente de ar inspirado por estimulação diafragmática, através do uso do espirómetro construído no laboratório; uma vez que foi utilizado o espirómetro, não foi possível utilizar em simultâneo o medidor de pressão traqueal.

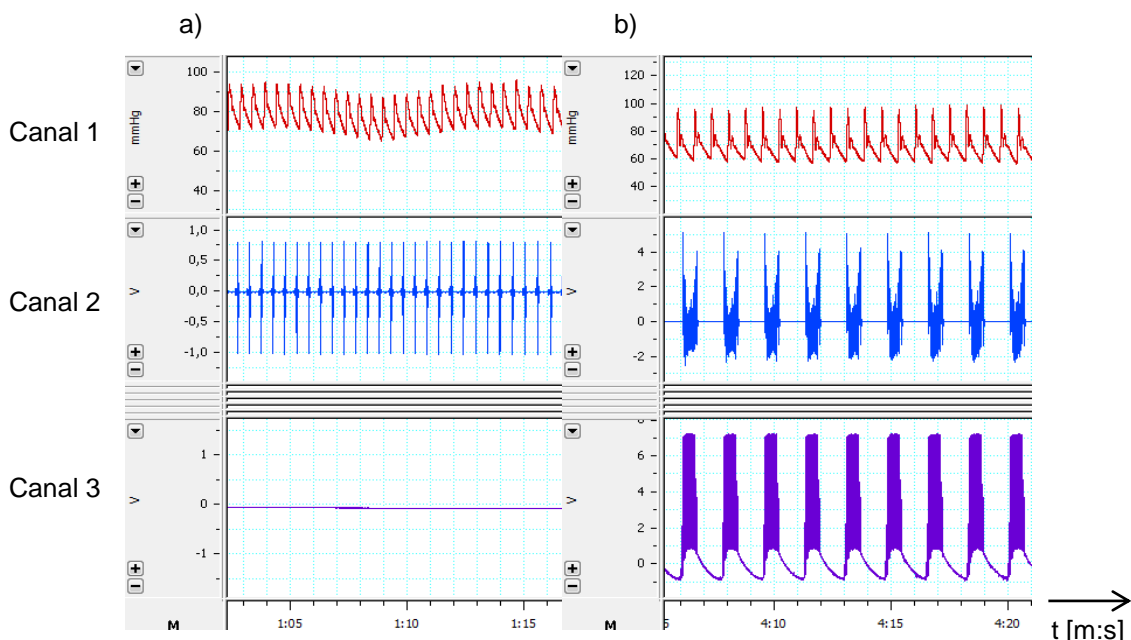


Figura 3.14: a) Ventilação artificial; b) Estimulação diafragmática – sistema aberto para a atmosfera. Canal 1 – pressão arterial; canal 2 – electrocardiograma; canal 3 – sinal de estimulação diafragmática.

Foram efectuados três testes variando o número de eléctrodos de estimulação, relacionando este factor com o volume corrente de ar, com recurso ao espirómetro, e o intervalo de tempo para descida da pressão arterial (tabela 3.2). É de ter em conta que antes do início da estimulação foi medido, recorrendo ao espirómetro, o volume corrente de ar normal, tendo este apresentado valores médios na ordem dos 20ml.

Tabela 3.2: Análise da relação entre o número de eléctrodos de estimulação diafragmática e volume corrente de ar efectivamente inspirado.

Nº de eléctrodos laterais	Volume corrente de ar (ml)	Tempo para descida de PA (s)
4	12	≈240
6	6	≈100
8	2	≈40

Como é possível verificar, a conformação que apresenta maiores volumes de ar atmosférico efectivamente inspirado é também a que apresenta um maior intervalo de tempo até começo da descida da pressão arterial, correspondendo ao número mínimo de eléctrodos no diafragma.

3.5. Resultados da estimulação diafragmática

Após a análise dos resultados experimentais obtidos, todos os eléctrodos deram origem à contracção do diafragma, embora uns se tenham demonstrado mais eficazes que outros no que toca a simular o mais aproximadamente possível uma respiração normal, compatível à vida.

A estimulação a partir de um aro a contornar o diafragma demonstrou ser uma aproximação grosseira à estimulação diafragmática, observando-se a fadiga do diafragma ao fim de apenas alguns segundos.

Os últimos eléctrodos utilizados permitiram contornar esta questão, através da utilização de pequenos pontos de estimulação, assemelhando-se assim mais à inervação do nervo frénico, tendo sido, neste caso, obtidos resultados bastante satisfatórios a nível da observação da contracção muscular, movimento da caixa torácica e volume do ar efectivamente inspirado.

Nos eléctrodos de alumínio, embora fosse possível visualizar contracção da musculatura diafragmática, não foi possível ver qualquer alteração na pressão medida a nível traqueal, sendo o pior conjunto de resultados obtido. Os eléctrodos de latão, por seu

lado, foram os que apresentaram melhores resultados, obtendo mesmo a manutenção das funções respiratórias durante cerca de quatro minutos, mantendo-se a pressão arterial constante durante este intervalo de tempo.

Tabela 3.3: Tabela de comparação dos protótipos de eléctrodos testados.

Eléctrodos	Sinal	Alteração na pressão traqueal	Tempo para descida da pressão arterial
Folha de alumínio	Impulso	Quase inexistente	Imediata
	“Rampa” frénica	Pouco significativa	Imediata
Cobre e estanho	“Rampa” frénica	Pouco significativa	Imediata
Folha de cobre	“Rampa” frénica	Semelhante à fisiológica	≈60segundos
Perfurantes	8	Pressão traqueal	≈40segundos
	6	Pressão traqueal	≈100segundos
	4	Pressão traqueal	≈240segundos

Capítulo 4: Discussão

4.1. Registo da actividade do nervo frénico

O estudo da actividade do nervo frénico permitiu a aquisição dos potenciais de acção propagados através do mesmo para despolarização quer das células musculares diafragmáticas quer das intercostais externas. Como é sabido o nervo frénico é composto por algumas dezenas de axónios, sendo impossível a selecção de apenas um de modo a observar com exactidão o potencial de acção de cada fibra nervosa. Além disso, cada fibra axónica é composta por bainhas de mielina que a isolam electricamente, não sendo possível assim medir o potencial exacto mas sim esse mesmo potencial atenuado. O sinal adquirido deve então ser interpretado como um somatório dos potenciais de acção de todos os axónios que constituem o nervo.

O estudo da actividade do nervo frénico permite também inferir sobre quais os valores de frequência respiratória normais para um rato sob anestesia geral com pentobarbital sódico a 60mg/mL.

O pentobarbital de sódio apresenta um efeito depressor do sistema cardiorrespiratório bastante acentuado, facto que é possível de verificar logo após anestesia, devido à diminuição da frequência respiratória de cerca de 70cpm para pouco mais de metade, ≈ 40 cpm.

Ao comparar os valores da frequência respiratória artificial com a frequência de disparo do nervo frénico, é possível, de forma grosseira, saber se o animal se encontra em hipóxia ou em hiperóxia, se o número de disparos do nervo frénico é superior ao número de ventilações artificiais ou se o número de disparos do nervo frénico é inferior ao número de ventilações artificiais por minuto, respectivamente.

Como seria expectável, quando existe hiperventilação existe hiperóxia, logo, os químiorreceptores que medeiam a actividade do nervo frénico detectam um aumento da concentração de oxigénio, diminuindo a actividade do mesmo.

Dado que a frequência respiratória com anestesia total, com recurso a pentobarbital de sódio, 60mg/mL, revelou ter um valor médio de 42 cpm, era de esperar que por volta

desses valores a taxa de disparos do nervo frénico se tornasse síncrona com o ventilador artificial, o que se veio a verificar aquando a experiência.

4.2. Mapeamento eléctrico do diafragma

Após análise da tabela 3.1, existem diversos pontos a ter em consideração na análise dos dados, nomeadamente no que toca ao facto do diafragma não ser rectangular, como a tabela de potenciais adquirida, ou mesmo no facto do diafragma da figura 3.4 a) não estar sobre tensão como quando tem os eléctrodos inseridos nos pontos marcados com “x”. Estes, maiúsculos, laterais, marcam os eléctrodos por onde a corrente entra no diafragma em estudo e o central, o ponto de fuga da corrente, com o eléctrodo de saída de corrente.

O estudo deste sistema “in vivo” apresenta complicações como a acessibilidade ao diafragma, a existência de ruído externo, principalmente devido à necessidade do modelo animal estar com ventilação artificial e, conseqüentemente, o diafragma estar em constante movimento, e a necessidade de garantir o total bloqueamento dos canais de propagação neuromuscular, de modo a não estar presente o sinal electrofisiológico do nervo frénico.

No sistema “ex vivo” o processo de aquisição tem de ser relativamente rápido pois na falta de nutrientes e energia necessários à manutenção das contracções musculares, o sinal diminui com o tempo até paragem total das suas contracções.

A análise a estes resultados pode ser sugestiva de uma maior área de actividade contráctil na porção direita do diafragma, provavelmente associada à presença do coração na porção torácica esquerda, sendo visível uma maior área tendinosa neste último. Como descrito anteriormente, o nervo frénico apresenta uma inervação superior na porção direita do diafragma, podendo aparentemente justificar a existência de um menor centro tendinoso do lado direito em detrimento de uma maior área muscular mais espessa, quando em comparação com a porção esquerda.

4.3. Sinais de estimulação diafragmática

Os problemas inerentes à escolha da folha de alumínio como material para a construção dos eléctrodos começaram desde logo com a soldagem de fios de cobre ao alu-

mínio. Não foi possível proceder a essa soldagem uma vez que não existe uma fusão eficaz entre a solda de estanho-chumbo e o alumínio até 380°C, temperatura máxima do ferro de soldar disponível em laboratório.

O eléctrodo central demonstra ter o inconveniente de se soltar do local onde é colocado aquando a contracção do diafragma, podendo inclusive provocar curto-circuito com o eléctrodo externo. Ficou também evidente a necessidade de isolamento dos órgãos abdominais de modo a evitar a dispersão de corrente o que pode levar à lesão de órgãos como o fígado, estômago e baço.

No entanto, este conjunto de experiências permitiu otimizar o sinal a utilizar de modo a poder ser trabalhado o desenho e implementação dos eléctrodos.

4.3.1. Impulso de onda quadrada

O impulso eléctrico gerado demonstrou ser suficiente para a estimulação, contudo a inspiração apresentou-se muito diferente da inspiração normal, não apresentando o movimento de continuidade típico mas sim um único impulso inspiratório, correspondente ao impulso eléctrico induzido pelos eléctrodos no diafragma.

Ficou demonstrada a necessidade da existência de uma rampa de potenciais, adquirida no estudo do nervo frénico, para que exista um ciclo de despolarizações e repolarizações sucessivas, ao longo de toda a cavidade diafragmática. Esta é totalmente compatível com a ideia de inspiração, a qual depende de um aumento progressivo da pressão negativa durante o período inspiratório.

Como é possível verificar na figura 3.6 b), canal 1, a pressão arterial diminui ao longo do tempo após desligamento da máquina de ventilação artificial e após início da estimulação diafragmática, demonstrando assim a ineficácia da estimulação para promover respiração necessária à vida. No terceiro canal dessa mesma figura, é possível verificar que o transdutor de pressão não detectou quaisquer variações de pressões relevantes quando comparada às pressões em sistema fechado, com o ventilador artificial, da figura 3.6 a).

Podemos concluir também através da figura 3.6 b), canal 2, que existe uma fuga de corrente do estimulador diafragmático para o sinal electrocardiográfico, uma vez que o sinal de estimulação aparece representado no ECG.

4.3.2. Sinais de simulação de “rampa” frénica

Ao contrário da experiência anterior, nestas já é possível visualizar alterações, embora bastante ténues em valor absoluto, no valor da pressão respiratória, coincidentes com o estímulo diafragmático, evidenciando assim uma criação de pressão negativa suficiente para a entrada de um volume mínimo de ar nos pulmões.

Foi visível que, para produzir estes resultados, é necessária uma corrente excessiva pois existe demasiada dispersão de corrente eléctrica, visível por espasmos consideravelmente fortes aquando a estimulação. No canal 1 da figura 3.7 é possível comprovar isso mesmo ao ver a pressão arterial subir para mais do dobro do seu valor imediatamente antes da estimulação, é facilmente inferida a causa como sendo resultante de uma estimulação cardíaca não desejada.

A conjugação do último sinal de estimulação adoptado com os eléctrodos de folha de alumínio demonstra então a ineficácia da corrente utilizada face ao ar efectivamente inspirado, tendo ainda fortes interferências a nível da electrofisiologia do coração.

Demonstrou-se óbvia a necessidade de introdução de um melhor controlo da pressão respiratória e sinal electrocardiográfico, tal como um melhor registo do sinal utilizado para a estimulação diafragmática.

4.4. Desenho dos eléctrodos

Como descrito anteriormente, após optimização do sinal de estimulação diafragmática a utilizar, foram desenhados e implementados os protótipos dos eléctrodos construídos.

4.4.1. Eléctrodos de cobre e estanho

Nesta experiência, e após análise da figura 3.9, apesar de existir entrada de ar, esta não tem volume suficiente para manutenção da função respiratória e cardiovascular..

Após análise do sinal da pressão traqueal verifica-se que a variação de pressão aquando a ventilação artificial é de 0,135V e, em sistema aberto, durante a estimulação é de 0,01V, o que corresponde a aproximadamente 7,4% do valor fisiológico normal. Uma vez que são valores para comparação e não sendo representativas as unidades de pressão de gases do sistema internacional nestas medições, não foi efectuada calibração para mudança de volts (V) para pascal (Pa).

Uma vez mais foi possível verificar interferências na aquisição do ECG, aparentemente devido a problemas de “terra”, passíveis de serem solucionados com uma colocação dos eléctrodos de registo do ECG directamente sobre a caixa torácica, a testar em experiências seguintes.

Tornou-se necessária a este nível a medição da pressão negativa biológica, de modo a ser possível estabelecer uma comparação com as pressões negativas criadas aquando a estimulação diafragmática.

4.4.2. Eléctrodos de folha de cobre

Foi tentada a aplicação de folha de cobre com cola numa das faces directamente no diafragma, contudo, a cola pela qual a mesma é constituída demonstrou não ser eficaz na presença de fluidos biológicos, pelo que a colagem ao músculo não foi possível. Foi implementada então uma nova ideia de colagem desta folha de cobre, como descrito na figura 3.10.

A sua aplicação foi relativamente simples dada a maleabilidade do material em questão, contudo a fixação por pressão dos órgãos abdominais não se demonstrou suficiente.

Na figura 3.11 é possível verificar as diferenças detectadas pelo transdutor de pressão traqueal da respiração normal do animal sob anestesia (a) com o animal curarizado, com brometo de mercúrio, sob ventilação artificial positiva (b).

Já na figura 3.12 é possível verificar que quando o sistema respiratório passa de um sistema aberto para a atmosfera para um sistema fechado, deixa de existir entrada de ar, passando o canal 4, ligado ao transdutor de pressão traqueal, a ser representativo apenas das pressões negativas normais criadas (a). Como era expectável, à medida que os quimiorreceptores detectam um decréscimo da concentração de oxigénio, o sinal de estimulação do frénico aumenta e, conseqüentemente, as pressões negativas geradas também aumentam. É possível em (b) ver a pressão traqueal do animal aquando a estimulação, também em sistema fechado.

Através da figura anterior (a), verificamos ainda no canal 4 uma variação da pressão negativa de $\approx 0,125V$. Em (b) verificamos que esta variação de pressão tem uma correspondência na escala escolhida de $\approx 0,05V$. Aquando a estimulação existe portanto uma correspondência de pressão negativa criada, em sistema fechado, de 40% da pressão negativa criada na ventilação fisiológica normal. Estes valores embora não exibam correspondência em unidades do sistema internacional para unidades de pressão, por não ter sido calibrado, propositadamente, nesse sentido, demonstra-se uma vez mais suficiente para a finalidade pela qual foi implementado, comparação com os valores de pressão negativa aquando a estimulação.

Aquando a respiração normal, sistema aberto para o exterior (figura 3.13 a), é possível verificar uma pressão negativa criada de $\approx 0,01V$, seguida de uma pressão positiva de $\approx 0,011V$. Aquando a estimulação, em sistema aberto para o exterior (figura 3.13 b), podemos verificar alterações $\approx 0,0075V$ para as pressões negativas criadas e $\approx 0,0025mV$ para as pressões positivas geradas pela entrada de ar nos pulmões do animal. Assim, a pressão negativa criada aquando a estimulação corresponde a $\approx 75\%$ da pressão negativa criada na respiração fisiológica normal e a pressão positiva, gerada pela entrada de ar nos pulmões, aquando a estimulação diafragmática, corresponde a $\approx 23\%$.

Apesar de ser claro que existem ainda valores de pressões envolvidas bastante distantes das pressões fisiológicas normais, já foi possível verificar uma provisão de oxigénio suficiente para manter os valores de pressão arterial praticamente inalterados durante cerca de um minuto, associando as variações posteriores quer a uma

saturação da musculatura diafragmática ao sinal utilizado para a sua estimulação quer a uma provisão de oxigénio insuficiente.

Uma vez mais, apesar da alteração do local de posicionamento dos eléctrodos, foi possível verificar que aquando a estimulação é perdido o sinal electrocardiográfico. A proximidade dos eléctrodos de estimulação ao coração podem ser o motivo, embora não se verifiquem interferências para valores baixos de corrente de estimulação, é possível verificar que para uma estimulação minimamente eficiente do diafragma comprometemos o registo electrocardiográfico.

Demonstrou-se, nesta altura, a necessidade de optimização quer do sinal a utilizar, uma vez que este último satura o músculo diafragmático, quer do ponto de aplicação dos eléctrodos, uma vez que o arco parece não ser o mais indicado para obter pressões traqueais satisfatórias.

4.4.3. Eléctrodos perfurantes do diafragma

Para este conjunto de experiências foi tida em conta a necessidade de quantificação do volume de ar atmosférico efectivamente inspirado, tendo sido construído um espirómetro para o efeito.

Na figura 3.14 b) é possível verificar uma vez mais as interferências do sinal de estimulação na aquisição electrocardiográfica, embora a aquisição deste mesmo sinal tenha sido efectuada por colocação dos eléctrodos no exterior da cavidade torácica, logo acima da localização do coração. Na mesma figura identifica-se ainda uma pressão arterial constante durante a estimulação, o que comprova as trocas gasosas de oxigénio e dióxido de carbono com a atmosfera, necessárias à vida.

Após análise da tabela 3.2, conclui-se que com dois eléctrodos de cada lado do diafragma e um central, a pressão arterial manteve-se constante durante cerca de quatro minutos e o volume corrente, medido através do espirómetro, foi de 12mL. A medição do volume fisiológico normal indicou um volume de 20mL, correspondendo assim o volume sob estimulação a 60% deste valor normal. Foi das conformações escolhidas a que melhores resultados apresentou.

Foram introduzidos eléctrodos também sobre os músculos intercostais externos, em simultâneo com os restantes diafragmáticos, não sendo possível verificar qualquer estabilização de pressão arterial aquando esta estimulação, pelo que a mesma se demonstrou ineficaz. A explicação mais óbvia parece ser o facto de ser estimulada também toda a musculatura intercostal interna, responsável pela retracção da caixa torácica – expiração -, como visto anteriormente, impossibilitando a elevação da caixa torácica necessária à inspiração.

4.5. Conclusões gerais e limitações do estudo

Este estudo permitiu tirar bastantes conclusões relativamente à forma dos eléctrodos e a posição dos mesmos no diafragma; permitiu também perceber qual o sinal que mais se adequa a este tipo de estimulação. Contudo, devido à inseparabilidade do conjunto sinal/eléctrodos de estimulação, por vezes demonstrou-se difícil conseguir perceber qual dos dois se deveria otimizar e como o fazer.

A fixação dos eléctrodos ao diafragma através de métodos de sutura demonstrou ser uma solução de aplicabilidade reduzida, uma vez que para além de ser pretendido um método no qual estes fiquem fixos por tempo indeterminado, logo, estes fios de sutura não se poderiam desgastar ao longo do tempo, ainda seria necessário perfurar a estrutura diafragmática bastantes vezes para proceder a uma sutura eficaz, que não permitisse a deslocalização dos eléctrodos aquando o movimento contínuo do diafragma.

As alternativas surgidas foram a colagem, através do uso de n-butil cianoacrilato, cola de uso cirúrgico, que apresenta a característica de ser um isolante eléctrico, o que seria um problema dado que os eléctrodos seriam implantados para estimular electricamente o diafragma, logo, teriam de ser criadas abas para poder servir de suporte para esta colagem; a utilização da compressão efectuada pelos órgãos abdominais sobre o músculo diafragmático, o que permite, em certos casos que os eléctrodos sejam traccionados contra o mesmo sem ser necessário qualquer método de fixação adicional; ou então a perfuração do músculo diafragmático, com vista na fixação dos eléctrodos numa abordagem torácica do diafragma.

O alumínio apresentou-se como o pior material para este tipo de aplicação. Apesar do sinal utilizado com estes eléctrodos ser uma aproximação muito grosseira a estímulos de despolarização como os que o nervo frénico faz chegar ao diafragma, foram visí-

veis problemas relacionados com o excesso na maleabilidade destes eléctrodos e, por isso, de difícil fixação ao diafragma, que se traduziram nos resultados obtidos, claramente insuficientes para que se assemelhem à respiração. Por outro lado, o latão utilizado, sendo composto essencialmente de cobre e zinco, era bastante rígido, tendo perfurado o diafragma, como pretendido, e sido fixado na porção torácica do mesmo, o que originou uma fixação bastante boa, que em conjunto com o sinal aplicado permitiu os resultados bastante satisfatórios vistos anteriormente.

Com algumas mudanças em termos de contacto com a superfície diafragmática, a forma dos eléctrodos pouco mudou durante as primeiras experiências - o eléctrodo lateral em forma de aro e o eléctrodo central, para que a corrente flua entre os dois. Esta conformação demonstrou não ser a mais adequada, as fibras musculares entravam claramente em saturação deixando mesmo ao fim de algum tempo de contrair. A forma dos eléctrodos que melhores resultados permitiu obter foi a que simulou pontos de estimulação no diafragma. Como demonstrado, estes resultados devem-se a ser a conformação que menos saturação induz nas fibras musculares, uma vez que não existem sobreposições tão acentuadas de corrente eléctrica numa área tão grande de tecido muscular, tendo sido obtidos inclusivamente dados que demonstram que ter quatro eléctrodos bilaterais apresenta melhores resultados que a utilização de seis ou mesmo oito.

A posição dos eléctrodos demonstrou ser bastante relevante, devendo ser o mais lateral possível de modo a existir a menor dispersão de corrente eléctrica possível para a musculatura intercostal interna, responsável pela depressão da caixa torácica. Este cuidado foi tido essencialmente no ultimo conjunto de experiências, o que terá contribuído bastante significativamente para os resultados obtidos pois, tal como verificado, quando os pontos de estimulação eram menos lateralizados a capacidade inspiratória diminuía. Esta, a par da saturação das fibras musculares, demonstrou ser a causa do movimento tão pouco fluido que se verificava nas experiências com o eléctrodo em aro, que causava pressões negativas insuficientes para uma manutenção da respiração eficaz.

O líquido peritoneal apresentou-se como um grande obstáculo à abordagem abdominal da estimulação diafragmática, uma vez que o mesmo é um líquido seroso, essencialmente constituído por água, glucose e proteínas, tornando-o condutor de electricidade. Este facto faz com que seja imprevisível a distribuição eléctrica da corrente injectada no diafragma pelos eléctrodos, podendo provocar curto-circuitos ou mesmo

4: Discussão

dispersão de corrente para os órgãos adjacentes. É possível então concluir que esta é uma abordagem bastante complexa e dificilmente contornável, sendo a perfuração do diafragma e abordagem pela cavidade torácica a única que parece passível de contornar este facto.

Capítulo 5: Conclusão e Perspectivas Futuras

O trabalho desenvolvido constitui parte integrante de um longo trabalho de investigação. A concepção dos eléctrodos para estimulação do diafragma tem de ser conciliada com a programação do sinal a utilizar e mecanismos de detecção de falhas respiratórias, como seja o oxímetro e medidor de dióxido de carbono sanguíneo, que permitam accionar o mecanismo de estimulação, caso necessário.

As experiências efectuadas permitiram concluir que uma boa conjugação dos dois primeiros factores anteriormente descritos, eléctrodos e sinal de estimulação, possibilitam uma estimulação eficaz do músculo diafragmático, permitindo uma respiração consistente à vida. Demonstra-se no entanto necessário dar continuidade à optimização do sinal utilizado e de materiais cada vez mais versáteis quanto às suas possíveis aplicações.

Existe uma necessidade enorme no estudo da abordagem efectuada uma vez que a fixação eficaz dos eléctrodos continua a demonstrar ser a maior dificuldade nesta fase de implementação do protótipo do pacemaker.

Ao longo do desenvolvimento deste projecto tive a oportunidade de consolidar alguns conhecimentos relativamente a um material possivelmente promissor neste tipo de aplicações. Uma vez que é necessária uma adesão dos eléctrodos de estimulação ao musculo diafragmático e tecido tendinoso que dele faz parte, e que dificilmente será possível essa adesão sem perfuração dos mesmos, quer seja por colagem ou sutura, provavelmente a perfuração e adesão pela zona torácica será a abordagem com mais sucesso futuramente, tal como foi concluído pelas experiências efectuadas. Será por estas razões certamente uma mais-valia um estudo mais detalhado das ligas de Níquel-Titânio (NiTi).

Estas ligas têm características muito próprias de superelasticidade, apresentando entre 10 e 30 vezes a elasticidade de um metal comum, num intervalo bastante restrito de temperaturas, tornando-se assim um bom candidato a estar presente num músculo como o diafragma que está em movimento constante. Tem também um efeito térmico de memória muito útil, que determina que a dada temperatura, chamada temperatura

5: Conclusão e Perspectivas Futuras

de transformação, as ligas de NiTi retornam à sua forma inicial, após sofrer deformação a baixas temperaturas. Esta característica podia possibilitar que um eléctrodo com estas características perfurasse o diafragma e, em contacto com a temperatura biológica, agisse como uma cavilha e dobrasse do lado torácico, ficando preso ao mesmo.

Esta liga apresenta propriedades eléctricas e mecânicas bastante boas, apresentando uma grande resistência à corrosão e fadiga, comparáveis ao ácido inoxidável. É já implementada na área de saúde na construção de fios ortodônticos, material ortopédico e stents, não tendo sido contudo testada a sua biocompatibilidade enquanto condutora eléctrica.

O tratamento deste material para adquirir as características desejadas a temperaturas biológicas é trabalhoso, sendo necessário um processo de cozimento e moldagem do material, tornando-o de difícil acesso numa fase tão precoce do projecto.

Devido essencialmente ao desconhecimento quanto à sua biocompatibilidade enquanto condutor eléctrico, seriam necessários estudos futuros nesse sentido.

A implementação dos eléctrodos no diafragma demonstrou ser mais funcional quando se trabalham modelos animais de maior porte uma vez que a dificuldade de trabalhar a adesão dos eléctrodos ao diafragma diminui, pelo que futuramente será melhor adoptar o coelho para estudar a implementação do pacemaker no diafragma.

Este estudo permitiu ainda concluir que perante a abordagem correcta parece passível de ser concretizada a elaboração de um dispositivo que permita um controlo eficaz do sistema respiratório de doentes crónicos, vítimas de insuficiência respiratória, traduzindo-se assim numa alternativa muito competitiva face à actual utilização de mecanismos de ventilação e estimulação artificial que se traduzem em limitações claras de mobilidade e/ou responsabilidade pelo desenvolvimento de outras patologias, como é o caso das lesões provocadas pelos mecanismos de estimulação do nervo frénico actuais.

Referências

Avery, <http://www.averybiomedical.com/index.html>, 2011

Brown, LeMay e Bursten - Química, A ciência central (9ª edição), 2005.

DiMarco AF, Takaoka Y, Kowalski KE. Combined intercostal and diaphragm pacing to provide artificial ventilation in patients with tetraplegia. Arch Phys Med Rehabil 2005; 86:1200-7.

DiMarco AF, Budzinska K, Supinski G, Artificial ventilation by means of electrical activation of the intercostal/accessory muscles alone in anesthetized dogs. Am. Rev. Respir. Dis. 139:961-967. 1989.

Drake, R. (2009) Gray's Anatomy for Students, 2ª Edição. Churchill Livingstone.

Duchene GB. De L'electrisation localisee et de son application a la pathologie et a le therapeutique par courants induirs et par courants galvaniques interrompus et continues per led r. Duchenne. Paris, Bailliere 1872.

Esperança Pina, J.A. (2001). Anatomia Geral e Dissecção Humana. Lisboa: Lidel.

Esperança Pina, J.A. (2010). Anatomia Humana da Locomoção, 4ª Edição. Lisboa: Lidel.

Esperança Pina, J.A. (2010). Anatomia dos Órgãos, 4ª Edição. Lisboa: Lidel.

Glenn WW, Holcomb BE, Bernard J, Gee L, Rath R. Central hypoventilation; Long term ventilator assistance by radiofrequency electrophrenic respiration. Ann of Surg 1970; 172 94:755-773.

Guyton, A., Hall, J. (2006). Tratado de Fisiologia Médica, 11ª Edição. Philadelphia: Saunders Elsevier. 471-533

Khong, P., Lazzaro, A., Mobbs, R. (2010). Phrenic nerve stimulation: the Australian experience.

Lalley, P., Mifflin, S., (2012). Opposing effects on the phrenic motor pathway attributed to dopamine-D1 and-D3/D2 receptor activation.

Netter, F. (2010). Atlas of Human Anatomy, 5ª Edição. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Rouvière, H., Delmas, A. (2005). Anatomia Humana Descritiva, Topográfica e Funcional, 11ª Edição. Espanha: Elsevier Masson.

Sarnoff SJ, hardenbergh E, Whittenberg JL. Electrophrenic Respiration. Science 1948; 108:482.

Sardarzadeh, S., Pooyan, M. (2012). An implantable electrical stimulator for phrenic nerve stimulation.

Toyama, S., Sakurai, T. , Tatsumi, K., Kuwai, T. (2009). Attenuated phrenic long-term facilitation in orexin neuron-ablated mice.

Son, BC., Kim, DR., Kim, IS. (2013). Phrenic nerve stimulation for diaphragm pacing in a quadriplegic patient,

Villate, J. (2013). Electricidade e Magnetismo. Porto.