

ESTIMULADOR ELÉTRICO DE CORRENTE PARA ESTUDOS FISIOLÓGICOS

A.K. Budri**; M.A.C. Farias*; E.T. Costa* e J.W.M. Bassani*

RESUMO -- Com o objetivo de contribuir ao estudo da atividade elétrica e contrátil do músculo cardíaco foi desenvolvido um estimulador elétrico capaz de produzir pulsos mono e bipolares de corrente, na faixa de 1 μ A a 5 mA, com duração variável de 50 μ s a 500 ms e frequência estimulatória variável de 0,1 Hz a 2 KHz. Além disso, o instrumento permite o controle externo do intervalo entre pulsos. Uma entrada especial para acoplamento de um gerador de funções permite a estimulação com qualquer forma de pulso de corrente. A calibração do instrumento pode ser feita sem necessidade de acoplamento à preparação biológica. A saída para estimulação é isolada por acoplamento óptico e alimentada por conversor DC/DC. Os testes efetuados em banca revelaram que o instrumento possui resposta linear na faixa de -5 a 5 mA, tempo de subida ao degrau de 17 μ s e sua curva de regulação obedece as condições impostas no projeto. Com base nestes resultados e na aplicação a experimentos biológicos concluiu-se que o instrumento desenvolvido é perfeitamente adequado para a estimulação do tecido cardíaco isolado.

INTRODUÇÃO

No estudo das propriedades fisiológicas das membranas biológicas é frequentemente necessário estimular preparações visando medir resistência e retificação de corrente e produzir hiper ou despolarização. Existem comercialmente disponíveis vários instrumentos que podem produzir pulsos unipolares de tensão. No entanto, estimuladores que forneçam pulsos bipolares de corrente, são escassos, inclusive no mercado internacional (Spenney e Ostroy, 1977). Para suprir tal necessidade tem sido sugerido, na literatura, o acoplamento de dois estimuladores unipolares (Spenney e Ostroy, 1977), solução que é pouco prática e muito dispendiosa.

Há na literatura a proposta de estimuladores bastante adequados para estimulação na faixa de 0 a 50 μ A (Spenney e Ostroy, 1977), ou estimuladores de ampla faixa (200 μ A a 200 mA) que excluem as baixas correntes (Manikopoulos e Kostis, 1980). Outros sistemas, mais sofisticados, para correntes de até 2 mA incluem possibilidade de programação e acoplamento a sistemas microcomputadorizados (Prost e Foster, 1980; Silverman e col., 1975), que no entanto fornecem apenas, pulsos monopolares.

Visando o estudo da atividade elétrica e contrátil de tecido cardíaco isolado, desenvolveu-se um estimulador elétrico de corrente, de fácil construção e reprodução, capaz de produzir pulsos de corrente mono e bipolares, na faixa de 1 μ A a 5 mA, com duração de pulsos, variável de 50 μ s a 500 ms e frequências de 0,1 Hz a 2 KHz. Além disso, o instrumento permite o controle externo (via "trigger") para possibilitar variação irregular dos intervalos entre estímulos. Uma entrada especial para acoplamento de um gerador de funções, possi-

** Aluno de graduação, Faculdade de Eng. Elétrica, FEE/UNICAMP.

* Docentes e pesquisadores do Deptº de Eng. Biomédica (DEB) FEE, e do Centro de Engenharia Biomédica (CEB) da UNICAMP, Caixa Postal 6040, CEP 13081, Campinas-SP, Brasil.

///Trabalho recebido em 30/06/87 e aceito em 21/07/87///

bilita estimulação com qualquer "forma de onda" desejada.

DESCRIÇÃO GERAL DO ESTIMULADOR ELÉTRICO

Do ponto de vista funcional, o estimulador desenvolvido pode ser dividido em três grandes blocos: um bloco composto por um circuito gerador de pulsos de tensão (gerador interno), outro bloco composto por circuitos de geração e de monitoração de pulsos de corrente e um terceiro bloco formado pelas fontes de alimentação.

Na figura 1 está apresentado o circuito do gerador interno de pulsos. A finalidade do gerador é produzir pulsos monopolares positivos e negativos e pulsos bipolares de tensão. O CI5 e o CI6 são responsáveis pela geração destes sinais. O CI6 é um amplificador operacional ligado a uma fonte de tensão constante em configuração de somador/subtrator. O CI5 possui chaves analógicas que comandam as tensões nas entradas positiva e negativa do circuito somador/subtrator. Se uma determinada chave for fechada a entrada correspondente será nula. Se a chave estiver aberta, a entrada será uma constante; consequentemente, na saída obtém-se uma tensão que poderá assumir três valores (+C, -C e 0) de acordo com a posição das chaves analógicas do CI5. Os CI2, CI3 e CI4 são responsáveis pelos controles das chaves para obtenção dos pulsos. O CI2A funciona como um "latch" para o pulso de disparo aplicado ao pino CK. Este pulso aciona por meio do CI3D um monoestável (CI4) cujo período é determinado pelos capacitores C6 a C9 (selecionados por CH5) e pelo potenciômetro P2. A saída do CI4 aciona as chaves analógicas do CI5. A chave CH6 (CH6B e CH6C) determina a polaridade do pulso. Esta chave determina também se o pulso será mono ou bipolar. Se o pulso for monopolar, a chave CH6A mantém o CI2B "resetado" e, ao final do período do monoestável, o circuito volta ao repouso. Se o pulso for bipolar, ao final do período do monoestável, o CI2B dispara uma segunda vez o CI4 por meio do CI3D e inverte a posição das chaves analógicas, gerando consequentemente um pulso de polaridade inversa à do primeiro período. Ao final do segundo pulso, o circuito volta ao repouso. A chave CH3 seleciona a fonte de disparo do processo. Uma posição permite que o disparo seja feito externamente pela entrada J1 ou, manualmente, acionando-se a chave CH7, enquanto que a outra utiliza o CI1, que é um oscilador. A frequência de disparo é ajustada pelo potenciômetro P1 e pela chave CH4.

Na figura 2 está apresentado o circuito elétrico do estimulador. A chave CH8 possibilita selecionar a origem do sinal que irá comandar a fonte de corrente. O sinal pode ser gerado por um equipamento externo ligado à entrada J2 ou pelo próprio gerador interno do estimulador. O sinal é atenuado por um divisor de tensão e recebe um componente DC, uma vez que o sistema de isolamento por meio de acopladores ópticos funciona apenas para tensões positivas. Este sistema é formado pelo CI6B e dois acopladores ópticos colocados com seus diodos emissores em série. O acoplador A01 tem o sinal obtido sobre o resistor R18, realimentado por meio de R17, ao amplificador operacional CI6B. Portanto a tensão no resistor R18 deve ser igual a tensão da entrada não inversora deste CI que é o sinal do estimulador atenuado. Como os acopladores estão com seus diodos em série, a tensão sobre R22 será igual à tensão sobre R18, uma vez que os acopladores possuem as mesmas características. É interessante observar que este sistema utiliza um componente não linear, o acoplador óptico, sem introduzir distorções significativas. O sinal obtido em R22 passa pelo potenciômetro P5 onde é retirado o componente DC, anteriormente somado, e por um amplificador que utiliza um amplificador operacional CI7A, sendo finalmente aplicado à entrada da fonte de corrente. A chave CH9 permite que o acoplamento entre o amplificador e a fonte de corrente, seja AC ou DC. O potenciômetro P4 controla o nível de corrente a ser aplicado à preparação biológica. A chave CH10 selecio-

na as escalas de corrente. A corrente aplicada à preparação biológica será igual a tensão aplicada à entrada não inversora do CI7B dividida pelo valor do resistor selecionado pela chave CH10. A chave CH13 permite que sejam feitos ajustes no equipamento, sem que haja uma carga ligada à sua saída. A tensão obtida sobre os resistores de R24 a R27, que é proporcional a corrente de estimulação, é aplicada ao sistema de monitoração composto pelos CI8 e CI9. Estes circuitos integrados funcionam exatamente do mesmo modo que os componentes CI6B e CI7A, anteriormente analisados. A chave CH11 permite que seja ligada ao instrumento, uma fonte de tensão padrão para calibração de ganho e tensão de "offset" do monitor. Na saída J4 pode ser obtido um sinal proporcional à corrente aplicada à preparação, que pode ser visualizado em um osciloscópio.

São utilizadas duas fontes de alimentação: uma para alimentação da parte do circuito que entra em contato com a preparação biológica (parte isolada da rede) e outra para alimentação do restante do circuito. A fonte não isolada utiliza dois transformadores ligados à rede de energia e duas pontes de diodos e reguladores de tensão. A partir da tensão obtida alimenta-se um conversor DC/DC, composto por dois transistores e um terceiro transformador seguido de uma ponte de diodos e reguladores de tensão, que compõem a fonte isolada.

RESULTADOS

Características Elétricas do Estimulador

São listadas a seguir as principais características do comportamento elétrico do estimulador desenvolvido:

- Forma dos pulsos: mono ou bipolares
- Duração: 50 μ s a 500 ms
- Amplitude: 1 μ A a 5 mA
- Frequência gerada internamente: 0,1 Hz a 2 KHz. Opcionalmente a frequência pode ser gerada externamente a partir de um pulso de disparo (via "trigger" externo)
- Linearidade: 3%
- Resposta em frequência: resposta plana de 0 a 19 KHz
- Tempo de subida do pulso: 17 μ s (Figura 3)
- Curva de regulação: saída em corrente independente da carga, de 0 a 1 Kohm, para correntes de até 9 mA. A curva inclui perfeitamente os limites estabelecidos no projeto para estimulação de tecido cardíaco isolado (Figura 4).

Aplicação Biológica

Para ilustrar a aplicação do instrumento desenvolvido, determinou-se, no tecido cardíaco isolado de rato, curvas de intensidade-duração para obtenção dos parâmetros estimulatórios da preparação. Em seguida determinou-se a relação entre força e frequência estimulatória, para frequências de 1 a 256 estímulos por minuto.

Os animais foram sacrificados por concussão cerebral e imediata secção dos vasos sanguíneos cervicais. O tórax do animal foi aberto, o coração retirado e dele dissecada a aurícula esquerda que foi montada em banho para órgão isolado (Krebs-Henseleit, 36,5°C, 95% O₂, 5% CO₂), sob tensão inicial de 0,5 gf, fixada em eletrodos de platina (0,2 mm de diâmetro), separados por uma distância de 2 mm, por meio dos quais se efetuava a estimulação elétrica do tecido cardíaco.

Para determinação da curva de intensidade-duração, pulsos de corrente de

duração "infinita" (> 50 ms) e amplitude crescente a partir de zero, foram aplicados até que se produzisse contração do tecido. Em seguida, a duração foi reduzida e o procedimento repetido. Com isto determinou-se os valores limites de corrente (intensidade) e de duração dos pulsos que provocaram contrações. Estes valores compuseram a chamada curva de intensidade-duração (Erlanger e Gasser, 1937). Na figura 5 encontra-se ilustrada a montagem experimental para medida da corrente estimulatória e da força desenvolvida pelo músculo cardíaco.

A relação força-frequência foi obtida acionando-se o estimulador elétrico desenvolvido, por um disparador programável (Figura 5). Deste modo o instante de mudança de uma para outra frequência era precisamente definido. As frequências (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 e 256 est./min.) foram aplicadas em ordem crescente, com um tempo de 15 minutos para estabilização da força máxima desenvolvida pelo tecido em cada nova frequência. Os procedimentos experimentais só tiveram início após uma hora de estabilização do tecido, na solução nutriente. A duração total de cada experimento foi de aproximadamente 230 minutos.

Na figura 6 encontra-se ilustrada a curva de intensidade-duração obtida em tecido cardíaco isolado de rato. Neste caso, o limiar de corrente para estimulação da preparação foi de $0,12 + 0,04$ mA, e o tempo de cronaxia foi de 1,2 ms. A partir destes dados obteve-se os parâmetros estimulatórios para determinação da relação força-frequência. Fixou-se a amplitude dos estímulos elétricos em 0,15 mA e a duração em 3,5 ms.

Na figura 7 está apresentada a relação força-frequência obtida em tecido cardíaco isolado de rato. Neste caso, a força desenvolvida foi reduzida à medida que se aumentou a frequência estimulatória.

DISCUSSÃO

A estimulação do tecido cardíaco com baixas correntes (próximas do valor limiar) minimiza a liberação pelas terminações nervosas contidas na preparação isolada, de substâncias neurotransmissoras, as quais possuem efeito inotrópico. Isto pode ser importante em experimentos, nos quais se deseja estudar a atividade contrátil sem fazer uso de bloqueadores autonômicos (Bassani, 1987). No presente trabalho pode-se determinar, com o instrumento desenvolvido, a curva de intensidade-duração e a partir dela, foram obtidos os parâmetros estimulatórios a serem adotados para estimulação do tecido por longos períodos. Fixou-se, para uma duração de 3,5 ms o valor da corrente de estimulação em 0,15 mA, que está apenas 25% acima do valor limiar.

Com a montagem experimental adotada e com o estimulador desenvolvido, neste trabalho, foi possível realizar experimentos de longa duração e obter, de acordo com dados já existentes na literatura, a relação força-frequência, em tecido atrial esquerdo isolado de rato. Esta relação apresentou-se monotônica decrescente, ao contrário do que ocorre em outros animais (Blinks e Koch-Weser, 1963; Koch-Weser, 1963). A causa deste comportamento, aparentemente anômalo, é ainda bastante discutida e controversa. Por um lado, há quem proponha que a queda de força seja causada por escassez de algum substrato metabólico, que não pode ser repostado entre duas contrações, nas frequências mais altas (Henry, 1975) ou por insuficiência do próprio suprimento de oxigênio que é feito por difusão na preparação isolada (Blinks e Koch-Weser, 1963). Por outro lado, tem sido apoiada a hipótese de que a relação força-frequência seja fortemente dependente da concentração extracelular de íons cálcio.

Para maior confiabilidade na obtenção de dados como os apresentados no pa-

rãgrafo anterior, deste trabalho, era fundamental a possibilidade de controle preciso da corrente estimulatória, da estimulação com pulsos bipolares e do controle externo da frequência estimulatória. A estimulação com pulsos monopolares pode levar a polarização dos eletrodos, o que leva a um aumento do limiar da preparação. Com isto torna-se necessário aumentar a intensidade e/ou duração da corrente estimulatória, o que eleva a separação iônica a nível da interface eletrodo-tecido, intoxicando progressivamente o músculo cardíaco, com consequente geração de resultados que não refletem o efeito estudado. No presente trabalho foi possível controlar os parâmetros estimulatórios desejados, devido às características impostas para construção do estimulador elétrico desenvolvido.

Pela observação dos resultados apresentados, quanto as características elétricas do estimulador desenvolvido, pode-se notar a excelente linearidade de resposta. A distorção (tempo de subida de 17 μ s) do pulso de maior frequência (Figura 3) corresponde a menos de 4% do valor mais frequentemente utilizado para a duração dos estímulos (500 μ s) e a apenas 0,5% do valor da duração usada no presente trabalho. Para impedâncias de até 1 Kohm, o estimulador desenvolvido, pode fornecer correntes de até 9 mA. Para impedâncias muito altas (3 - 4 Kohm) correntes superiores a 10 vezes o limiar podem ainda ser fornecidas. Isto garante bom desempenho do equipamento para uma ampla faixa de trabalho em estudos com músculo cardíaco isolado.

Finalmente, vale a pena ressaltar que existem no País, várias equipes que trabalham com eletrofisiologia e/ou atividade contrátil cardíaca e não se sabe da existência, no mercado nacional, de nenhum instrumento com as características obtidas para o estimulador elétrico desenvolvido neste trabalho.

CONCLUSÕES

Concluiu-se que devido às características do estimulador elétrico desenvolvido e com base nos testes em bancada e em experimentos biológicos, o instrumento pode ser usado para estudos da atividade elétrica e contrátil do tecido cardíaco isolado. Devido a grande modularidade e facilidade de reprodução deste instrumento acredita-se que este poderá vir a ser reproduzido e utilizado por outras equipes de pesquisa do País.

AGRADECIMENTOS

Os autores desejam agradecer ao Engenheiro Alexandre Henrique Hermi pelo apoio técnico durante o desenvolvimento do protótipo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo apoio financeiro concedido (Bolsa de Iniciação Científica, Proc. nº 101369-84 e Auxílio à Pesquisa Proc. nº 406155-85).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASSANI, J.W.M. (1987), "Caracterização qualitativa e quantitativa do efeito de soluções hiperosmóticas de NaCl sobre a força contrátil do tecido cardíaco isolado de rato". Tese de doutoramento. Faculdade de Engenharia Elétrica, Universidade Estadual de Campinas.
- BLINKS, J.R. and KOCH-WESER, J. (1963), "Analysis of the effect of changes in rate and rhythm upon myocardial contractility", J. Pharmacol. Exp. Ther. 134: 373-389.

- ERLANGER, J. and GASSER, H.S. (1937), "The comparative physiological characteristics of nerve fibers". In: Electrical Signs of Nervous Activity, University of Pennsylvania Press; page 34.
- HENRY, P.D. (1975), "Positive staircase effect in the rat heart", Am. J. Physiol. 228: 360-364.
- KOCH-WESER, J. (1963), "The influence of the interval between beats on myocardial contractility", Pharm. Rev. 15: 601-652.
- MANIKOPOULOS, C.N. and KOSTIS, J.B. (1980), "A versatile wide-range electrical heart stimulator", IEEE Trans. Biomed. Eng. 27(7): 416-418.
- PROST, R.H. and FOSTER, J. R. (1980), "A microprocessor - controlled dual channel stimulator", IEEE Trans. Biomed. Eng. 27(3): 171-174.
- SILVERMAN, G., BALL, G.G. and COHN, C.K. (1975), "A new automatic constant current stimulator and its biological applications", IEEE Trans. Biomed. Eng. 22(3): 207-212.
- SPENNEY, J.G. and OSTROY, F. (1977), "An adjustable constant current stimulator for electrophysiologic experiments", IEEE Trans. Biomed. Eng. 24: 67.

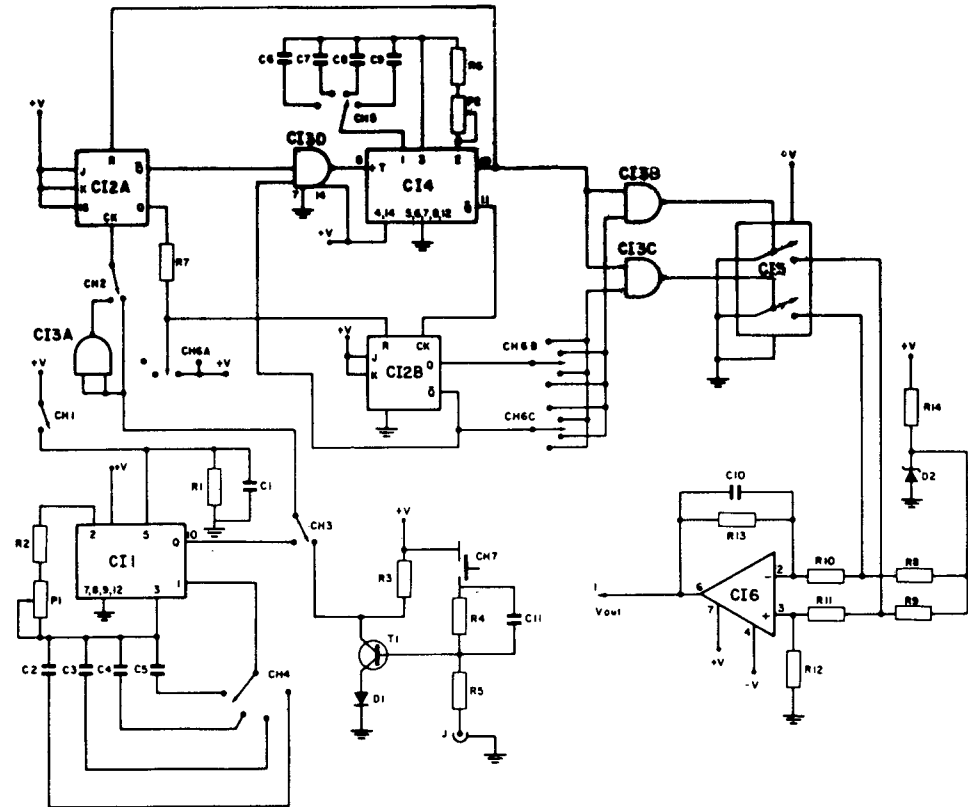


Figura 1. Gerador interno de pulsos.

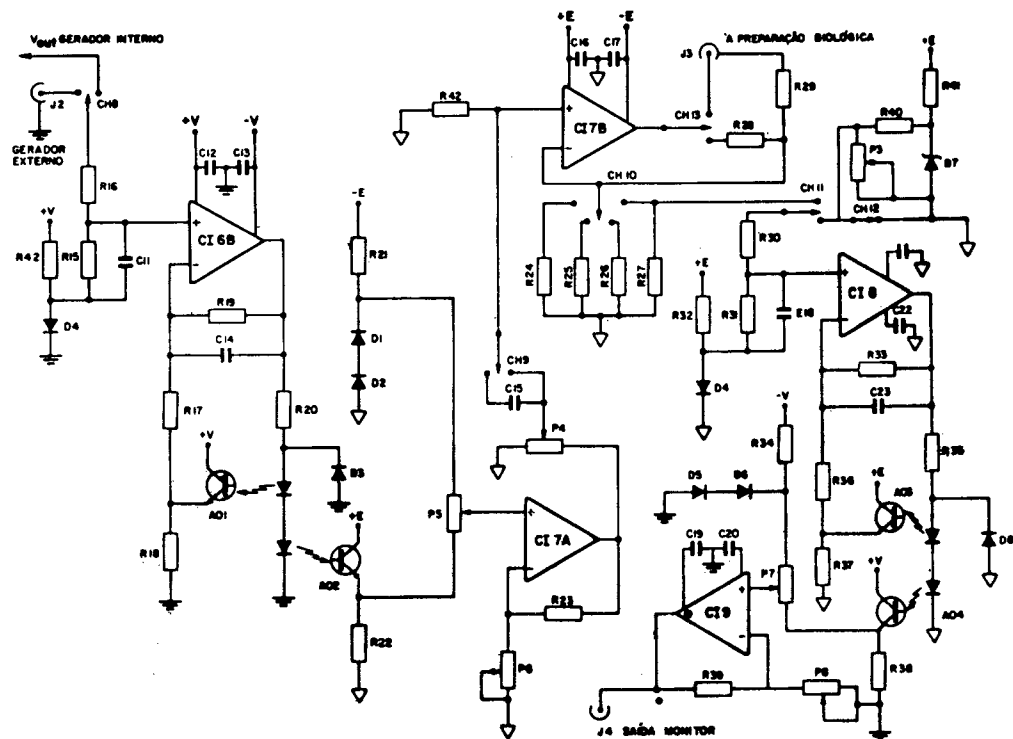


Figura 2. Circuito do estimulador e monitor de corrente.

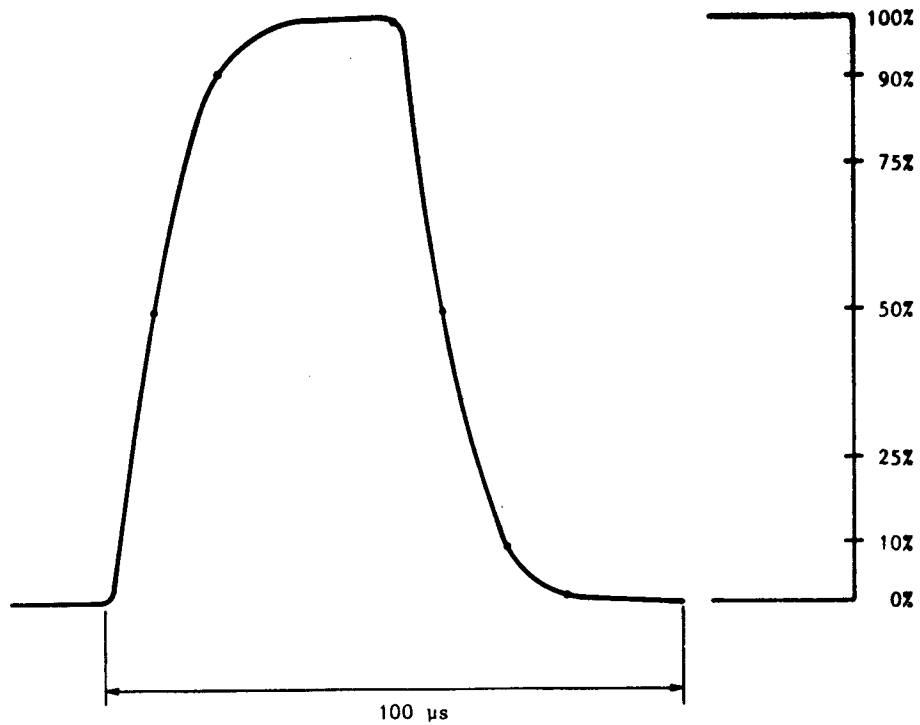


Figura 3. Forma de onda de um pulso de corrente.

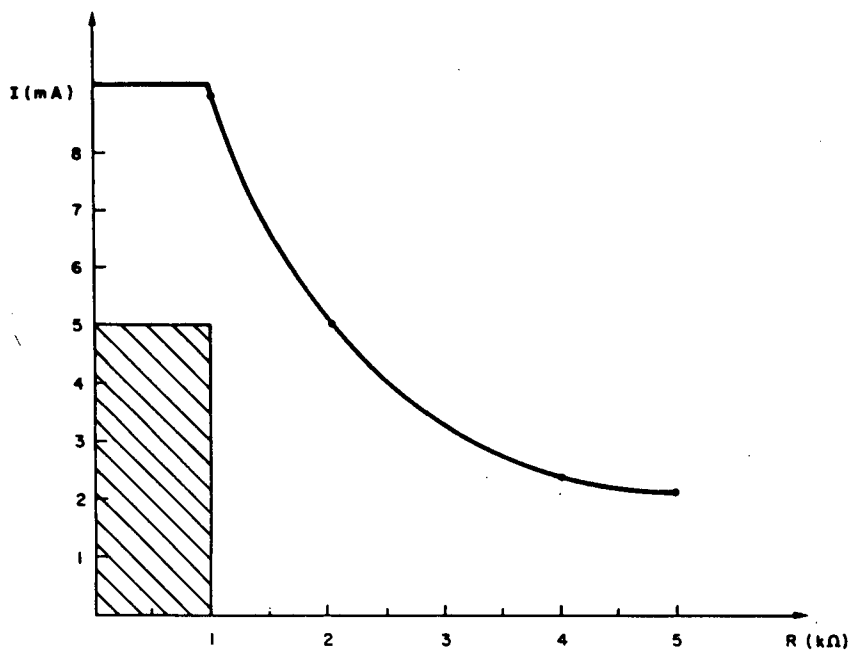


Figura 4. Curva de regulação do estimulador.
 A área hachurada indica as especificações adequadas para estimulação do tecido cardíaco.

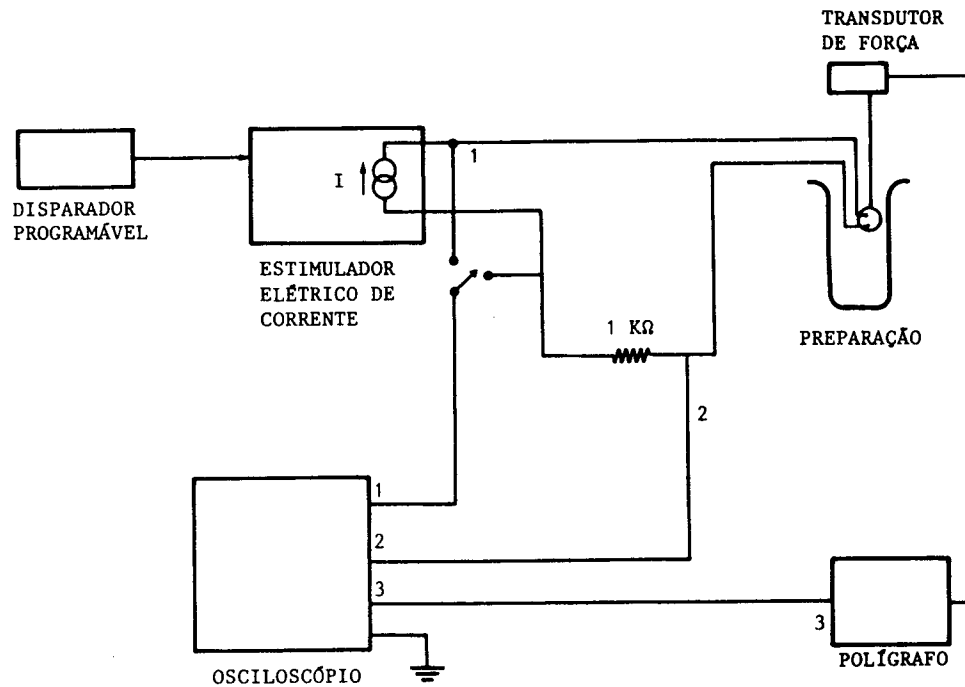


Figura 5 . Interligações dos equipamentos utilizados nos testes com preparação biológica.

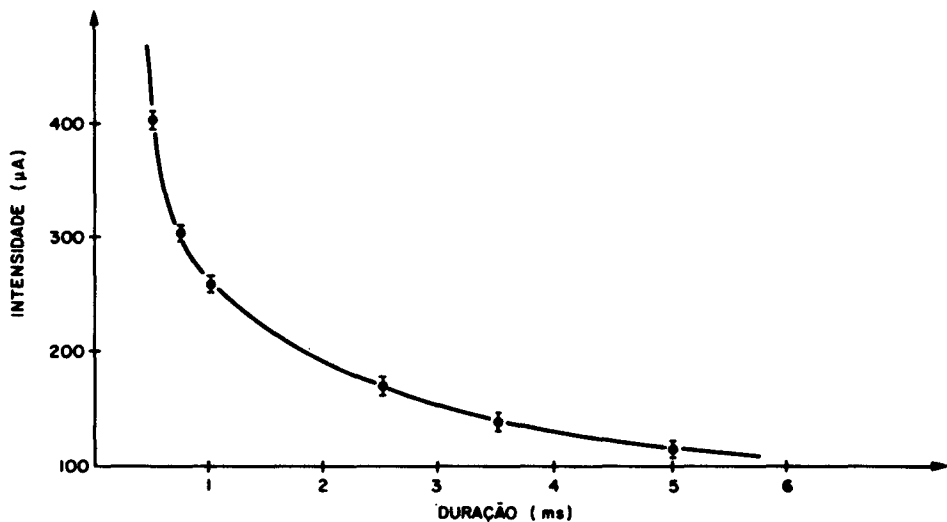


Figura 6. Curva de intensidade-duração em tecido cardíaco isolado de rato. Os pontos representam médias de 4 experimentos.

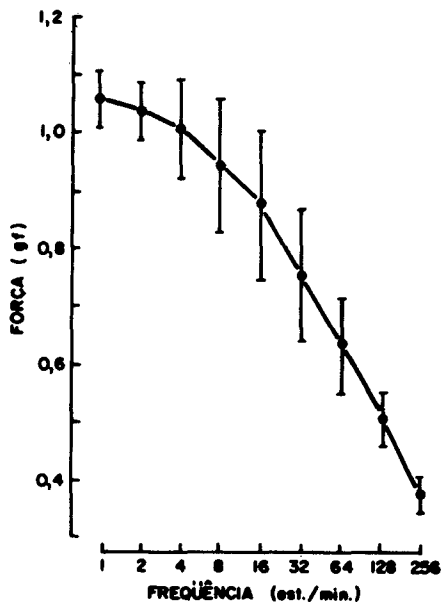


Figura 7. Relação Força-Frequência em tecido cardíaco isolado de rato. Os pontos representam médias de 6 experimentos.

ELECTRIC CURRENT STIMULATOR FOR PHYSIOLOGICAL STUDIES

ABSTRACT -- An electric stimulator for research on myocardial electrical activity and contractility, is described. The stimulator is capable of delivering mono and bipolar electric current pulses with adjustable amplitude from 1 μ A to 5 mA, with adjustable duration from 50 μ sec to 500 msec, and stimulating frequency also adjustable within the interval from 0,1 Hz to 2·KHz. If necessary, the interval between pulses can be externally controlled. A function generator can be coupled to the stimulator through a special input, and thus the equipment is capable of delivering electric current stimulating pulses of any shape. The equipment can be calibrated without being connected to a biological preparation. Its output unit is isolated through optic coupling and powered by a DC/DC converter. The stimulator was extensively tested with and without being connected to an animal preparation. From the results it was concluded that the equipment is fully adequate to electrically stimulate isolated cardiac muscle.