

Artigo Original

recebido: 25/04/2000 e aceito em 27/03/2001

**Desenvolvimento e testes
de um estimulador elétrico de
alta potência para estimulação
por campo elétrico em coração
isolado de rato.**

*Development and tests of a high
power electric stimulator for field
stimulation of isolated rat heart.*

Márcio Zanardo Sabo

Engenheiro Eletricista formado pela
Universidade de Mogi das Cruzes.

Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Professor Doutor do Núcleo de Pesquisas Tecnológicas,
Universidade de Mogi das Cruzes.
Av. Dr. Cândido de Almeida Xavier e Souza, 200
Mogi das Cruzes - São Paulo - 08090-911
Tel.: (011) 4798 7221; 4798 7224
Fax: 4798 7225
e-mail: mgodoy@umc.br

Paulo Alberto Paes Gomes

Professor Doutor do Núcleo de Pesquisas Tecnológicas,
Universidade de Mogi das Cruzes.

Resumo

Na estimulação elétrica de tecidos excitáveis utilizam-se estimuladores elétricos especialmente projetados para este fim. Contudo, em alguns casos, não há no mercado estimuladores que possam suprir ao mesmo tempo a tensão e a corrente necessárias para excitar o tecido biológico. Neste trabalho apresentamos um estimulador de alta potência (200 V; 10 A) desenvolvido especificamente para estimulação de tecido excitável por campo elétrico. O estimulador foi utilizado no levantamento da curva intensidade-duração de corações isolados de rato (de 10 ms a 30 ms). Os resultados mostram que o estimulador desenvolvido é de fácil operação e adequado para se fazer estimulação cardíaca por campo elétrico.

Palavras-chave: Curva intensidade-duração, Estimulação elétrica, Estímulo de alta potência.

Abstract

Electric stimulation of excitable tissues frequently requires electric stimulators specially designed for this purpose. However, in some cases there are no available commercial stimulators that can simultaneously supply voltage and current enough to excite the biological tissue. In this work we present a high power stimulator specially developed for excitable tissue stimulation by electric field. The stimulator was used to obtain the strength-duration curve on isolated rat hearts. The results show that the developed stimulator is easy to operate and suitable for electric field cardiac stimulation.

Keywords: Electric field stimulation, High power stimulus, Strength-duration curve.

Extended Abstract

Introduction

Among the diversified manners of tissue stimulation, the application of electric field is one of the most important. Differently of techniques in which the stimulating electrodes are positioned in contact with the excitable tissue, on the electric field stimulation there is no contact between electrodes and biological sample. The main advantage of this procedure is the possibility of electric field quantification that in turn allows the reproducibility of the stimulation conditions for different biological samples. In order to generate and to quantify an uniform electric field, in a conductor volume big enough to involve a macroscopic cardiac tissue, it is necessary high intensities of both voltage and current. However, in some cases there are no available commercial stimulators that can simultaneously supply voltage and current enough to excite the biological tissue. In this work we present a high power stimulator specially developed to excite the cardiac tissue by means of electric field stimulation.

Methods

The stimulator was designed to generate square alternating voltage pulses with adjustable amplitude (0 to 200 V), duration (10 μ s to 50 ms) and frequency (0.1 to 10 Hz). The stimulator was used to obtain the strength-duration curve in isolated rat hearts. The isolated rat heart was mounted in a Langerdorf preparation and placed in a perfusion chamber. In this chamber it was possible to monitor the cardiac frequency by a cardiac shortening detection equipment. The pulse stimulation was applied to the chamber by two parallel rectangular stainless steel plate electrodes. The threshold electric field was calculated considering the chamber and electrode geometry, the solution conductivity and the minimum current generated by the stimulator to keep the cardiac pacing.

Results

The stimulator was able to produce currents as high as 7 A in order to stimulate the isolated hearts with a 10 ms square pulse. The average of rheobase and the chronaxia of the strength-duration curves were, respectively, 0.08 V/cm and 5 μ s.

Conclusion

The main feature of the developed stimulator is its capability of high voltage (200 V) and high current (10 A) stimulation. This allowed us to obtain the cardiac threshold electric field with pulses as short as 10 μ s. The overall results show that the developed stimulator is easy to operate and suitable for electric field cardiac stimulation.

Introdução

O estudo da resposta de tecido cardíaco a estímulos elétricos é de extrema importância, tanto para pesquisa (Godoy *et al.*, 1999; Gomes *et al.*, 1998; Ranjan & Thakor, 1995) quanto para o desenvolvimento de tecnologia para marca passos e desfibriladores (Jones & Tovar, 1996; Charbonnier, 1996). Dentre as diversas formas de estimulação de um tecido excitável destaca-se a Estimulação por Campo Elétrico, ECE. Ao contrário de técnicas onde os eletrodos são posicionados em contato com o tecido, nesta, não há o contato físico entre eletrodos e amostra. Na ECE, o campo excitatório é criado pela corrente elétrica que flui no volume condutor que envolve o tecido.

A principal vantagem da ECE em relação à estimulação por eletrodos de contato é a possibilidade de se quantificar o campo elétrico ao qual o tecido está exposto, permitindo a reprodução das condições de estimulação em amostras biológicas diferentes. No entanto, para se criar um campo elétrico uniforme em um volume condutor grande o suficiente para envolver um tecido cardíaco de tamanho macroscópico, é necessária uma alta intensidade de corrente elétrica. Adicionalmente, para se quantificar este campo é necessário que o pulso de corrente tenha intensidade constante durante sua aplicação (pulso quadrado). Para satisfazer estas condições muitas vezes são necessários estímulos de alta potência, com valores de tensão de dezenas de Volts e corrente de até 10 A, que não podem ser supridos por estimuladores comerciais.

Neste trabalho apresentamos um estimulador de alta potência desenvolvido especificamente para satisfazer as condições necessárias para a estimulação por campo elétrico de tecido cardíaco isolado e imerso em um volume muito maior que o seu. O estimulador foi testado em experimento com coração isolado de rato onde o campo elétrico foi quantificado para levantamento da curva intensidade-duração.

Metodologia

O Estimulador - O estimulador foi projetado para gerar pulsos quadrados de tensão com amplitude (0 a 200 V), duração (10 μ s a 50 ms) e frequência (0,1 a 10 Hz) ajustáveis. A Figura 1 ilustra o diagrama do estimulador desenvolvido.

O pulso quadrado de estimulação é gerado quando o sinal digital S1 do circuito de controle muda de 0 para 15 V disparando o mosfet (IRF 840). Uma vez disparado, o mosfet passa a conduzir e conectar o capacitor (10 mF, 250 V) à carga. A tensão do capacitor fica aplicada à carga pelo tempo que o mosfet estiver

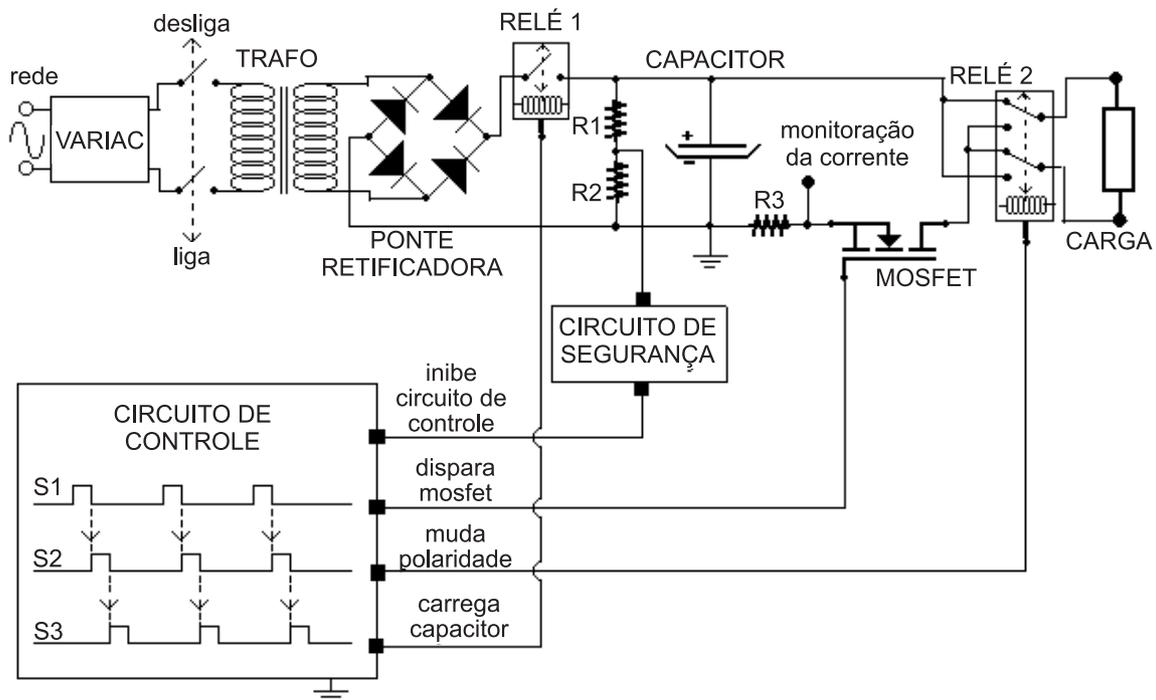


Figura 1. Diagrama esquemático do estimulador desenvolvido. (Detalhes no texto) **Figure 1.** Diagram of the developed stimulator. (Details on the text).

conduzindo. Isto permite que o pulso de estimulação tenha frequência e duração definidas com o ajuste destes mesmos parâmetros em $S1$.

Para neutralizar a polarização dos eletrodos durante o processo estimulatório, a polaridade do estímulo é invertida a cada pulso. A inversão de polaridade ocorre quando o sinal digital $S2$, disparado pela borda de descida do sinal $S1$, aciona o relé 2, que inverte fisicamente a conexão da carga aos terminais positivo e negativo do capacitor.

O capacitor é carregado quando $S3$, disparado pela borda de descida de $S2$, aciona o relé 1. Uma vez acionado, este relé conecta a tensão AC retificada, produzida pelo conjunto ponte retificadora-trafo-variatic-rede elétrica, ao capacitor, carregando-o.

O circuito de controle (osciladores monoestáveis ligados em cascata e disparados por oscilador estável; C.I. 4047) foi projetado de forma a impedir que o processo de estimulação fosse simultâneo ao de carregamento do capacitor, garantindo seu isolamento da rede elétrica. O circuito de controle aciona os relés 1 e 2 através de um *buffer* (transistor BC548 como fonte de corrente).

Para evitar que o capacitor ultrapasse 80% de sua tensão máxima, o circuito de segurança (comparador com histerese, baseado em amplificador operacional;

TL074) amostra a tensão do capacitor, por meio do divisor de tensão $R1$ e $R2$, e inibe o circuito de controle quando este valor máximo é atingido.

A amplitude do estímulo é ajustada por meio do *variatic* que determina a tensão a ser mantida no capacitor.

A monitoração da corrente na carga é feita medindo-se a tensão em $R3$ e aplicando-se a lei de Ohm ($I_{carga} = V_{R3}/R3$).

Testes em Bancada – Aplicamos pulsos gerados pelo estimulador em uma cuba de perfusão (80 ml) a qual foi preenchida com solução fisiológica de Krebs Henseleit (pH 7,4 a 30 °C). A temperatura da solução na cuba foi mantida constante a 30 °C por meio de um sistema de circulação de água com controle de temperatura (Gaymar Industries, Inc; TP500). Dois eletrodos de estimulação, formados por chapas retangulares de aço inox, cobriram internamente duas faces paralelas desta cuba, a qual tinha forma de paralelepípedo. Nesta configuração, o campo elétrico E dentro da cuba pode ser calculado por:

$$E = \frac{I}{\sigma hl} \quad (1)$$

onde I é a corrente (mA) fornecida pelo estimulador,

σ é a condutividade da solução (em $\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e h e l são, respectivamente, a altura e a largura (em cm) dos eletrodos. A condutividade σ foi medida diretamente na solução por meio de um condutivímetro.

Testes Experimentais - O estimulador foi testado em experimentos para levantamento da curva intensidade-duração em corações isolados de rato Wistar macho adulto (4 meses). O animal, proveniente do biotério da UMC, foi sacrificado por concussão cervical (segundo as normas éticas do COBEA) e teve seu coração removido e canulado pela aorta para perfusão retrógrada (preparação de Langendorf). O coração isolado e canulado foi imerso na cuba de perfusão descrita anteriormente nos testes em bancada. A frequência cardíaca foi obtida do registro do encurtamento cardíaco em um osciloscópio TDS210 (Techtronix). Este registro foi feito por um detector de borda de vídeo VED 105 (Crescent Electronix) acoplado a uma minicâmera Wat 660s (Watec Co.) e a uma TV C145758 (Sharp). O detector de borda de vídeo gerou um sinal elétrico proporcional ao encurtamento exibido pelo coração a partir da imagem deste na tela da TV.

Para levantamento das curvas intensidade-duração dos corações, o campo elétrico limiar foi obtido para várias durações do pulso de estimulação. Inicialmente aplicamos, por 5 minutos, estímulos supralimiarres com frequência 20% acima da frequência natural exibida pelo coração. Em seguida, diminuimos lentamente a amplitude do estímulo até observarmos o retorno do coração a sua frequência natural. A corrente elétrica era medida neste momento. O campo elétrico, calculado a partir desta corrente, foi definido como sendo o limiar.

Resultados

Testes em bancada - A Figura 2A ilustra o registro de um pulso de corrente de 2,5 A e 1 ms de duração, aplicado à cuba de perfusão.

A Figura 2B ilustra o registro dos pulsos alternados de corrente aplicados à cuba. Neste caso, a amplitude da corrente é de 1,05 A e a frequência e duração dos pulsos são, respectivamente, 1 Hz e 5 ms.

Testes Experimentais - As médias da reobase e da cronaxia obtidas de cada curva foram, respectivamente, $0,088 \pm 0,008 \text{ V/cm}$ e $3,3 \pm 0,3 \text{ ms}$ ($N = 8$). Para maior clareza do levantamento destas curvas intensidade-duração, apresentamos na Tabela I os valores da corrente e do respectivo campo elétrico limiar para durações de 10 ms a 30 ms obtidas para um coração. A Figura 3 ilustra a curva ID que foi montada a partir dos dados desta tabela.

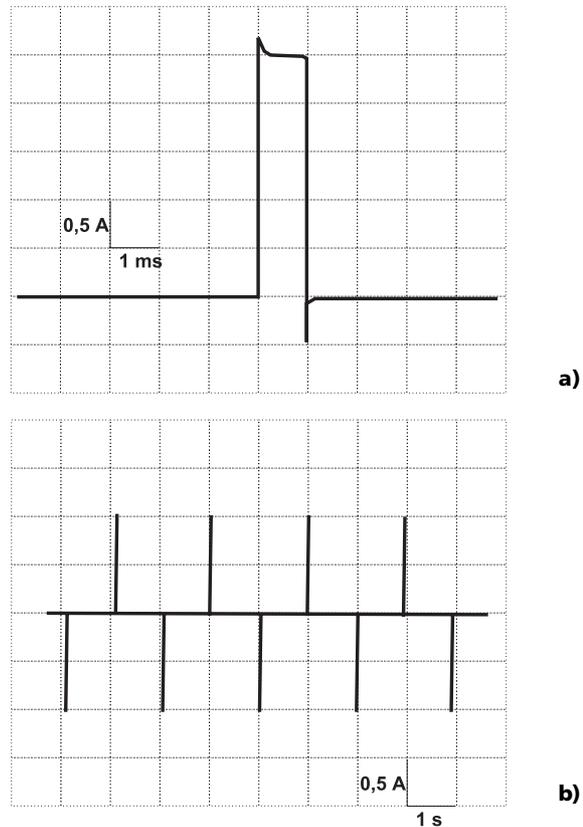


Figura 2. (a) Ilustração do registro do pulso de corrente na cuba. Esta corrente produziu campo elétrico de 8,1 V/cm. (b) Ilustração do registro de pulsos alternados de corrente aplicados à cuba de perfusão. Esta corrente produziu campo elétrico de 3,41 V/cm. **Figure 2.** (a) Illustration of a current pulse applied to the perfusion chamber. This current generated a electric field of 8.1 V/cm. (b) Illustration of alternated current pulses applied to the perfusion chamber. This current generated a electric field of 3.41 V/cm.

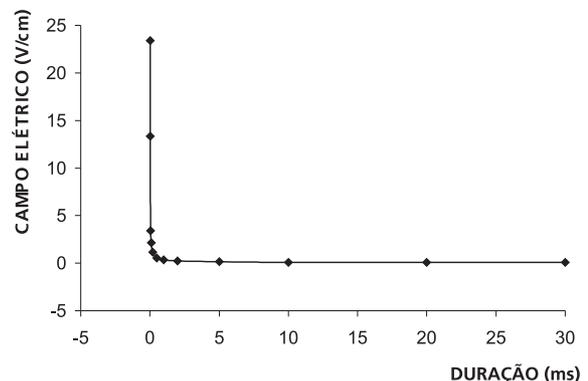


Figura 3. Curva intensidade-duração de coração isolado de rato. **Figure 3.** Strength-duration curve of an isolated rat heart.

Tabela 1. Valores da corrente e do respectivo campo elétrico limiar para diferentes durações de pulso. **Table 1.** Values of current and the respective threshold electric field for different pulse duration.

Duração (ms)	Corrente (A)	Campo Elétrico (V/cm)
0,01	7,2	23,414
0,02	4,1	13,333
0,05	1,05	3,415
0,1	0,66	2,146
0,2	0,36	1,171
0,5	0,17	0,553
1	0,11	0,358
2	0,07	0,228
5	0,05	0,163
10	0,03	0,098
20	0,022	0,072
30	0,02	0,066

Campo elétrico calculado para $H = 0,4393$ cm; $L = 0,5$ cm e $\sigma = 0,014 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
 Electric field calculated for $H = 0.4393$ cm; $L = 0.5$ cm e $\sigma = 0.014 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Discussão e Conclusão.

Neste trabalho apresentamos um estimulador desenvolvido especificamente para estimulação por campo elétrico. A principal característica deste estimulador é sua capacidade de produzir pulsos retangulares de alta tensão (até 200 V) e alta corrente (até 10 A) suficientes para se estimular o coração por campo elétrico em condições extremas. Por exemplo, com pulsos quadrados de 10 μ s de duração tivemos que chegar a correntes superiores a 7 A (vide tabela I) para produzirmos campos elétricos supralimiar. Isto não poderia ser obtido com os estimuladores comerciais disponíveis atualmente como, por exemplo, o estimulador mais potente da Grass Instrument (modelo 548K), o qual fornece no máximo 0,4 A. Adicionalmente, o estimulador desenvolvido gera pulsos quadrados com polaridade que se alterna ciclicamente, evitando desta forma a polarização dos eletrodos e o conseqüente dano à amostra biológica. Para exibir esta característica, os estimuladores comerciais fazem acoplamento capacitivo na saída do estimulador, deformando a forma de onda do pulso. Para evitar isto seriam necessários dois estimuladores comerciais sincronizados, que gerassem pulsos sem acoplamento capacitivo, um para cada polo do pulso.

Um outro aspecto relevante do estimulador desenvolvido é sua simplicidade de operação. São necessários somente os ajustes de amplitude, duração e frequência do pulso. Esta simplicidade de operação permitiu-nos obter a curva intensidade-duração de coração isolado sem qualquer dificuldade técnica no processo estimulatório. Normalmente, a curva inten-

sidade-duração é expressa em valores de corrente ou tensão limiares (Guedes & Bourland, 1985). Neste trabalho, a curva intensidade-duração foi levantada utilizando estimulação por campo elétrico. Embora este não seja o objetivo principal deste trabalho, a importância deste resultado deve-se ao fato de que, diferente do que ocorre com a corrente ou tensão, o campo elétrico mínimo necessário para estimular o tecido cardíaco expressa valores de limiar independentes da geometria da montagem experimental. Isto permite uma comparação quantitativa da excitabilidade de, por exemplo, corações de espécies diferentes ou de tecidos excitáveis distintos.

Adicionalmente, a disponibilidade de correntes tão altas quanto 7A torna o estimulador desenvolvido importante ferramenta para se estudar a excitabilidade cardíaca por meio de estimulação com pulsos de duração da ordem de 10 μ s. Finalmente, tendo em vista os testes efetuados e os resultados experimentais obtidos, concluímos que o instrumento é de fácil operação e adequado para se fazer estimulação por campo elétrico em tecidos excitáveis.

Agradecimentos

Ao Sr. Kleber de Magalhães Galvão pelo apoio nos experimentos com animais. À FAEP/UMC e à FAPESP pelo suporte financeiro.

Referências

- Charbonnier, F. M. (1996), "External Defibrillators and Emergency External Pacemakers". Special Issue on Electrical Therapy of Cardiac Arrhythmias, *Proceedings of the IEEE*, v. 84, n. 3, p. 487-499.
- Godoy, C. M. G.; Bassani, J. W. M. & Bassani, R. A. (1999), "Role of Acetylcholine in Electrical Stimulation Induced Arrhythmia in Rat Isolated Atria", *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, v. 34, p. 475-479.
- Gomes, P. A. P., Bassani, R. A., Bassani, J. W. M. (1998), "Field stimulation of cardiac cells from developing rats: theory and experiments", *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, v. 30, p. 51.
- Geddes, L. A. & Bourland, J. D. (1985), "The strength duration curve". *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, v. 22, n. 6, p. 458-459.
- Jones, J. L. & Tovar, O. H. (1996), "The mechanism of defibrillation and cardioversion", *Proceedings of the IEEE*, v. 84, n. 3, p. 392-403.
- Ranjan, R. & Thakor, N. V. (1995), "Electrical Stimulation of Cardiac Myocytes", *Annals of Biomedical Engineering*, v. 23, n. 6, p. 812-821.