



Bolsas Universidade de Lisboa / Fundação Amadeu Dias

Edição 2010/2011

Relatório de Projecto

Estimulação diafragmática no rato anestesiado: um novo modelo
de *pacings* respiratório

Bolseiro(a): Afonso Ferreira

Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa
Curso: Mestrado Integrado em Medicina
Ano: 3º Ano Curricular

Tutor(a): Prof. Dr. Isabel Rocha

Resumo: O presente projecto inclui-se no projecto de construção de um pacing diafragmático fisiológico e dinâmico, implantável no diafragma. O objectivo específico deste trabalho consiste na monitorização, em modelo animal, de variações da actividade do frénico, variando a frequência de ciclos respiratórios através de respiração artificial de ar ambiente enriquecido em O₂. Estes resultados possibilitarão a construção de um pacing respiratório dinâmico que mimetisa, de forma artificial, o quimiorreflexo humano, responsável pela regulação da respiração.

Introdução/Enquadramento: O ciclo respiratório tem 2 componentes: um inspiratório, activo e um expiratório, passivo. O componente inspiratório é controlado pelo sistema nervoso central e a actividade destas células é enviada para o principal músculo respiratório, o diafragma, através do nervo frénico. A frequência respiratória normal (12-15cpm) e a amplitude e frequência dos movimentos respiratórios estão dependentes do nível de actividade do indivíduo, estando aumentada por exemplo durante o exercício físico e diminuída no sono, de modo a manter a homeostase dos níveis de oxigénio, dióxido de carbono e pH. Este controlo é realizado principalmente pelo quimiorreflexo carotídeo. Os quimiorreceptores são células sensíveis ao deficit de O₂ e excesso de CO₂ e iões H⁺ que se encontram localizadas principalmente no seio carotídeo na porção terminal da artéria carótida primitiva e início da carótida interna. A informação é transportada pelo nervo de Hering, nervo colateral do nervo Glossofaríngeo (IX par craniano) para o núcleo do trato solitário (NTS) ao nível do bulbo raquidiano, que é a central de integração primária de aferências sensorais autonómicas. Após integração central, a informação gerada é transmitida ao complexo de pré-Botzinger (origem do nervo frénico), ao núcleo ambíguo e FRVLB, modificando a actividade respiratória que é acompanhada por alterações cardiovasculares. Existem diferentes patologias que cursam com alterações na actividade dos nervos frénicos ou do próprio diafragma ou ainda com modificações na zona do sistema nervoso central que controla a respiração. Nestas circunstâncias há necessidade de se proceder a ventilação artificial, tendo surgido desde alguns anos, a possibilidade de utilizar um pacemaker diafragmático. Ao contrário dos sistemas de ventilação artificial, usados na maioria dos casos, os sistemas de pacing diafragmático tentam dar ao paciente uma maior mobilidade e um conforto acrescido, mimetizando a respiração fisiológica. Contudo, os sistemas diafragmáticos existentes têm componentes internos e externos ao paciente o que acarreta uma manutenção cuidada por parte do mesmo. Por outro lado estes sistemas necessitam de nervos frénicos funcionais, corrigindo a actividade dos mesmos. Em casos onde apenas um dos nervos frénicos está funcional é possível utilizar os músculos intercostais. Pretende-se com este projecto concretizar um

sistema de pacing respiratório que não necessite dos sinais do nervo frénico e através das concentrações de oxigénio e dióxido de carbono presentes no sangue estimule directamente o diafragma com um ritmo adequado. Todas as componentes activas deste sistema serão internas ao doente. As componentes exteriores servirão apenas para monitorizar o funcionamento do sistema e configuração de alguns parâmetros internos.

Objectivos: O objectivo global do trabalho onde se enquadra o presente projecto é a construção de um dispositivo implantável no diafragma que proceda à sua estimulação e que esta se aproxime da dinâmica respiratória em condições fisiológicas.

O objectivo específico do presente projecto consiste no teste em modelo animal do protótipo, entretanto, já desenvolvido e construído. Este objectivo será conseguido em 3 tarefas

Tarefa 1 - teste do protótipo em modelo animal (rato): o animal respirará diferentes misturas gasosas com diferentes concentrações de O₂, CO₂ e N₂. Espera-se que o protótipo se mostre capaz de estimular o diafragma apropriadamente consoante o estímulo induzido.

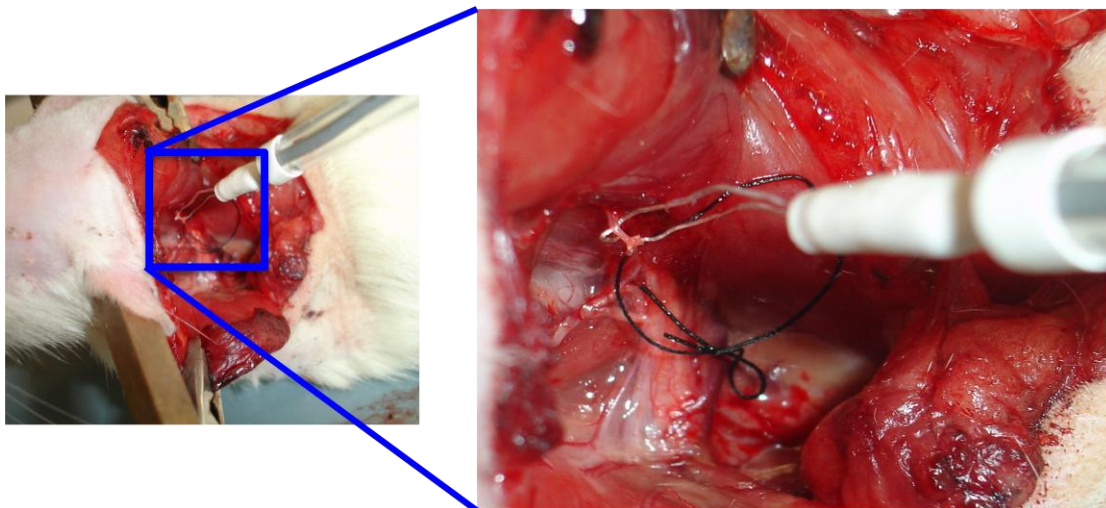
Tarefa 2 - comparação dos resultados obtidos nos estudos animais com os resultados gerados pela rede neuronal construída e utilizada, em passos anteriores ao presente projecto, para modelar o protótipo. Espera-se a existência de ajustamentos menores e a geração de um modelo mais adequado fisiologicamente.

Tarefa 3 - Teste do protótipo já com as novas correções em modelo animal (rato): o animal respirará diferentes misturas gasosas com diferentes concentrações de O₂, CO₂ e N₂. Espera-se que o protótipo se mostre capaz de estimular o diafragma apropriadamente consoante o estímulo induzido.

Metodologia: Em ratos Wistar (n=5), de ambos os sexos, anestesiados (pentobarbital de sódio, 60mg/Kg), sob bloqueio neuro-muscular (Norcuron, 4mg/Kg/h) e em ventilação assistida com uma mistura de ar ambiente e oxigénio, foi feito registo da actividade do nervo frénico, após traqueostomia e cateterizações da veia e artéria femurais (ver fig. 1). Monitorizaram-se continuamente a pressão arterial (PA), o ECG e através deste a frequência cardíaca (FC), a frequência respiratória (FR) e a actividade do nervo frénico, através do eléctrodo demonstrado na fig2. A estimulação indirecta do quimiorreceptor (mimetização artificial do quimiorreflexo) foi realizada através de variações da frequência ventilatória mantendo-se constante o volume de ar inspirado. Para cada valor de frequência, registou-se a frequência de disparo do nervo frénico por minuto relacionando-se estas variações com as alterações de pressão arterial e de frequência cardíaca. No final da experiência o animal foi sacrificado com uma overdose de anestésico.



Fig. 1 - Após anestesia, realização do cateterismo da artéria e veia femural para monitorização da Pressão Arterial e administração farmacológica



Fonte: Unidade SNA - IMM

Fig. 2 – Monitorização das despolarizações do nervo frénico através de eléctrodo bipolar.

Resultados e Discussão: Monitorizou-se a actividade do nervo frénico através do número de despolarizações frénicas por minuto quando se fazia variar a ventilação artificial de ar ambiente enriquecido em oxigénio. Os resultados obtidos nas diversas experiências estão esquematizados na tabela 1.

Freq. Ventilação Mecânica Artificial	Média Despolarizações Frénicas
[0] cpm	29.16 bpm
]0, 10[cpm	22.65 bpm
[10, 30[cpm	25,36 bpm
[30, 40[cpm	26.41 bpm
[40, 50[cpm	31.97 bpm
[50, 60[cpm	36.00 bpm
[60, 70[cpm	45.81 bpm
[70, 80[cpm	46.64 bpm
[80, 100[cpm	22.88 bpm

Tabela 1 - Valores médios dos resultados experimentais

Observou-se um dissinergismo entre a ventilação mecânica e as necessidades fisiológicas dos ratos, demonstrado pelos resultados da tabela e ilustrado, como exemplo, com o rato 2 na fig. 3. Particularizando, para ventilações de 10 cpm, o nervo frénico realiza mais despolarizações (cerca 14 bpm), numa tentativa de adquirir mais O₂ para compensar a situação de hipoxia, e possível acidose metabólica. Para ventilações artificiais de grande frequência, como de 85 cpm, uma vez que o organismo não necessita de tanto O₂, o nervo frénico diminui as despolarizações (cerca 11 bpm), isto é, é inibido.

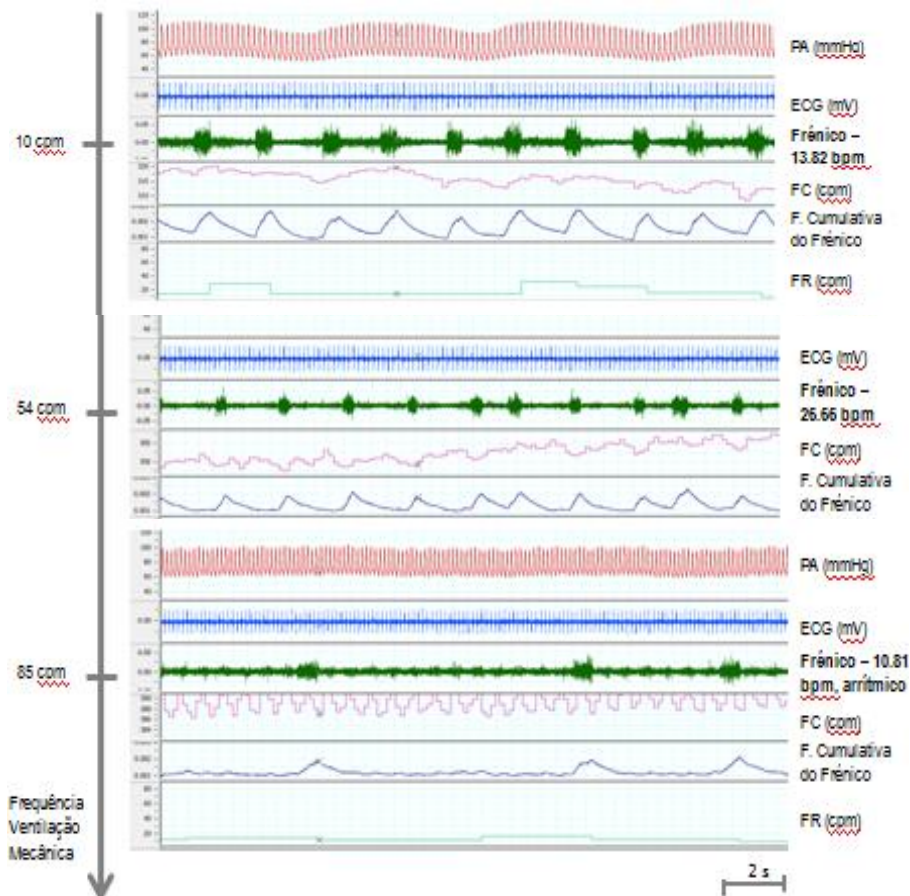


Fig. 3 – Resultados obtidos com o rato 2, demonstrando a actividade frénica consoante a variação das ventilações mecânicas.

Observou-se ainda que em condições de hipoxia, a duração da despolarização frénica aumenta, diminuindo em hiperóxia, evidenciado no estudo comparativo dos sinais frénicos na fig. 4

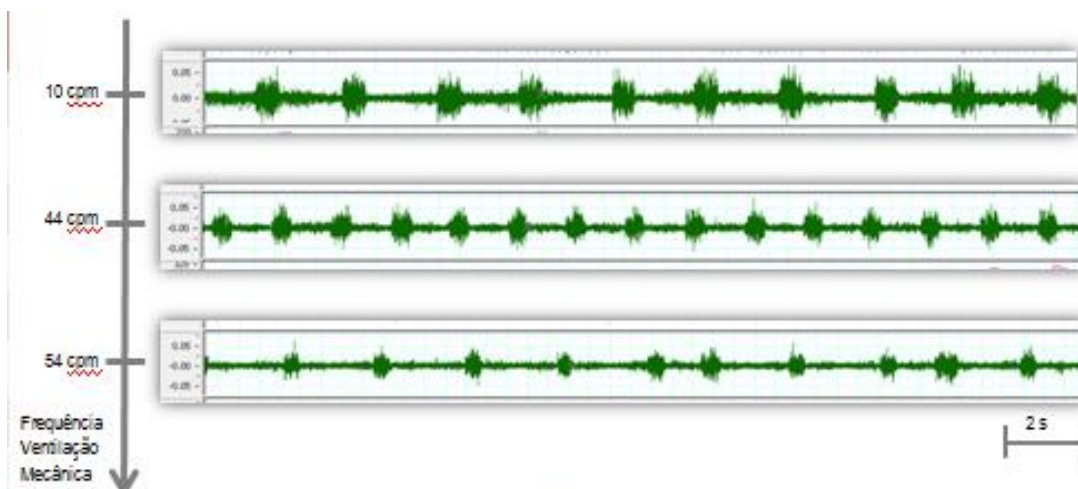


Fig. 4 – Actividade frénica consoante a variação das frequências ventilatórias mecânicas.

Desta forma o nervo frénico aumenta não só o número de despolarizações por minuto, como também a duração das mesmas despolarizações, permitindo estimular mais eficazmente o diafragma e conseqüentemente realizar a respiração. Quando a concentração de oxigénio é superior às necessidades do organismo, as despolarizações do nervo frénico são inibidas, funcionando como um mecanismo de retroacção negativo, como ocorre com o mecanismo de quimiorreflexo mimetizado nestas experiências.

Plano de execução financeira: Em anexo

Conclusões: Conclui-se então que há uma maior actividade frénica em condições de hipóxia, sendo que a actividade do nervo pode mesmo ser inibida pela hiperóxia. Estes resultados irão ser adicionados a outros de forma a construir um circuito de redes neuronais que simule de uma forma dinâmica um *pacinig* respiratório fisiológico. Assim, de acordo com as necessidades do organismo, monitorizando as concentrações de oxigénio, dióxido de carbono e azoto, o *pacinig* diafragmático dinâmico vai estimular mais ou menos o diafragma conforme necessário. Esta estimulação pode dar-se sem a existência do nervo frénico viável e utilizando pressões intra-torácicas negativas. Desta forma poderá evitar-se as alterações hemodinâmicas provocadas pelas pressões intra-torácicas positivas induzidas pelas máquinas de ventilação mecânicas habitualmente utilizadas.

Bibliografia:

• **Livros**

Tresguerres, J.A.F. *Fisiologia Humana* 1ª Edição, 1993, McGraw-Hill. ISBN: 84-7615-957-9

Guyton et Hall. *Tratado de Fisiologia Médica*, 11ª edição, 2006, Elsevier. ISBN: 978-85-352-1641-7

Silbernagl, S.; Lang, F. *Color Atlas of Pathophysiology*, 2ª edição, 2010, Thieme. ISBN: 978-3-13-116552-7

Kasper D et al: *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16th edition; McGraw-Hill Companies Inc., 2004, EUA

• **Artigos**

Annual Review of Physiology, Vol. 60: 385-405 (March 1998)

New England Journal of Medicine, 358;13 (March 2008)

Assinatura Discente (Afonso Miguel Nunes Ferreira)



Assinatura Tutor (Prof. Dr. Isabel Rocha)



Lisboa, 11 de Julho de 2011

Relatório financeiro

Bolsa Amadeu Dias, edição 2010/2011

Projecto: Estimulação diafragmática no rato anestesiado: um novo modelo de pacing respiratorio

Despesa efectuada por item

Animais -----	420 euro
Consumíveis de laboratório (incluindo fármacos)-----	1150 euro
Gases (O ₂)-----	205 euro

Total : 1775 (mil setecentos e setenta e cinco euro)

*Nave 2nd de Junho
Lx, 12 Julho 2011*