

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA

ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NÃO INVASIVA DO NERVO
VAGO MELHORA AGUDAMENTE O CONTROLE DA
PRESSÃO ARTERIAL EM HOMENS JOVENS
SAUDÁVEIS

Diego Antonino Nunes dos Santos

BRASÍLIA
2016

ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NÃO INVASIVA DO NERVO VAGO MELHORA
AGUDAMENTE O CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL EM HOMENS
JOVENS SAUDÁVEIS

DIEGO ANTONINO NUNES DOS SANTOS

Dissertação apresentada à Faculdade de
Educação Física da Universidade de
Brasília, como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre em
Educação Física.

ORIENTADOR: PROF. DR. LAURO CASQUEIRO VIANNA

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria do Carmo Nunes por sempre apoiar minhas decisões, e continuar sendo meu exemplo.

À minha avó Adalice Lopes Nunes por suas palavras de incentivo, e pelo auxílio que me permitiu a conclusão desse mestrado.

À minha irmã Miriam Stephanie por sempre me ajudar quando solicitada.

Ao meu amigo José Divino por me oferecer seu lar e todo suporte ao longo do curso.

Ao professor Dr. Ricardo Moreno por aceitar me conhecer e ter aberto portas para meu ingresso na FEF.

Ao professor Dr. Lauro Casqueiro Vianna pela confiança de aceitar-me como seu orientando, mesmo sem me conhecer. Pelo seu exemplo de competência, inteligência e por suas orientações valiosas, bem como suas críticas construtivas. Fazer parte do Neurovasq ao longo do mestrado foi o maior presente que pôde me dar, principalmente pelo “ambiente azeitado” criado por todos que fazem parte.

Aos que inicialmente foram meus colegas de laboratório, mas que há tempos viraram grandes amigos: André Teixeira (Dééé, camisa 10), Paulo Marcelo (Mauro, Solofly) e Mayara Souza (Mayarinha). Aos novos integrantes que vieram agregar conhecimento e mantiveram o bom ambiente do laboratório, Plínio Ramos, Jeann Luccas (Channnn), Milena Samora (Milenivis), Luiz Junquilha, Rayssa Maia e Larissa.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE SIGLAS, ABREVIações E SÍMBOLOS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1. Sistema nervoso autônomo	15
3.1.1. Visão panorâmica do sistema nervoso autônomo	15
3.1.2. Sistema nervoso autônomo cardíaco	18
3.1.3. Regulação cardiovascular e hemodinâmica	19
3.2. Nervo vago	22
3.3. Estimulação elétrica do nervo vago	23
3.3.1. História da estimulação elétrica do nervo vago	23
3.3.2. Estimulação elétrica não invasiva do nervo vago	26
4. MATERIAIS	30
4.1. Amostra	30
4.2. Cuidados éticos	30
4.3. Protocolo experimental	30
4.4. Protocolo da tVNS	33
4.5. Sensibilidade barorreflexa cardiovagal	34
4.6. Variabilidade da frequência cardíaca	35
4.7. Variabilidade da pressão arterial	35
4.8. Análise estatística	36
5. RESULTADOS	37

6. DISCUSSÃO	40
7. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
LISTA DE ANEXOS	55
ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	56
ANEXO B – FICHA DE COLETA	58
ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO	59

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 – O SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO E PARASSIMPÁTICO EM HUMANOS	17
FIGURA 2 – INERVAÇÃO SIMPÁTICA E PARASSIMPÁTICA DO CORAÇÃO	19
FIGURA 3 – CIRCUITO NEURAL AFERENTE E EFERENTE DO ARCO BARORREFLEXO	21
FIGURA 4 – LOCALIZAÇÃO DAS TERMINAÇÕES NERVOSAS AFERENTES DOS NERVOS CRANIANOS NA SUPERFÍCIE DE UMA ORELHA	23
FIGURA 5 – DISPOSITIVO (FORQUILHA) PARA COMPRESSÃO BILATERAL SIMULTÂNEA DAS ARTÉRIAS CARÓTIDAS E ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NÃO INVASIVA DOS NERVOS VAGOS CERVICAIS	24
FIGURA 6 – ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA INVASIVA DO NERVO VAGO	25
FIGURA 7 – ÁREAS DE DISTRIBUIÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO ONDE É POSSÍVEL A ELETROESTIMULAÇÃO (ÁREA SOMBREADA)	27
FIGURA 8 – PROTOCOLO EXPERIMENTAL DO ESTUDO	32
FIGURA 9 – APARELHO DE FOTOPLETISMOGRAFIA E ESFIGMOMANÔMETRO AUTOMÁTICO	32
FIGURA 10 – DISPOSITIVO DE TVNS	33
FIGURA 11 – RESPOSTA DO GANHO DA SENSIBILIDADE BARORREFLEXA CARDÍACA ESPONTÂNEA (CBRS) DURANTE O REPOUSO, TVNS E RECUPERAÇÃO NOS PROTOCOLOS ATIVO (QUADRADOS PRETOS), SHAM-L (CÍRCULOS BRANCOS) E SHAM-T (TRIÂNGULOS CINZENTOS)	38
FIGURA 12 – RESPOSTA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC, PAINEL A), PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (PAS, PAINEL B), BALANÇO SIMPATOVAGAL, REPRESENTADO PELA RELAÇÃO ENTRE OS COMPONENTES DE BAIXA E ALTA FREQUÊNCIA DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA (LF/HF, PAINEL C) E COMPONENTE DE BAIXA FREQUÊNCIA DA VARIABILIDADE DA PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA (LF _{PAS} , PAINEL D) DURANTE O REPOUSO,	

TVNS E RECUPERAÇÃO NOS PROTOCOLOS ATIVO (QUADRADOS PRETOS),
SHAM-T (CÍRCULOS BRANCOS) E SHAM-L (TRIÂNGULOS CINZENTOS) 39

LISTA DE SIGLAS, ABREVIações E SÍMBOLOS

ABVN = Ramo Auricular do Nervo Vago
BEI = Índice de Efetividade do Barorreflexo
cBRS = Sensibilidade Barorreflexa Cardiovagal
CVLM = Área ventrolateral caudal do bulbo
ECG = Eletrocardiograma
FC = Frequência Cardíaca
FDA = Agência de Alimentos e Medicamentos
GABA = Ácido Gama-Aminobutírico
HF = Alta Frequência
LF = Baixa Frequência
NA = Núcleo Ambíguo
NDMV = Núcleo Dorsal Motor do Vago
NTS = Núcleo do Trato Solitário
PA = Pressão Arterial
PAS = Pressão Arterial Sistólica
RVLM = Área Ventrolateral Rostral do Bulbo
RVP = Resistência Vascular Periférica
SNA = Sistema Nervoso Autônomo
SNAC = Sistema Nervoso Autônomo Cardíaco
SNC = Sistema Nervoso Central
TENS = Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea
VFC = Variabilidade da Frequência Cardíaca
VLF = Muito Baixa Frequência
VPA = Variabilidade da Pressão Arterial
tVNS = Estimulação Elétrica Não Invasiva do Nervo Vago
PAS = Pressão Arterial Sistólica

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi testar a hipótese de que a estimulação elétrica não invasiva do nervo vago (tVNS) melhora agudamente o controle da pressão arterial (PA). **Métodos:** Treze homens saudáveis (23 ± 1 ano) foram randomizados em três visitas experimentais. Na tVNS ativa, os eletrodos foram colocados no tragus da orelha e a corrente elétrica foi aplicada usando um dispositivo de estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS). Foi realizada uma visita controlada com os eletrodos posicionados no tragus, mas não foi aplicada corrente (sham-T). Além disso, para evitar um efeito sensorial de confusão, outro protocolo foi realizado com a mesma corrente elétrica da visita ativa, mas os eletrodos foram colocados no lóbulo da orelha (uma área sem terminações nervosas cutâneas do vago - sham-L). A frequência cardíaca (FC), batimento a batimento, e a PA foram monitoradas em repouso, durante a tVNS (ativa, sham-T e sham-L) e durante a recuperação. A sensibilidade barorreflexa cardiovagal espontânea (cBRS) foi medida pela técnica de sequência. Tanto a FC (LF/HF) como a variabilidade da PA (VPA) também foram medidas. **Resultados:** A PA e a VPA não foram afetadas por nenhum protocolo, ativo ou simulado ($P > 0,05$). A FC e a relação LF/HF diminuíram ($\Delta -3,4 \pm 1\%$ e $\Delta -17 \pm 10\%$, $P < 0,05$, respectivamente) e a cBRS aumentou ($\Delta 20 \pm 7\%$, $P < 0,05$) apenas durante a tVNS ativa, mas permaneceram inalterados durante ambos os protocolos simulados ($P > 0,05$). **Conclusão:** A tVNS melhora agudamente o controle neural da PA em homens saudáveis.

Palavras-chave: Barorreflexo; Sistema nervoso autônomo; Sistema nervoso simpático; Neuromodulação.

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study was to test the hypothesis that non-invasive vagus nerve stimulation (tVNS) acutely improves blood pressure (BP) control.

Methods: Thirteen healthy men (23 ± 1 yrs) were randomized across three experimental visits. In active tVNS, electrodes were placed on the tragus of the ear and electrical current was applied by using a Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) device. A time-control visit was performed with the electrodes placed on tragus, but no current was applied (sham-T). Additionally, to avoid a confounding sensory effect, another sham protocol was performed with same electrical current of the active visit, but the electrodes were placed on the ear lobe (an area without cutaneous nerve endings from the vagus – sham-L). Beat-to-beat heart rate (HR) and BP were monitored at rest, during tVNS (active, sham-T and sham-L) and recovery. Spontaneous cardiac baroreflex sensitivity (cBRS) was measured via sequence technique. Both HR (LF/HF) and BP variability (BPV) were also measured.

Results: Arterial BP and BPV were not affected by any active or sham protocols ($P>0.05$). HR and LF/HF ratio decreased ($\Delta-3.4\pm 1\%$ and $\Delta-17\pm 10\%$, $P<0.05$, respectively) and cBRS increased ($\Delta 20\pm 7\%$, $P<0.05$) only during active tVNS, but were unchanged during both sham protocols ($P>0.05$). **Conclusion:** tVNS acutely improves neural control of BP in healthy young men.

Key-words: baroreflex; autonomic nervous system; sympathetic nervous system; neuromodulation.

1. INTRODUÇÃO

O nervo vago é o principal componente parassimpático do sistema nervoso autônomo (SNA) (Clancy *et al.*, 2013). Com 80% de suas fibras nervosas aferentes e 20% eferentes, tem como função primordial transmitir informações do corpo para o cérebro, bem como atuar na regulação de órgãos e manutenção da homeostase (Howland, R. H., 2014).

Devido sua extensa conexão com praticamente todos os órgãos que recebem inervação parassimpática, o vago desempenha diversas funções no organismo, como o controle da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e participação nos processos de digestão, inflamação e imunidade (Buschman *et al.*, 2006; Olshansky *et al.*, 2008; Plachta *et al.*, 2014; Hall, 2015). Com essas características, surgiu o interesse de explorar o seu potencial terapêutico através da estimulação elétrica nervosa, inicialmente com pesquisas realizadas em modelos animais convulsivos e evoluindo para aplicações clínicas em humanos, sendo o seu uso aprovado pela agência de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (*Food and Drug Administration* - FDA) em 1997 para o tratamento de epilepsia refratária e em 2005 para o tratamento da depressão crônica resistente ao tratamento farmacológico (George e Aston-Jones, 2010; Morris *et al.*, 2013; Aihua *et al.*, 2014; Cai *et al.*, 2014).

No entanto, a eletroestimulação do nervo vago requer intervenção cirúrgica para o implante de um eletroestimulador no tórax que se conecta ao ramo cervical do nervo vago no pescoço através de um conjunto de eletrodos (Spuck *et al.*, 2010). A necessidade de elevados recursos para a colocação do dispositivo dificulta a difusão do método, além das possíveis complicações pós-cirúrgicas e alguns efeitos colaterais como rouquidão, dispneia, tosse, dor de garganta e dificuldades de deglutição (Fahy, 2010; Busch *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

A estimulação elétrica não invasiva do nervo vago (*transcutaneous vagus nerve stimulation* - tVNS) é uma abordagem não invasiva e uma potencial substituta mais conveniente para a modalidade cirúrgica, por não apresentar as reações adversas e por promover efeitos similares (Dietrich *et al.*, 2008; Kreuzer *et al.*, 2012; Capone *et al.*, 2015; Van Leusden *et al.*, 2015). Sua aplicação pode ser realizada através da eletroestimulação das conchas superior ou inferior (tragus) do ouvido

externo, por eletrodos de superfície conectados ao aparelho gerador de estímulos (Clancy *et al.*, 2014).

Por sua influência na atividade cardíaca, estudos utilizando a tVNS em pacientes cardiopatas têm apresentado resultados benéficos (Zamotrinsky *et al.*, 2001; Popov *et al.*, 2013; Stavrakis *et al.*, 2015), mas ainda existem lacunas na compreensão da sua interação na regulação da pressão arterial (PA) e com a função barorreflexa (Clancy *et al.*, 2014; Saku *et al.*, 2014). Portanto, o objetivo do presente estudo foi verificar o efeito agudo da tVNS no controle neural da PA, avaliado através da sensibilidade barorreflexa cardiovagal (*cardiovagal baroreflex sensitivity* - cBRS) espontânea, variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e variabilidade da pressão arterial (VPA) em homens saudáveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Verificar o efeito agudo da estimulação elétrica não invasiva do nervo vago no controle neural da pressão arterial em homens jovens saudáveis.

2.2. Objetivos Específicos

Verificar o efeito agudo da estimulação elétrica não invasiva do nervo vago na sensibilidade barorreflexa cardíaca espontânea em homens jovens saudáveis.

Verificar o efeito agudo da estimulação elétrica não invasiva do nervo vago na variabilidade da frequência cardíaca em homens jovens saudáveis.

Verificar o efeito agudo da estimulação elétrica não invasiva do nervo vago na variabilidade da pressão arterial em homens jovens saudáveis.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Sistema Nervoso Autônomo

3.1.1. Visão panorâmica do sistema nervoso autônomo

O sistema nervoso autônomo (SNA) é uma porção do sistema nervoso dividido em dois ramos: o sistema nervoso simpático e o sistema nervoso parassimpático. Tem como papel principal o controle das funções viscerais do corpo e manutenção da homeostasia, sendo ativado principalmente por centros localizados na medula espinhal, no tronco cerebral e no hipotálamo (Hall, 2015).

As fibras nervosas simpáticas têm origem na coluna celular intermediolateral da medula espinhal entre os segmentos T1 e L2 e avançam pela raiz ventral de um nervo espinhal, através de um ramo comunicante branco até chegar à cadeia simpática paravertebral direita e esquerda, composta pelos gânglios: celíaco, mesentérico superior, aorticorenal, mesentérico inferior e hipogástrico (pós-ganglionares). Como característica simpática, as fibras pré-ganglionares são curtas e as pós-ganglionares mais longas (Kawashima, 2005; Jänig, 2008).

As fibras do sistema parassimpático tem origem no sistema nervoso central (SNC) através de neurônios localizados em regiões do tronco encefálico que originam os pares de nervos cranianos óculo-motor (III), facial (VII), glossofaríngeo (IX) e vago (X). Fibras parassimpáticas adicionais também tem origem na parte baixa da medula espinhal, entre o segundo e quarto nervos espinhais sacrais. Os neurônios parassimpáticos pré-ganglionares possuem longas fibras, já que os neurônios pós-ganglionares se localizam próximos às vísceras. Cabe ressaltar que aproximadamente 75% de todas as fibras nervosas parassimpáticas estão localizadas no nervo vago (Kawashima, 2005; Jänig, 2008).

Os ramos simpático e parassimpático do SNA permanecem constantemente alertas e a intensidade de ativação de ambos é continuamente regulada pelo SNC, de acordo com a necessidade do organismo. Geralmente, a ativação de cada ramo do SNA é acompanhada por uma inibição recíproca do oposto. São constituídos de duas populações de neurônios: pré-ganglionares e pós-ganglionares. Os corpos

celulares dos neurônios pré-ganglionares se localizam na medula espinhal ou no tronco cerebral e projetam seus axônios eferentes (mielinizados) sobre estruturas denominadas gânglios autonômicos. Nessas estruturas se localizam os corpos celulares dos neurônios pós-ganglionares, que projetam seus axônios (aminelinizados) aos órgãos alvos (Figura 1) (Shen e Zipes, 2014).

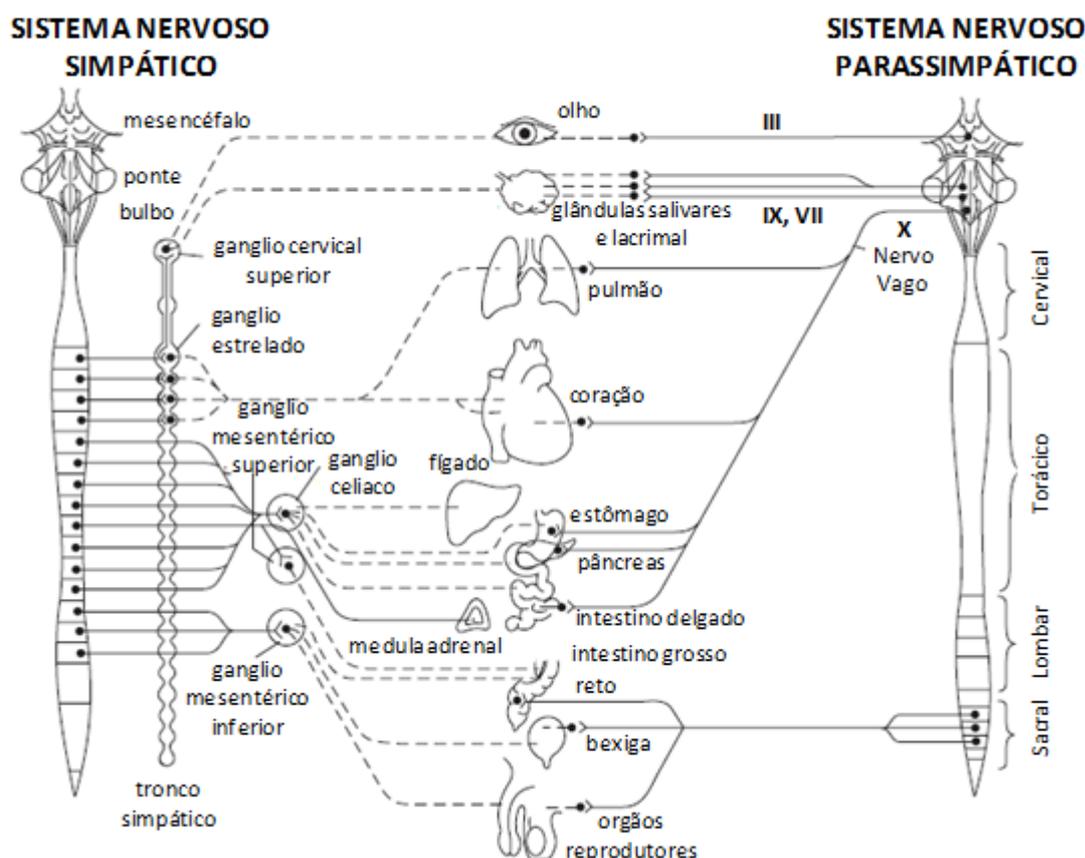


FIGURA 1 - O sistema nervoso simpático e parassimpático em humanos. Linhas contínuas, axônios pré-ganglionares; linhas pontilhadas, axônios pós-ganglionares. Adaptado de Jänig (2008).

Os principais neurotransmissores do SNA são a acetilcolina e a noradrenalina. Todos os neurônios pré-ganglionares simpáticos e parassimpáticos liberam acetilcolina, sendo denominados colinérgicos, porém essa regra não vale para todos os neurônios pós-ganglionares. No sistema parassimpático, praticamente todos os neurônios são colinérgicos, enquanto que a maioria dos neurônios pós-ganglionares do sistema nervoso simpático secretam catecolaminas, especificamente noradrenalina e adrenalina (adrenérgicos) (Hall, 2015).

A acetilcolina é o principal neurotransmissor dos gânglios autonômicos simpáticos e parassimpáticos e tem a capacidade de ativar dois tipos de receptores: muscarínicos e nicotínicos. Os receptores muscarínicos são localizados nas células alvo dos neurônios pós-ganglionares vagais. Os receptores nicotínicos estão presentes nas sinapses de ambos neurônios pré e pós-ganglionares do sistema nervoso simpático e parassimpático (Hall, 2015).

Os neurônios pós-ganglionares simpáticos liberam noradrenalina, enquanto a medula adrenal libera adrenalina (80%) e noradrenalina (20%). Os receptores adrenérgicos são formados por cinco unidades, divididos em duas subunidades alfa ($\alpha 1$, $\alpha 2$) e 3 subunidades beta ($\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 3$). Ainda que sejam estimulados por ambas as catecolaminas, os receptores alfa, beta 2 e beta 3 respondem com maior intensidade à noradrenalina, enquanto o beta 1 responde de forma igual a ambas. Os vasos apresentam principalmente receptores do tipo alfa, enquanto o coração possui receptores beta. Como as glândulas sudoríparas não apresentam inervação parassimpática, a função de secretar acetilcolina em receptores muscarínicos também fica a cargo das fibras simpáticas (Triposkiadis *et al.*, 2009).

A medula adrenal é um tecido neuroendócrino associado ao sistema nervoso simpático, que faz parte da glândula suprarrenal. Por ser descrita frequentemente como um gânglio simpático modificado e não possuir axônios, também é denominada como célula cromafin pelo fato de secretar os neurotransmissores adrenalina (80%) e noradrenalina (20%) diretamente na corrente sanguínea (Hall, 2015).

Os neurônios pós-ganglionares parassimpáticos tradicionalmente liberam o neurotransmissor acetilcolina nas células alvo. Seu efeito é mediado por receptores muscarínicos (colinérgicos), com seus cinco subtipos: M1, M2, M3, M4 e M5. Os receptores M1 são encontrados no cérebro, M2 no coração e músculo liso junto com o receptor M4. Ainda não foi possível definir conclusivamente os efeitos fisiológicos dos receptores M3 e M5 (Hall, 2015).

Por apresentar receptores adrenérgicos e muscarínicos, um balanço dinâmico da atividade dos ramos simpáticos e parassimpáticos é fundamental para a regulação das alterações que ocorrem na função cardíaca e tônus vascular. A esse

controle autonômico do sistema cardiovascular é dado o nome de balanço autonômico ou balanço simpato-vagal (Berntson *et al.*, 2008).

3.1.2. Sistema nervoso autônomo cardíaco

O sistema nervoso autônomo cardíaco (SNAC) pode ser dividido em duas partes: extrínseca e intrínseca. O SNAC extrínseco corresponde às fibras que conectam o sistema nervoso ao coração, enquanto o SNAC intrínseco consiste de fibras nervosas autonômicas em contato com o pericárdio (Shen e Zipes, 2014).

O SNAC extrínseco também pode ser subdividido em simpático e parassimpático (Figura 2). As fibras simpáticas, em sua maioria, são derivadas de gânglios autonômicos oriundos da coluna intermédio-lateral da medula espinhal cervical e torácica (gânglio cervical superior, gânglio estrelado e gânglio torácico). Grande parte dos neurônios simpáticos pós-ganglionares estão localizados nesses gânglios e seus axônios formam os nervos cardíacos superior, médio e inferior que terminam na superfície do coração (Triposkiadis *et al.*, 2009). Por outro lado, as fibras parassimpáticas com ação direta sobre o músculo cardíaco originam do núcleo do trato solitário (NTS), núcleo ambíguo (NA) e núcleo dorsal motor do vago (NDMV) e praticamente todas as suas fibras pré-ganglionares estão dentro do nervo vago e se conectam aos gânglios cardíacos, localizados em bolsas de gordura, fazendo sinapse com nervos colinérgicos simpáticos e vagais até os receptores muscarínicos localizados nos nós sinoatrial e atrioventricular (Olshansky *et al.*, 2008).

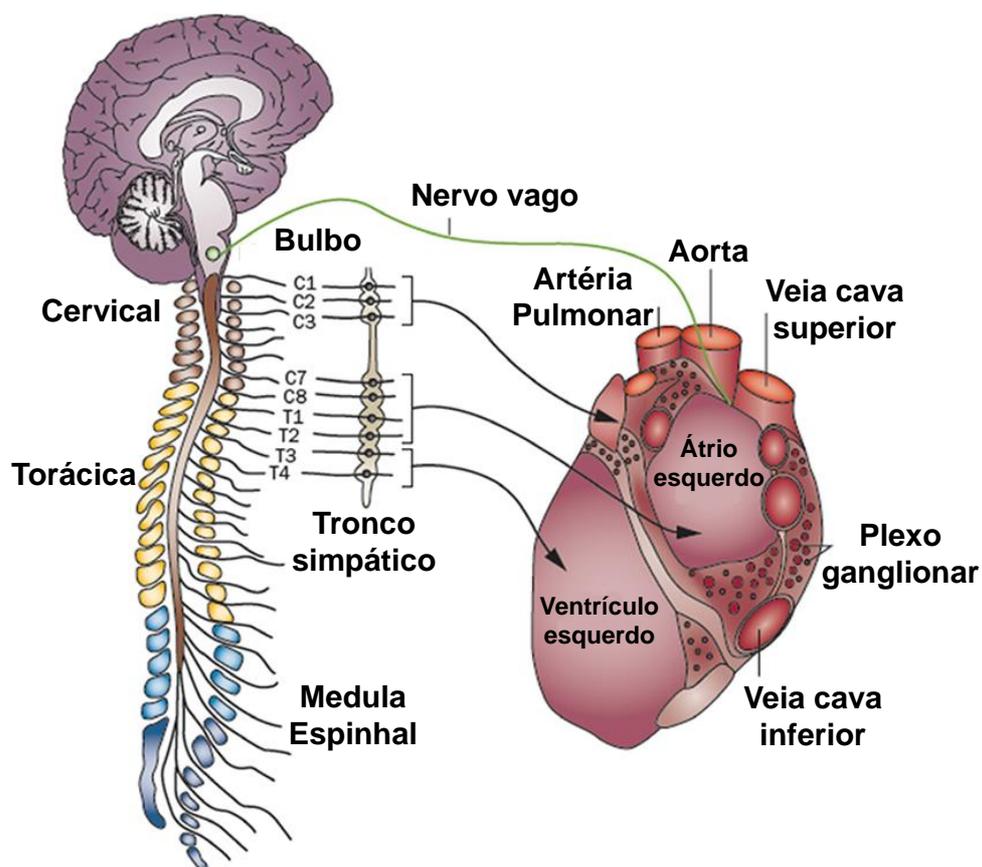


FIGURA 2 – Inervação simpática e parassimpática do coração. Adaptado de Shen e Zipes (2014).

No SNAC intrínseco, os numerosos gânglios cardíacos se organizam em plexos ganglionares nas superfícies dos átrios e ventrículos e formam sinapses com as fibras simpáticas e parassimpáticas que entram no pericárdio. Esses plexos podem funcionar como centros de integração que modulam as interações autonômicas entre SNAC extrínseco e intrínseco (Armour *et al.*, 1997; Shen e Zipes, 2014).

3.1.3. Regulação cardiovascular e hemodinâmica

No ajuste da função cardiovascular visando o controle da PA, frequência cardíaca (FC) e resistência vascular periférica (RVP), respostas reflexas provenientes de receptores mecânicos, metabólicos, químicos, entre outros, também são essenciais para ajustes no balanço simpato-vagal (Dampney, 1994). Dentre esses arcos reflexos, o barorreflexo arterial é o principal mecanismo envolvido

nessas respostas, atuando na regulação da PA batimento a batimento (Fisher *et al.*, 2010).

Os barorreceptores arteriais, também denominados de pressorreceptores, são terminações nervosas livres extensamente ramificadas, localizadas na borda medial da camada adventícia das artérias carótidas e aorta. Detectam as mínimas alterações estruturais dos vasos arteriais e fornecem informações batimento a batimento sobre as alterações na PA, através de suas fibras mielinizadas e amielínicas (Fisher *et al.*, 2015).

Durante elevações da PA ocorre uma alteração estrutural no calibre dos vasos, promovendo a despolarização dos barorreceptores pela abertura de canais sensíveis ao influxo de cálcio e sódio, denominados *degenerin/epithelial Na⁺ channel* (DEG/ENaC), gerando potenciais de ação que são conduzidos ao NTS pelos nervos vago e glossofaríngeo, que recebem informações do nervo depressor aórtico (receptores aórticos) e nervo sinusal (receptores carotídeos), respectivamente (Drummond *et al.*, 2001).

Os nervos vago e glossofaríngeo liberam o aminoácido excitatório glutamato em vesículas para estimular o NTS, que projeta informações ao NDMV e NA, onde localizam-se os corpos celulares dos neurônios pós-ganglionares parassimpáticos que provocam o aumento do tônus vagal sobre o coração. Paralelamente, o NTS também envia informações para a área ventrolateral caudal do bulbo (*Caudal Ventrolateral Medulla* - CVLM), que inibe os neurônios simpáticos localizados na área ventrolateral rostral do bulbo (*Rostral Ventrolateral Medulla* - RVLM) a elevarem seu tônus, através da secreção do aminoácido inibitório gama-aminobutírico (GABA). Resultando em bradicardia, diminuição do volume sistólico e da RVP (Andresen e Kunze, 1994; Pilowsky e Goodchild, 2002; Guyenet, 2006).

De forma inversa, quando a PA encontra-se em níveis baixos e não ocorre o estímulo nos barorreceptores, conseqüentemente não há o processo de liberação do glutamato no NTS e ativação do NDMV e NA, reduzindo assim o tônus vagal sobre o coração. Também não ocorre a inibição da RVLM pela CVLM, o que potencializa a atividade intrínseca dos neurônios simpáticos (Figura 3). O resultado é um aumento da FC, do volume sistólico, do retorno venoso e da RVP (Andresen e Kunze, 1994; Pilowsky e Goodchild, 2002; Guyenet, 2006).

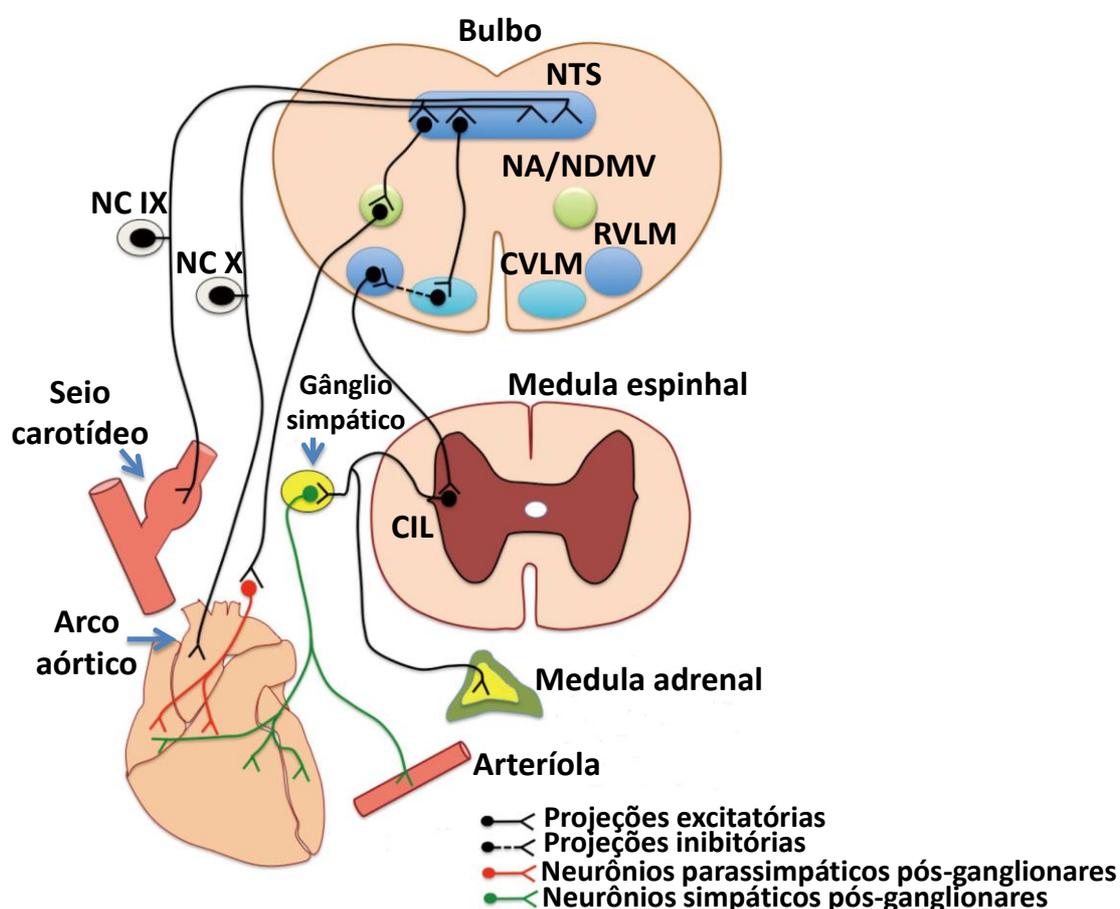


FIGURA 3 – Circuito neural aferente e eferente do arco barorreflexo. NC IX e NC X: nervos cranianos glossofaríngeo (IX) e vago (X); NTS: Núcleo do trato solitário; NA: Núcleo ambíguo; NDMV: Núcleo dorsal motor do vago; CVLM: Área ventrolateral caudal do bulbo; RVLM: Área ventrolateral rostral do bulbo; CIL: Coluna intermédio-lateral da medula espinal. Adaptado de Kaur et al. (2016).

Portanto, o controle barorreflexo cardiovascular demonstra ser um dos mecanismos mais importantes de controle da PA, momento a momento, e isso já foi relatado em estudos que demonstraram que o prejuízo da função barorreflexa é um importante preditor de risco após evento cardiovascular (La Rovere *et al.*, 1998; La Rovere *et al.*, 2001). Pensando nessas repercussões cardíacas causadas pela disfunção autonômica, a avaliação da sensibilidade barorreflexa cardiovagal (cBRS), que quantifica a capacidade de acréscimo reflexo da atividade vagal, demonstra ser uma fonte valiosa na estratificação de risco, bem como no prognóstico e avaliação do efeito de algum tratamento (La Rovere, 2000).

A análise do barorreflexo cardíaco demonstra a importância da integridade da cBRS na regulação adequada da FC frente a variações na PA que permitam sua manutenção em níveis relativamente estáveis (La Rovere *et al.*, 1998). Essa regulação é dependente da estabilidade do balanço simpato-vagal, sendo demonstrado que em situações patológicas, a correção terapêutica desse desequilíbrio está associada com a melhora da função cardiovascular e redução substancial dos índices de mortalidade (Berntson *et al.*, 2008).

O nervo vago apresenta um lugar de destaque na regulação do balanço simpato-vagal, pelo fato de conduzir informações aferentes dos barorreceptores ao NTS, o ponto principal de integração da função barorreflexa, de onde saíam projeções para os centros de origem das fibras simpáticas, bem como das fibras eferentes parassimpáticas (Jänig, 2008; Frangos *et al.*, 2015).

3.2. Nervo vago

O nervo vago (X) é um dos doze pares de nervo cranianos. Composto por fibras motoras e sensoriais é o maior dos nervos cranianos, distribuindo-se desde o pescoço até o tórax e abdome. É composto por 80% de fibras somáticas e viscerais aferentes (sensitivas) e 20% de fibras eferentes viscerais gerais (parassimpáticas) e especiais (motoras) (Clancy *et al.*, 2013; Ben-Menachem *et al.*, 2015).

Tem origem na faceta lateral do bulbo e sai do crânio através do forame jugular, entre os nervos glossofaríngeo (IX) e acessório (XI). Logo na saída dá origem a dois gânglios, superior e inferior, relacionados aos componentes sensitivos e viscerais do nervo, respectivamente. O vago segue pelo pescoço acompanhando a bainha carotídea, adentrando no mediastino pela face posterior das articulações esternoclaviculares e veias braquiocefálicas. No tórax, divide-se em nervos recorrentes direito e esquerdo, enviando ramos para coração, brônquios e pulmões. Os nervos unem-se ao plexo esofágico, que circunda o esôfago, seguindo até o abdome, onde formam os troncos vagais anterior e posterior, que fornecem ramos que inervam o esôfago, estômago, rins, pâncreas, fígado e trato intestinal até a flexura esquerda do colo (Moore *et al.*, 2006).

O nervo vago também possui um ramo aferente somatossensorial distribuído no ouvido externo (Figura 4). O ramo auricular do nervo vago (*Auricular Branch of the Vagus Nerve - ABVN*) é distribuído mais especificamente no meato acústico externo: tragus e parte superior da concha (Wang, Yu, *et al.*, 2015). Estudos em animais forneceram evidências que os ramos auriculares do nervo vago se projetam para o NTS e exames de neuroimagem sugerem que o caminho é semelhante em seres humanos (Frangos *et al.*, 2015).



FIGURA 4 - Localização das terminações nervosas aferentes dos nervos cranianos na superfície de uma orelha. 1: Nervo facial; 2: Ramo auricular do nervo vago; 3: Glândula parótida. Adaptado de Popov *et al.* (2013).

Devido ao seu papel central na regulação autonômica e pelo grande número de fibras aferentes, o nervo vago passou a ser investigado como uma via terapêutica para influenciar a atividade cerebral por meio de estimulação elétrica (Morris *et al.*, 2013).

3.3. Estimulação elétrica do nervo vago

3.3.1. História da estimulação do nervo vago

James Corning, neurologista norte-americano, foi o primeiro a introduzir a ideia da estimulação do nervo vago no tratamento de doenças, ainda no século XIX. Ele aplicou um dispositivo semelhante a uma forquilha, conectada a fios elétricos que

forneçiam uma corrente contínua no pescoço de indivíduos epiléticos, com a intenção de reduzir o fluxo sanguíneo cerebral e a FC (Figura 5) (Clancy *et al.*, 2013). No século seguinte, diversos estudos com modelos animais conseguiram desenvolver a técnica e demonstrar a potencial propriedade antiepiléptica da eletroestimulação do nervo vago (Schweitzer e Wright, 1937; Bailey e Bremer, 1938; Zanchetti *et al.*, 1952; Magnes *et al.*, 1960; Chase *et al.*, 1967).

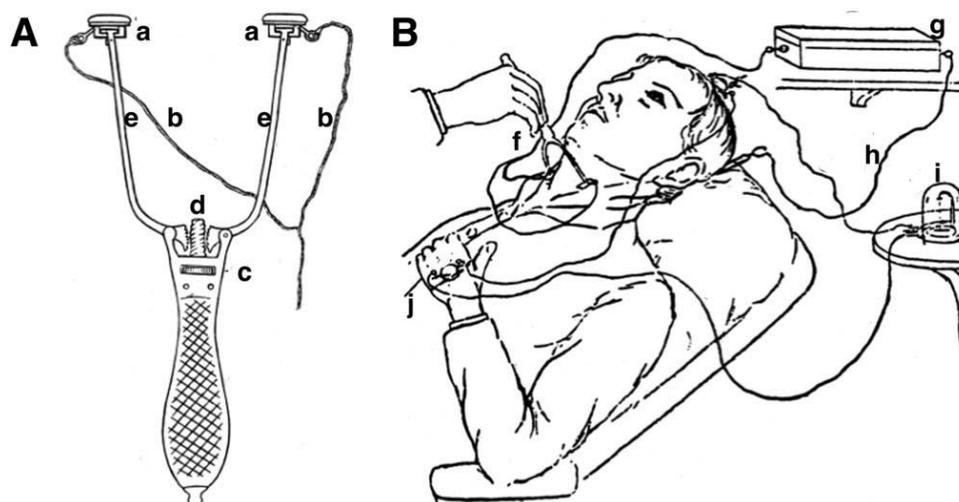


FIGURA 5 – Dispositivo (forquilha) para compressão bilateral simultânea das artérias carótidas e estimulação elétrica não invasiva dos nervos vagos cervicais. A – (a) eletrodos; (b) fios elétricos; (c) roda de ajuste; (d) parafuso; (e) hastes dos eletrodos. B – Desenho da aplicação da forquilha carotídea (f), que foi conectada a uma bateria galvânica (g). Outro eletrodo (h) foi colocado atrás do pescoço. Um galvanômetro (i) foi conectado a uma pilha termelétrica (j) na mão esquerda e na cabeça para medir as pequenas diferenças de temperaturas. Adaptado de Yuan e Silberstein (2016).

Com o sucesso dos estudos com animais, houve um seguimento das pesquisas em humanos. No início dos anos 90, Uthman *et al.* (1993) e Penry e Dean (1990) descreveram em estudos pilotos uma redução significativa das convulsões em pacientes com epilepsia intratável após estimulação do nervo vago. Anos depois, Ben-Menachem *et al.* (1994) apresentou um estudo multicêntrico, randomizado e duplo-cego, demonstrando uma redução significativa na frequência de convulsões após 14 semanas de eletroestimulação do nervo vago em 67 pacientes com convulsões parciais refratárias. Em 1997, a agência norte-americana que regulamenta alimentos e medicamentos (FDA) aprovou e recomendou a utilização de um dispositivo de estimulação do nervo vago cervical esquerdo (implantado) para

tratamento da epilepsia refratária e em 2005 aprovou seu uso para o tratamento da depressão crônica resistente ao tratamento farmacológico (Terry *et al.*, 1991; George e Aston-Jones, 2010; Morris *et al.*, 2013; Aihua *et al.*, 2014; Cai *et al.*, 2014).

No método invasivo de estimulação do nervo vago, um dispositivo movido a bateria é implantado subcutaneamente na parede torácica e fornece um fio unidirecional que é conectado em torno do nervo vago no pescoço através de eletrodos de metal e funciona através do envio de uma corrente elétrica, de forma intermitente (Figura 6) (Terry *et al.*, 1991; George e Aston-Jones, 2010). Exames de imagem demonstraram que esses estímulos atravessam o tronco cerebral e atingem áreas cerebrais importantes, incluindo o NTS, núcleo bilateral trigeminal, núcleos da rafe, locus coeruleus, área parabraquial contralateral, amígdala e núcleo accumbens (Frangos *et al.*, 2015). As interações entre esses núcleos, que fornecem estímulos noradrenérgicos e serotoninérgicos, são potencialmente relevantes para explicar os mecanismos de ação da eletroestimulação (Kraus *et al.*, 2013).

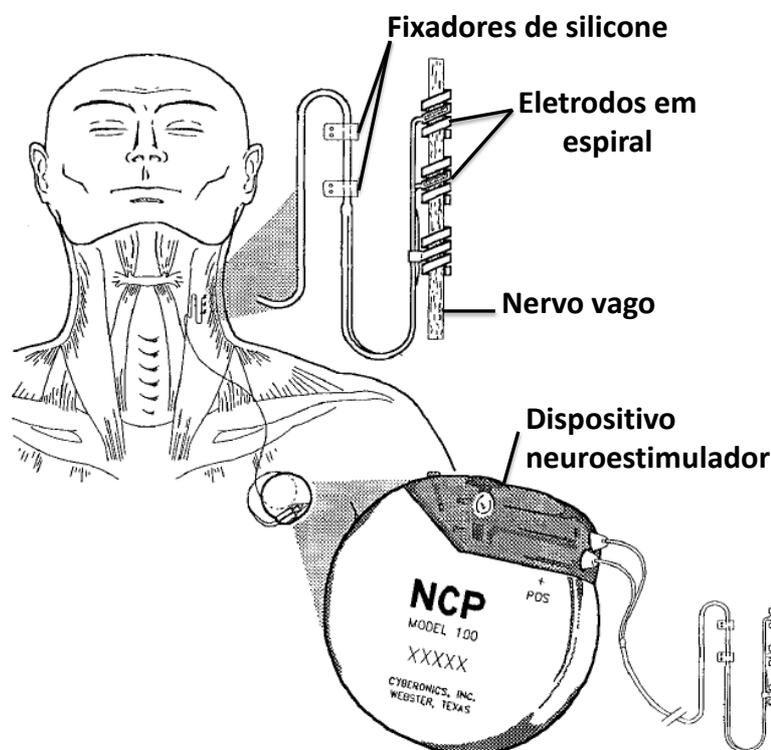


Figura 6 – Estimulação elétrica invasiva do nervo vago. Adaptado de (Ben-Menachem *et al.*, 1994).

Devido ao fato do nervo vago fornecer inervação parassimpática ao coração, surgiu o interesse em utilizar a eletroestimulação para modular a função cardíaca. Em estudos animais, Vanoli *et al.* (1991) demonstrou que a eletroestimulação vagal preveniu a fibrilação ventricular e morte súbita em cães com infarto do miocárdio. Da mesma forma, uma melhora na função cardíaca e nos sintomas da insuficiência cardíaca também foi encontrada após a eletroestimulação do nervo vago (Li *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2009; Sabbah *et al.*, 2011; Hamann *et al.*, 2013; Kusunose *et al.*, 2014).

Em virtude dos resultados favoráveis com animais, foram iniciados estudos em humanos para investigar a eficácia e segurança da estimulação elétrica do nervo vago em indivíduos com insuficiência cardíaca. Os resultados preliminares do primeiro estudo demonstraram que a eletroestimulação vagal melhorou a classificação NYHA (classificação funcional da New York Heart Association que qualifica a extensão da insuficiência cardíaca) e o volume sistólico final do ventrículo esquerdo dos pacientes (Schwartz *et al.*, 2008). Estudos mais robustos também mostraram que a eletroestimulação vagal estava associada a uma melhora significativa na função cardíaca (De Ferrari *et al.*, 2011; Premchand *et al.*, 2014).

Entretanto, como qualquer procedimento invasivo, o processo de implante do dispositivo para realização da eletroestimulação pode resultar em possíveis complicações pós-cirúrgicas. As desvantagens do método invasivo de estímulo do nervo vago incluem lesões do nervo, rouquidão, infecção, dispneia. Além disso, o dispositivo apresenta uma vida útil limitada, sendo necessárias novas abordagens cirúrgicas para substituição de bateria e possíveis complicações na junção nervo-eletrodo (Kraus *et al.*, 2013). Paralelamente, dispositivos não invasivos também foram desenvolvidos como alternativa para estimular o nervo vago, através de um aparelho de estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS). (Ventureyra, 2000; Howland, Robert H, 2014).

3.3.2. Estimulação elétrica não invasiva do nervo vago

A estimulação elétrica não invasiva do nervo vago (*non invasive vagus nerve stimulation* - tVNS) envolve o uso de eletroacupuntura ou eletrodos de superfície

modificados para passar uma corrente através da pele (Dietrich *et al.*, 2008; Kreuzer *et al.*, 2012; Capone *et al.*, 2015; Van Leusden *et al.*, 2015). Os principais locais para realizar a estimulação do ABVN são o tragus, a concha e a cymba conchae (Figura 7) (Clancy *et al.*, 2014). Independentemente da técnica de estimulação, a maioria dos estudos com tVNS surgiram a partir da eletroestimulação invasiva, geralmente focando em perturbações neurológicas e psiquiátricas, mas tem havido um interesse em identificar se a tVNS poderia ter efeitos cardíacos benéficos.

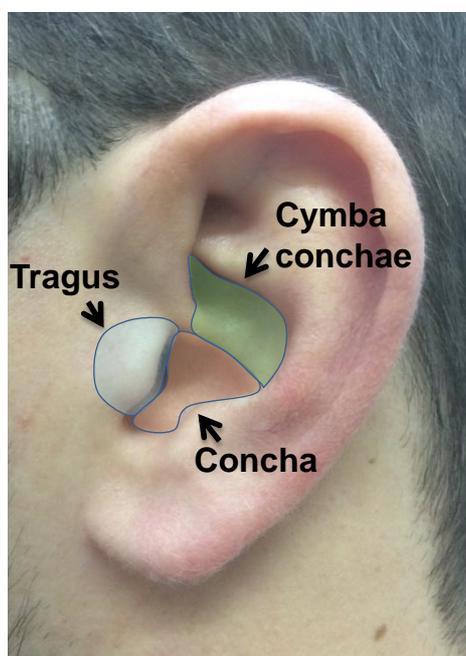


FIGURA 7 – Áreas de distribuição do ramo auricular do nervo vago onde é possível a eletroestimulação (área sombreada). Adaptado de Clancy *et al.* (2014).

Em um estudo com cães anestesiados, a estimulação crônica de baixa amplitude do tragus reverteu o remodelamento atrial e inibiu a indução de fibrilação atrial, provocada previamente por 3 horas de estimulação atrial rápida (Yu *et al.*, 2013). Outro estudo subsequente utilizando a tVNS em cães conscientes com infarto cicatrizado do miocárdio demonstrou uma melhora da função cardíaca, redução da fibrose e atenuação do remodelamento ventricular esquerdo (Wang, Zhou, *et al.*, 2015).

Diversos estudos em humanos também observaram efeitos cardíacos após a tVNS. Os estudos pioneiros nesta área foram realizados em pacientes com doença arterial coronariana e angina que foram submetidos para a cirurgia de

revascularização do miocárdio. Nesse estudo, agulhas de acupuntura conectadas a eletrodos foram colocadas na concha de ambas as orelhas e a eletroestimulação foi aplicada diariamente por 15 minutos durante 10 dias. Os resultados foram uma redução da incidência de angina, melhora na evolução clínica pré e pós-cirúrgica, além de reduzir o período de tratamento com drogas vasodilatadoras (Zamotrinsky *et al.*, 1997; Zamotrinsky *et al.*, 2001). Em outro estudo, Popov *et al.* (2013) utilizou a tVNS em pacientes com doença arterial coronariana, utilizando uma corrente elétrica de baixa frequência através de eletrodos na superfície interna do tragus por 10 dias. Quase dois terços dos participantes apresentaram uma redução significativa na intensidade dos ataques de angina, além de uma diminuição significativa no índice LF/HF (índice da atividade autonômica).

Recentemente, Stavrakis *et al.* (2015) evidenciou o potencial terapêutico da tVNS em pacientes com fibrilação atrial paroxística. Os indivíduos foram submetidos a 1 hora de TENS de baixa amplitude e apresentaram diminuição da duração da fibrilação atrial e redução significativa dos níveis de citocinas inflamatórias.

Clancy *et al.* (2014) demonstrou que a estimulação do ramo auricular do nervo vago também pode influenciar a atividade do sistema nervoso simpático. Em indivíduos saudáveis, sem história de doença cardiovascular, a tVNS na superfície do tragus melhorou significativamente a VFC e diminuiu significativamente a atividade no nervo simpático muscular (nervo fibular), registrada por microneurografia.

Os parâmetros programáveis utilizados no aparelho de tVNS, como a intensidade de estimulação (mA), a largura de pulso (duração do pulso elétrico, ms), a frequência de pulso (Hz), e a relação on/off do ciclo de estímulo (medido em segundos ou minutos) são ajustados para otimizar a eficácia e tolerabilidade, porém ainda são um assunto a ser debatido (Howland, R. H., 2014). A principal diferença entre a estimulação neuromuscular e a estimulação de tecido neural são os parâmetros do sinal de saída. Dietrich *et al.* (2008), relatam em seu estudo a ausência de dados na literatura que estabeleçam parâmetros mais definidos e analisam que a estimulação de baixa frequência entre 0,5 e 10 Hz ativa o sistema simpático, ao passo que 20-25 Hz é mais adequado para a ativação vagal. Também debatem que manter a largura de pulso entre 200-500 ms, demonstra ser um limite

razoável e por último, mas não menos importante, que o uso de dispositivos adequados para a estimulação neuromuscular, em vez de aparelhos específicos, podem levar a sensações desagradáveis na pele que tendem a ativar vias da dor e o sistema simpático (Dietrich *et al.*, 2008).

Como as fibras eferentes do nervo vago modulam a função cardiovascular, existe uma preocupação no uso terapêutico da estimulação vagal em relação à segurança cardíaca, já que os ramos eferentes vagais localizados no lado direito são pensados em estimular diretamente áreas cardíacas. A fim de evitar os efeitos cardíacos secundários, a colocação do eletrodo invasivo é realizada no lado esquerdo para o tratamento de doenças do SNC (Nemeroff *et al.*, 2006; Kreuzer *et al.*, 2012). Enquanto isso, a tVNS estimula as fibras aferentes do nervo vago, enviando estímulos ao NTS para integração da informação e, em seguida, serem projetados à superfície do coração através dos nervos vagais eferentes bilaterais. Portanto, a tVNS aparenta ser igualmente segura e eficaz em ambos os lados, direito ou esquerdo, contra doenças cardíacas com disfunção autonômica (Chen *et al.*, 2015).

Embora diversas pesquisas tenham ajudado a definir o papel do nervo vago em doenças cardiovasculares e estabelecido estimulação elétrica nervosa transcutânea como uma potencial abordagem terapêutica para estas doenças, ainda se faz necessária uma maior compreensão da ação fundamental das vias moduladas pelo nervo vago.

4. MATERIAIS

4.1. Amostra

13 homens jovens saudáveis (média \pm erro padrão = 23 \pm 1 anos) do corpo discente da Universidade de Brasília foram selecionados para participar do estudo. Foram considerados como critérios de exclusão o diagnóstico ou evidência de qualquer doença e/ou distúrbio relacionado ao sistema cardiovascular; diagnóstico de doenças ou condições que impeçam ou contraindiquem a realização do protocolo de eletroestimulação; uso de medicamentos que possam afetar a função cardiovascular e/ou o sistema nervoso central; e tabagismo.

4.2. Cuidados éticos

A participação no estudo foi realizada de maneira voluntária e mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A), o qual contém informações acerca dos métodos utilizados, possíveis riscos e benefícios. Os voluntários também permitiram, mediante a assinatura do termo supracitado, a utilização dos dados coletados para finalidades de pesquisa e publicação científica, sendo resguardada a identidade dos participantes em todos os momentos.

Todos os protocolos utilizados no presente projeto foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (CAAE: 54104216.0.0000.0030) e estão de acordo com a resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos.

4.3. Protocolo experimental

O estudo teve caráter experimental, randomizado, cruzado, placebo controlado e analisou as seguintes variáveis dependentes: sensibilidade barorreflexa cardiovagal espontânea, variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e variabilidade da pressão arterial (VPA). A variável independente foi o protocolo de

eletroestimulação, ativo (tVNS ativa) ou simulado (Sham). Visando manter a homogeneidade da amostra, a idade foi definida entre 18 a 35 anos e apenas sujeitos do sexo masculino.

Todas as coletas foram realizadas no campus da Universidade de Brasília, na cidade de Brasília. Os procedimentos experimentais foram realizados no período diurno, entre 8 e 18 horas, com duração aproximada de 1 hora para cada sujeito. Todos os sujeitos foram instruídos a abster-se de consumir cafeína, tabaco, álcool e da realização de atividades físicas por no mínimo 12 horas anteriores aos protocolos. Para evitar possíveis variações do ciclo circadiano, os sujeitos foram avaliados na mesma hora do dia e na mesma sala com temperatura controlada à aproximadamente 21°C.

Os sujeitos compareceram ao laboratório 4 vezes, com um intervalo mínimo de 24h entre cada visita. Na visita 1 foram verificados o peso corporal e a estatura de maneira auto aferida e em seguida, foi realizada uma sessão de familiarização à tVNS. Devido ao fato do processo da tVNS e coleta da PA através da fotopletismografia exigirem concentração e colaboração do voluntário, como por exemplo, evitar movimentar-se na cadeira ou movimentações bruscas do membro com o manguito, a sessão de familiarização foi conduzida com o objetivo de orientar os sujeitos durante o processo de coleta de dados.

Em seguida, nas visitas 2, 3 e 4, os sujeitos foram expostos em ordem aleatória a tVNS ativa e duas sessões de protocolos sham: 1) os eletrodos foram colocados no tragus da orelha, mas não foi aplicada corrente (sham tragus - sham-T), e 2) os eletrodos foram colocados no lóbulo da orelha e a corrente foi aplicada de acordo com a tVNS ativa (sham lóbulo - sham-L). Os participantes ficaram na posição sentada (90° de ângulo do joelho), com a FC, PA e respiração monitorizados continuamente. Os dados foram obtidos durante 10 minutos de repouso, 15 minutos de estimulação ativa ou simulada e durante 10 minutos de recuperação (Figura 8).

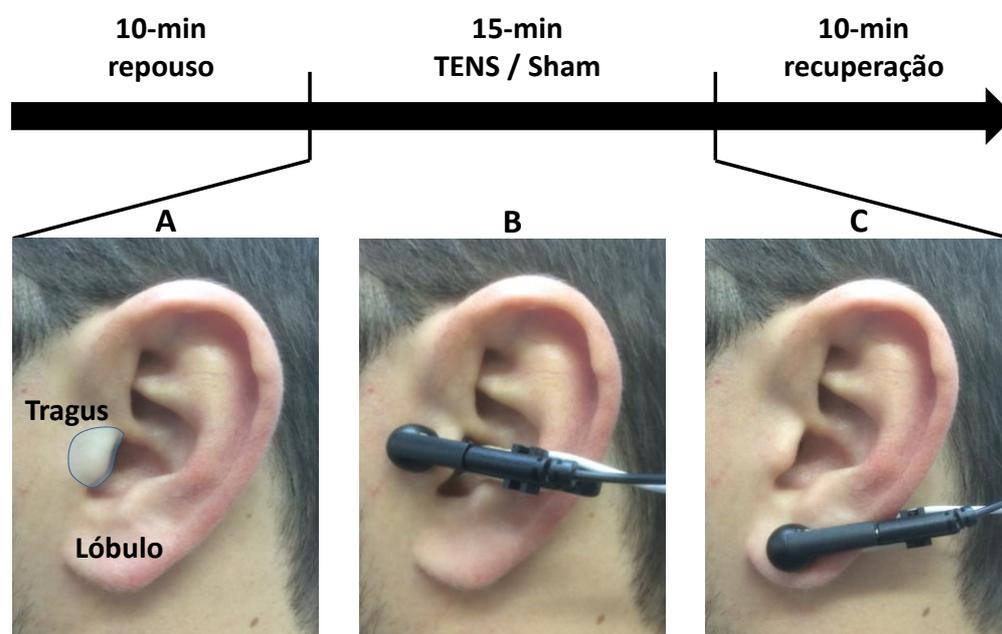


FIGURA 8 – Protocolo experimental do estudo. A área sombreada mostra a distribuição do ramo auricular do nervo vago no ouvido externo (A). Posição dos eletrodos colocados no tragus da orelha durante os protocolos de tVNS ativa e sham-T (B), e no lóbulo da orelha durante o protocolo Sham-L (C).

A FC e PA foram medidas batimento a batimento usando o aparelho de fotopletismografia (Human NIBP Controller, AD instruments, NSW, Australia), o qual é colocado no dedo dos voluntários. Além disso, a PA também foi aferida utilizando um esfigmomanômetro automático (Omron, HEM-7200, China) para confirmar e corrigir as medições do NIBP (Figura 9). A frequência respiratória foi monitorada visualmente para evitar a potencial influência de grandes excursões respiratórias nas medidas cardiovasculares.



FIGURA 9 – Aparelho de fotopletismografia e esfigmomanômetro automático.

4.4. Protocolo da estimulação não invasiva

A tVNS foi realizada utilizando um dispositivo de TENS (V-TENS Body Clock Health Care Ltd, UK) (Figura 10) com eletrodos de superfície modificados (Clancy *et al.* 2014). Os eletrodos foram colocados na superfície interior e exterior do tragus da orelha (ativa e Sham-T) e no lóbulo (Sham-L) (Figura 8).



FIGURA 10 – Dispositivo de tVNS.

Durante a tVNS ativa, os eletrodos modificados foram colocados na superfície interna e externa do tragus da orelha. O estímulo foi aplicado continuamente por 15 minutos com uma largura de pulso de 200 ms e frequência de pulsos de 30 Hz. A amplitude foi ajustada para o nível do limiar sensorial do sujeito (10-50 mA). No protocolo sham-T, o eletrodo foi ligado ao tragus e a amplitude foi aumentada até que o sujeito identificasse o estímulo. Os sujeitos foram então informados que as intervenções de estimulação seriam equivalentes, embora pudessem percebê-las de forma diferente, mas os eletrodos foram desconectados do dispositivo elétrico sem o conhecimento dos participantes. Durante o protocolo sham-L, o eletrodo foi colocado no lóbulo da orelha e a corrente elétrica foi aplicada com a mesma intensidade da tVNS ativa. O protocolo Sham-L foi realizado para excluir a possibilidade de qualquer efeito sensorial da tVNS ativa, por um possível estímulo dos eletrodos aos

dermatomos do ramo auricular do nervo vago e para determinar se os efeitos da estimulação eram específicos do tragus e não devido à sensação de estímulo.

4.5. Sensibilidade barorreflexa cardiovagal

A FC e PAS foram mensuradas batimento a batimento, sendo que a cBRS espontânea foi estimada utilizando a técnica de sequência (CardioSeries V2.4, São Paulo). A técnica de seqüência baseia-se na identificação de seqüências de batimentos consecutivos nos quais aumentos progressivos da PAS são acompanhados por um alargamento progressivo no intervalo RR ou vice-versa; As reduções progressivas da PAS são acompanhadas por um encurtamento progressivo no intervalo RR (Parati *et al.*, 2000). Resumidamente, seqüências de três ou mais batimentos consecutivos com correspondentes aumentos ou diminuições na PA sistólica e no intervalo RR foram identificadas como seqüências barorreflexas arteriais. As seqüências foram detectadas somente quando a variação no intervalo RR foi superior a 1,0 ms e as alterações da PAS maiores que 1 mmHg em mais de 3 ciclos cardíacos consecutivos. Aplicou-se uma regressão linear a cada seqüência individual e foram aceitas apenas as seqüências em que R^2 era $> 0,85$ (Parati *et al.*, 2000). As inclinações das relações da PAS e intervalo RR foram calculadas, em média, para uma medida do cBRS espontâneo.

Também foi calculado o índice de efetividade barorreflexo (BEI). O BEI é definido como a razão entre o número de rampas da PAS seguidas das respectivas rampas de intervalo RR (número de intervalos RR / seqüências de PAS) e o número total de rampas de PAS (independente das rampas de intervalo RR correspondente) (Parati *et al.*, 2000), observadas em uma determinada janela de tempo. A fórmula do cálculo do BEI foi a seguinte:

$$BEI = \frac{\frac{\text{Total de rampas RR}}{\text{Seqüências de PAS}}}{\text{Total de rampas PAS}}$$

Onde o número total de sequências é a soma de todas as sequências de RR+/PAS+ e RR-/PAS-, com atrasos de 0, 1 e 2 batimentos e o número total de rampas sistólicas é a soma de todas as rampas de PAS+ e PAS- observadas em uma determinada janela de tempo.

4.6. Variabilidade da frequência cardíaca

A VFC foi determinada de acordo com as diretrizes da Sociedade Europeia de Cardiologia e da Sociedade Norte-Americana de Marca-Passos e Eletrofisiologia (Force, 1996). Os eletrodos descartáveis foram posicionados na derivação CC5 ou CM5, sendo o eletrocardiograma (ECG) registrado com uma frequência de amostragem de 1.000 Hz e armazenado para análise off-line (CardioSeries v2.4, Brasil). Todos os batimentos ectópicos no traço ECG foram identificados automaticamente e manualmente antes da exclusão da análise.

A transformação rápida de Fourier (512 pontos) foi utilizada para análise espectral da VFC. A análise no domínio da frequência foi realizada utilizando a Transformada Rápida de Fourier sob as seguintes bandas de frequência: muito baixa frequência (*very low frequency* - VLF) (<0,04Hz), baixa frequência (*low frequency* - LF) (0,04-0,15 Hz) e alta frequência (*high frequency* - HF) (0,15-0,4 Hz) em valores absolutos (ms^2). Como nenhuma evidência firme foi apresentada para o significado fisiológico da banda VLF, apenas as densidades de potência da banda LF e HF foram investigadas. Também foram calculadas a potência total e as unidades normalizadas (u.n.) de LF e HF. As unidades normalizadas foram calculadas dividindo cada banda espectral pela potência total menos a potência VLF e foram multiplicadas por 100. A razão entre LF e HF (LF/HF) também foi calculada como uma medida do balanço autonômico.

4.7. Variabilidade da pressão arterial

A análise espectral da VPA foi realizada empregando o software CardioSeries v2.4, que utiliza a transformação rápida de Fourier para calcular a potência espectral da VFC e da VPA sistólica. A VPA foi calculada após interpolação apropriada e

representação equidistante de dados da PAS. A banda VLF foi definida no intervalo de 0,02-0,07 Hz, a banda LF de 0,07-0,15 Hz e a banda HF entre 0,15 e 0,40 Hz (Stauss, 2007). O componente LF da VPA foi utilizado como uma representação da modulação simpática do tônus vascular.

4.8. Análise Estatística

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar normalidade da distribuição dos dados. Como a maioria dos dados apresentou uma distribuição anormal, foram aplicados testes estatísticos não-paramétricos. Para analisar os efeitos das intervenções ativas, controladas e simuladas, foram comparados os dados em repouso, TENS e de recuperação utilizando a análise de variância de Friedman (ANOVA), seguido por um teste pareado de Wilcoxon para identificar a diferença nas comparações pareadas. Todos os dados são apresentados como média \pm erro padrão. Os valores são expressos em porcentagem de delta. Foi aceito um nível de significância de $P < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software STATISTICA (Statsoft, EUA).

5. RESULTADOS

As características iniciais dos sujeitos estão apresentadas na Tabela 1. Não foram encontradas diferenças significativas em quaisquer variáveis fisiológicas em repouso entre os protocolos tVNS ativa, sham-T e sham-L ($P > 0,05$).

TABELA 1. Caracterização da amostra (n=13)

	tVNS ativa	Sham T	Sham L	<i>P</i>
Antropométricas				
Idade, anos	22,6 ± 1	-	-	-
Massa, Kg	79,6 ± 3	-	-	-
Estatura, cm	177 ± 2	-	-	-
IMC, kg/m ²	25,4 ± 1	-	-	-
Hemodinâmicas				
PAS, mmHg	111 ± 1	113 ± 2	112 ± 2	0,15
PAD, mmHg	63 ± 1	63 ± 1	63 ± 2	0,71
PAM, mmHg	78 ± 1	79 ± 1	79 ± 2	0,49
FC, batimentos/min	72 ± 3	73 ± 2	73 ± 2	0,27
Função Barorreflexa Cardíaca				
cBRS, ms/mmHg	12,7 ± 1	13,1 ± 1	13,6 ± 1	0,14
BEI	0,64 ± 0,05	0,64 ± 0,03	0,64 ± 0,04	0,81
Índices de Variabilidade				
LF/HF	2,0 ± 0,3	2,3 ± 0,4	1,7 ± 0,2	0,12
LF _{PAS} , mmHg ²	8,2 ± 1	7,8 ± 1	6,4 ± 1	0,07

Valores apresentados como média ± erro padrão. IMC, índice de massa corporal; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PAM, pressão arterial média; FC, frequência cardíaca; cBRS, sensibilidade barorreflexa cardiovagal espontânea; BEI, índice de efetividade barorreflexa; LF/HF, Relação entre potências de baixa e alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca; LF_{PAS} Baixa frequência da variabilidade da pressão arterial sistólica; *P*, Nível de significância ($P < 0,05$).

A tVNS ativa aumentou significativamente o ganho da cBRS (repouso: 12,7 ± 1 ms/mmHg; tVNS ativa: 15,1 ± 1 ms/mmHg; recuperação: 13,1 ± 1 ms/mmHg; $P = 0,04$, quadrados pretos da Fig. 11) ($\Delta 24 \pm 8\%$, tVNS ativa vs. Repouso; $P = 0,02$), mas não foram observadas alterações durante os protocolos de Sham-T (repouso: 13,1 ± 1 ms/mmHg; Sham-T: 13,7 ± 1 ms/mmHg; recuperação 13,4 ± 1 ms/mmHg; $P = 0,73$, círculos brancos da Fig. 11) ($\Delta 6 \pm 5\%$, Sham-T vs. repouso) e Sham-L (repouso: 13,6 ± 1 ms/mmHg; sham-L: 13,9 ± 1 ms/mmHg; recuperação: 13,8 ± 1

ms/mmHg; $P = 0,23$, triângulos cinzentos da Fig. 11) ($\Delta 3 \pm 2\%$, Sham-L vs. repouso, Fig. 2). O BEI também não foi afetado pela tVNS ativa ($\Delta 3 \pm 4\%$ tVNS ativa vs. Repouso; $P > 0,05$), pelo Sham-T ($\Delta -5 \pm 5\%$ Sham-T vs. Repouso; $P > 0,05$) ou Sham-L ($\Delta -1 \pm 4\%$ Sham-L vs. repouso; $P > 0,05$).

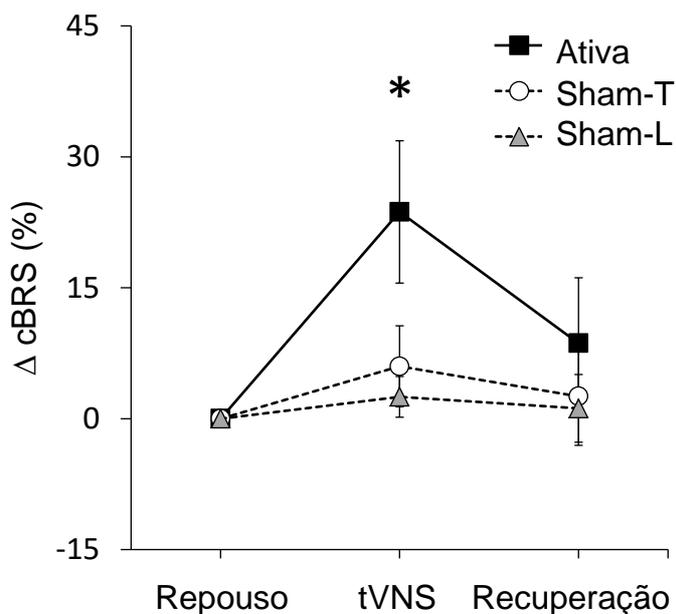


FIGURA 11 - Resposta do ganho da sensibilidade barorreflexa cardíaca espontânea (cBRS) durante o repouso, tVNS e recuperação nos protocolos ativa (quadrados pretos), sham-L (círculos brancos) e sham-T (triângulos cinzentos). Todos os valores são média \pm erro padrão. * $P < 0,05$ tVNS ativa vs. Repouso.

A tVNS ativa reduziu suavemente, mas significativamente, a FC aos valores de repouso durante o período de recuperação (repouso: 72 ± 3 bpm; tVNS ativa: 69 ± 2 bpm; recuperação: 71 ± 2 bpm; $P = 0,02$, quadrados pretos da Fig. 12A) ($\Delta -3,4 \pm 1\%$ tVNS ativa vs. Repouso; $P < 0,01$). Porém, a FC permaneceu inalterada durante os protocolos Sham-T (repouso: 73 ± 2 bpm; Sham-T: 71 ± 1 bpm; recuperação: 73 ± 1 bpm; $P = 0,07$, círculos brancos da Fig. 12A) ($\Delta -1,5 \pm 1\%$ Sham-T vs. repouso) e Sham-L (repouso: 73 ± 2 bpm; Sham-L: 73 ± 2 bpm; recuperação: 73 ± 3 bpm; $P = 0,38$, triângulos cinzentos da Fig. 12A) ($\Delta -1,2 \pm 1\%$ Sham-L vs. repouso). A PAS permaneceu inalterada durante todos os protocolos ($P > 0,05$, Fig. 12B).

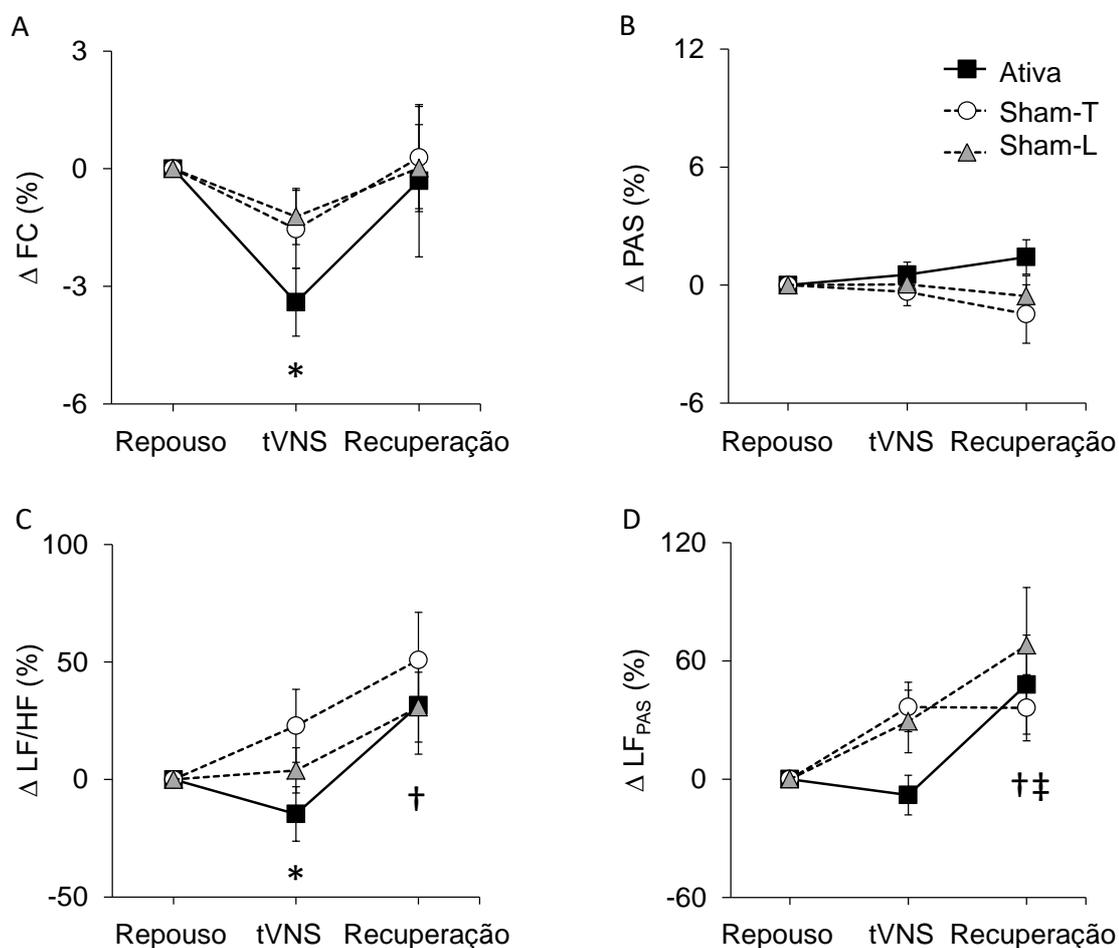


FIGURA 12 - Resposta da frequência cardíaca (FC, painel A), pressão arterial sistólica (PAS, painel B), balanço simpátovagal, representado pela relação entre os componentes de baixa e alta frequência da variabilidade da frequência cardíaca (LF/HF, painel C) e componente de baixa frequência da variabilidade da pressão arterial sistólica (LF_{PAS}, painel D) durante o repouso, tVNS e recuperação nos protocolos ativo (quadrados pretos), sham-T (círculos brancos) e sham-L (triângulos cinzentos). Os valores são média \pm erro padrão. * $P < 0,05$ TENS ativa vs. repouso. † $P < 0,05$ tVNS ativa vs. recuperação. ‡ $P < 0,05$ Sham-L vs. recuperação.

Corroborando publicações anteriores, a tVNS ativa reduziu significativamente a razão LF/HF, um índice de oscilações simpato-vagais na VFC, e retornou aos valores de repouso durante a recuperação (repouso: $2,0 \pm 0,3$; tVNS ativa: $1,53 \pm 0,3$; recuperação: $2,43 \pm 0,5$; $P < 0,02$, quadrados pretos da Fig. 12C) ($\Delta -15 \pm 12\%$, tVNS ativa vs. repouso, $P < 0,05$). Por outro lado, não foram observadas modificações na relação LF/HF nos protocolos Sham-T (repouso: $2,3 \pm 0,4$; Sham-T: $2,65 \pm 0,5$; recuperação: $2,87 \pm 0,4$; $P = 0,50$, círculos brancos da Fig. 12C) ($\Delta 23 \pm 16\%$, Sham-T vs. repouso) e Sham-L (repouso: $1,72 \pm 0,2$; Sham-L: $1,65 \pm 0,2$;

recuperação: $2,1 \pm 0,3$; $P = 0,23$, triângulos cinzentos da Fig. 12C) ($\Delta 4 \pm 10\%$, sham-L vs. repouso). Não foram encontradas diferenças na potência de baixa frequência da variabilidade da PAS, durante os protocolos de tVNS ativa ($\Delta -8 \pm 10\%$ tVNS ativa vs. repouso, $P > 0,05$, quadrados pretos da Fig. 12D), sham-T ($\Delta 37 \pm 13\%$, Sham-T vs. repouso, $P > 0,05$, círculos brancos da Fig. 12D) e sham-L ($\Delta 29 \pm 16\%$, sham-L vs. repouso, $P > 0,05$, triângulos cinzentos da Fig. 12D).

6. DISCUSSÃO

De acordo com a hipótese inicial, o presente estudo demonstra que: 1) a tVNS ativa aumenta agudamente o controle reflexo da PA através de elevações na cBRS espontânea; 2) A relação LF/HF é diminuída pela tVNS ativa em homens saudáveis; 3) tVNS ativa promove uma pequena diminuição da FC; E 4) os efeitos mencionados acima são específicos para a estimulação do ABVN.

O barorreflexo é um sistema de feedback negativo, em circuito fechado, que detecta a pressão arterial através de barorreceptores, batimento a batimento, e regula fisiologicamente a pressão arterial sistêmica para atenuar as perturbações na pressão arterial. Estudos prévios demonstraram que a estimulação aferente do nervo vago restabelece o ponto de operação barorreflexo e induz uma inibição simpática em modelos animais (Kawada *et al.*, 2014; Saku *et al.*, 2014). O presente estudo avança o conhecimento em relação aos benefícios da tVNS sobre o controle autonômico cardíaco em homens saudáveis. Adicionalmente, foi aplicada uma abordagem para contornar os possíveis efeitos sensoriais (isto é, controle com placebo através da estimulação do lóbulo da orelha) e, como esperado, o procedimento de Sham-L não apresentou efeito no controle reflexo da PA. Portanto, podemos atribuir que os efeitos positivos sobre o controle reflexo da PA são devidos à tVNS ativa. Os mecanismos específicos, subjacentes aos principais achados do presente estudo, não são totalmente compreendidos, mas alguns pontos relevantes devem ser considerados.

A circuitaria central associada aos efeitos autonômicos da tVNS pode envolver a ativação do NTS pelos ramos aferentes do ABVN. Quando ocorre a união das fibras aferentes barorreceptoras vagais às do nervo glossofaríngeo na projeção de

informações ao NTS, a tVNS pode potencializar a eficácia da cBRS no nível do NTS (Murray *et al.*, 2016). Isso também levaria a uma ativação da CVLM para inibir a RVLM e assim reduzir a estimulação simpática tanto para o coração como para a vasculatura periférica (Pilowsky e Goodchild, 2002; Guyenet, 2006; Murray *et al.*, 2016). Além disso, o NTS também poderia ativar o DMVN e o NAV para aumentar a atividade parassimpática cardíaca (Izzo *et al.*, 1993). Apoiando essa ideia, Clancy *et al.* (2014) demonstraram uma redução significativa na atividade nervosa simpática muscular através da tVNS, que pode atenuar a função constritora dos receptores α -adrenérgicos nos vasos sanguíneos e assim diminuir a resistência vascular periférica. Stavrakis *et al.* (2015) também conseguiram aumentar o intervalo RR utilizando a tVNS de baixa amplitude em pacientes com fibrilação atrial paroxística. Considerando os resultados do presente estudo, as respostas fisiológicas mencionadas anteriormente podem ser responsáveis pelas pequenas diminuições na FC, elevações na modulação autonômica cardíaca e na cBRS espontânea, observadas durante a tVNS ativa.

As diminuições na FC e na relação LF/HF durante a tVNS ativa estão de acordo com os resultados de Clancy *et al.* (2014), demonstrando que o tVNS melhora o equilíbrio simpato-vagal. Curiosamente, os sujeitos desse estudo apresentaram menores valores na relação LF/HF, o que pode ser atribuído aos diferentes tamanhos de amostra. O presente estudo foi realizado apenas em homens jovens, enquanto Clancy *et al.* (2014) estudaram ambos os sexos e estudos anteriores já demonstraram que os hormônios sexuais femininos, mais especificamente o estrogênio (Mendelsohn e Karas, 1999), têm um efeito sobre a modulação autonômica cardíaca (Tenan *et al.*, 2014). Nesse sentido, os homens tendem a ter um índice LF/HF em repouso maior do que as mulheres (Koenig e Thayer, 2016). Por outro lado, nenhuma diferença foi encontrada na PAS no presente estudo, mas Clancy *et al.* (2014) mostram um aumento na pressão arterial média (PAM) do dedo durante a tVNS ativa e sham. As razões destas discrepâncias não são claras, mas alguns aspectos devem ser considerados. Por exemplo, foi demonstrado que a postura corporal pode alterar o controle autonômico e hemodinâmico (Son e Lee, 2013; Abad *et al.*, 2015), e os sujeitos do presente estudo permaneceram sentados durante os protocolos, enquanto Clancy *et al.* (2014)

realizaram seus testes em posição semi-supina. Foi preferido realizar os experimentos na posição sentada devido ao fato de que é provável que as pessoas possam conduzir a tVNS enquanto assistem TV ou outra atividade diária (ex., validade externa). Além disso, os sujeitos do presente estudo eram saudáveis, jovens e do sexo masculino, enquanto a amostra de Clancy *et al.* (2014) foi composta por indivíduos do sexo masculino e feminino com faixa etária entre 20 e 62 anos. Ademais, o presente estudo adicionou um protocolo placebo que minimiza os efeitos sensoriais da tVNS (ex. Sham-L).

O presente estudo apresenta algumas limitações. Primeiro, o pequeno tamanho da amostra aumenta o risco de erro de tipo II. Em segundo lugar, uma vez que foram testados apenas indivíduos do sexo masculino, jovens e saudáveis, não é possível estender os resultados para outras populações, tais como mulheres, idosos e/ou doentes. Novos estudos são necessários para examinar o impacto da tVNS sobre o controle neural da PA nessas populações. Terceiro, foi utilizado um método espontâneo não-perturbacional para avaliar a sensibilidade barorreflexa arterial. Os métodos perturbacionais, tais como a infusão de fármacos vasoativos (ex., Oxford modificado), permitem a análise de uma amplitude maior da PA, enquanto o método espontâneo não-perturbacional avalia uma amplitude limitada PA para a resposta reflexa do barorreflexo. Os resultados do presente estudo, no entanto, mostram que o método de sequência foi capaz de confirmar a hipótese inicial. Do mesmo modo, vários estudos clínicos utilizaram a técnica de sequência e relataram alta reprodutibilidade da sensibilidade barorreflexa espontânea usando a técnica de sequência em repouso e durante perturbações (18, 19, 21), bem como a sua correlação com o método de Oxford (7).

7. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo fornecem evidências de que a tVNS melhora agudamente o controle reflexo da PA em indivíduos homens jovens e saudáveis. Os resultados encontrados permitem sugerir que a cBRS espontânea e o balanço simpato-vagal cardíaco podem desempenhar um papel nos mecanismos envolvidos nos resultados benéficos relatados anteriormente causados pela tVNS. Estudos futuros são necessários para confirmar esses achados em populações idosas e em doentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, C. et al. Heart rate variability in elite sprinters: effects of gender and body position. *Clin Physiol Funct Imaging*, Dec 15 2015. ISSN 1475-0961.

AIHUA, L. et al. A controlled trial of transcutaneous vagus nerve stimulation for the treatment of pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsy Behav*, v. 39, p. 105-110, Oct 2014. ISSN 1525-5050.

ANDRESEN, M. C.; KUNZE, D. L. Nucleus tractus solitarius--gateway to neural circulatory control. *Annu Rev Physiol*, v. 56, p. 93-116, 1994. ISSN 0066-4278.

ARMOUR, J. A. et al. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *The Anatomical Record*, v. 247, n. 2, p. 289-298, 1997. ISSN 0003-276X.

BAILEY, P.; BREMER, F. A sensory cortical representation of the vagus nerve: with a note on the effects of low blood pressure on the cortical electrogram. *Journal of Neurophysiology*, v. 1, n. 5, p. 405-412, 1938. ISSN 0022-3077.

BEN-MENACHEM, E. et al. Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures: 1. A controlled study of effect on seizures. *First International Vagus Nerve Stimulation Study Group. Epilepsia*, v. 35, n. 3, p. 616-26, May-Jun 1994. ISSN 0013-9580.

BEN-MENACHEM, E. et al. Surgically implanted and non-invasive vagus nerve stimulation: a review of efficacy, safety and tolerability. *Eur J Neurol*, v. 22, n. 9, p. 1260-8, Sep 2015. ISSN 1351-5101.

BERNTSON, G. G. et al. Cardiac autonomic balance versus cardiac regulatory capacity. *Psychophysiology*, v. 45, n. 4, p. 643-52, Jul 2008. ISSN 0048-5772.

BUSCH, V. et al. The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on pain perception--an experimental study. *Brain Stimul*, v. 6, n. 2, p. 202-9, Mar 2013. ISSN 1935-861X.

BUSCHMAN, H. P. et al. Heart rate control via vagus nerve stimulation. *Neuromodulation*, v. 9, n. 3, p. 214-20, Jul 2006. ISSN 1094-7159.

CAI, P. Y. et al. Vagus nerve stimulation in ischemic stroke: old wine in a new bottle. *Front Neurol*, v. 5, p. 107, 2014. ISSN 1664-2295.

CAPONE, F. et al. The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on cortical excitability. *J Neural Transm (Vienna)*, v. 122, n. 5, p. 679-85, May 2015. ISSN 0300-9564.

CHASE, M. H. et al. Afferent vagal stimulation: neurographic correlates of induced EEG synchronization and desynchronization. *Brain Res*, v. 5, n. 2, p. 236-49, Jun 1967. ISSN 0006-8993.

CHEN, M. et al. The right side or left side of noninvasive transcutaneous vagus nerve stimulation: Based on conventional wisdom or scientific evidence? *Int J Cardiol*, v. 187, p. 44-5, May 6 2015. ISSN 0167-5273.

CLANCY, J. A.; DEUCHARS, S. A.; DEUCHARS, J. The wonders of the Wanderer. *Exp Physiol*, v. 98, n. 1, p. 38-45, Jan 2013. ISSN 0958-0670.

CLANCY, J. A. et al. Non-invasive vagus nerve stimulation in healthy humans reduces sympathetic nerve activity. *Brain Stimul*, v. 7, n. 6, p. 871-7, Nov-Dec 2014. ISSN 1935-861X.

DAMPNEY, R. A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev*, v. 74, n. 2, p. 323-64, Apr 1994. ISSN 0031-9333.

DE FERRARI, G. M. et al. Chronic vagus nerve stimulation: a new and promising therapeutic approach for chronic heart failure. *Eur Heart J*, v. 32, n. 7, p. 847-55, Apr 2011. ISSN 0195-668x.

DIETRICH, S. et al. [A novel transcutaneous vagus nerve stimulation leads to brainstem and cerebral activations measured by functional MRI]. *Biomed Tech (Berl)*, v. 53, n. 3, p. 104-11, Jun 2008. ISSN 0013-5585.

DRUMMOND, H. A.; WELSH, M. J.; ABOUD, F. M. ENaC subunits are molecular components of the arterial baroreceptor complex. *Ann N Y Acad Sci*, v. 940, p. 42-7, Jun 2001. ISSN 0077-8923.

FAHY, B. G. Intraoperative and perioperative complications with a vagus nerve stimulation device. *J Clin Anesth*, v. 22, n. 3, p. 213-22, May 2010. ISSN 0952-8180.

FISHER, J. P. et al. Carotid baroreflex control of arterial blood pressure at rest and during dynamic exercise in aging humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 299, n. 5, p. R1241-R1247, 2010. ISSN 0363-6119.

FISHER, J. P.; YOUNG, C. N.; FADEL, P. J. Autonomic adjustments to exercise in humans. *Comprehensive Physiology*, 2015. ISSN 0470650710.

FORCE, T. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, v. 93, n. 5, p. 1043-65, Mar 1 1996. ISSN 0009-7322.

FRANGOS, E.; ELLRICH, J.; KOMISARUK, B. R. Non-invasive Access to the Vagus Nerve Central Projections via Electrical Stimulation of the External Ear: fMRI Evidence in Humans. *Brain Stimul*, v. 8, n. 3, p. 624-36, May-Jun 2015. ISSN 1935-861X .

GEORGE, M. S.; ASTON-JONES, G. Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychopharmacology*, v. 35, n. 1, p. 301-16, Jan 2010. ISSN 0893-133x.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci*, v. 7, n. 5, p. 335-46, May 2006. ISSN 1471-003X.

HALL, J. E. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Elsevier Health Sciences, 2015. ISBN 1455770051.

HAMANN, J. J. et al. Vagus nerve stimulation improves left ventricular function in a canine model of chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*, v. 15, n. 12, p. 1319-26, Dec 2013. ISSN 1388-9842.

HOWLAND, R. H. New developments with vagus nerve stimulation therapy. *Journal of psychosocial nursing and mental health services*, v. 52, n. 3, p. 11-14, 2014. ISSN 0279-3695.

HOWLAND, R. H. Vagus Nerve Stimulation. *Curr Behav Neurosci Rep*, v. 1, n. 2, p. 64-73, Jun 2014. ISSN 2196-2979.

IZZO, P. N.; DEUCHARS, J.; SPYER, K. M. Localization of cardiac vagal preganglionic motoneurons in the rat: immunocytochemical evidence of synaptic inputs containing 5-hydroxytryptamine. *J Comp Neurol*, v. 327, n. 4, p. 572-83, Jan 22 1993. ISSN 0021-9967.

JÄNIG, W. *Integrative action of the autonomic nervous system: Neurobiology of homeostasis*. Cambridge University Press, 2008. ISBN 1139456776.

KAUR, M. et al. Baroreflex dysfunction in chronic kidney disease. *World J Nephrol*, v. 5, n. 1, p. 53-65, Jan 06 2016. ISSN 2220-6124.

KAWADA, T. et al. Chronic vagal nerve stimulation improves baroreflex neural arc function in heart failure rats. *J Appl Physiol* (1985), v. 116, n. 10, p. 1308-14, May 15 2014. ISSN 0161-7567.

KAWASHIMA, T. The autonomic nervous system of the human heart with special reference to its origin, course, and peripheral distribution. *Anat Embryol (Berl)*, v. 209, n. 6, p. 425-38, Jul 2005. ISSN 0340-2061.

KOENIG, J.; THAYER, J. F. Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 64, p. 288-310, May 2016. ISSN 0149-7634.

KRAUS, T. et al. CNS BOLD fMRI effects of sham-controlled transcutaneous electrical nerve stimulation in the left outer auditory canal - a pilot study. *Brain Stimul*, v. 6, n. 5, p. 798-804, Sep 2013. ISSN 1935-861X.

KREUZER, P. M. et al. Transcutaneous vagus nerve stimulation: retrospective assessment of cardiac safety in a pilot study. *Front Psychiatry*, v. 3, p. 70, 2012. ISSN 1664-0640.

KUSUNOSE, K. et al. Impact of Vagal Nerve Stimulation on Left Atrial Structure and Function in a Canine High-Rate Pacing Model. *Circulation. Heart failure*, v. 7, n. 2, p. 320-326, 01/07 2014. ISSN 1941-3289

LA ROVERE, M. T. Baroreflex sensitivity as a new marker for risk stratification. *Z Kardiol*, v. 89 Suppl 3, p. 44-50, 2000. ISSN 0300-5860.

LA ROVERE, M. T. et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. *ATRAMI (Autonomic Tone and*

Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet*, v. 351, n. 9101, p. 478-84, Feb 14 1998. ISSN 0140-6736.

LA ROVERE, M. T. et al. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Circulation*, v. 103, n. 16, p. 2072-7, Apr 24 2001. ISSN 0009-7322.

LI, M. et al. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation*, v. 109, n. 1, p. 120-4, Jan 6 2004. ISSN 0009-7322.

MAGNES, J. et al. Synchronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. [Washington, D.C.]: Air Force Office of Scientific Research, Air Research and Development Command, United States Air Force, 1960.

MENDELSON, M. E.; KARAS, R. H. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*, v. 340, n. 23, p. 1801-11, Jun 10 1999. ISSN 0028-4793.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; DE ARAÚJO, C. L. C. Anatomia orientada para a clínica. Guanabara Koogan, 2006. ISBN 8527712571.

MORRIS, G. L. et al. Evidence-based guideline update: Vagus nerve stimulation for the treatment of epilepsy Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, v. 81, n. 16, p. 1453-1459, 2013. ISSN 0028-3878.

MURRAY, A. R. et al. The strange case of the ear and the heart: The auricular vagus nerve and its influence on cardiac control. *Auton Neurosci*, v. 199, p. 48-53, Aug 2016. ISSN 1566-0702.

NEMEROFF, C. B. et al. VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, v. 31, n. 7, p. 1345-55, Jul 2006. ISSN 0893-133X.

OLSHANSKY, B. et al. Parasympathetic nervous system and heart failure: pathophysiology and potential implications for therapy. *Circulation*, v. 118, n. 8, p. 863-71, Aug 19 2008. ISSN 0009-7322.

PARATI, G.; DI RIENZO, M.; MANCIA, G. How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertens*, v. 18, n. 1, p. 7-19, Jan 2000. ISSN 0263-6352.

PENRY, J. K.; DEAN, J. C. Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: preliminary results. *Epilepsia*, v. 31 Suppl 2, p. S40-3, 1990. ISSN 0013-9580.

PILOWSKY, P. M.; GOODCHILD, A. K. Baroreceptor reflex pathways and neurotransmitters: 10 years on. *J Hypertens*, v. 20, n. 9, p. 1675-88, Sep 2002. ISSN 0263-6352.

PLACHTA, D. T. et al. Blood pressure control with selective vagal nerve stimulation and minimal side effects. *J Neural Eng*, v. 11, n. 3, p. 036011, Jun 2014. ISSN 1741-2552.

POPOV, S. V. et al. Drug-free correction of the tone of the autonomic nervous system in the management of cardiac arrhythmia in coronary artery disease. *International Journal of Biomedicine*, v. 3, p. 74-77, 2013.

PREMCHAND, R. K. et al. Autonomic regulation therapy via left or right cervical vagus nerve stimulation in patients with chronic heart failure: results of the ANTHEM-HF trial. *J Card Fail*, v. 20, n. 11, p. 808-16, Nov 2014. ISSN 1071-9164.

SABBAH, H. N. et al. Vagus nerve stimulation in experimental heart failure. *Heart Fail Rev*, v. 16, n. 2, p. 171-8, Mar 2011. ISSN 1382-4147.

SAKU, K. et al. Afferent vagal nerve stimulation resets baroreflex neural arc and inhibits sympathetic nerve activity. *Physiol Rep*, v. 2, n. 9, Sep 1 2014. ISSN 2051-817x.

SCHWARTZ, P. J. et al. Long term vagal stimulation in patients with advanced heart failure: first experience in man. *Eur J Heart Fail*, v. 10, n. 9, p. 884-91, Sep 2008. ISSN 1388-9842.

SCHWEITZER, A.; WRIGHT, S. The anti-strychnine action of acetylcholine, prostigmine and related substances, and of central vagus stimulation. *J Physiol*, v. 90, n. 3, p. 310-29, Aug 17 1937. ISSN 0022-3751.

SHEN, M. J.; ZIPES, D. P. Role of the autonomic nervous system in modulating cardiac arrhythmias. *Circ Res*, v. 114, n. 6, p. 1004-21, Mar 14 2014. ISSN 0009-7330.

SON, J. T.; LEE, E. Comparison of postprandial blood pressure reduction in the elderly by different body position. *Geriatr Nurs*, v. 34, n. 4, p. 282-8, Jul-Aug 2013. ISSN 0197-4572.

SPUCK, S. et al. Operative and technical complications of vagus nerve stimulator implantation. *Neurosurgery*, v. 67, n. 2 Suppl Operative, p. 489-94, Dec 2010. ISSN 0148-396x.

STAUSS, H. M. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v. 34, n. 4, p. 362-8, Apr 2007. ISSN 0305-1870.

STAVRAKIS, S. et al. Low-level transcutaneous electrical vagus nerve stimulation suppresses atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 65, n. 9, p. 867-875, 2015. ISSN 0735-1097.

TENAN, M. S. et al. Changes in resting heart rate variability across the menstrual cycle. *Psychophysiology*, v. 51, n. 10, p. 996-1004, Oct 2014. ISSN 0048-5772.

TERRY, R. S.; TARVER, W. B.; ZABARA, J. The implantable neurocybernetic prosthesis system. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, v. 14, n. 1, p. 86-93, 1991. ISSN 1540-8159.

TRIPOSKIADIS, F. et al. The sympathetic nervous system in heart failure: physiology, pathophysiology, and clinical implications. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 54, n. 19, p. 1747-1762, 2009. ISSN 0735-1097.

UTHMAN, B. et al. Treatment of epilepsy by stimulation of the vagus nerve. *Neurology*, v. 43, n. 7, p. 1338-1338, 1993. ISSN 0028-3878.

VAN LEUSDEN, J. W.; SELLARO, R.; COLZATO, L. S. Transcutaneous Vagal Nerve Stimulation (tVNS): a new neuromodulation tool in healthy humans? *Front Psychol*, v. 6, p. 102, 2015. ISSN 1664-1078.

VANOLI, E. et al. Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction. *Circ Res*, v. 68, n. 5, p. 1471-81, May 1991. ISSN 0009-7330.

VENTUREYRA, E. C. Transcutaneous vagus nerve stimulation for partial onset seizure therapy. A new concept. *Childs Nerv Syst*, v. 16, n. 2, p. 101-2, Feb 2000. ISSN 0256-7040.

WANG, Z. et al. Low-level transcutaneous electrical stimulation of the auricular branch of vagus nerve ameliorates left ventricular remodeling and dysfunction by

downregulation of matrix metalloproteinase 9 and transforming growth factor beta1. *J Cardiovasc Pharmacol*, v. 65, n. 4, p. 342-8, Apr 2015. ISSN 0160-2446.

WANG, Z. et al. Chronic intermittent low-level transcutaneous electrical stimulation of auricular branch of vagus nerve improves left ventricular remodeling in conscious dogs with healed myocardial infarction. *Circ Heart Fail*, v. 7, n. 6, p. 1014-21, Nov 2014. ISSN 1941-3289.

WANG, Z. et al. Unilateral low-level transcutaneous electrical vagus nerve stimulation: A novel noninvasive treatment for myocardial infarction. *Int J Cardiol*, v. 190, p. 9-10, 2015. ISSN 0167-5273.

YU, L. et al. Low-level transcutaneous electrical stimulation of the auricular branch of the vagus nerve: a noninvasive approach to treat the initial phase of atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, v. 10, n. 3, p. 428-35, Mar 2013. ISSN 1547-5271.

YUAN, H.; SILBERSTEIN, S. D. Vagus Nerve and Vagus Nerve Stimulation, a Comprehensive Review: Part II. *Headache*, v. 56, n. 2, p. 259-66, Feb 2016. ISSN 0017-8748.

ZAMOTRINSKY, A. et al. Effects of electrostimulation of the vagus afferent endings in patients with coronary artery disease. *Coron Artery Dis*, v. 8, n. 8-9, p. 551-7, Aug-Sep 1997. ISSN 0954-6928.

ZAMOTRINSKY, A. V.; KONDRATIEV, B.; DE JONG, J. W. Vagal neurostimulation in patients with coronary artery disease. *Auton Neurosci*, v. 88, n. 1-2, p. 109-16, Apr 12 2001. ISSN 1566-0702.

ZANCHETTI, A.; WANG, S. C.; MORUZZI, G. The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, v. 4, n. 3, p. 357-61, Aug 1952. ISSN 0013-4694.

ZHANG, Y. et al. Chronic vagus nerve stimulation improves autonomic control and attenuates systemic inflammation and heart failure progression in a canine high-rate pacing model. *Circ Heart Fail*, v. 2, n. 6, p. 692-9, Nov 2009. ISSN 1941-3289.

LISTA DE ANEXOS

	Página
ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	56
ANEXO B – FICHA DE COLETA	58
ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO	59

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Universidade de Brasília
Faculdade de Educação Física

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O Sr. está sendo convidado como voluntário a participar da pesquisa: Estimulação elétrica não invasiva do nervo vago melhora agudamente o controle da pressão arterial em homens jovens saudáveis. Neste estudo pretendemos verificar se a estimulação elétrica de um nervo que passa pelo coração promove alterações no controle da pressão arterial.

Para este estudo você deverá comparecer três vezes ao laboratório para realizar os seguintes procedimentos: inicialmente irá permanecer sentado com os antebraços apoiados na mesa, e dois aparelhos que aferem a pressão arterial conectados, um no braço e outro em um dos seus dedos da mão. Também serão acoplados em suas orelhas dois cliques do aparelho de estimulação elétrica. As medidas serão feitas durante 10 minutos de repouso, 15 minutos de estímulo elétrico e 10 minutos de recuperação quando o aparelho será desligado.

Os testes podem causar algum desconforto para você como pequenos choques e dolorimento local. Os voluntários passarão por um processo de inclusão para participarem do estudo e a amostra será constituída de voluntários com baixo risco cardiovascular. Todos os procedimentos serão realizados por profissionais da área da saúde com experiência nos testes.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador.

Todas as despesas que você tiver relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, você poderá ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O Sr. não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Se você tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor, telefone para Diego Antonino ou Lauro Vianna, na Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília no telefone (61) 3107-2512, de segunda à sexta-feira, no horário de 8:00 às 18:00 horas, podendo essa ligação ser realizada a cobrar.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável no Laboratório NeuroVASQ da Universidade de Brasília e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador do RG nº. _____, fui informado dos objetivos deste estudo, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Brasília, _____ de _____ de 20__.

Nome

Assinatura do participante

Nome

Assinatura do pesquisador

ANEXO B - FICHA DE COLETA

Universidade de Brasília
Faculdade de Educação Física

Ficha de Coleta

PESQUISADOR: _____

DATA:

___/___/___

DADOS DO PARTICIPANTE

NOME: _____ DATA DE NASCIMENTO: ___/___/___

ALTURA: _____ TELEFONE: _____

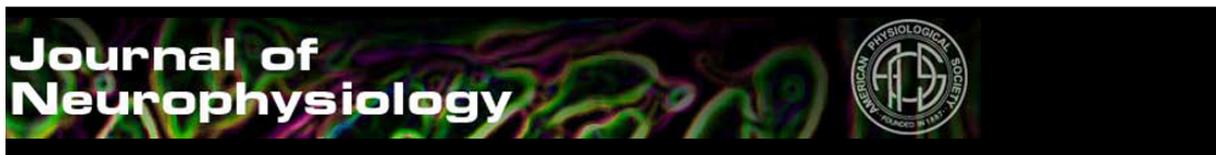
COLETA: _____

REPOUSO				
TEMPO/ VARIÁVEL	PAS	PAD	FC	PAM
3 MIN.				
6 MIN.				
9 MIN.				

ESTÍMULO				
TEMPO/ VARIÁVEL	PAS	PAD	FC	PAM
3 MIN.				
6 MIN.				
9 MIN.				
12 MIN.				

RECUPERAÇÃO				
TEMPO/ VARIÁVEL	PAS	PAD	FC	PAM
3 MIN.				
6 MIN.				
9 MIN.				

ANEXO C – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO



Journal of Neurophysiology

AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY
FOUNDED 1918

[Manuscript Home](#)
[Author Instructions](#)
[Referee Instructions](#)
[Contact APS](#)
[Tips](#)
[Change Journal](#)
[Logout](#)
[Journal Home](#)

To ensure proper functionality of this site, both [JavaScript and Cookies](#) must be enabled.

Manuscript #	JN-00841-2016
Current Revision #	0
Submission Date	25th Oct 16 14:02:42
Current Stage	
Title	Non-invasive vagus nerve stimulation acutely improves blood pressure control in healthy young men 
Running Title	Vagus nerve stimulation and blood pressure control
Manuscript Type	Research Article
Special Section	N/A
Category	N/A
Corresponding Author	Dr. Lauro C. Vianna (University of Brasilia)
Contributing Authors	Mr. Diego Antonino Mr. André L. Teixeira Mr. Paulo Maia-Lopes Ms. Mayara Souza Jeann L Sabino-Carvalho Mr. Aaron Murray Dr. Jim Deuchars Dr. Lauro C. Vianna (corr-auth) 