

**Tese**

**EFEITOS DA CRIOABLAÇÃO LOCALIZADA DE NERVOS  
MEDIASINAIS PARACARDÍACOS NA INDUÇÃO DE  
FIBRILAÇÃO ATRIAL NEURALMENTE MEDIADA EM  
MODELO CANINO**

**Tiago Luiz Luz Leiria MD. MSc.**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DO RIO GRANDE DO SUL /**

**FUNDAÇÃO UNIVERSITÁRIA DE CARDIOLOGIA**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:**

**Cardiologia, Doutorado**

**Tese de Doutorado:**

**Efeitos da Crioablação Localizada de Nervos Mediastinais Paracardíacos na Indução de Fibrilação Atrial Neuralmente Mediada em Modelo Canino**

**Título Inglês:**

**Long Term Effects of Cardiac Mediastinal Nerve Cryoablation on the Inducibility of Neurally Mediated Atrial Fibrillation in Canines**

**Aluno: Dr. Tiago Luiz Luz Leiria MSc.**

**Orientador: Prof. Dr. Gustavo Glotz de Lima**

**Orientador no Exterior: Profa. Dra. Teresa Kus –  
Universidade de Montreal, Quebec, Canadá**

Tese apresentada, para obtenção do título de Doutor,  
ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
Saúde: Cardiologia da Fundação Universitária de  
Cardiologia / Instituto de Cardiologia do Rio Grande  
do Sul

Porto Alegre, 2010

L531e

Leiria, Tiago Luiz Luz.

Efeitos da crioablação localizada de nervos mediastinais paracardíacos na indução de fibrilação atrial neuralmente mediada em modelo canino / Tiago Luiz Luz Leiria; orientação [por] Gustavo Glotz de Lima; Teresa Kus – Porto Alegre, 2010.

117f; il.

Tese (Doutorado) - Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul / Fundação Universitária de Cardiologia - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1.Fibrilação atrial.2.Crioablação.3.Vago.I.Gustavo Glotz de Lima.  
II.Teresa Kus.III.Título.

CDU:616.12-008.313:636.7

Bibliotecária Responsável: Marlene Tavares Sodré da Silva  
CRB 10/1850

*“À LAURA, AMOR e RAZÃO da minha vida, por ser minha fã e sempre me ajudar nos momentos difíceis; o que AMOR, certamente, é recíproco.”*

## **Agradecimentos**

---

*Ao pai KIQ, mãe Malu e Felipe por me mostrarem o caminho e me tornarem no que eu sou hoje.*

*À minha família e amigos pelos momentos de ausência.*

*Ao Prof. Dr. Gustavo Glotz de Lima por ter influenciado meu pensar científico e por ter me ajudado de maneira significativa na minha formação profissional em eletrofisiologia cardíaca.*

*Ao Prof. Dr. Renato A. Kalil pelo constante incentivo no meu aprimoramento profissional, tanto no curso de mestrado como também na realização de atividades científicas no IC-FUC.*

*Aos Colegas Marcelo Kruse e Leonardo Pires pelo companheirismo e incentivo nas tarefas diárias.*

*À Profa. Dra Teresa Kus por ter me acolhido de maneira tão importante e afetuosa no Hospital Du Sacré Coeur da Universidade de Montreal. Por sua paciência durante o período de ensinamento, estando sempre disposta a me auxiliar.*

*Ao Dr. Márcio Stürmer pela amizade e conhecimento transmitido na minha formação em eletrofisiologia na Universidade de Montreal.*

## Sumário

---

<i>Referencial Teórico</i> .....	8
<i>1-Um Breve Histórico Sobre Fibrilação Atrial</i> .....	9
<i>2-Epidemiologia da Fibrilação Atrial</i> .....	16
<i>3- Anatomia Atrial Voltada Para Fibrilação Atrial</i> .....	17
<i>4-Classificação da Fibrilação Atrial</i> .....	25
<i>5-Mecanismos fisiopatológicos da fibrilação atrial</i> .....	27
<i>6-Fibrilação Atrial Mediada Pelo Vago</i> .....	33
<i>7- Mecanismos Mantenedores da Fibrilação Atrial</i> .....	39
<i>8- Alterações Morfofuncionais dos Átrios em Fibrilação Atrial</i> .....	42
<i>9-Criotermia</i> .....	45
<i>10-Modelos Animais de Fibrilação Atrial</i> .....	47
<i>11-Justificativa</i> .....	50
<i>12-Objetivos</i> .....	51
<i>Referência do Referencial Teórico:</i> .....	52
<i>Artigo em Português</i> .....	63
<i>Resumo:</i> .....	64

<i>Introdução</i> .....	66
<i>Métodos:</i> .....	69
<i>Análise Estatística:</i> .....	75
<i>Resultados:</i> .....	76
<i>Discussão:</i> .....	82
<i>Conclusão:</i> .....	88
<i>Referências</i> .....	89
<i>APÊNDICE</i> .....	93
<i>Artigo em Inglês</i> .....	94
<i>Abstract</i> .....	95
<i>Introduction</i> .....	96
<i>Methods</i> .....	98
<i>Results</i> .....	102
<i>Discussion</i> .....	105
<i>Conclusions</i> .....	109
<i>FIGURES</i> .....	114



## **Referencial Teórico**

## 1-Um Breve Histórico Sobre Fibrilação Atrial

A fibrilação atrial (FA) é, sem sombra de dúvida, a arritmia cardíaca mais estudada nos últimos anos. Diariamente, multiplica-se, na literatura médica, o número de publicações referentes ao assunto. Os avanços no entendimento dos mecanismos de fisiopatologia em níveis tecidual, celular e molecular fazem com que o arsenal terapêutico para a arritmia em comento evolua de maneira exponencial. Contudo, as origens e os relatos históricos da FA parecem não gerar mais interesse àqueles que estudam tão prevalente doença cardíaca. Aqui faremos uma breve revisão dos aspectos históricos referentes à FA.

Os primeiros relatos de FA datam do século sete, presentes no tratado de medicina interna do Imperador Amarelo da China. Nessa época, se acreditava que o pulso era como cordas de um instrumento, isto é, vibravam organizadamente quando o organismo estava em harmonia. (1) Uma alteração na cadência ou a irregularidade da sensação tátil do pulso significava um descompasso das forças de controle do corpo, podendo, ou não, se manifestar em uma doença.



**Figura 1-** Análise do pulso realizada na China séc. VIIA.C.

O entendimento das patologias do ritmo cardíaco ocorreu em paralelo com o descobrimento, ou melhor, com o reconhecimento da circulação sanguínea e da correlação do pulso com o movimento cardíaco. Diversas pessoas tiveram papel de suma importância nos descobrimentos das maravilhas do maquinário cardiovascular. A seguir, citaremos algumas personalidades que contribuíram de alguma forma para esse fato.

### *No mundo ocidental onde tudo começou?*



**Figura 2-** Sir William Sheakespeare

Estranhamente, o primeiro relato no mundo ocidental de FA não foi realizado por médico, anatomista ou cirurgião e sim por um artista. Foi William Shakespeare que em 1611, na peça *the Winter's Tale*, ao escrever a passagem “I have tremor cordis on me: my heart dances; But not for joy; not joy.” fez o primeira descrição dos sintomas da FA(2). Dezesete anos mais tarde, William Harvey, o descobridor do sistema circulatório, fez o primeiro relato da

visualização direta de um átrio em FA em sua obra prima sobre a circulação sanguínea intitulada “EXERCITATIO ANATOMICA DE MOTV CORDIS ET SANGVINIS IN ANIMALIBVS”.(3)



**Figura 3**-Capa do manuscrito original de Harvey

No ano de 1819, foi publicada uma obra literária que revolucionou a arte da medicina de forma radical. Essa obra foi intitulada: DE L'AUSCULTATION MÉDIATE OU TRAITÉ DU DIAGNOSTIC DES MALADIES DES POUMONS ET DU COEUR(4). Nela se ressaltava a utilidade diagnóstica do estetoscópio, instrumento inventado por Laenec. Este mesmo autor fez a descrição do sinal clínico no qual existe um déficit entre o pulso periférico e o pulso medido na ausculta cardíaca, manifestação de

FA. Laenec denominava a FA como “intervalos na pulsação do coração”.



**Figura 4**-Reprodução do estetoscópio idealizado por Laenec

Por sua vez, Robert-Adams, em 1882, percebeu e descreveu como patognomônica a associação entre o pulso extremamente irregular do coração (decorrente de fibrilação atrial com sinal clínico de pulso *inequalis et irregularis* ) e a ocorrência de doença da válvula mitral (5).

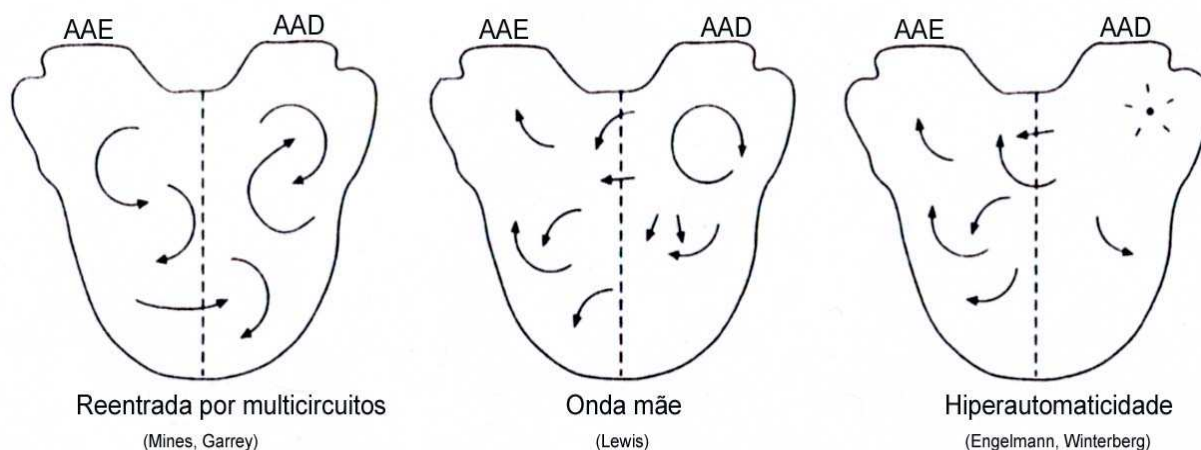
No ano de 1906, Willem Einthoven, ganhador do prêmio Nobel de Medicina de 1924, o pai da eletrocardiografia, realizou o primeiro registro eletrocardiográfico de paciente com fibrilação atrial. Finalmente, em 1909, Thomas Lewis fez a descrição clássica da interpretação eletrocardiográfica de FA como sendo a ausência de ondas P com irregularidade na linha de base (denominada de ondas F)(6).

### *Histórico da Fisiopatologia de Fibrilação Atrial*

O entendimento dos mecanismos responsáveis pelo início e a manutenção da FA evoluiu de maneira significativa nos últimos anos. Porém, as teorias fisiopatológicas que começaram a desvendar os mecanismos desta taquiarritmia tiveram sua idealização já no começo do século 20.

O primeiro conceito teórico de reentrada como mecanismo responsável das arritmias foi proposto por Winterberg em 1906 (7). Lewis e Schleiter(8), em 1912, inferiram que atividade focal extremamente rápida em mais de uma localização no miocárdio atrial era o mecanismo responsável pela FA. Em 1913, Mines(9) demonstrou que o mecanismo de reentrada era decorrente de um impulso que circundava um obstáculo anatômico. Em 1947, Scherf(10) trouxe novamente à tona a teoria da origem focal da FA.

Na década de sessenta, Moe e colaboradores (11) produziram evidência científica que responsabilizava como mecanismo mantenedor da FA a presença de múltiplas ondas

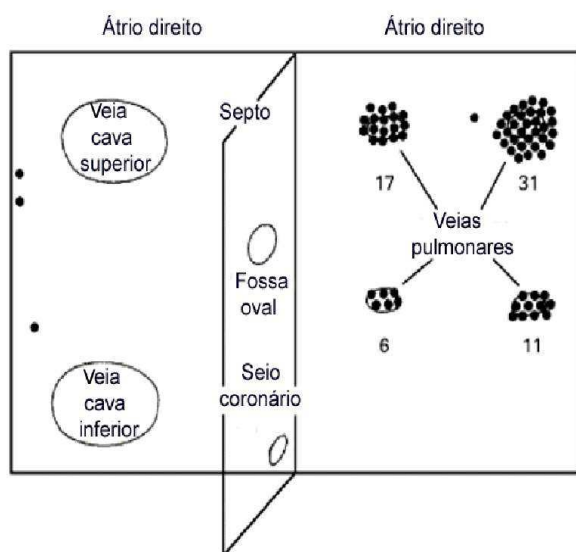


**Figura 5-** Modelos teóricos de mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela FA

de re- entrada que se propagavam de maneira randômica nos átrios. Porém, foi somente na década seguinte que Allessie (12) foi capaz de demonstrar de maneira experimental o conceito de reentrada por “alça-mãe”. Em um modelo feito em cabras, foi observado que o diâmetro médio do circuito reentrante era de 20 a 30mm e que um mínimo de 5 a 8 ondas reentrantes simultâneas eram necessárias para sustentar a arritmia. Esse mecanismo era capaz de explicar a manutenção da arritmia, contudo o fator necessário para o seu desencadeamento ainda permanecia obscuro. Este mesmo autor postulou diversas possíveis explicações para o desencadeamento da arritmia: a) a existência de um circuito estável escondido que poderia ser capaz de reiniciar a arritmia quando um episódio de FA se extinguiu; b) presença de focos de gatilho nos átrios ou até mesmo a presença de batimentos de eco provenientes do nó atrioventricular ou de feixe acessório.

Jalife e colaboradores (13) questionaram a hipótese de que as ondas reentrantes, durante a FA, se manifestem de maneira randômica. Em seu trabalho, fica sugerida a existência de um “circuito-mãe” que serve como um alimentador em segundo plano para a arritmia e, que obstáculos anatômicos, como orifício de veias, cicatrizes no miocárdio, entre outros, servem para quebrar esta onda, em menores, as quais se propagam em diferentes direções dentro dos átrios. O próprio músculo pectíneo atrial pode servir como obstáculo para quebrar a onda de ativação e facilitar o aparecimento de mecanismos reentrantes (14).

A idéia de mecanismo focal da FA tomou força também na década de sessenta quando estudos anatômicos da junção entre o átrio esquerdo e as veias pulmonares



**Figura 6-** Esquema representando focos gatilho de fibrilação atrial em pacientes com paroxismos da arritmia. Adaptado de 16

era capaz de prevenir recorrência de FA paroxística.

mostraram que existia uma conexão elétrica entre o átrio e o segmento proximal da veia pulmonar (15). Todavia, foi na década de noventa, que Haissaguerre e colaboradores (16) demonstraram a arritmogenicidade de focos no interior das veias pulmonares, bem como que sua eliminação

As bases do envolvimento do sistema nervoso autônomo com a FA foram propostas por Coumel (17), que classificou a arritmia em formas mediadas pelo vago ou pelo tônus adrenérgico.

No século XXI, o descobrimento de genes que predispõe o desenvolvimento da FA em certos indivíduos começou a ser mais bem entendido (18,19)



## **2-Epidemiologia da Fibrilação Atrial**

Nos últimos anos, a incidência e a prevalência de FA atingiram proporções epidêmicas (20). A FA é a arritmia mais comum na prática clínica e é responsável por cerca de um terço das hospitalizações por alterações no ritmo cardíaco nos Estados Unidos, afetando aproximadamente 2,2 milhões de indivíduos na América do Norte (21). No Brasil, estima-se que aproximadamente 1,5 milhões de pessoas sejam acometidas por esta arritmia (22). A prevalência descrita é de 4.5 milhões de indivíduos na Europa(23).

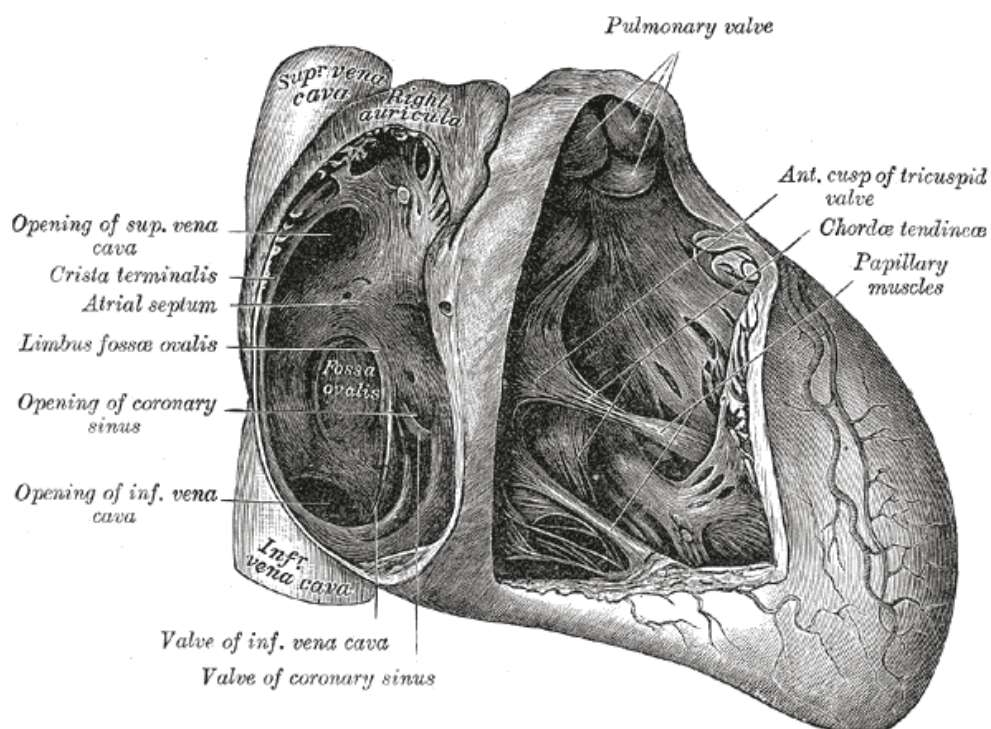
O risco de desenvolvimento de FA em homens e mulheres após os quarenta anos de idade é de aproximadamente 25%(24). No estudo de Framingham, sua incidência cumulativa foi de 2% em 22 anos, aumentando com o avanço da idade, em especial nos pacientes com doença cardíaca estrutural (25). A FA é uma doença associada à idade e ao aumento da longevidade. O melhor tratamento de doenças crônico-degenerativas, como cardiopatia isquêmica, insuficiência cardíaca e valvulopatias, certamente é responsável pelo aumento exponencial na cifra de pacientes portadores dessa arritmia. Estima-se que a prevalência de FA chegará a quatro milhões de pacientes nos Estados Unidos da América no ano de 2030, atingindo quase seis milhões em 2050 (26,27,28).

No Brasil, estudo realizado em ambulatório geriátrico apurou que a prevalência da FA foi de 4,8% (29), sendo a média de idade dos seus portadores em torno de 75 anos, situando-se cerca de 70% na faixa dos 65-85 anos (30). Isso também parece ser verdade em nossa população de pacientes em acompanhamento no Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul (29).

### 3- Anatomia Atrial Voltada Para Fibrilação Atrial

#### *Anatomia do Átrio Direito*

O **átrio direito** (*atrium dextrum; auricular direita*) (figura 7) é maior que o átrio esquerdo, porém com paredes mais delgadas, em torno de 2 mm de espessura. Sua cavidade é capaz de conter aproximadamente 57 ml de sangue. Ele é formado pôr duas porções: cavidade principal, ou **sinus venarum**, situada posteriormente, e uma parte menor, mais anterior, denominada de **aurícula**.(31)

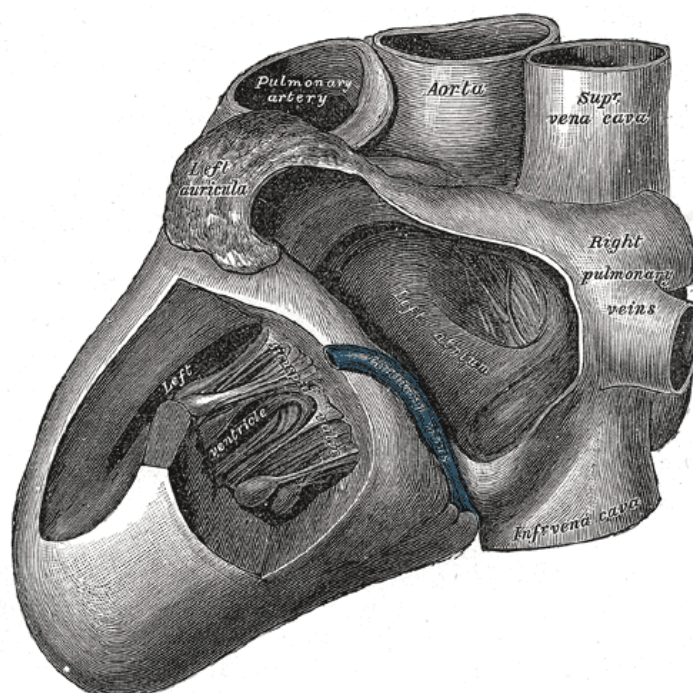


**Figura 7-** Ilustração anatômica, coração em visão oblíqua anterior direita mostrando átrio direito e pontos de referencia anatômicos.(31)

O **sinus venarum** (*sinus venosus*) é composto por uma cavidade grande e quadrangular localizada entre ambas as veias cavas. Suas paredes, que são extremamente

finas, conectam-se inferiormente ao ventrículo direito, medialmente com o átrio esquerdo, sendo livre no restante de sua extensão (31).

Por sua vez, a **aurícula** (*aurícula dextra; apêndice auricular direito*) (Figura 8) é uma pequena estrutura muscular de forma cônica (ou em dedo de luva), cujas bordas são endentadas. Ela se projeta da porção superior e anterior do *sinus venosus* em direção à esquerda, sobrepondo-se sobre a raiz da aorta.



**Figura 8-** Ilustração anatômica, coração em obliqua posterior esquerda mostrando átrio esquerdo e pontos de referencia anatômicos.(31)

A separação entre a aurícula e o *sinus venarum* é demarcada externamente por um sulco denominado de sulco terminal, o qual se estende da porção anterior da veia cava superior até a inferior, representando a linha de união do *sinus venosus* do embrião com o átrio primitivo. Na parede interior do átrio, a separação é demarcada por uma dobra muscular, vertical, com superfície suave denominada de crista terminal. Por trás da crista, a superfície interna do átrio é lisa, enquanto que, na sua frente, um conjunto de fibras

musculares se destaca de sua superfície e se organiza em paralelo, lembrando dentes de um pente. Esta porção é denominada de ***musculi pectinati* ou músculo pectíneo**. Entre as bandas de músculo pectíneo, a parede atrial é fina como um papel, sendo translúcida ao estudo anatômico(31,32).

A veia cava superior conduz o sangue da metade superior do corpo, abrindo-se na porção superior e posterior do átrio direito; seu orifício não possui válvula. Já a veia cava inferior possui diâmetro interno maior do que a superior, trazendo o sangue da metade inferior do corpo. Ela se abre na porção mais inferior do átrio direito, próximo ao septo atrial, tendo seu orifício direcionado para cima e para trás e provido de uma válvula rudimentar, a válvula de Eustáquio. O óstio do seio coronariano localiza-se entre o orifício da veia cava inferior e o orifício atrioventricular, sendo ele protegido por uma válvula semicircular denominada de válvula de Thebésio. A válvula da veia cava inferior (*valvula venæ cavæ inferioris*), válvula de *Eustachio*, está situada na frente do orifício da veia cava inferior, possuindo uma forma semilunar, cuja margem convexa se conecta ao orifício da veia; sua borda côncava é livre e termina em dois cornos um esquerdo que se conecta contiguamente ao bordo anterior do limbo da *fossa ovalis* e um direito que se funde à parede atrial. Essa válvula se forma por meio de uma duplicação da membrana interna do átrio que contém algumas fibras musculares. No feto, a válvula possui tamanho maior, servindo para direcionar o sangue proveniente da veia cava inferior, que é arterializado na placenta, pelo forâmen oval para o átrio esquerdo e circulação sistêmica. No adulto, ela ocasionalmente persiste e pode auxiliar na prevenção de refluxo de grande quantidade de sangue para a veia cava inferior; contudo, ela é menor que durante a vida fetal, podendo apresentar um aspecto cribriforme ou filamentososo. A rede

de Chiari nada mais é do que uma válvula de Eustáquio muito grande com múltiplas fenestrações.

A válvula do seio coronariano (*valvula sinus coronarii* [*Thebesii*]; *valvula de Thebesio*) é uma dobra semicircular da membrana interna do átrio no nível do óstio do seio coronariano. Sua função é prevenir o refluxo de sangue para o interior do seio coronário durante a sístole atrial, podendo ser dupla ou ainda cribriforme (31,32).

O forâmen **venarum minimarum** (*foramina Thebesii*) é composto por orifícios de diminutas veias (*venæ cordis minimæ*), que trazem sangue diretamente da substância muscular do coração ao átrio. A abertura atrioventricular (orifício tricuspídeo) é uma abertura oval que comunica o átrio direito ao ventrículo através da válvula tricúspide (31).

A **fossa ovalis** é uma depressão de forma oval na parede septal do átrio, correspondendo à localização do forâmen oval no feto. Ela está situada na porção baixa do septo acima e à esquerda do orifício da veia cava inferior (31).

O **limbus fossæ ovalis** (*annulus ovalis*) consiste de uma proeminente margem oval da fossa ovalis, sendo mais desenvolvida nas bordas superiores e laterais da fossa, e menos proeminente na porção inferior. Por vezes, pode ser encontrada uma pequena abertura em forma de fenda na porção superior da fossa, dirigindo-se, superiormente e por baixo do limbus, ao átrio esquerdo. A essa abertura, dá-se o nome de forâmen oval, o qual é um remanescente da comunicação entre os dois átrios da vida embrionária(31,32).

Tubérculo **intervenoso** (*tuberculum intervenosum*; *tubérculo de Lower*) é uma pequena projeção na parede posterior do átrio, situando-se acima da fossa ovalis. Essa estrutura é bem visível no coração de quadrúpedes, contudo é raramente visualizada em

humanos. Lower formulou a hipótese de que sua função seria a de projetar o sangue proveniente da veia cava superior para a abertura atrioventricular(31,32).

### *Anatomia do Átrio Esquerdo*

O **Átrio esquerdo** (*atrium sinistum; aurícula esquerda*) possui dimensão menor do que o átrio direito, entretanto suas paredes são mais espessas, medindo aproximadamente 3mm. Compõe-se, como o direito, de duas partes: uma cavidade principal e uma aurícula. A cavidade principal possui forma cubóide, a qual é ocultada pelas artérias pulmonares e aorta, anteriormente e à direita pelo septo interatrial. O músculo pectíneo está presente em menor quantidade do que na aurícula direita, sendo confinado somente ao interior do apêndice atrial esquerdo. No septo interatrial, é localizada uma impressão na superfície em forma de meia lua com concavidade voltada para cima, a qual demarca a face atrial esquerda da fossa ovalis. É importante ressaltar que o verdadeiro septo interatrial é a fossa ovalis, visto que é o único local que comunica as duas câmaras sem sair do coração. O resto do septo interatrial muscular é formado pela aposição do miocárdio atrial esquerdo e direito, que é separado por tecido fibro-gorduroso, vascularizado e que se estende desde a gordura extra-cardíaca. Por isso, prefere-se usar o termo sulco interatrial no lugar de septo interatrial muscular, não possuindo esse conceito apenas importância acadêmica, pois é somente na fossa ovalis que se consegue realizar uma punção transeptal para chegar com sondas e cateteres ao átrio esquerdo. Quatro veias pulmonares drenam em cada uma de suas laterais. (31,32)

A **aurícula** (*aurícula sinistra;apêndice auricular esquerdo*) apresenta abertura constricta na sua junção com o restante do átrio esquerdo, com maior comprimento e

curvatura quando comparada ao apêndice à direita, porém é mais estreita com maior número de endentações em seu interior. Ela se dirige anteriormente e para direita se sobrepondo sobre a raiz da artéria pulmonar.(31,32)

**As veias pulmonares (Figura 9)** são em número de quatro e deságuam na porção mais superior da parede posterior do átrio esquerdo, duas em cada lado da linha medial do átrio. Essas veias, geralmente, não possuem válvulas em seus óstios. O par à esquerda apresenta com maior frequência óstio único e a abertura entre o átrio esquerdo e o ventrículo contralateral é relativamente menor que o orifício à direita (32).

Para o estudo adequado da fibrilação atrial é importante se ter um entendimento completo da anatomia da junção veia pulmonar - átrio esquerdo. Estudos iniciais realizados por Nathan e Burch e cols.(33,34) descreveram a presença de invaginações musculares que penetravam nas veias pulmonares, provenientes do átrio esquerdo. Essas invaginações percorrem uma distância média de 13mm desde o óstio da veia (máximo de 25 mm). Esses feixes musculares são mais bem desenvolvidos nas veias pulmonares superiores, comparativamente as inferiores (35,36). Ho (36) evidenciou em estudos de corações humanos, que o diâmetro dos óstios das veias pulmonares é semelhante (aproximadamente  $1\text{ cm} \pm 0.5$ , variação 8–20 mm), porém o comprimento das bandas miocárdicas é distinto em cada veia. O maior comprimento é encontrado nas veias pulmonares superiores, sendo maior à esquerda do que à direita ( $1.1 \pm 0.3\text{cm}$  vs.  $0.9 \pm 0.3\text{ cm}$ ). Os autores supramencionados notaram que a frequência das ectopias responsáveis por FA apresenta distribuição semelhante ao do estudo inicial de Haissaguerre e cols. (16), o qual descreve a frequência de focos gatilhos no interior das veias pulmonares, apresentando correlação anatômica com maior frequência e comprimento de feixes

musculares nas veias pulmonares superiores. Estudos histológicos realizados por Ho e cols.. demonstraram que as paredes das veias pulmonares são compostas de um endotélio fino, uma camada média muscular lisa, e uma espessa adventícia fibrosa (36).

A transição entre o átrio e a veia ocorre de forma gradual com o aparecimento de invaginações de miocárdio atrial sobrepostas à musculatura lisa da parede venosa. Essas



**Figura 9-** Fotografia anatômica posterior do átrio esquerdo mostrando veias pulmonares direitas com presença de invaginações musculares que penetram nas veias pulmonares como dedos de luva.

invaginações miocárdicas são mais espessas na junção veno-atrial (média 1.1 mm), ficando mais finas à medida que avançam para o interior da veia. Outro ponto importante é que a espessura dessas invaginações não é homogênea ao longo de seu percurso na veia; as paredes inferiores das veias superiores e as paredes superiores das veias inferiores são os locais de maior espessura. Quando ocorrem falhas na continuidade dessas invaginações miocitárias no interior das veias, elas parecem ser preenchidas por tecido fibroso. O arranjo desses miócitos no interior da veia pulmonar é complexo, na medida em que apresentam um padrão de disposição reticular permeado de ilhas de tecido fibroso, que provavelmente é responsável por anisotropia na condução elétrica na



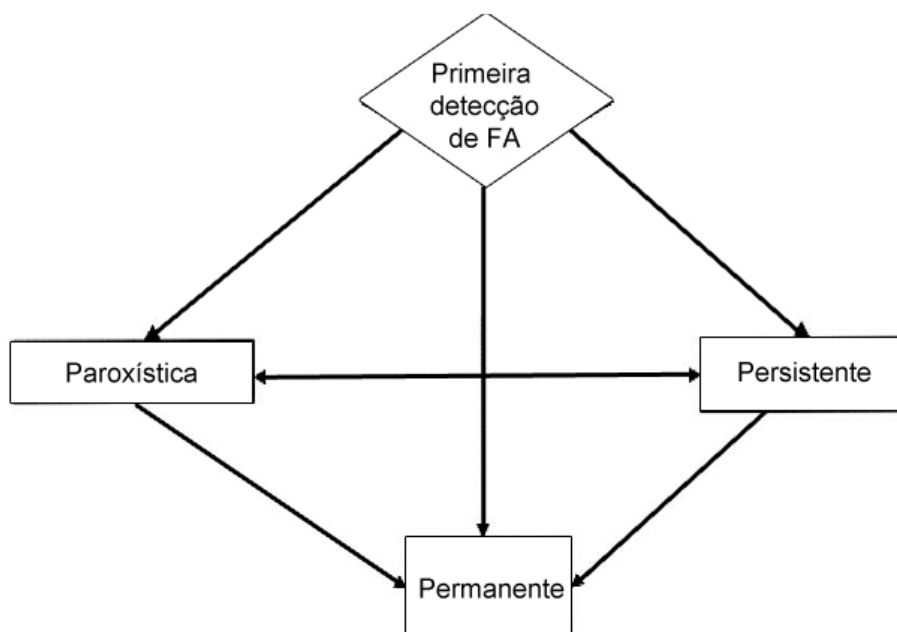
veia. Alguns estudos sugerem uma correlação entre o comprimento dessas invaginações musculares no interior da veia com FA (37,38,39).

## 4-Classificação da Fibrilação Atrial

A FA pode ser classificada de diversas maneiras, ou seja, de acordo com: a sua associação com doença cardíaca estrutural (valvular versus não valvular); a sua duração (paroxística, persistente ou permanente); a sua relação com causas secundárias (hipertireoidismo, cirurgia cardíaca) e a sua relação com sistema nervoso autônomo (FA por indução neural - vagal ou simpática).

Recentemente as Sociedades Americana, Européia e Brasileira de cardiologia (20,22) definiram utilizar, como padrão para uniformização dos termos que descrevem a arritmia a classificação temporal. Essa classificação deve ser aplicada nos casos de FA não secundária, não valvular e a FA solitária. Considera-se FA inicial um primeiro episódio de detecção, sintomática ou não, da arritmia, com duração superior a trinta segundos. Os casos recorrentes ( FA Crônica) podem se apresentar de três formas distintas (Figura 10):

- 1- *Paroxística*: duração de até sete dias, com freqüente reversão espontânea ao ritmo sinusal. Na sua grande maioria, os episódios, geralmente, são menores que 24 horas.
- 2- *Persistente*: duração superior a sete dias, sendo que sua interrupção geralmente exige cardioversão elétrica ou química.
- 3- *Permanente*: casos nos quais se decidiu que a manutenção do ritmo sinusal não é desejada ou não é possível, sendo FA o ritmo permanente no paciente.



**Figura 10** – Classificação proposta de Fibrilação Atrial relacionada apresentação temporal

Coumel e colaboradores(17) classificam os pacientes com FA paroxística como sendo aqueles cuja arritmia é desencadeada por estímulos vagais ou adrenérgicos.

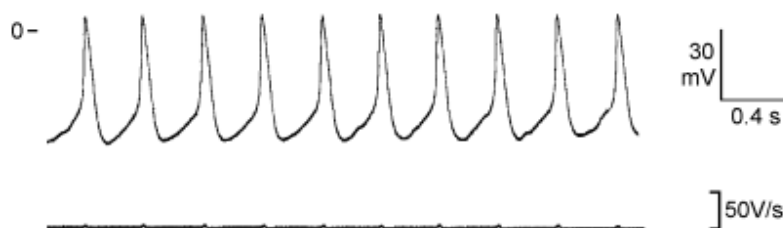
## **5-Mecanismos fisiopatológicos da fibrilação atrial**

Foi após a publicação pioneira de Haissaguerre e colegas (16,40) que o conhecimento da natureza arritmogênica das veias pulmonares foi amplamente divulgado. Nesses trabalhos ficou demonstrado que a FA poderia ser iniciada pela ocorrência de focos de gatilho localizados 2-4cm no interior das veias pulmonares(VP), principalmente nas superiores. Todavia, a ablação de múltiplos focos no interior dessas veias não é factível, circunstância que levou ao desenvolvimento de diversas formas de isolamento elétrico das veias pulmonares. O isolamento elétrico das veias baseia-se no conceito de que bandas musculares conectam o átrio esquerdo às veias pulmonares. As propriedades eletrofisiológicas desta inter-relação é o que leva ao aparecimento de FA. Contudo, outros autores (41) sugerem que modificações no substrato, e não necessariamente o isolamento das veias pulmonares, é o necessário para o tratamento da FA.

### *Automaticidade Anormal e Atividade Deflagrada:*

A presença de pulsações independentes nas veias pulmonares sugere a possibilidade de células tipo marca-passo no seu interior. (42) Blom e cols.(43), estudando o desenvolvimento tissular em embriões humanos, descobriram que as veias pulmonares apresentam a mesma origem das outras estruturas do sistema de condução cardíaco, o qual apresenta capacidade de automaticidade. Estudos morfológicos em uma gama de animais sugerem a presença de células condutoras no interior das VP. (44,45,46)

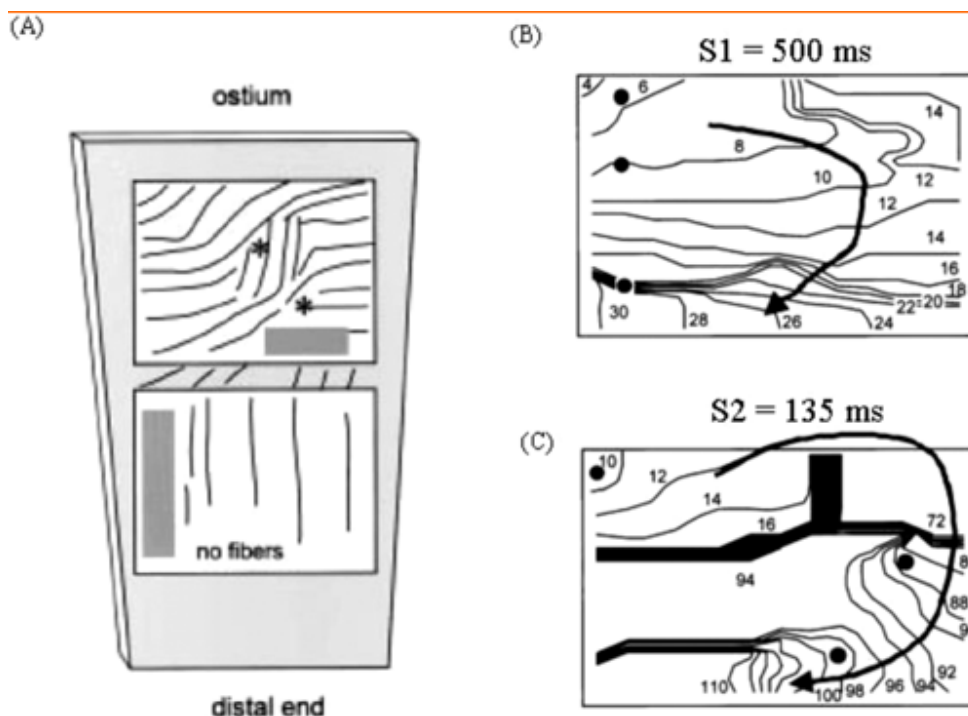
Perez-Lugones e cols. (47) estudando VP em humanos, encontraram a presença de células P, transicionais e do tipo Purkinje no interior dessas veias. Esses fatos sugerem que o automatismo anormal seja o mecanismo de arritmogenicidade das VP. Cheung demonstrou a presença de despolarização tipo fase 4 no interior das veias pulmonares de porcos guiné (48). A infusão de digital induziu atividade deflagrada em preparações de VP dessa espécie de cobaia, desencadeando taquiarritmias atriais.(49) Nesse estudo, também foi identificada a presença de bloqueio de condução no interior das VP. (Figura 11). De outra parte, estudos em modelos caninos (50) demonstraram que o uso de procainamida pode suprimir esses focos de gatilho sugerindo como mecanismo eletrofisiológico a automaticidade alterada. Outro fator importante é a presença de fibrose em torno de ilhas de miócitos. Essas zonas de cicatriz geram uma diminuição no contato elétrico entre esses miócitos acarretando em menor inibição elétrica e por sua vez aumentando a automaticidade dessas ilhas de tecido miocárdico no interior das veias pulmonares. (51)



**Figura 11-** Registro da atividade elétrica espontânea registrada em espécime de veia pulmonar de coelhos com uso de micro eletrodos. O potencial apresenta despolarização tipo fase 4 espontânea com frequência de 2.5 Hz.

### *Mecanismo de Reentrada*

Reentrada é o mecanismo eletrofisiológico responsável pela grande maioria das arritmias que ocorrem na prática clínica, como comprovam os modelos experimentais. Hocini e cols.(52), utilizando corações isolados sob perfusão, de seis cães, realizaram múltiplas gravações tanto extracelulares, como intracelulares dos potenciais elétricos das VPs, identificando a presença de sinais fracionados com condução lenta em todas as VPs. Ao exame histológico essas zonas com baixa velocidade da condução elétrica eram caracterizadas por uma mudança súbita da orientação da fibra muscular no interior da VP, isto é, quanto maior o grau de rotação da fibra, maior a lentificação na velocidade de condução. (Figura 12).



**Figura 12** - A) reconstrução da orientação das fibras em locais de registro no interior da veia pulmonar inferior esquerda. O arranjo na zona de registro ostial é complexa, mostrando mudança súbita na orientação dos miócitos, bem como a presença de múltiplas orientações simultâneas. No terço distal existe um número menor de fibras e essas apresentam orientação paralela entre si. (B) e (C) são os mapas de ativação da veia pulmonar superior direita durante a realização de um trem de estímulos (S1) seguido de extra-estímulo prematuro (S2). Nessas figuras se observa a súbita mudança na onda de propagação da despolarização com áreas de bloqueio da condução. Adaptado de (52)

O fenômeno sob exame facilita a ocorrência de reentrada no interior da veia pulmonar, valendo registrar que o aumento no grau de fibrose e o envelhecimento dos miócitos parecem ajudar ainda mais no aparecimento de reentrada. Anisotropia não uniforme também é proposta como mecanismo facilitador de reentrada. Hamabe et col.(53) sugeriram a presença de uma quebra de onda elétrica na junção entre a VP e o átrio esquerdo decorrente de estruturas anatômicas locais como sendo a responsável por reentrada nesta zona. Nesses casos, foi observado mediante o exame histológico, uma descontinuidade da musculatura da VP com a presença de ilhas de tecido conjuntivo que favorecem anisotropia e reentrada. O uso de mapeamento óptico em modelos

experimentais demonstrou uma diferença entre a duração do potencial de ação na veia pulmonar comparativamente entre o endocárdio e o epicárdico. Este potencial de ação dura mais no endocárdio do que no epicárdico. O potencial de ação das veias pulmonares é mais durador do que aquele encontrado na musculatura do átrio esquerdo (54,55). Uma marcada diminuição na velocidade de condução é encontrada no interior das veias pulmonares, principalmente em sua porção proximal. Com estimulação atrial rápida, encontramos bloqueio de condução 2:1 para o interior da veia. Com estimulação atrial programada com acoplamento curto podemos gerar bloqueio unidirecional na veia com surgimento de reentrada. Entretanto, a estimulação atrial muito rápida pode gerar o aparecimento de atividade focal automática no interior da veia. Uma teoria unificadora entre o papel do mecanismo de reentrada e hiperautomaticidade sugere que um gatilho focal pode ser mantido ativo por uma alça reentrante extremamente rápida no interior da veia pulmonar. Kalifa e cols.(56) demonstraram que o aumento da pressão intratrial acima de 10cm de água tornou a junção entre o átrio esquerdo e a veia pulmonar uma zona de rotores, sugerindo que o estiramento atrial seria também responsável pela manutenção da reentrada.

### **Estudos em Humanos**

Estudos detalhados da eletrofisiologia das veias pulmonares em seres humanos são, obviamente, de mais difícil execução. Contudo, minuciosa investigação conduzida por Jais e colaboradores (57) avaliou as características eletrofisiológicas das VP em pacientes portadores de FA. Vinte e oito pacientes com FA paroxística e 20 controles foram incluídos na pesquisa. Os períodos refratários (efetivo (PRE) e funcional (PRF)) das quatro veias pulmonares foram significativamente mais curtos nos pacientes com FA.



Outro achado importante foi de que os PRE das quatro veias pulmonares foram mais curtos do que o PRE atrial esquerdo nos casos com FA. O oposto foi verdade nos pacientes controles. O PRE teve valores similares em ambos os grupos, sendo a diferença encontrada decorrente das propriedades elétricas das VPs. Condução decremental entre o átrio esquerdo e as veias pulmonares, bem como a condução lenta no interior das veias, foram mais freqüentes nos pacientes com FA. Estes achados sugerem que em pacientes com FA exista um substrato nas VP para mecanismos de reentrada com presença de PRE curtos e zonas de condução lenta. Takahashi e cols. (58) investigaram a natureza das taquicardias no interior das VP após o isolamento por radiofrequência dessas estruturas. Os autores foram capazes de induzir arritmias por meio de estimulação programada em 2,6% das veias pulmonares já isoladas, as quais podiam ser terminadas e encarrilhadas por estimulação artificial, sugerindo o mecanismo como reentrante.

## **6-Fibrilação Atrial Mediada Pelo Vago.**

O sistema nervoso autônomo possui importante papel na patogênese da fibrilação atrial paroxística. Os terminais simpáticos e parassimpáticos cardíacos modulam as propriedades eletrofisiológicas do miocárdio atrial contribuindo para a iniciação e a manutenção dessa arritmia (59,60). Coumel(60) foi um dos primeiros a classificar a FA paroxística em relação ao mecanismo neurogênico desencadeador.

Os pacientes com FA por indução vagal são geralmente jovens, sem doença estrutural, preferencialmente homens, com episódios que iniciam à noite ou após refeição copiosa(61). Em contraste, os pacientes com FA adrenérgica são mais velhos, possuindo, em sua grande maioria, doença cardíaca estrutural, sendo os episódios desencadeados por estresse emocional ou atividade física.

A prevalência de FA neuralmente mediada (vagal ou adrenérgica) ainda não foi claramente definida. O estudo EuroHeart (62) avaliou uma população não selecionada encontrando uma prevalência de 6% de FA vagal, 15% para a forma adrenérgica e 12% para a forma mista. Contudo, estudos de pacientes com FA encaminhados para ablação por cateter da arritmia demonstram uma prevalência de até 27% dos casos (63,64). A tabela 1 mostra as diferenças entre FA mediada pelo vago e FA adrenérgica.

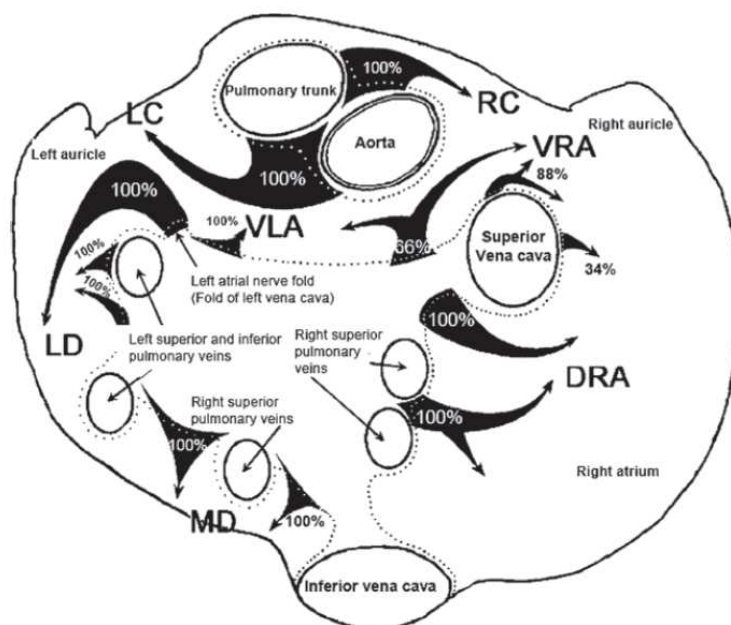
Tabela 1 - Características da FA mediada pelo Vago e Adrenérgica

FA mediada pelo Vago	FA adrenérgica
Mais prevalente	Menos prevalente
Predominância em homens entre 30 – 50 anos	Sem predileção por Sexo
Pacientes sem cardiopatia estrutural	Geralmente com doença cardíaca estrutural
Noturna, durante repouso, após ingestão	Diurna, estresse emocional ou exercício
Precedida de bradicardia	Precedida de taquicardia
Reposta ventricular lenta durante FA	Reposta ventricular rápida durante FA
Piora com $\beta$ -bloqueadores e digoxina	Melhora com $\beta$ -bloqueadores e digoxina

A inervação vagal do coração é feita por meio do 10º nervo craniano, o vago. Os axônios dos neurônios parassimpáticos, pré-ganglionares da medula do tronco cerebral, transcorrem pelo vago direito e esquerdo, fazendo sinapse com neurônios pós-ganglionares localizados nos gânglios paracardíacos presentes em coxins de gordura epicárdicos. A distribuição desses gânglios ocorre entre o tronco da aorta e da artéria pulmonar, ao redor das veias pulmonares e sobre a veia cava superior e inferior(65). São desses coxins gordurosos que neurônios pós ganglionares se projetam para as células miocárdicas alvo da inervação autônoma (figura 13). Os átrios são mais densamente innervados pelo sistema parassimpático do que os ventrículos.

O efeito da estimulação parassimpática nos miócitos cardíacos ocorre através da ativação de receptores muscarínicos de acetilcolina (Rm ACh). Em modelos experimentais, tanto a estimulação vagal, quanto a administração de acetilcolina, foram

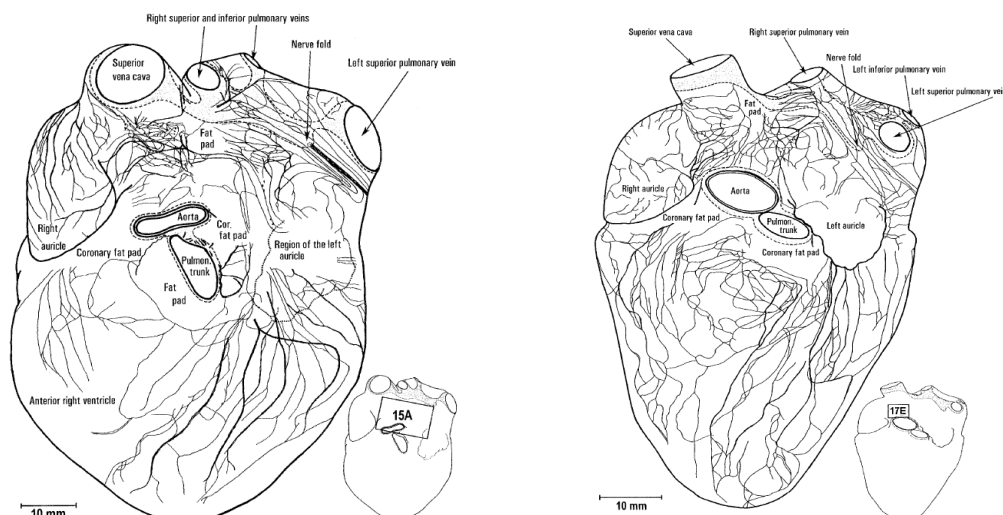
capazes de induzir FA sem necessidade de estímulo elétrico diretamente sobre os átrios. A ativação dos RmACH no coração, por meio da acetilcolina liberada por terminais axonais do vago, resulta em: (1) hiperpolarização e diminuição na frequência de disparo do nó sinusal; (2) encurtamento do potencial de ação atrial e enfraquecimento da força de contração atrial; (3) diminuição da velocidade de condução no nó atrioventricular. A alteração no período refratário átrio atrial e o aumento da dispersão da repolarização tornam-se importantes na gênese de fibrilação atrial, na medida em que propiciam a formação de zonas reentrantes no átrio. O aumento na dispersão da refratariedade tecidual e o encurtamento do potencial de ação ocorrem principalmente em decorrência da corrente de potássio dependente de acetilcolina ( $IK_{ACh}$ ).



**Figura 13-** Ilustração esquemática da localização e direção dos nervos mediastinais (setas) que se dirigem para sete plexos ganglionares epicárdicos identificados pelas abreviações: DRA dorsal ao átrio direito; LC coronária esquerda; LD dorsal esquerdo; MD dorsal médio; RC coronária direita; VLA ventral ao átrio esquerdo; VRA ventral ao átrio direito. Adaptado (66)

Estudos experimentais (66,67) utilizando coloração com hidroxilase anti-tirosina para identificar nervos adrenérgicos, bem como acetilcolina acetiltransferase para

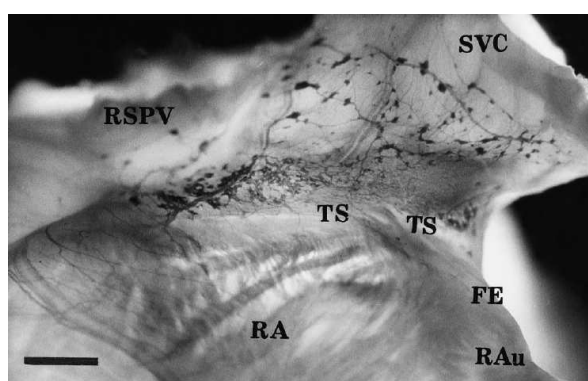
evidenciar nervos colinérgicos, demonstraram a concomitância de fibras simpáticas e parassimpáticas em coxins gordurosos epicárdicos nos grandes vasos torácicos e em torno das veias pulmonares ( Figura 14 e 15).



**Figura 14** -Gravura reconstruindo coração humano submetido a coloração para nervos colinérgicos pertencentes ao plexo epicárdico.

A coexistência de neurônios locais, tanto adrenérgicos como colinérgicos, é o que

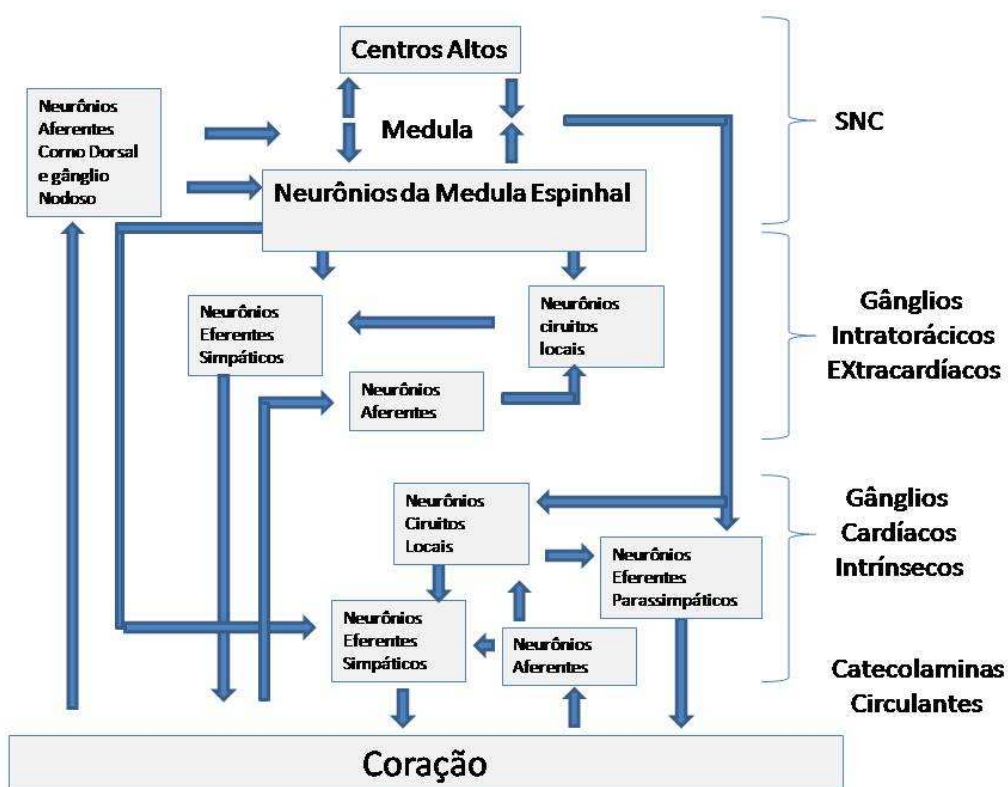
torna responsável a variação batimento a batimento do controle neural intrínseco do próprio coração (68). Estudo em corações humanos demonstrou que, em um nível celular, aproximadamente 25% de todos os feixes nervosos em torno das veias pulmonares ou sobre as



**Figura 15**- Visualização do plexo epicárdico atrial direito com coloração histoquímica para acetilcolinesterase.

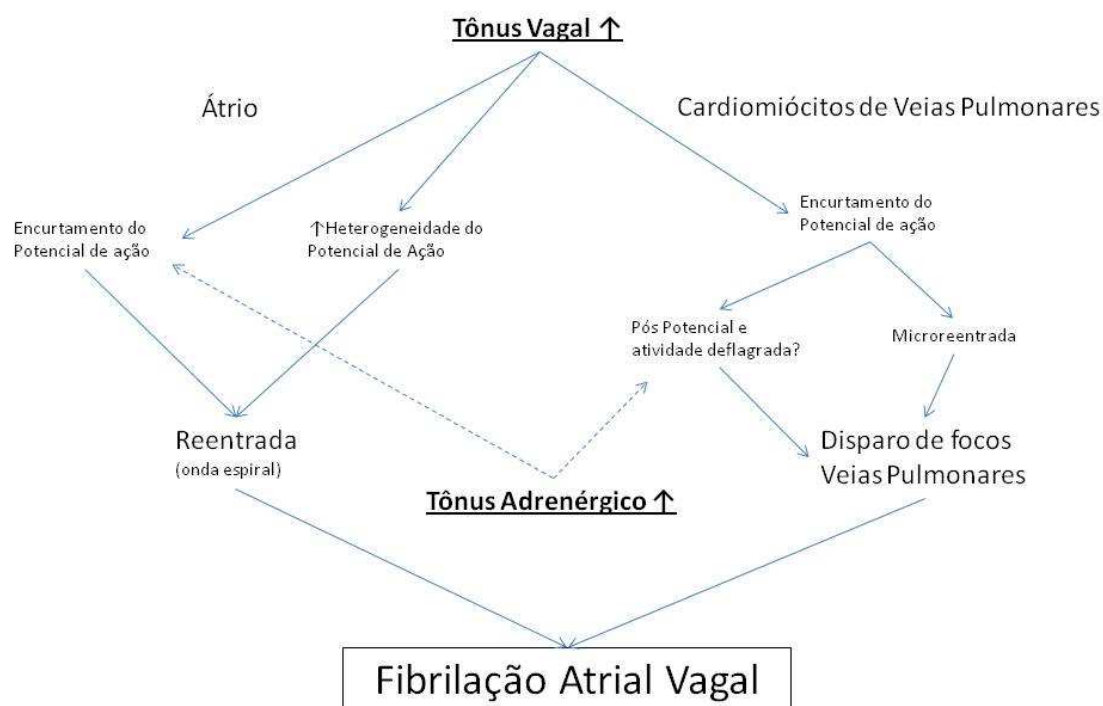
veias torácicas contém tanto fibras adrenérgicas como colinérgicas. Essas cifras atingem 90% nos gânglios paracardíacos.

Em contraste com espécies inferiores de animais, a arquitetura neuronal de mamíferos não é apenas um conjunto de neurônios conectados serialmente (69,70,71), mas sim uma rede organizada com diversas interconexões, as quais são redundantes em alguns momentos, circunstância que serve como mecanismo de segurança para a manutenção do controle nervoso efetivo sobre o coração. A organização desse sistema pode ser desmembrada em três diferentes níveis (Figura 16), a saber: o sistema nervoso intrínseco do coração, o sistema intratorácico e o sistema nervoso central.



**Figura 16**-Representação esquemática da arquitetura e inter-relações dos sistemas nervoso intrínseco do coração, intratorácico e central (adaptado de 68).

Em modelos experimentais caninos, a FA por indução neural pode ser iniciada através da estimulação direta de feixes nervosos (para cardíacos) do sistema vagossimpático que cursam sobre a veia cava superior ou veias pulmonares (72,73). Esses feixes nervosos conectam-se diretamente ao sistema nervoso intrínseco do coração (SNIC) (74,75,76). A estimulação dos feixes nervosos, que cursam a superfície da veia cava superior gera, inicialmente, uma resposta vagal acentuada, a qual se manifesta por meio de bradicardia importante seguida de atividade ectópica atrial localizada na parede livre do átrio direito e na região do feixe de Bachmann. Estas ectopias atriais levam ao desencadeamento de FA (77,78). Quando essa estimulação é realizada nos gânglios em torno das veias pulmonares, a atividade ectópica geralmente aparece no interior da veia. O aparecimento de ectopias está, possivelmente, relacionado à ativação simpática que ocorre durante a estimulação desses elementos neurais, visto que ambas as partes do sistema nervoso autônomo são ativadas simultaneamente (Figura 17). A ativação simpática pode ser responsável por um encurtamento ainda maior do potencial de ação, bem como no aparecimento de pós-potenciais e atividade deflagrada.



**Figura 17**-Interrelações entre tônus vagal e adrenérgico na gênese de fibrilação atrial mediada pelo vago

## 7- Mecanismos Mantenedores da Fibrilação Atrial

Como visto com brevidade na parte histórica, três teorias clássicas foram desenvolvidas para melhor explicar os mecanismos de manutenção da FA. A seguir, estas estão descritas com maior detalhe.

**Múltiplas Ondas de Reentrada Atrial** (“*multiple wavelet hypothesis*”): Essa é a teoria mais aceita para explicar o mecanismo eletrofisiológico mantenedor da FA. Ela foi desenvolvida nos anos 60 por Moe e colaboradores (11), sendo confirmada por Allesie(79) e pelos experimentos de Cox(80). Múltiplos impulsos reentrantes simultâneos percorrem o miocárdio em ambos os átrios, criando uma atividade elétrica



contínua que gira, se divide, se fundiona ou se extingue em torno de regiões onde há bloqueio de condução. Enquanto estas frentes de ativação encontrarem miocárdio em condições de ser despolarizado, a FA se perpetua. Por outro lado, a mesma se extingue, quando isto não ocorrer, ou se as frentes de onda começar a colidir umas com as outras. Na FA não há estabilidade em torno de obstáculos anatômicos, sendo que cada frente de onda condiciona o curso das que a sucedem, alterando a refratariedade e a velocidade de condução ou criando transitoriamente obstáculos funcionais pelo miocárdio atrial que percorre. Esta arritmia se mantém em função da probabilidade de que a cada momento se forme um número de novas frentes de onda igual ou superior ao das que se extinguem (81).

**Circuito com “Onda Mãe”:** Nessa teoria, que se baseia em experimento realizado em preparações isoladas de átrios humanos, se questiona que a ativação atrial durante a FA seja de forma randômica (81). Os autores postulam a presença de uma única “onda mãe”, que mantém de maneira estável o circuito reentrante com a frente de ativação girando como um redemoinho. A porção central possui excitabilidade menor, com condução mais lenta que o tecido atrial periférico. Sua ativação poderia ser estacionária, ocorrendo em apenas um local, como não-estacionária, migrando para outros pontos nos átrios. Este tipo de ativação poderia ocorrer em meios homogêneos, não havendo necessidade de heterogeneidade na formação de circuitos de FA. A presença de barreiras anatômicas dentro dos átrios (orifícios de veias e zonas de fibrose) serviria para quebrar o circuito mãe em múltiplos outros que então se espalhariam pelo miocárdio atrial em múltiplas direções.

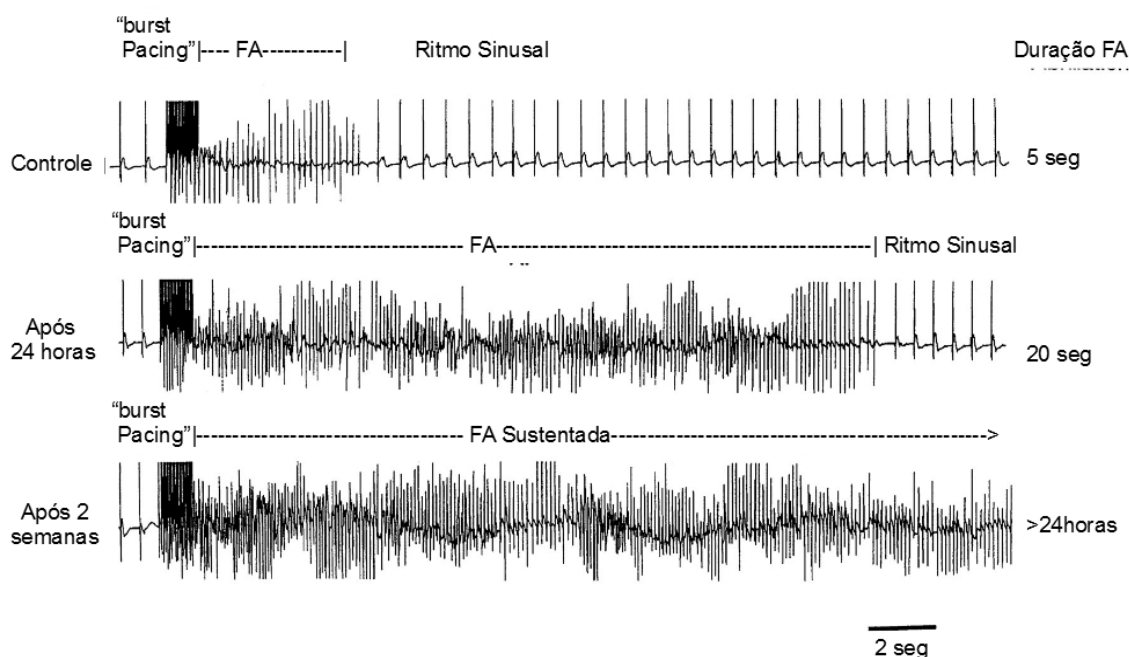
**Desencadeadores Focais e Condução Fibrilatória:** Em 1948, Scherf e colaboradores (10) desenvolveram o primeiro modelo experimental de FA utilizando a aconitina, um alcalóide que ativa os canais de sódio. Esta substância era colocada em algum ponto do átrio, criando um foco automático que disparava a uma frequência tão rápida que impedia que o restante dos átrios mantivesse uma ativação sincrônica. Deste modo, criavam-se áreas de condução lenta e de bloqueio. Como resultado, havia o desenvolvimento da “condução fibrilatória” que gerava padrão eletrocardiográfico de FA. O isolamento do foco de aconitina interrompia a FA, retornando ao ritmo sinusal.

Com isso, após o desencadeamento da FA, diversos fatores agem para que ocorra a perpetuação da arritmia. Um desses fatores é a persistência dos focos de gatilho (em veias pulmonares na sua grande maioria), que iniciaram a arritmia, que agem conjuntamente como um “motor” que mantém a FA. A sustentação da arritmia, nesses casos, depende que o foco de gatilho apresente uma frequência de disparo constante.

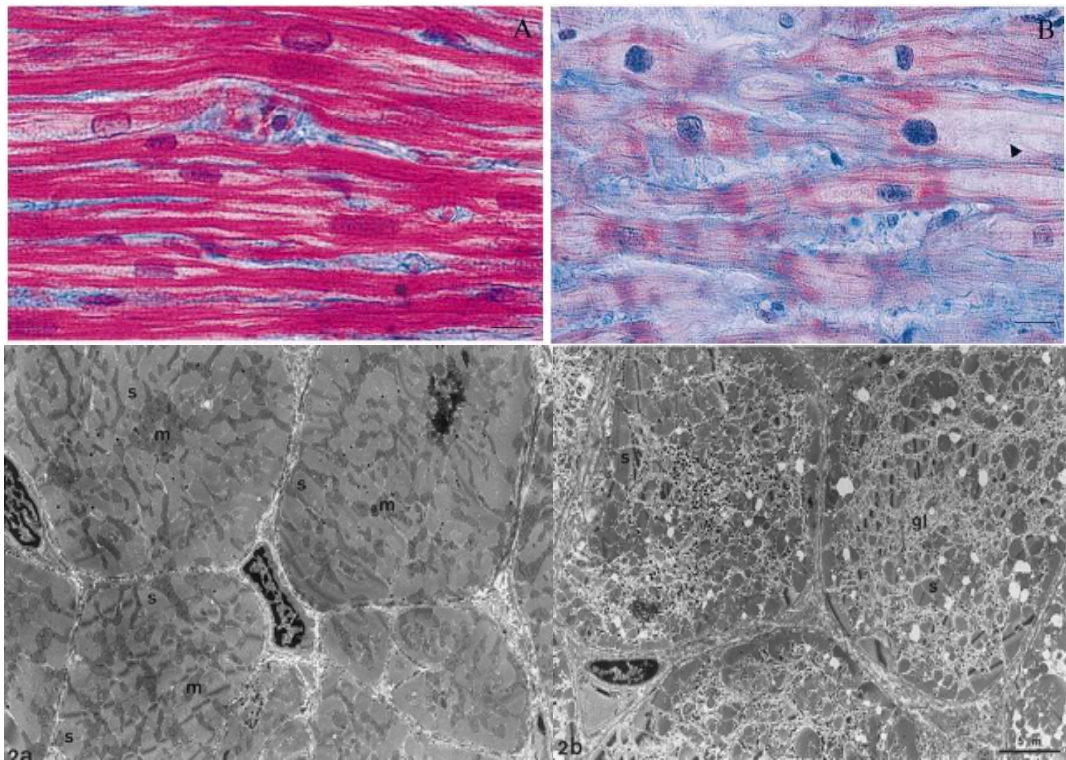
Contudo, a FA pode também persistir na ausência da atividade desses focos de gatilho. Nesses casos, a constância da alteração no ritmo cardíaco ocorre por uma série de alterações estruturais e elétricas dos átrios as quais chamamos de “remodelamento atrial”. São partes integrantes dessa alteração a dilatação atrial, a ocorrência de fibrose intersticial, modificações nas propriedades iônicas do miocárdio atrial, o encurtamento do período refratário e a dispersão na refratariedade atrial.

## 8- Alterações Morfofuncionais dos Átrios em Fibrilação Atrial

Também denominada de remodelamento atrial, as alterações morfofuncionais dos átrios durante FA tornam mais fácil sua perpetuação. O estudo clássico de Wijffels e colaboradores (82) demonstrou que “fibrilação atrial acarreta em fibrilação atrial”. Logo, quanto maior a duração do episódio de fibrilação atrial, maior é a chance dela se tornar crônica e sustentada (figura 18).



**Figura 18-** Prolongamento da duração dos episódios de FA iniciada por estimulação elétrica de alta frequência por 24h e 2 semanas. Os três traçados mostram o eletrograma atrial registrado no mesmo cobaia durante o desencadeamento de FA por estimulação rápida por 1 segundo. O primeiro traçado o cobaia esta em ritmos sinusal todo o tempo e a FA tem término espontâneo após 5 segundos. O Segundo traçado foi registrado após o cobaia ter sido conectado a marcapasso gerador de FA por 24 horas, demonstrando um claro aumento na duração da FA para 20 segundos. O terceiro traçado foi registrado após 2 semanas de FA mantida por estimulação elétrica. Após o início da FA pela estimulação rápida o episódio da arritmia permaneceu sustentado e não mais apresentou término espontâneo. Adaptado de 82.



**Figura 19-** Fotomicrografia com microscopia ótica com coloração PAS aumento de 400x e microscopia eletrônica com aumento de 2000X. A/2a: miócitos em ritmo sinusal. B/2b: miócito atrial em fibrilação atrial; torna-se evidente o aumento da quantidade de colágeno intercelular bem como uma maior vacuolização citoplasmática, com perda de miofibrilas, acúmulo de glicogênio, alteração no tamanho das mitocôndrias, fragmentação do retículo sarcoplasmático e dispersão da cromatina nuclear. (83,84)

As mudanças estruturais nos átrios ocorrem tanto na arquitetura tecidual quanto na celular do miocárdio (figura 19). Em modelos experimentais de átrios acometidos de FA crônica, observa-se a presença de fibrose intercelular e alterações nas organelas intracelulares com maior vacuolização citoplasmática, perda de miofibrilas, acúmulo de glicogênio, alteração no tamanho das mitocôndrias, fragmentação do retículo sarcoplasmático e dispersão da cromatina nuclear. Essas alterações propiciam a ocorrência dos fenômenos eletrofisiológicos necessários para a sustentação da arritmia (84)

Autópsias realizadas em pacientes com FA comprovam a presença dessas modificações estruturais, com extensa substituição fibrótica no átrio, principalmente quando existem, simultaneamente, condições como doença da válvula mitral, insuficiência cardíaca e idade avançada. Somando-se a fibrose, a dilatação atrial decorrente dessas condições favorece o aparecimento de mecanismos reentrantes e distúrbio de condução e refratariedade atrial, facilitando a manutenção da FA.

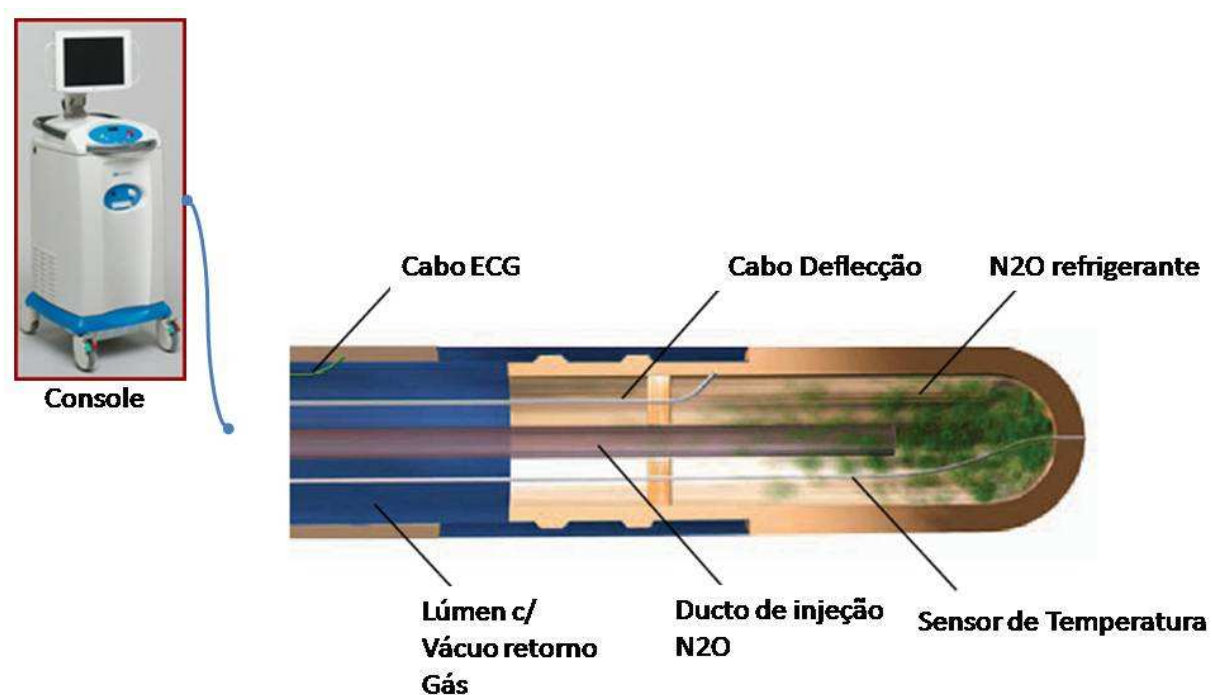
## 9-Crioterapia

A utilização de crioterapia para procedimentos em eletrofisiologia foi inicialmente realizada, na década de 1970, por Klein e cols. (85). Nessa época, seu uso era feito durante ablação cirúrgica de feixes acessórios responsáveis por taquicardia por reentrada átrio ventricular em paciente com síndrome de Wolff-Parkinson-White. Foi com o desenvolvimento de cateteres endovasculares direcionáveis capazes de aplicar crioterapia que o uso desta forma de energia se difundiu nos procedimentos de eletrofisiologia invasiva cardíaca.

O cateter de crioblação funciona através do resfriamento de sua extremidade distal a temperaturas menores que  $-75^{\circ}\text{C}$  para destruir o tecido miocárdico alvejado durante o procedimento de ablação. Para que isso ocorra, o cateter se conecta a um console onde um tanque com óxido nítrico ( $\text{N}_2\text{O}$ ) em forma fluída é injetado no lúmen do cateter para que ocorra o resfriamento da de sua ponta. Ao atingir a ponta, o  $\text{N}_2\text{O}$  se gaseifica resfriando seu entorno. O gás disperso na ponta do cateter é então drenado para fora por meio do sistema de vácuo presente no laboratório de eletrofisiologia. As vantagens da crio-energia na ablação (crioblação), em relação à utilização de formas usuais como calor ou radiofrequência, consolidam-se no fato de que a primeira acarreta uma menor destruição da superfície endotelial e, conseqüentemente, menor formação de trombo no local selecionado para ablação, bem como na criação de lesões mais homogêneas e mais bem delimitadas. Deve-se ressaltar ainda que com a utilização da crioblação exista um potencial de reversibilidade da lesão com o crio-mapeamento. Tal procedimento utiliza temperaturas menos negativas ( $-30^{\circ}\text{C}$ ), identificando a região

necessária para realização da ablação. Caso a zona determinada não seja adequada para o procedimento, o re-aquecimento torna a região resfriada, durante o mapeamento, novamente ativa sem dano permanente (86). Quando uma zona alvo para ablação é encontrada pelo crio-mapeamento, temperaturas mais baixas ( $-60^{\circ}\text{C}$  até  $-80^{\circ}\text{C}$ ) são utilizadas para formar a necrose necessária para inativação tissular (Figura 18).

Em experimentos animais, a aplicação de crio-energia, com temperaturas ao redor de  $0^{\circ}\text{C}$ , em feixes nervosos do sistema vago simpático que antes eram capazes de induzir fibrilação atrial por meio de estimulação elétrica de alta frequência incapaz de iniciar arritmias nos focos congelados. (87)



**Figura 20-** Ilustração do console de crioablação (Cryocath®) e do cateter desenvolvido para aplicação de crioterapia.

## 10-Modelos Animais de Fibrilação Atrial

Existem diversos modelos animais utilizados para o estudo de FA. Esses modelos podem ser realizados tanto em animais de médio porte (cães, cabras, coelhos, carneiros e porcos) como em animais de pequeno porte (ratos e camundongos) (88).

Certamente, o modelo animal mais antigo, para o estudo dessa arritmia, é o que manipula o tônus autônomo nos átrios de cães. Isso foi, inicialmente, descrito por meio da aplicação direta de carbacol sobre o apêndice atrial o leva a ocorrência de FA. A arritmia persiste enquanto a substância estiver em contato com o miocárdio atrial (89). Outra forma de produzir, em laboratório, FA é através da estimulação vagal com uso de pulsos de eletricidade aplicados sobre o nervo vago exposto, durante procedimento cirúrgico, em cães (74). A estimulação adrenérgica, embora diminua em semelhante monta o período refratário atrial, parece não ser capaz de desencadear FA de forma tão reproduzível como com o uso da estimulação vagal, sendo menos utilizada (90)

Outro modelo utilizado para o estudo de FA é o de estimulação artificial de alta frequência. Allessie e colaboradores (82) foram os pioneiros nesse campo. Em seu experimento, a estimulação atrial de alta frequência (64Hz), em cabras, foi capaz de gerar episódios sustentados da arritmia.

Existem diversos outros modelos experimentais para o estudo da FA; entre eles se destacam o da pericardite estéril, o de taquicardiomiopatia iniciada por estimulação ventricular (remodelamento estrutural – substrato) e o uso de animais transgênicos susceptíveis ao desenvolvimento de FA.(91,92,93) A tabela 2 sumariza os diversos



modelos animais de FA, demonstrando as principais alterações eletrofisiológicas geradas por cada modelo.

Tabela 2- Modelos Animais de Fibrilação Atrial

Modelo	Estimulação Sistema Nervoso Autônomo	Taquicardia Atrial (TA)		Insuficiência Cardíaca (IC)		TA+IC	Pericardite Estérel	Envelhecimento	
Espécie	Cães	Cabras	Cães	Cães	Cães	Cães	Porcos	Cães	Cães
Fibrilação Atrial	Sustentada	Sustentada	↑ Induzimento	↑ Induzimento	↑ Induzimento	Sustentada	↑ Induzimento	↑ Induzimento	
<b>Remodelamento Eletrofisiológico</b>									
Funcional	↓ PA, PRE ↑ PRE dispersão	↓ PRE ∅ PRE rate adPat ± ↔ CV	↓ PRE ∅ PRE rate adPat ± ↔ CV	↑ PAD, ± ↑ PRE ↔ CV	± ↓ PRE ↓ CV	Sem relato	↓ PRE ↓ CV	↓ PA, PRE ↑ PRE dispersão ↓ CV of PADs	
Densidade de Correntes Iônicas	↑ IK, Ach (cholinérgic) ↑ IKs, ICa,L (adrenergic)	Sem relato	↓ Ito, ICa,L, INA ∅ IKs, IKr, NCX ↑ IK1, IKACH	↓ Ito, ICa,L, IKs ∅ ICa,T, IKr, IK1, IKur ↑ NCX	↓ ICa,L, + ↓ Ito, IKs ∅ NCX ↑ IK1	Sem relato	Sem relato	Sem relato	
Expressão RNAm	Sem relato	Sem relato	↓ KCND3, CACNA1C, SCNSA ↔ KCNQ1, KCNH2, KCNJ2,3,5,SLCBA1	Sem relato	Sem relato	Sem relato	Sem relato	Sem relato	
Expressão Proteica	Sem relato	Sem relato	↓ Kv4.3, Nav1.5 ↔ Kir3.1, Kir3.4, NCX	Sem relato	Sem relato	Sem relato	Sem relato	Sem relato	
<b>Remodelamento Estrutural</b>									
Anatomica	Normal	↑ tamanho atrial + hipertrofia, miolise, acúmulo de glicogênio ∅ fibrose e Apoptose	↑ tamanho atrial ∅ fibrose or hipertrofia	↑ A & V tamanho + fibrose, hipertrofia	↑ A & V tamanho	↑ A & V tamanho + fibrose, apoptose, inflamação, hipertrofia, myolysis	Epicardial: apoptose, inflamação, necrose	+ fibrose	
Expressão RNAm	Sem relato	Sem relato	↔ ECM	↑ colágeno, fibrilina-1, MMP2, TGFβ1, cEM Actina	Sem relato	↑ Fibronectina-1, fibrilina-1, fibromodulina, MLC- 2V, colágeno	Sem relato	Sem relato	
Expressão Proteica	Sem relato	↑ α-SM Actina ↓ Cx40, titin cardiotin, desmina	↔ ECM	↑ colágeno, fibrilina-1, MMP2	Sem relato	↑ Fibronectina-1, fibrilina-1, MLC2V fibromodulina, colágeno	Epicardial: ↑ vimentin ↓ α-Actinain, Cx40, Cx43	Sem relato	

**Abreviaturas-** Ach: acetilcolina; A&V: átrio e ventrículo; PA: potencial de ação; PAD: duração do potencial de ação; ECM: matriz extracelular; PRE: período refratário efetivo; CV: velocidade de condução; ±: inconsistência entre relatos; ↑: aumento; ↓: diminuição; ↔: inalterado, ∅: ausência ou perda, +: presença ou ganho de. Adaptado de ref. 88.

## 11-Justificativa

O descontentamento com as taxas de sucesso de manutenção de ritmo sinusal com a utilização de farmacoterapia, bem como o aumento progressivo da incidência da FA, faz com que o uso de procedimentos que visem à cura do distúrbio do ritmo seja cada vez mais aplicado. Mesmo assim, os procedimentos de ablação voltados para a FA ainda são heterogêneos, tanto quanto à fonte de energia a ser utilizada, como ao conjunto de lesões a serem realizadas nos átrios e à utilização ou não de alvos alternativos. Por essa razão, a ablação de elementos neurais tem sido utilizada como procedimento isolado ou adjunto nos pacientes com FA. Pouco é sabido sobre os efeitos agudos e em longo prazo, no que se refere à capacidade de indução de FA e às possíveis modificações nas características dessa arritmia, da realização de uma lesão focal em feixe nervoso localizado sobre a veia cava superior, sem ablação concomitante de miocárdio atrial ou gânglios paracardíacos,.

A crioenergia tem se mostrado segura e efetiva em procedimentos eletrofisiológicos. As características histopatológicas da lesão obtida por esse método são atraentes no que tange a homogeneidade tissular, diminuição da ruptura endotelial e menor potencial trombótico.

Nesse contexto, propomos determinar os efeitos da crioablação localizada de elementos neurais em cães, nos quais foi possível de iniciar de maneira reprodutível FA mediante estimulação elétrica de feixes nervosos que cursam sobre a veia cava inferior. Dessa forma, objetiva-se, com o experimento, avaliar a inibição da indução de FA na região ablada, a alteração das propriedades da arritmia induzida, a visualização da integridade do sistema nervoso autônomo pós-ablação, bem como a influência do tempo.

## 12-Objetivos

### **Objetivo Geral:**

1. Avaliar os efeitos da crioablação de feixes vago-simpáticos na capacidade de indução e características da FA em modelo experimental canino.
2. Avaliar os efeitos do tempo na recuperação (“re-inervação”) da funcionalidade do sistema nervoso autônomo.

### **Objetivos Específicos:**

1. Capacidade de induzir FA no local selecionado para ablação no procedimento terminal.
2. Número de sítios capazes de induzir FA no procedimento terminal.
3. Número de estímulos necessários para iniciar FA em cada sítio estimulado (medida da facilidade do induzimento da arritmia).
4. Resposta bradicárdica máxima antes do início da arritmia atrial iniciada pela estimulação do sistema nervoso autônomo durante o procedimento terminal.
5. Duração dos episódios de arritmia desencadeados pela estimulação programada durante o procedimento terminal.
6. Resposta ventricular máxima durante os episódios de FA desencadeados pela estimulação durante o procedimento terminal.

## Referência do Referencial Teórico:

- 1- Lüderitz, Berndt. History of the Disorders of Cardiac Rhythm. Armonk, NY: Futura Pub. Co. 1995. pp1.
- 2-Bennett, Kenneth C. "Reconstructing The Winter's Tale." Shakespeare Survey Volume 46: Shakespeare and Sexuality. Ed. Stanley Wells. Cambridge University Press, 1993. Cambridge Collections Online. Cambridge University Press. 27 March 2010
- 3- Harvey, William. On the Motion of the Heart and Blood In Animals. Buffalo, N.Y.: Prometheus Books, 1993.
- 4- Laennec, Mériadec, René Théophile Hyacinthe Laennec, and James Birch Sharpe. A Manual of Percussion and Auscultation. New York: Samuel Wood and Sons, 1832.
- 5- Lüderitz, Berndt. History of the Disorders of Cardiac Rhythm. Armonk, NY: Futura Pub. Co., 1995.pp 145
- 6- Hollman, A. Sir Thomas Lewis : Pioneer Cardiologist and Clinical Scientist. London: Springer, 1997.
- 7- Winterberg H. Ueber Herzflimmern und seine Beeinflussung durch Kampher. Zeitschrift fur Experimentelle Pathologie und Therapie 1906;3:182–208.
- 8- Lewis T, Schleiter HG. The relation of regular tachycardias of auricular origin to auricular fibrillation. Heart 1912;3:173–93.
- 9- Mines GR. On dynamic equilibrium in the heart. J Physiol 1913;46:349–82.
- 10- Scherf D. Studies on auricular tachycardia caused by aconitine administration. Proc Soc Exp Biol Med 1947;64:233–9.

- 11- Moe GK, Rheinboldt WC, Abildskov JA, et al. A computer model of atrial fibrillation. *Am Heart J* 1964;67:200–20.
- 12- Allesie MA, Rensma PL, Brugada J, et al. Pathophysiology of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J, editors. *Cardiac electrophysiology: from cell to bedside*. Philadelphia: WB Saunders; 1990. p. 548–59.
- 13- Jalife J, Berenfeld O, Mansour M. Mother rotors and fibrillatory conduction: a mechanism of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2002;54:204–16.
- 14- Wu TJ, Kim YH, Yashima M, et al. Progressive action potential duration shortening and the conversion from atrial flutter to atrial fibrillation in the isolated canine right atrium. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1757–65.
- 15- Nathan H, Eliakim M. The junction between the left atrium and the pulmonary veins. An anatomic study of human hearts. *Circulation* 1966;34:412–22.
- 16- Haissaguerre M, Jais P, Shah DC, et al. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998;339:659–66.
- 17- Coumel P. Paroxysmal atrial fibrillation: a disorder of autonomic tone? *Eur Heart J* 1994;15(Suppl A):9–16.
- 18- Gollob MH, Jones DL, Krahn AD, et al. Somatic Mutations in the Connexin 40 Gene (GJA5) in Atrial Fibrillation. *N Engl J Med* 354:2677, June 22, 2006.
- 19- Hodgson-Zingman DM, Karst ML, Zingman LV, et al. Atrial Natriuretic Peptide Frameshift Mutation in Familial Atrial Fibrillation. *N Engl J Med* 359:158, July 10, 2008.
- 20- Fuster V, Ryden LE, Asinger RW, et al. ACC/AHA/ESC guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: executive summary. A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice

Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines and Policy Conferences (Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation): developed in Collaboration With the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001 Oct;38(4):1231-66.

21- American Heart Association. 2004 Heart and Stroke Statistical Update, American Heart Association. Available at: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=1928>. Accessed October 28, 2004.

22- Diretrizes Brasileiras de Fibrilacao Atrial. *Arq Bras Cardiol* 2009; 92(6 supl. 1): 1-39

23- Hart RG, Halperin JL. Atrial fibrillation and thromboembolism: a decade of progress in stroke prevention. *Ann Intern Med* 1999; 131: 688-95.

24- Lloyd-Jones DM, Wang TJ, Leip E, et al. Lifetime risk for development of atrial fibrillation. *Circulation*. 2004;110:1042-1046.

25- Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, et al. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *The New England journal of medicine*. 1982 Apr 29;306(17):1018-22.

26- Singer DE. A 60-year-old woman with atrial fibrillation. *JAMA*. 2003;290:2182-2189.

27- Go AS, Hylek EM, Phillips KA, et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults. National implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors In Atrial Fibrillation (ATRIA) study. *JAMA*. 2001;285:2370-2375.

- 28- Benjamin EJ, Wolf PA, D'Agostino RB, et al. Impact of atrial fibrillation on the risk of death: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1998;98:946-952.
- 29- De Carvalho Filho ET, Miotta ST, Alves AT, et al. Chronic atrial fibrillation in the elderly. *Arq bras cardiol*. 1991 Aug;57(2):109-14.
- 30- Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A, et al. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Archives of internal medicine*. 1995 Mar 13;155(5):469-73.
- 31- Gray, Henry, and Warren H Lewis. *Anatomy of the Human Body*. 20th ed., thoroughly revised and re-edited. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918.
- 32- Netter, Frank H, and Fredrick F Yonkman. *A Compilation of Paintings On the Normal and Pathologic Anatomy and Physiology, Embryology, and Diseases of the Heart*. Summit, N.J.: CIBA Pharmaceutical Company, 1969.
- 33- Nathan H, Eliakim M. The junction between the left atrium and the pulmonary veins. An anatomic study of human Hearts. *Circulation* 1966; 34: 412422.
- 34- Burch GE, Romney RB. Functional anatomy and "throttle valve" action of the pulmonary veins. *Am Heart J* 1954; 47: 5866.
- 35- Ho SY, Sanchez-Quintana D, Cabrera JA, et al. Anatomy of the left atrium: Implications for radiofrequency ablation of atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 15251533.
- 36- Ho SY, Cabrera JA, Tran VH, et al. Architecture of the pulmonary veins: Relevance to radiofrequency ablation. *Heart* 2001; 86: 265270.



- 37-Saito T, Waki K, Becker A. Left atrial myocardial extension onto pulmonary veins in humans: Anatomic observations relevant for atrial arrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000; 11: 888-894.
- 38-Tagawa M, Higuchi K, Chinushi M, et al. Myocardium extending from the left atrium onto the pulmonary veins: A comparison between subjects with and without atrial fibrillation. *PACE* 2001; 24: 1459-1463.
- 39-Kholova I, Kautzner J. Anatomic characteristics of extensions of atrial myocardium into the pulmonary veins in subjects with and without atrial fibrillation. *PACE* 2003; 26: 1348-1355.
- 40- Jais P, Haissaguerre M, Shah DC, et al. A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation. *Circulation* 1997; 95: 572-576.
- 41- Pappone C, Oreto G, Rosanio S, et al. Atrial electroanatomic remodeling after circumferential radiofrequency pulmonary vein ablation: Efficacy of an anatomic approach in a large cohort of patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2001; 104: 2539-2544
- 42-Brunton TL, Fayer J: Note on independent pulsation of the pulmonary veins and vena cava. *Proc R Soc B* 1876;25: 174-176.
- 43-Blom NA, Gittenberger-de Groot AC, DeRuiter MC, et al. Development of the cardiac conduction tissue in human embryos using HNK-1 antigen expression: Possible relevance for understanding of abnormal atrial automaticity. *Circulation* 1999;99: 800-808.

- 44-Paes de Almeida O, Bohm CM, de Paula Carvalho M, et al. The cardiac muscle in the pulmonary vein of the rat: A morphological and electrophysiological study. *J Morphol* 1975;145: 409-434.
- 45-Spach MS, Barr RC, Jewett PH. Spread of excitation from the atrium into thoracic veins in human beings and dogs. *Am J Cardiol* 1972;30: 844-854.
- 46- Masani F. Node-like cells in the myocardial layer of the pulmonary vein of rats: An ultrastructural study. *J Anat* 1986;145: 133-142.
- 47-Perez-Lugones A, McMahon JT, Ratliff NB, et al. Evidence of specialized conduction cells in human pulmonary veins of patients with atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003;14: 803-809.
- 48- Cheung DW. Pulmonary vein as an ectopic focus in digitalis-induced arrhythmia. *Nature* 1981;294: 582-584
- 49- Cheung DW. Electrical activity of the pulmonary vein and its interaction with the right atrium in the guinea-pig. *J Physiol (Lond)* 1981;314: 445-456.
- 50-Chou CC, Zhou S, Miyauchi Y, et al. Effects of procainamide on electrical activity in thoracic veins and atria in canine model of sustained atrial fibrillation. *Am J Physiol* 2004;286: H1936-H1945
- 51- Chiu YT, Wu TJ, Wei HJ, et al. Increased extracellular collagen matrix in myocardial sleeves of pulmonary veins: An additional mechanism facilitating repetitive rapid activities in chronic pacing-induced sustained atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16: 753-759
- 52-Hocini M, Ho SY, Kawara T, et al. Electrical conduction in canine pulmonary veins: Electrophysiological and anatomic correlation. *Circulation* 2002; 105: 2442-2448.

- 53-Hamabe A, Okuyama Y, Miyauchi Y, et al. Correlation between anatomy and electrical activation in canine pulmonary veins. *Circulation* 2003; 107: 15501555
- 54-Arora R, Verheule S, Scott L, et al. Arrhythmogenic substrate of the pulmonary veins assessed by high-resolution optical mapping. *Circulation* 2003; 107: 18161821.
- 55-Kalifa J, Jalife J, Zaitsev AV, et al. Intra-atrial pressure increases rate and organization of waves emanating from the superior pulmonary veins during atrial fibrillation. *Circulation* 2003; 108: 668671.
- 56-Kalifa J, Jalife J, Zaitsev AV, et al. Intra-atrial pressure increases rate and organization of waves emanating from the superior pulmonary veins during atrial fibrillation. *Circulation* 2003; 108: 668671.
- 57-Jais P, Hocini M, Macle L, et al. Distinctive electrophysiological properties of pulmonary veins in patients with atrial fibrillation. *Circulation* 2002; 106: 24792485
- 58-Takahashi Y, Iesaka Y, Takahashi A, et al. Reentrant tachycardia in pulmonary veins of patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2003; 14: 927932
- 59-Hashimoto K, Chiba S, Tanaka S, Hirata M, et al. Adrenergic mechanism participating in induction of atrial fibrillation by ACh. *Am J Physiol.* 1968 Nov;215(5):1183-91
- 60-Coumel P. Autonomic influences in atrial tachyarrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1996 Oct;7(10):999-1007.
- 61- Coumel P, Attuel P, Lavallée J, et al. The atrial arrhythmia syndrome of vagal origin. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 1978 Jun;71(6):645-56

- 62-de Vos CB, Nieuwlaat R, Crijns HJ, et al. Autonomic trigger patterns and anti-arrhythmic treatment of paroxysmal atrial fibrillation: data from the Euro Heart Survey. *Eur Heart J*. 2008 Mar;29(5):632-9. Epub 2008 Feb 12.
- 63-Rosso R, Sparks PB, Morton JB, et al. Vagal Paroxysmal Atrial Fibrillation: Prevalence and Ablation Outcome in Patients Without Structural Heart Disease. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2009 Dec 15
- 64- Oral H, Chugh A, Scharf C, et al. Pulmonary vein isolation for vagotonic, adrenergic, and random episodes of paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2004 Apr;15(4):402-6.
- 65- Armour JA, Murphy DA, Yuan BX, et al. Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system. *Anat Rec*. 1997 Feb;247(2):289-98.
- 66- Pauza DH, Skripka V, Pauziene N, et al. Morphology, Distribution, and Variability of the Epicardiac Neural Ganglionated Subplexuses in the Human Heart. *Anat Rec* 259: 353–382, 2000.
- 67- Pauza DH, Skripka V, Pauziene N, et al. Anatomical Study of the Neural Ganglionated plexus in the Canine Right Atrium: Implications for Selective Denervation and Electrophysiology of the Sinoatrial Node in Dog *Anat Rec* 255:271–294, 1999.
- 68- Armour JA. Functional anatomy of intrathoracic neurons innervating the atria and ventricles. *Heart Rhythm*. 2010 Feb 13.
- 69- Page PL, Dandan N, Savard P, et al. Regional distribution of atrial electrical changes induced by stimulation of extracardiac and intracardiac neural elements. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(2):377-388.

- 70- Janes RD, Brandys JC, Hopkins DA, et al. Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia. *Am J Cardiol* 1986;57(4):299-309.
- 71- Sakurai A, Wilkens JL. Tension sensitivity of the heart pacemaker neurons in the isopod crustacean *Ligia pallasii*. *J Exp Biol* 2003;206(Pt 1):105-115.
- 72- Armour JA, Randall WC, Sinha S. Localized myocardial responses to stimulation of small cardiac branches of the vagus. *Am J Physiol* 1975;228(1):141-148.
- 73- Armour JA. Cardiac effects of electrically induced intrathoracic autonomic reflexes. *Can J Physiol Pharmacol* 1988;66(6):714-720
- 74- Armour JA, Randall WC. Functional anatomy of canine cardiac nerves. *Acta Anat (Basel)* 1975;91(4):510-528.
- 75- Arora RC, Hirsch GM, Johnson HK, et al. Function of human intrinsic cardiac neurons in situ. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280(6):R1736-R1740.
- 76- Page P, Andrew AJ, Yin Y, et al. Differential effects of cervical vagosympathetic and mediastinal nerve activation on atrial arrhythmia formation in dogs. *Auton Neurosci* 2006;128(1-2):9-18.
- 77- Page P, Andrew AJ, Yin Y, et al. Differential effects of cervical vagosympathetic and mediastinal nerve activation on atrial arrhythmia formation in dogs. *Auton Neurosci* 2006;128(1-2):9-18.
- 78- Page PL, Dandan N, Savard P, et al. Regional distribution of atrial electrical changes induced by stimulation of extracardiac and intracardiac neural elements. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(2):377-388.

- 79- Allesie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, et al. Experimental evaluation of Moe's hypothesis of atrial fibrillation. In: Zipes DP, Jalife J, eds, eds. Cardiac electrophysiology and arrhythmias. New York: Grune & Stratton 1985:265-75.
- 80-Smith PK, Holman WL, Cox JL. Surgical treatment of supraventricular tachyarrhythmias. The Surgical clinics of North America. 1985 Jun;65(3):553-70
- 81-Nattel S, Wang Z, Pelletier LC, et al. Termination of atrial fibrillation by drugs. In: Allesie MA, Frommer M, eds, eds. Atrial and ventricular fibrillation: Mechanisms and Device therapy. Armonk: Futura Publishing Co., Inc., 1997:199-214.
- 82- Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*. 1995 Oct 1;92(7):1954-68.
- 83- Rücker-Martin C, Pecker F, Godreau D, et al. Dedifferentiation of atrial myocytes during atrial fibrillation: role of fibroblast proliferation in vitro. *Cardiovasc Res*. 2002 Jul;55(1):38-52.
- 84- Ausma J, Wijffels M, Thoné F, et al. Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat. *Circulation*. 1997 Nov 4;96(9):3157-63.
- 85-Klein GJ, Guiraudon GM, Perkins DG, et al. Surgical correction of the Wolff-Parkinson-White syndrome in the closed heart using cryo surgery: a simplified approach. *J Am Coll Cardiol*. 1984;3(2 pt 1):405-409
- 86- Dubuc M, Roy D, Thibault B et al. Transvenous catheter ice mapping and cryoablation of the atrioventricular node in dogs. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999;22(10):1488-1498.

- 87- Armour JA, Richer LP, Page P, et al. Origin and pharmacological response of atrial tachyarrhythmias induced by activation of mediastinal nerves in canines. *Auton Neurosci* 2005;118(1-2):68-78.
- 88-Nishida K, Michael G, Dobrev D, et al. Animal models for atrial fibrillation: clinical insights and scientific opportunities. *Europace*, 2010 Feb;12(2):160-72.
- 89-Rothberger C, Winterberg H. Ueber Vorhofflimmern und Vorhofflattern. *Archiv Ges Physiol*. 1914;160:42–90.
- 90-Liu L, Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dog: role of refractoriness heterogeneity. *Am J Physiol* 1997;273:H805–H816.
- 91-Li D, Melnyk P, Feng J, et al. Effects of experimental heart failure on atrial cellular and ionic electrophysiology. *Circulation* 2000;101:2631–8. [PubMed: 10840016]
- 92-Kumagai K, Khrestian C, Waldo AL. Simultaneous multisite mapping studies during induced atrial fibrillation in the sterile pericarditis model - Insights into the mechanism of its maintenance. *Circulation* 1997;95:511–21. [PubMed: 9008471]
- 93-Sampson KJ, Terrenoire C, Cervantes DO, Kaba RA, Peters NS, Kass RS. Adrenergic regulation of a key cardiac potassium channel can contribute to atrial fibrillation: evidence from an I Ks transgenic mouse. *J Physiol* 2008;586:627–37. [PubMed: 18006587]

## **Artigo em Português**

**Efeito da Crioablação Localizada de Nervos Mediastinais Paracardíacos na Indução de Fibrilação Atrial Neuralmente Mediada em Modelo Canino**

**Tiago Luiz Luz Leiria MD MSc\*, Tamara Glavinovic BSc, J Andrew Armour MD PhD\*\*, René Cardinal PhD\*\*, Gustavo Glotz de Lima MD PhD\*, Teresa Kus MD PhD\*\***

\* Serviço de Eletrofisiologia do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Brazil

\*\* Research Centre, Hôpital du Sacré-Coeur and Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada.

### **Endereço para correspondência:**

**Dr. Teresa Kus, M.D. Ph.D.**

Research Centre, Hôpital du Sacré-Coeur  
5400, boul. Gouin Ouest, Montreal, QC,  
Canada, H4J 1CS

**Manuscrito a ser encaminhado para o periódico:**

**Heart Rhythm Journal**



**Resumo:**

**Introdução:** A ativação do sistema nervoso intrínseco do coração (SNIC) por meio da estimulação de um único nervo mediastinal é capaz de induzir, de maneira reprodutível, fibrilação atrial (FA) em modelos experimentais caninos. Em pacientes com FA recorrente, a ablação de elementos neuronais tem sido proposta como terapia adjuvante ao isolamento elétrico das veias pulmonares, assim como na desconexão da parede posterior do átrio esquerdo ou na cirurgia do labirinto.

**Objetivo:** determinar os efeitos, em curto e longo prazo, da crioablação de nervos mediastinais nas características da FA induzida pelo vago.

**Métodos:** Quinze cães foram submetidos à cirurgia, sob anestesia geral com técnica asséptica, para a identificação de ramos nervosos do sistema vagossimpático que cursam sobre a veia cava superior. Nestes feixes neuronais, foi realizada estimulação elétrica, com salva de estímulos (5 pulsos, 1 msec duração em intervalos de 5mseg) durante o período refratário atrial, que reprodutivelmente induziram FA. Um desses sítios foi selecionado para crioablação, a qual foi realizada em 11 cães. Quatro animais foram submetidos ao procedimento sem a realização de crioablação servindo, assim, como grupo controle. A capacidade de indução de FA foi revisada (procedimento terminal) em 1 a 2 meses (Crio pós-recente) e 4 meses (Crio pós-tardio) após a crioablação e em 1 a 2 meses após o procedimento placebo (Controles).

**Resultados:** No grupo submetido à crioablação, extinguiu-se a capacidade de iniciar FA estimulando o local selecionado para ablação, tanto no procedimento inicial quanto no novo teste, meses após, durante o procedimento terminal. No procedimento terminal foi

observado, no grupo controle, um maior número de locais testados com capacidade de indução de FA (91% contra 33%) comparativamente ao grupo crioablação (em sítios não foram submetidos a crioablação e, que previamente induziam FA)( $P < 0.0011$ ). A frequência ventricular máxima durante os episódios de FA foi de  $272 \pm 21$  bpm no grupo controle e de  $244 \pm 44$  bpm após a crioablação de um único feixe nervoso ( $P = 0.01$ ). Os episódios de FA tiveram maior duração no grupo controle, registrando-se que o número de estímulos necessários para a indução de FA foi menor neste grupo quando comparado ao grupo Crio pós-recente, retornando a um valor basal no grupo Crio pós-tardio. A resposta bradicárdica antes do início da arritmia mostrou uma tendência inversa, sendo mais elevada no grupo controle e menor no grupo Crio pós-recente, retornando ao basal no grupo Crio pós-tardio. A resposta à estimulação vagal direta e do gânglio estrelado se mostraram preservadas em todos os animais no procedimento terminal. Foi realizada a infusão de nicotina na coronária direita para demonstrar a ativação do plexo ganglionar atrial direito que se manteve também com sua função preservada.

**Conclusão:** Os resultados do estudo sugerem que a criação de uma lesão focal em um pequeno feixe nervoso vagossimpático produz marcado efeito de nocaute sobre a capacidade de indução de FA bem como nas propriedades desta arritmia, quando induzida. Esse efeito é mantido mesmo com a evidência de adequada funcionalidade do sistema nervoso autônomo. Uma recuperação parcial do efeito da crioablação parece ocorrer com o passar do tempo, sugerindo uma plasticidade do SNIC em relação ao dano gerado pela ablação.

**Palavras-chave:** fibrilação atrial, crioablação, vago.

## **Introdução**

A fibrilação atrial (FA) é a arritmia sustentada que é mais comumente encontrada na prática clínica diária, apresentando um crescimento exponencial em decorrência do envelhecimento populacional, assim como um aumento na ocorrência de doenças cardiovasculares crônicas (1).

A FA pode ser classificada de diversas maneiras, ou seja, de acordo com a associação com doença cardíaca estrutural (valvular versus não valvular); a duração (paroxística, persistente ou permanente); a relação com causas secundárias (hipertireoidismo, cirurgia cardíaca); e a relação com sistema nervoso autônomo (FA por indução neural - vagal ou simpática) (2).

São alvos terapêuticos no manejo da FA, primeiramente, a prevenção de fenômenos tromboembólicos e, em segundo lugar, o controle da resposta ventricular ou a manutenção do ritmo sinusal (2). Este último pode ser alcançado com o uso de fármacos antiarrítmicos, cardioversão elétricas repetidas e, mais recentemente, com terapias baseadas em cirurgia ou intervenção percutânea por cateter. O tratamento por cateter tem como objetivo as modificações no substrato necessário para a perpetuação da FA (ex. procedimento do labirinto e ablação linear) ou a eliminação de focos de gatilhos responsáveis pelo início dessa arritmia (ex. Isolamento de veias pulmonares, ablação de potenciais fracionados) (5-7).

Em modelo experimental canino, a FA por indução neural pode ser iniciada através da estimulação direta de feixes nervosos, (para cardíacos) do sistema vagossimpático que cursam sobre a veia cava superior ou veias pulmonares (8-10) os quais se conectam diretamente ao sistema nervoso intrínseco do coração (SNIC) (11-13).

O SNIC é responsável pela regulação cardíaca mediante uma hierarquia neuronal que inclui componentes do sistema nervoso central, pelos componentes intra e extratorácico; assim como pelos cardíacos propriamente ditos. Durante a estimulação destes feixes nervosos, que cursam a superfície da veia cava superior, se pode observar, inicialmente, uma resposta vagal acentuada com bradicardia importante seguida de atividade ectópica atrial localizada na parede livre do átrio direito e na região do feixe de Bachmann. Estas ectopias atriais resultam no desencadeamento de FA(13-14).

A utilização de crio-energia durante procedimentos eletrofisiológicos já está bem estabelecida. Esta forma de energia é utilizada para a criação de lesões endocárdicas durante os procedimentos de ablação por cateter. As vantagens da crio-energia na ablação (crioablação) em relação à utilização de formas usuais como calor ou radiofrequência consolidam-se no fato de que a primeira acarreta uma menor destruição da superfície endotelial e, conseqüentemente, menor formação de trombo no local selecionado para ablação, bem como na criação de lesões mais homogêneas e mais bem delimitadas. Deve-se ressaltar ainda que, com a utilização da crioablação, existe um potencial de reversibilidade da lesão com o crio-mapeamento. Tal procedimento vale-se de temperaturas menos negativas ( $-30^{\circ}\text{C}$ ), identificando a região necessária para a realização da ablação. Durante o mapeamento, caso a zona determinada não seja adequada para o procedimento, o reaquecimento torna a região resfriada novamente ativa sem dano permanente (15). Quando uma zona alvo para ablação é encontrada pelo crio-mapeamento, temperaturas mais baixas ( $-60^{\circ}\text{C}$  até  $-80^{\circ}\text{C}$ ) são utilizadas para formar a necrose necessária para a inativação tissular.

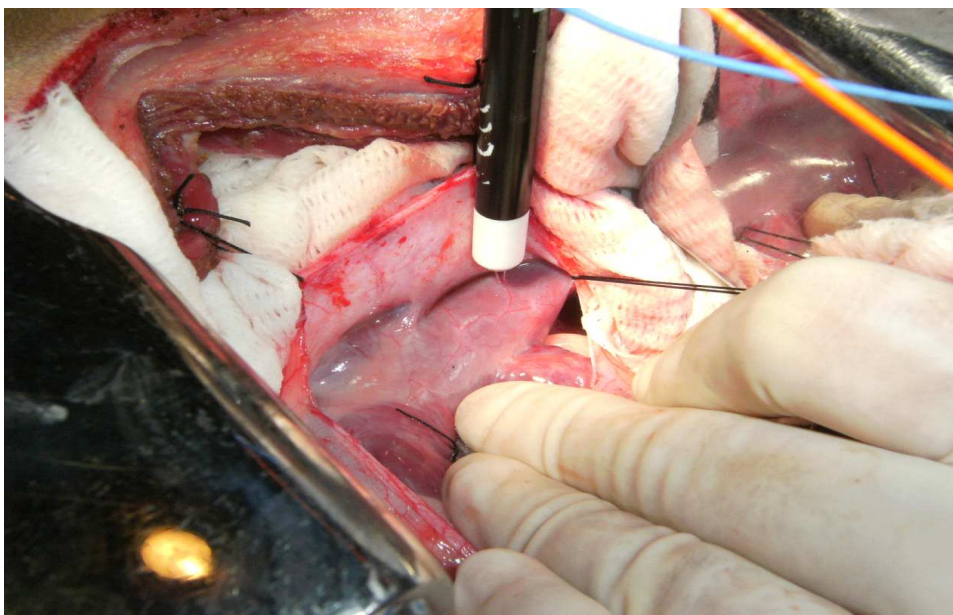
Pelo fato das redes neuronais (que regulam a atividade cardíaca) apresentarem redundância em sua arquitetura, é aventada a hipótese de que a ablação de um único feixe nervoso mediastinal que se conecta ao SNIC pode perturbar a capacidade de indução da FA e, ainda, que esse efeito possa ser dependente do tempo em um modelo experimental canino. Espera-se que tais resultados auxiliem na compreensão dos mecanismos patofisiológicos da FA por indução neural e que sirvam, também, para guiar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

**Métodos:**

O protocolo experimental realizado foi aprovado pelo Comitê de Cuidados Animais do Centro de Biomedicina do Hospital Du Sacré-Coeur de Montreal.

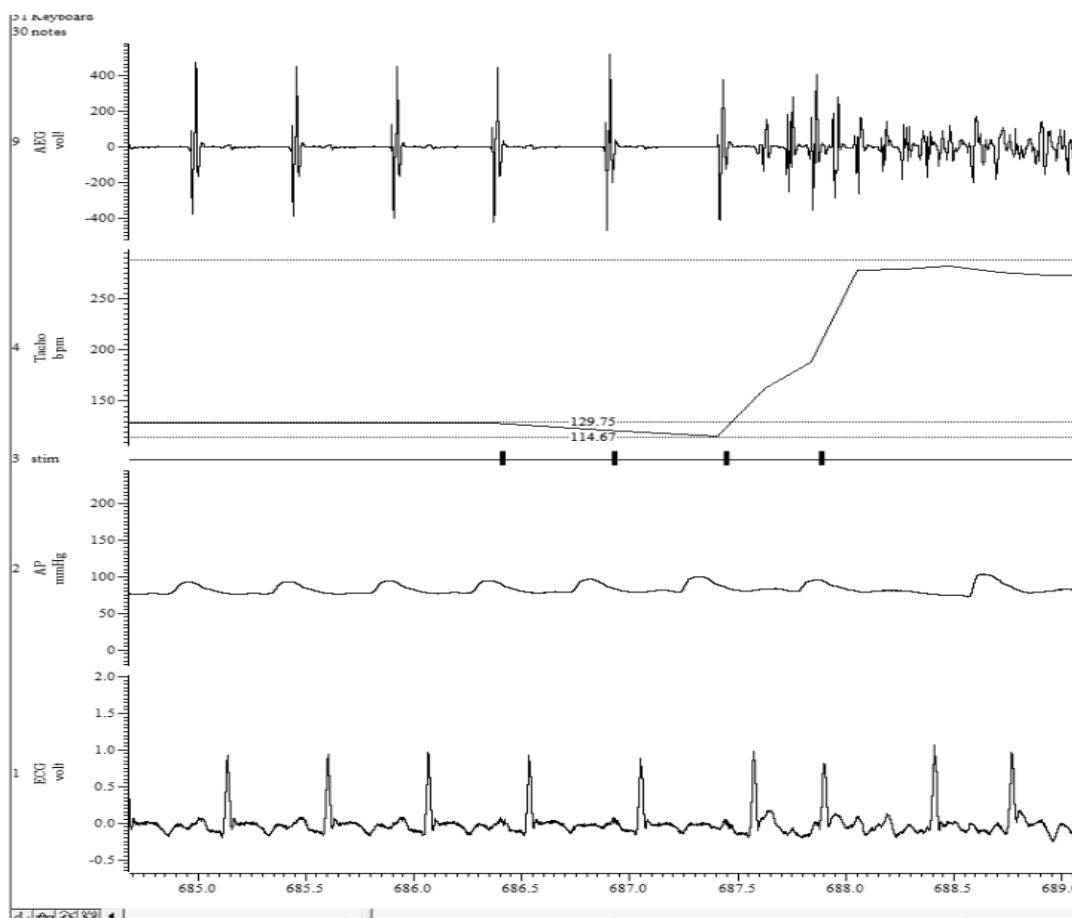
**Procedimento Inicial:**

Com o uso de anestesia intravenosa (midazolam 0,15mg/Kg, buprenorfina 0,02mg/Kg e propofol 7mg/Kg bolo e infusão de 0,4mg/Kg/min), quinze cães foram entubados e colocados em ventilação mecânica para serem, então, submetidos à toracotomia lateral direita utilizando técnica asséptica. Durante a exposição das estruturas mediastinais, ao menos dois feixes nervosos que cursam sobre a veia cava superior foram adequadamente identificados através da visualização de vasos que os acompanham, conforme já descrito pelos autores (figura 1)(8,9). A estimulação elétrica (8, 9,13) nessas estruturas induziu, de maneira reprodutível, uma resposta bradicárdica seguida de taquiarritmia.



**Figura 1-** Toracotomia lateral direita onde se visualiza a veia cava superior, átrio direito. Observa-se a caneta estimuladora sobre pequeno vaso sanguíneo que é acompanhado por um diminuto ramo do SNCI vago-simpático.

O protocolo de estimulação neural para indução de arritmias consistiu do uso de salvas de cinco estímulos elétricos (1-2mA, duração 1 mseg, com intervalo de 5mseg entre cada pulso) aplicados durante o período refratário do batimento atrial consecutivo. O início da salva de estímulos foi sincronizada 20-30mseg após a despolarização da região atrial mais próxima do eletrodo explorador para evitar captura direta da musculatura atrial pela estimulação programada. A estimulação era interrompida de maneira imediata, no momento do aparecimento de qualquer tipo de arritmia atrial (figura 2). Após o término espontâneo da arritmia induzida, a estimulação era novamente realizada com intuito de comprovar a reprodutibilidade de indução da arritmia em questão.



**Figura 2-** Registro transoperatório da indução de FA. Observa-se que logo no início da estimulação ocorre leve bradicardia e, após a terceira salva de estímulos (barras sólidas negras), ocorre o aparecimento de ectopia atrial com desencadeamento de FA. AEG= eletrograma bipolar do átrio direito; Tacho= gráfico da frequência cardíaca em bpm; Stim= registra das salvas de estimulação; AP= registro invasivo de pressão arterial; ECG= registro eletrocardiográfico da derivação D2.

Para facilitar a localização das zonas estimuladas durante o procedimento terminal, 1 a 4 meses após a cirurgia inicial, fios de sutura foram colocados de maneira superficial ao redor desses sítios. Uma dessas zonas era então selecionada para criablação como abaixo descrito. Os registro da estimulação, do ECG de superfície, dos eletrogramas locais, da pressão arterial e da frequência respiratória foram realizados com o uso do programa Spike© (Cambridge Eletronic 2007).



**Grupos do Experimento:**

**Grupo Controle (n=4).** Foi realizado nos cães um procedimento placebo envolvendo anestesia geral e toracotomia lateral direita com identificação dos feixes nervosos na superfície da veia cava superior, bem como a indução de arritmias perante estimulação nervosa. Após o final da cirurgia, o tórax era fechado e o animal era encaminhado para recuperação com manejo adequado da dor e profilaxia infecciosa com antibióticos. Dois desses cães foram submetidos ao experimento final em 1 mês e outros dois em 2 meses após a instrumentação inicial.

**Grupo Crioablação (n=11).** Nestes animais, após a identificação dos sítios nos quais a FA era induzida de maneira reprodutível, a aplicação de crioenergia era realizada com a utilização de cateter Cryocath© *7-French*, com ponta de 4 mm de comprimento, utilizando-se temperaturas entre  $-60^{\circ}\text{C}$  e  $-80^{\circ}\text{C}$  por um período de 30 segundos. Meia hora após o término da crioablação, a estimulação elétrica era novamente realizada para evidenciar a supressão da capacidade de indução de FA na zona tratada e a manutenção da resposta normal com indução de arritmia no outro sítio. Caso, após uma única aplicação de frio, fosse ainda registrada uma resposta tipo bradi-taquicárdica, nova crioablação era realizada nessa região para assegurar a não capacidade de indução de FA. Quando este objetivo era atingido, o tórax era fechado e o animal era encaminhado para recuperação com manejo adequado da dor e profilaxia infecciosa com antibióticos. Quatro destes animais foram submetidos ao procedimento terminal em 1 mês e três cães em 2 meses (Crio pós-recente; n=7). Quatro outros cães foram submetidos ao procedimento terminal 4 meses após a crioablação (Crio pós-tardio; n=4).

No período pós-operatório até a data do experimento terminal, todos os animais foram submetidos, semanalmente, durante o período de repouso, à monitorização ambulatorial de 24h.

### **Experimento Terminal**

Este procedimento consiste de cirurgia sob anestesia geral com cloralose (25-50mg/Kg dose ataque, suplementada com 25mg/Kg IV de acordo com a necessidade), intubação endotraqueal e ventilação mecânica seguidas de toracotomia bilateral para exposição do coração. Os nervos previamente estudados eram novamente submetidos a protocolo de estimulação conforme acima descrito. Outros nervos mediastinais, na região anterior e posterior da veia cava, foram também identificados e testados quanto à capacidade de indução de FA.

Para testar a integridade da função autonômica foram estimulados o vago cervical à direita e à esquerda, estimulação supra-máxima dos gânglios estrelados à direita e à esquerda. A ativação do plexo ganglionado atrial direito (PGAD) foi testada por meio de infusão nicotina (1 µg/ml) na coronária direita.

### **Respostas Cardíacas à Ativação do SNIC**

Os efeitos da ativação do SNIC no miocárdio atrial e ventricular e suas modificações decorrentes da crioablação localizada foram determinados pela habilidade de induzir taquiarritmias atriais com a estimulação nervosa mediastinal. Os efeitos no nó sinusal foram medidos pela máxima resposta bradicárdica secundária à estimulação neural antes do aparecimento de taquiarritmia atrial. Já os efeitos no nó atrioventricular

foram medidos pela máxima resposta ventricular durante os episódios de FA induzida por estimulação do ICNS.

**Análise Estatística:**

As variáveis categóricas são expressas como número absoluto e percentagem, o teste Chi quadrado foi utilizado quando necessário. Dados contínuos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média e analisados com teste t. Para variáveis não paramétricas foi utilizado o teste de Willcoxon-Mann-Whitney. A análise de variâncias (ANOVA) foi utilizada para comparações envolvendo mais de dois grupos. Por sua vez, a análise pós-hoc foi feita com uso do teste de Student-Newan-Keuls para comparações pareadas. O erro alfa foi delimitado como 5% e beta de 80%. Por fim, o banco de dados e cálculos estatísticos foram realizados utilizando o programa MedCalc(r) V.7.3.

Primeiramente os dados foram analisados pela comparação de todos os animais do grupo controle contra todos em que a crioblação foi realizada, acrescentando-se a análise entre os grupos controle, Crio pós-recente e Crio pós-tardia. Os animais em que o experimento terminal foi realizado entre um e dois meses após a crioblação foram agrupados no grupo Crio pós-recente em decorrência da ausência de diferença entre os resultados nos tempos de seguimento pós-operatório.

**Resultados:**

A tabela 1 demonstra as características de cada cobaia.

**Tabela 1- Características dos animais em estudo**

<b>Cobia (Sexo/Peso Kg)</b>	<b>Grupo/ Tempo no Expt. Terminal (meses)</b>	<b>Expt.Terminal No. sítios estimulados</b>	<b>Expt.Terminal No. de sítios que induziram FA (%)</b>	<b>No. de episódios de FA</b>
A (M/27)	ABL/ 2	10	1 (10%)	1
B (F/30)	ABL/2	10	1 (10%)	1
C (F/34)	ABL/4	9	5 (56%)	5
D (F/37)	ABL/4	7	3 (43%)	7
E (F/32)	ABL/1	10	1 (10%)	3
F (F/32)	ABL/1	9	1 (11%)	4
G (F/32)	Cont/1	4	4 (100%)	5
H (M/29)	Cont/2	5	4 (80%)	5
I (M/24)	Cont/1	4	4 (100%)	4
J (M/33)	Cont/2	6	5 (83%)	5
K(M/26)	ABL/2	5	0 (0%)	0
L (M/26)	ABL/4	8	5 (62%)	10
M (F/30)	ABL/4	7	4 (57%)	4
N (F/30)	ABL/1	8	6 (75%)	8
O (M/27)	ABL/1	7	2 (28%)	5

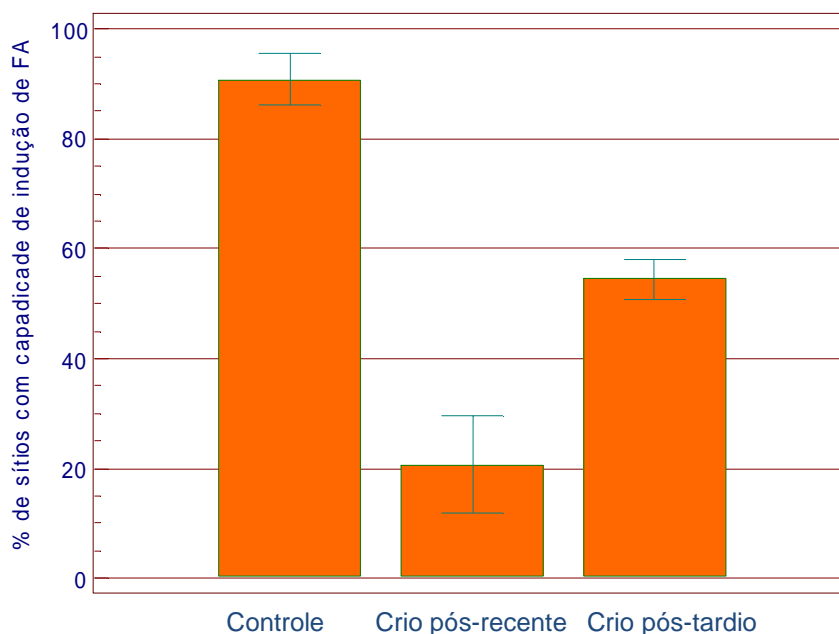
**ABL = crioablação; cont.=controle; Expt.= experimento; M=masculino; F=feminino**

**Capacidade de Indução da Fibrilação Atrial:**

Não foi possível induzir FA no sítio selecionado para a aplicação de crio energia em todos os animais que foram submetidos ao procedimento durante a cirurgia inicial.

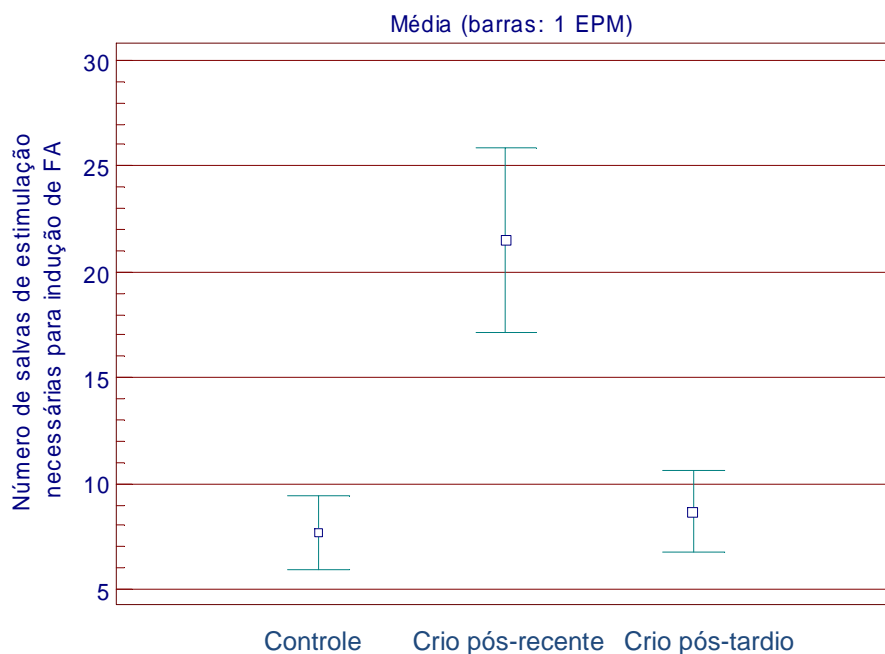
A FA no experimento terminal foi induzida em todos os cães controles (n=4). No grupo crioablação, a FA permaneceu não induzível no local que foi alvo da terapia com

lesão térmica. Contudo, a FA permaneceu induzível em outros feixes nervosos que não foram selecionados para a crioablação em 10 de 11 animais.



**Figura 3-** Porcentagem de sítios com capacidade de indução de FA após ablação de um único feixe nervoso sobre a veia cava. ANOVA: F: 17.76;  $P < 0.001$ , Student-Newman-Keuls para comparações pareadas com  $P < 0.05$  entre controle contra ambos grupos experimentais, bem como entre os grupos experimentais.

No grupo controle, a FA foi induzida por estimulação neural em 91% dos sítios testados no experimento terminal, mas isto ocorreu em apenas 33% dos sítios em que foi realizada crioablação (diferença 57.8; IC95%:27.8 – 87.8,  $P = 0.0011$ ). A figura 3 mostra a estratificação do grupo crioablação em Crio pós-recente e Crio pós-tardio. Comparativamente ao grupo controle, a estimulação neural foi capaz de induzir FA em 21% dos sítios no grupo Crio pós-recente ( $P < 0.05$ ) e em 54% dos sítios no grupo Crio pós-tardio ( $P < 0.05$ ).



**Figura 4-** Número de salvas de estímulos necessários para indução de FA no grupo controle comparativamente aqueles submetidos a crio-ablação e testados em 1-2 meses (Crio Recente) e em 4 meses (Crio Tardio). ANOVA: F: 6.43; P=0.003, Student-Newman-Keuls para comparações pareadas P<0.05 para ambos o controle e Crio Tardio contra Crio Recente. Não houve diferença entre o grupo controle e Crio Tardio.

Foi verificada, também, diferença no número de salvas de estímulo elétrico necessárias para a obtenção de FA. Como demonstrado na figura 4, foi necessário um maior número de estímulos para indução de FA no grupo Crio pós-recente quando comparado com controle (P<0,05). Todavia, este valor retornou ao estado basal no grupo Crio tardia.

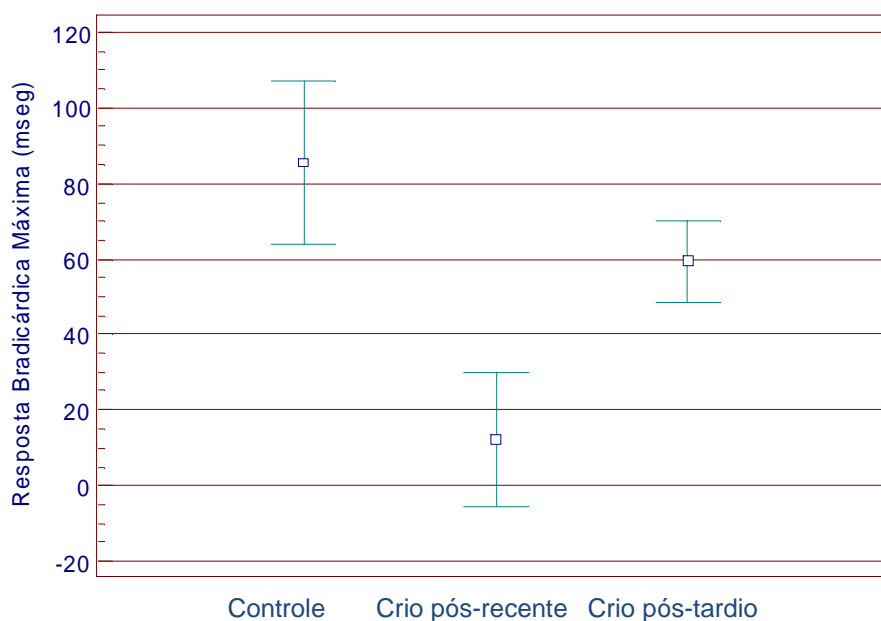
#### **Resposta Bradicárdica Neuralmente Induzida antes do Início da FA:**

Foi definido, como resposta bradicárdica máxima antes do início da arritmia atrial, o intervalo de tempo (milissegundos) entre dois eletrogramas atriais (intervalo A-

A) imediatamente anteriores à primeira ectopia induzida pela estimulação. A diferença entre essa medida e o intervalo A-A anterior ao início da estimulação foi considerada como a resposta bradicárdica neuralmente induzida.

A resposta bradicárdica foi menor no grupo de animais submetidos à crioablação comparativamente aos controles (38msec versus 85Msec;  $P=0,03$ ). A figura 5 demonstra a diferença existente entre o grupo controle e o grupo crioablação estratificados pelo tempo de seguimento (recente e tardio). Foi encontrada uma significativa diminuição na resposta bradicárdica nos cães Crio pós-recente comparativamente aos controles ( $P<0,05$ ). Nos cães novamente operados após 4 meses do procedimento inicial, foi abolido o efeito na supressão da resposta bradicárdica, sendo o resultado semelhante ao do grupo controle.

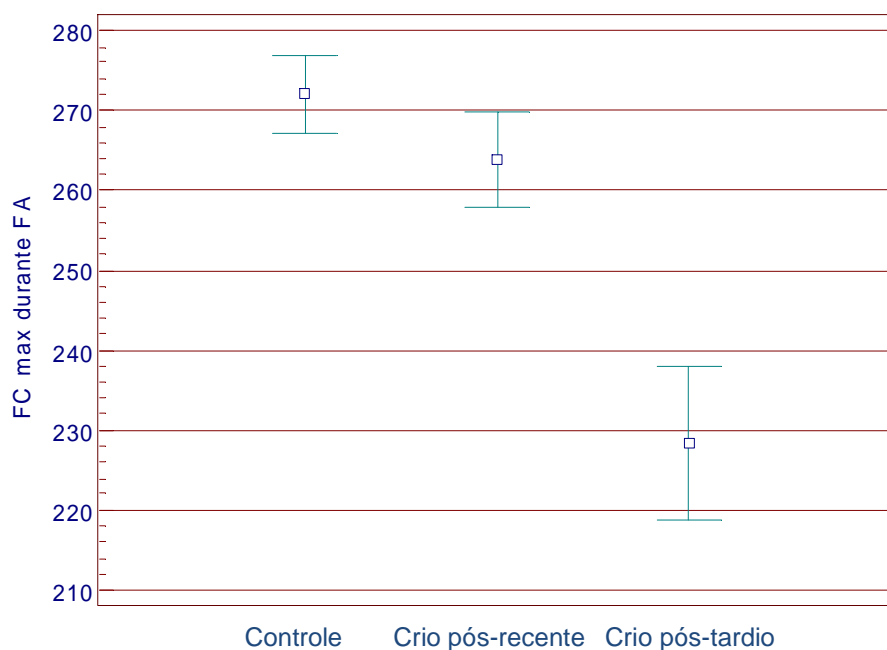




**Figura 5-** Resposta bradicárdica máxima antes do início de FA por indução neural nos grupos Controle, Crio Recente e Crio Tardia. ANOVA F: 4.6, P=0.014. Student-Newman-Keuls para comparações pareadas com P<0.05 para diferença na modificação no intervalo A-A antes do início da FA de 12mseg Crio Recente, 85mseg Controle e 59mseg Crio tardia. Não houve diferença entre os dois últimos grupos

### **Resposta Ventricular durante os Episódios de FA neuralmente induzida:**

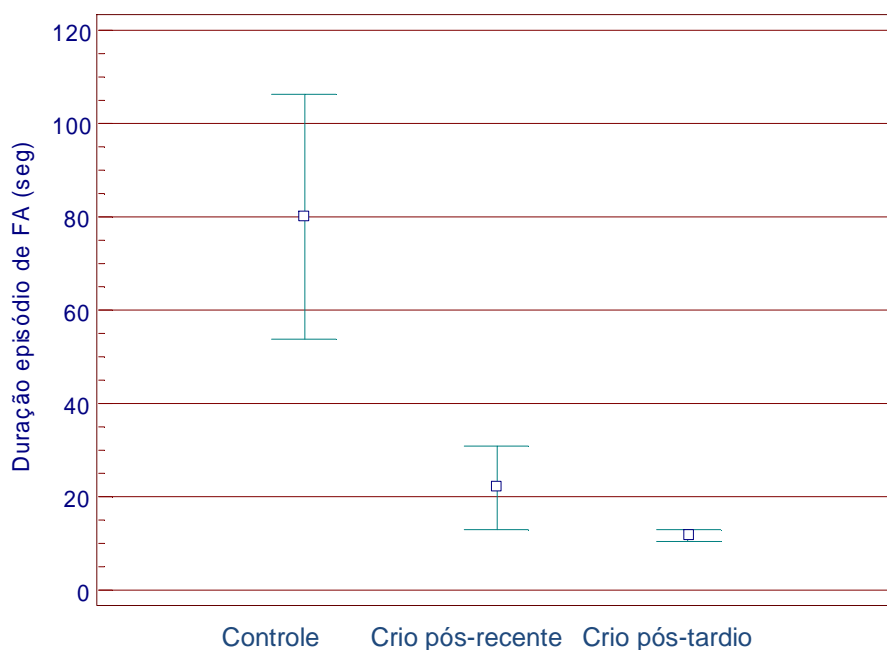
A frequência ventricular máxima durante os episódios de FA foi maior no grupo controle ( $272 \pm 21$ bpm) em relação aos animais submetidos à crioablação de um único ramo eferente vagossimpático ( $244 \pm 44$ bpm; P=0.01). Essa diferença foi decorrente de uma diminuição da frequência cardíaca durante o episódio de arritmia no grupo Crio tardia (P<0,05), a qual não foi verificada no grupo Crio pós-recente (figura 6).



**Figure 6-** Frequência ventricular máxima durante FA neuralmente induzida. ANOVA F: 8.88,  $P < 0.001$ , Student-Newman-Keuls para análises pareadas com  $P < 0.05$  para diferença entre Grupo Controle e Crio recente contra Crio tardio. Não houve diferença entre os dois primeiros grupos.

#### **Duração dos episódios de FA induzida por estimulação do ICNS:**

Os episódios de FA foram mais longos no grupo controle (80 segundos) comparativamente aos animais submetidos à crioablação (16 segundos;  $P = 0.0008$ ). A figura 7 demonstra a análise comparativa dos grupos controle, Crio pós-recente e Crio pós-tardio. Os episódios de FA tiveram mais curta duração no grupo Crio pós-tardio, porém em ambos os grupos de intervenção houve significância estatística ( $P < 0.05$ ).



**Figura 7** -Duração dos episódios de FA por indução neural nos diferentes grupos do experimento. ANOVA F: 6.3,  $P= 0.003$ . Student-Newman-Keuls para análise pareadas mostrou uma diferença significativa ( $P<0.05$ ) entre o grupo Controle contra ambos grupos submetidos a crio-ablação.

### **Integridade dos Feixes Vagossimpáticos:**

Em todos os animais, as respostas vagais (bradicardia significativa com ou sem bloqueio atrioventricular ou assistolia) foram observadas com estimulação do nervo vago à esquerda e à direita. A estimulação direta dos gânglios estrelados desencadeou uma resposta taquicárdica em todas as cobaias. A infusão de nicotina na coronária direita, que supre o plexo ganglionado atrial, levou à resposta bradicárdica seguida de taquicardia.

### **Discussão:**

No presente estudo, como em outros (8,13,16), foi obtida, de maneira reprodutível, a indução de taquiarritmias atrial por estimulação elétrica direta sobre

pequenos ramos nervosos vagossimpáticos que percorrem a superfície anterior da veia cava de cães. Isso ocorreu através de estimulação elétrica durante o período refratário atrial de maneira a evitar uma estimulação muscular atrial direta. Armour et al (17) demonstraram que a aplicação de crioenergia com temperaturas ao redor de 0°C naqueles feixes nervosos tornaram inefetiva a indução de arritmias no foco resfriado. Neste estudo, após a crioablação daqueles mesmos feixes com a utilização de temperaturas mais negativas (-60°C), eliminou-se a habilidade de indução de FA na zona que foi submetida à crioablação.

Os efeitos da crioablação de um único feixe nervoso, nos animais experimentais, levaram a uma desorganização na hierarquia funcional do SNIC. Em contraste com espécies inferiores de animais, a arquitetura neuronal de mamíferos não é apenas um conjunto de neurônios conectados serialmente (14,18,19), mas sim uma rede organizada com diversas interconexões, ficando claro por meio daquele experimento que a função normal da rede neural pode ser alterada por meio de uma pequena lesão em um único feixe nervoso. Esta perturbação fica evidenciada por meio das diferentes respostas à estimulação neural nos sítios não selecionados para crioablação nos animais que foram submetidos a crioablação.

#### **Capacidade de indução de FA:**

No experimento terminal, a FA permaneceu induzível em todos os animais do grupo controle e em 10/11 daqueles que foram submetidos à crioablação. Em um dos cães não foi possível induzir FA em nenhum sítio após a crioablação. Contudo, a proporção de sítios testados em que a estimulação neural permaneceu capaz de induzir

FA foi menor nos animais submetidos à crioablação localizada. Isto provavelmente ocorre devido a um efeito de nocaute do SNIC secundário à lesão de um de seus componentes, o qual é dependente do tempo e tende a diminuir com seguimento, porém não é completamente revertido em período de observação maior (4meses) após a crioablação.

O número de salvas de estímulos elétricos necessários para a indução de FA foi diferente entre os grupos, ficando mais evidente nos cães re-intervidos precocemente (1-2 meses) após a crioablação. No grupo Crio tardia (4 meses pós-ablação), o número de estímulos necessários para iniciar as taquiarritmias supraventriculares foi semelhante ao do grupo controle. Esta modificação na capacidade de iniciação da FA pode ser decorrente da dificuldade de recrutar uma resposta simpática efetiva que leve ao desencadeamento das ectopias necessárias para o aparecimento da fibrilação atrial.

Os efeitos, em longo prazo, sugerem uma reorganização da estrutura funcional do SNIC, com o retorno a um estado basal de capacidade de indução como no grupo controle.

#### **Resposta bradicárdica durante estimulação antes do início da FA:**

Como já demonstrado em outros estudos (20,21), a ablação de componentes do SNIC leva a uma supressão do alentecimento da frequência cardíaca, assim como a inabilidade da indução da FA. No presente estudo, a bradicardia antes dos episódios de FA foi menor no grupo Crio pós-recente, isso paralelamente a uma diminuição no induzimento de taquiarritmias atriais o que, provavelmente, representa uma importante atenuação da resposta parassimpática desencadeada pela estimulação nervosa

mediastinal. Nos animais operados em 4 meses, o efeito da crioablação localizada já se mostrava atenuado. Esta observação sugere uma readaptação em longo termo da resposta neural com uma reorganização, tempo dependente, do SNIC após a crioablação.

Dados de outros autores(22), referente aos efeitos em longo prazo da desnervação vagal, demonstram que em 4 semanas após a destruição seletiva de plexos neuronais por radiofrequência, a capacidade de induzir FA permanece mantida. Isto também ficou evidenciado na população estudada, porém com uma importante diferença no que diz respeito a facilidade de induzir FA, bem como às características da arritmia (duração e frequência ventricular máxima), sendo a diferença intimamente ligada ao momento do experimento terminal em relação ao procedimento de crioablação.

Os experimentos em modelo canino, (23) comparando a estimulação de plexos neuronais em veias pulmonares e seus efeitos à exposição de norepinefrina e acetilcolina, demonstraram efeitos similares nas características do potencial de ação. Essas modificações levam a um marcado encurtamento do potencial de ação com o aparecimento de pós-potenciais precoces. A destruição destes plexos com uso de radiofrequência manteve o induzimento de FA, por meio de estimulação programada, com salvas de alta frequência (durante período refratário atrial) aplicadas na base de cada uma das veias pulmonares. Também permaneceu intacta a resposta de induzimento de FA quando a estimulação foi realizada nos Coxins gordurosos próximos às veias pulmonares superiores esquerda e direita. Dados de ablação de FA em humanos revelam que os grupos de gânglios autonômicos, que circundam o átrio esquerdo, podem ser efetivamente destruídos durante o procedimento realizado pelo endocárdio. A ablação direcionada a esses elementos nervosos em pacientes com FA vagalmente mediada não é

suficiente para prevenir à indução repetida da arritmia por meio de estimulação atrial com alta frequência (22). Isso provavelmente significa que durante procedimentos ablativos para o tratamento desta arritmia, neste grupo específico de pacientes, outros alvos devam ser procurados e não meramente a ablação neural. Esta forma de ablação neural parece ser um complemento de procedimentos envolvendo as veias pulmonares não devendo ser utilizado de maneira solitária para o tratamento de FA por cateter.

#### **Resposta Ventricular durante FA Neuralmente Induzida:**

A resposta ventricular máxima durante a FA foi mais elevada nos grupos controle e Crio pós-recente, comparativamente ao grupo Crio pós-tardio. A presença de taquicardia mais acentuada nos dois primeiros grupos parece ser explicada pelo momento (1 a 2 meses pós-crioablação) em que o procedimento terminal foi realizado naqueles animais. Em ambos os grupos, a presença de inflamação subaguda combinada com um estado hiper-adrenérgico pós-operatório pode ter acarretado uma maior permissividade do nó atrioventricular durante a FA. Este aumento no tônus adrenérgico e o nocauteamento da resposta parassimpática ficam claramente demonstrados nos Holters de 24 horas, os quais foram realizados nas primeiras 2 semanas pós-operatórias que evidenciaram uma elevação na frequência cardíaca média, tanto nos controles como nos grupos intervenção (Figura 8 no Apêndice).

#### **Duração dos episódios de FA induzida por estimulação do ICNS:**

Mesmo que a capacidade de induzir FA retorne com o tempo após a crioablação localizada, constatou-se uma diminuição no tempo de duração desses episódios. Este

efeito apresentou maior magnitude no grupo Crio pós-tardio. Tal observação pode indicar um potencial benefício clínico se esse tipo de resposta ocorrer também em humanos que foram submetidos à crioablação neuronal. Existe uma relação direta entre a duração dos episódios de FA e a formação de trombos no interior do átrio esquerdo (25), assim uma duração menor da arritmia pode sugerir uma diminuição no risco de tromboembolismo após a crioablação neuronal. Desta forma, ainda, pode-se valer de tal diminuição de duração dos episódios de FA secundária a crioablação localizada para tentar alterar a progressão desta patologia. Segundo o conceito comumente aceito de que “FA gera FA”(26) uma menor duração de FA talvez impeça a progressão de episódios paroxísticos para crônico por retardo no remodelamento elétrico atrial.



**Conclusão:**

Os resultados apurados sugerem que um dano focal no SNIC, gerado por meio de crioablação, acarreta um marcado efeito de nocaute nas respostas autonômicas desencadeantes de arritmias, evidenciado por significativa diminuição da resposta bradicárdica e redução na habilidade de induzir FA por intermédio da estimulação elétrica programada do SNIC. As modificações, sob exame, parecem não alterar as respostas vagais descendentes do SNC e, muito menos, os efeitos da ativação simpática normal. Verifica-se que mesmo que ocorra uma recuperação parcial na capacidade de indução de FA, a duração dos episódios parece estar diminuída no seguimento a longo prazo. A recuperação parcial sugere certa plasticidade da arquitetura funcional do SNIC. O desafio deste tipo de terapia para o tratamento de FA será o de determinar a extensão das lesões necessárias para a crioablação neural em que se diminua o impacto da FA em longo prazo, sem resultar em dano a resposta cronotrópica e inotrópica normais do coração.

## Referências

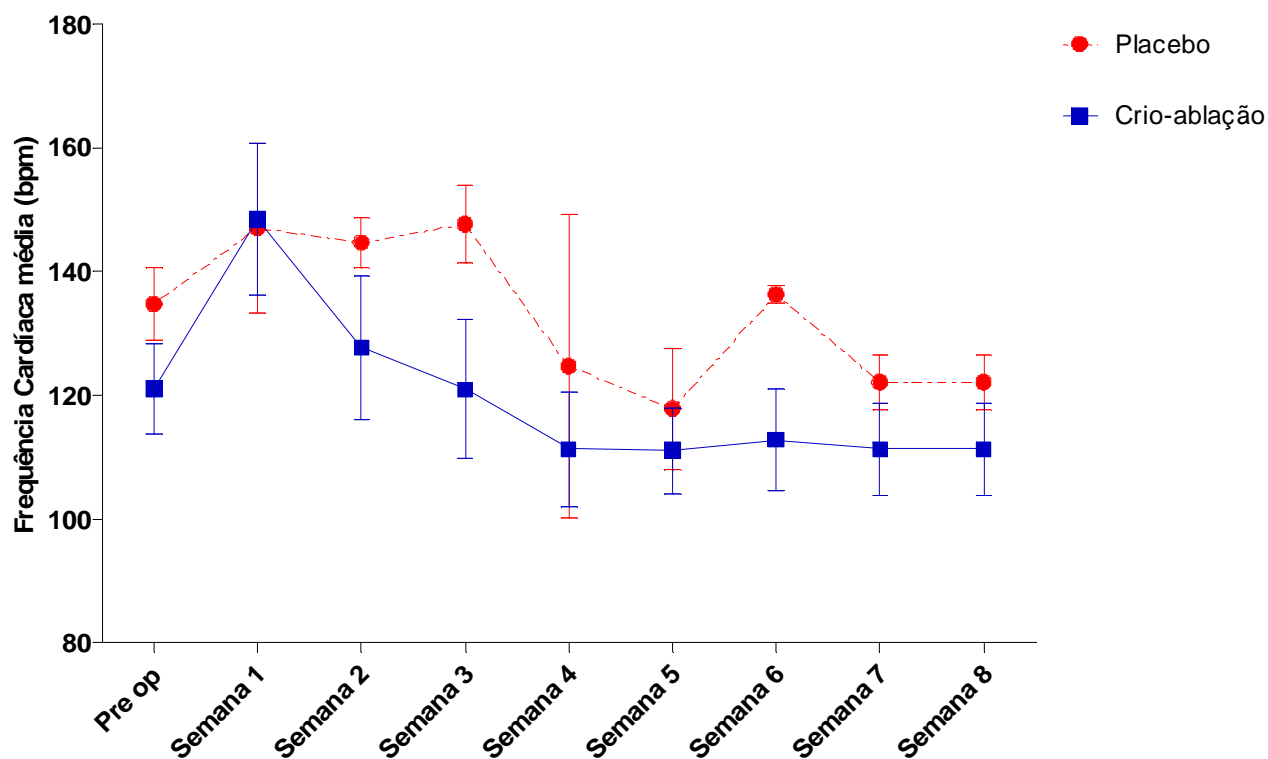
1. Go AS, Hylek EM, Phillips KA et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA* 2001;285(18):2370-2375.
2. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: full text: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation) developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Europace* 2006;8(9):651-745.
3. Pappone C, Santinelli V, Manguso F et al. Pulmonary vein denervation enhances long-term benefit after circumferential ablation for paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2004;109(3):327-334.
4. Scanavacca M, Pisani CF, Hachul D et al. Selective atrial vagal denervation guided by evoked vagal reflex to treat patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2006;114(9):876-885.

5. Oral H, Chugh A, Scharf C et al. Pulmonary vein isolation for vagotonic, adrenergic, and random episodes of paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15(4):402-406.
6. Oral H, Pappone C, Chugh A et al. Circumferential pulmonary-vein ablation for chronic atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2006;354(9):934-941.
7. Onorati F, Curcio A, Santarpino G et al. Routine ganglionic plexi ablation during Maze procedure improves hospital and early follow-up results of mitral surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136(2):408-418.
8. Armour JA, Hageman GR, Randall WC. Arrhythmias induced by local cardiac nerve stimulation. *Am J Physiol* 1972;223(5):1068-1075.
9. Armour JA, Randall WC, Sinha S. Localized myocardial responses to stimulation of small cardiac branches of the vagus. *Am J Physiol* 1975;228(1):141-148.
10. Armour JA. Cardiac effects of electrically induced intrathoracic autonomic reflexes. *Can J Physiol Pharmacol* 1988;66(6):714-720.
11. Armour JA, Randall WC. Functional anatomy of canine cardiac nerves. *Acta Anat (Basel)* 1975;91(4):510-528.
12. Arora RC, Hirsch GM, Johnson HK, Hancock FC, Armour JA. Function of human intrinsic cardiac neurons in situ. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280(6):R1736-R1740.

13. Page P, Andrew AJ, Yin Y, Vermeulen M, Nadeau R, Cardinal R. Differential effects of cervical vagosympathetic and mediastinal nerve activation on atrial arrhythmia formation in dogs. *Auton Neurosci* 2006;128(1-2):9-18.
14. Page PL, Dandan N, Savard P, Nadeau R, Armour JA, Cardinal R. Regional distribution of atrial electrical changes induced by stimulation of extracardiac and intracardiac neural elements. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(2):377-388.
15. Dubuc M, Roy D, Thibault B et al. Transvenous catheter ice mapping and cryoablation of the atrioventricular node in dogs. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999;22(10):1488-1498.
16. Nadeau R, Cardinal R, Armour JA et al. Cervical vagosympathetic and mediastinal nerves activation effects on atrial arrhythmia formation. *Anadolu Kardiyol Derg* 2007;7 Suppl 1:34-36.
17. Armour JA, Richer LP, Page P et al. Origin and pharmacological response of atrial tachyarrhythmias induced by activation of mediastinal nerves in canines. *Auton Neurosci* 2005;118(1-2):68-78.
18. Janes RD, Brandys JC, Hopkins DA, Johnstone DE, Murphy DA, Armour JA. Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia. *Am J Cardiol* 1986;57(4):299-309.
19. Sakurai A, Wilkens JL. Tension sensitivity of the heart pacemaker neurons in the isopod crustacean *Ligia pallasii*. *J Exp Biol* 2003;206(Pt 1):105-115.

20. Scherlag BJ, Nakagawa H, Jackman WM et al. Electrical stimulation to identify neural elements on the heart: their role in atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2005;13 Suppl 1:37-42.
21. Scherlag BJ, Yamanashi W, Patel U, Lazzara R, Jackman WM. Autonomically induced conversion of pulmonary vein focal firing into atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(11):1878-1886.
22. Oh S, Zhang Y, Bibeovski S, Marrouche NF, Natale A, Mazgalev TN. Vagal denervation and atrial fibrillation inducibility: epicardial fat pad ablation does not have long-term effects. *Heart Rhythm* 2006;3(6):701-708.
23. Scherlag BJ, Nakagawa H, Jackman WM et al. Electrical stimulation to identify neural elements on the heart: their role in atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2005;13 Suppl 1:37-42.
24. Danik S, Neuzil P, d'Avila A et al. Evaluation of catheter ablation of periatrial ganglionic plexi in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2008;102(5):578-583.
25. Stoddard MF. Risk of thromboembolism in acute atrial fibrillation or atrial flutter. *Echocardiography* 2000;17(4):393-405.
26. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92(7):1954-1968.

## APÊNDICE



**Figura 8-** ANOVA de medidas repetidas da FC média durante registro de Holter nos animais do experimento. Existe uma influência do tempo em relação ao procedimento cirúrgico na FC média, porém esse não é diferente entre os grupos. O tempo é responsável por 16.44% da variância total (após ajuste para pares)  $F = 5.64$ .  $DFn=8$   $Dfd=48$   $P < 0.0001$

## **Artigo em Inglês**

### **Long Term Effects of Cardiac Mediastinal Nerve Cryoablation on the Inducibility of Neurally Mediated Atrial Fibrillation in Canines**

**Short Title: Local neural cryoablation in atrial fibrillation**

**Tiago Luiz Luz Leiria MD MSc\*, Tamara Glavinovic BSc, J Andrew Armour MD PhD\*\*, René Cardinal PhD\*\*, Gustavo Glotz de Lima MD PhD\*, Teresa Kus MD PhD\*\***

\* Serviço de Eletrofisiologia do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul, Brazil

\*\* Research Centre, Hôpital du Sacré-Coeur and Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada.

#### **Address of corresponding author:**

**Dr. Teresa Kus, M.D. Ph.D.**

Research Centre, Hôpital du Sacré-Coeur  
5400, boul. Gouin Ouest, Montreal, QC,  
Canada, H4J 1CS

This study was supported by a CIHR-Industry (Cryocath) Program – Operating Grant UOP-71653.

**Manuscript to be submitted to the Heart Rhythm Journal**

**Abstract**

**Background:** In canines, excessive activation of select mediastinal nerve inputs to the intrinsic cardiac nervous system (ICNS) induces atrial fibrillation (AF).

**Objective:** Since ablation of neural elements is proposed as an adjunct to circumferential pulmonary vein ablation for AF, we investigated the short and long-term effects of mediastinal nerve ablation on AF inducibility.

**Methods:** Under general anesthesia, in 11 dogs several SVC mediastinal nerve sites were identified that, when stimulated electrically during the atrial refractory period, reproducibly initiated AF. Cryoablation of one nerve site was then performed and inducibility retested early (1-2 months post Cryo; n=7) or late (4 months post Cryo; n=4). Four additional dogs that underwent a sham procedure were retested 1 to 2 months post-surgery.

**Results:** Stimulation induced AF at 91% of nerve sites tested in control versus 21% nerve sites early and 54% late post-ablation (both  $P < 0.05$ ). Secondly, fewer stimuli were required to induce bradycardia in controls vs the Early Cryo group; this capacity returned to normal values in the Late Cryo group. AF episodes were longer in control vs the Early or Late Cryo groups. Heart rate responses to vagal or stellate ganglion stimulation, as well as to local nicotine infusion into the right coronary artery, were similar in all groups.

**Conclusion:** Focal damage to intrinsic cardiac neuronal inputs causes short-term stunning of neuronal inducibility of AF without major loss of overall adrenergic or cholinergic efferent neuronal control. That recovery of AF inducibility occurs rapidly post-surgery indicates the plasticity of intrathoracic neuronal elements to focal injury.

**Key words:** atrial fibrillation, intrinsic cardiac nervous system, mediastinal nerves, cryoablation, canine model

**Glossary:** AF – atrial fibrillation; ICNS – intrinsic cardiac nervous system; RAGP – right atrial ganglionated plexus; SVC – superior vena cava



## Introduction

Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia identified in daily clinical practice. Its prevalence is increasing due to aging of the population and the occurrence of degenerative cardiac diseases<sup>1</sup>. This arrhythmia can be classified in several ways, according to its: a) association with structural cardiac disease (valvular versus non-valvular AF); b) duration (paroxysmal, persistent or permanent); c) relation to secondary causes (hyperthyroidism, cardiac surgery); and , d) neuronal inducibility (vagal or sympathetic induced AF)<sup>2</sup>.

The goals of AF treatment are first prevention of thromboembolism and second either control of the ventricular response rate in AF or the establishment and subsequent maintenance of sinus rhythm<sup>2</sup>. To achieve the latter, we have available various anti-arrhythmic drugs, electrical cardioversion and, more recently, surgical or catheter based therapies. The latter target either the substrate responsible for AF perpetuation (e.g. Maze procedure, linear catheter ablation) or the trigger points that initiate the arrhythmia (e.g. pulmonary vein isolation/disconnection). Some authors also advocate the destruction of cardiac components of the thoracic autonomic nervous system in the therapy of paroxysmal<sup>3,4</sup> or even chronic AF<sup>5-7</sup>.

The potential role of neural mechanisms in AF induction has been demonstrated in a canine experimental model by direct electrical activation of para-cardiac vagosympathetic nerves that lie over the superior vena cava (SVC) or pulmonary veins<sup>8-10</sup>. These nerves input to the intrinsic cardiac nervous system (ICNS)<sup>11-13</sup> which is implicated in regional cardiac control. As such this represents the target organ nervous system of the neuronal hierarchy that includes central as well as intrathoracic extracardiac components. Upon stimulation of nerve bundles overlying the SVC, an initial vagal bradycardia response occurs that is followed by ectopic atrial

depolarizations localized to the right atrial free wall, Bachmann bundle region and other atrial regions. This atrial ectopy subsequently leads to AF<sup>13,14</sup>.

Application of cryothermia is one electrophysiological procedure available to create targeted endocardial lesions. The advantages of cryothermia for ablation of a specific tissue (cryoablation) over the standard use of heat or radiofrequency ablation is that the former produces less disruption of the endothelial surface and consequently less thrombus formation at the ablated site. Also, it produces a more homogeneous and delimited lesion. Once a region is identified as an important target for ablation by means of cryomapping, lower temperatures (-60° to -80°C) can then be applied to achieve definitive tissue necrosis – i.e., long-term local structural damage.

Given that excessive activation of the ICNS can induce atrial fibrillation and since that neural network displays redundancy of function, we sought to determine in a canine model of neurally-induced AF whether localized cryoablation of a single mediastinal nerve input to the ICNS would perturb the inducibility of AF, and if so, whether such an effect is time-dependent (i.e., long lasting). Nerve bundles were targeted rather than ganglia because of the ease and reproducibility of anatomic identification. Thus, these experiments were designed to advance our understanding of not only the pathophysiology of neurally induced AF in order to guide the development of new therapeutic approaches, but also to determine whether mediastinal neuronal ablation does incur long-term, stable management of neuronally induced AF.

## Methods

These experiments were performed in accordance with guidelines for animal experimentation (World Medical Association - American Physiological Society, 2002) and approved by the Animal Care Committee of the Centre de Biomedicine of Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal of the University of Montreal.

### Initial procedure:

Under intravenous anesthesia (midazolam 0.15mg/kg, buprenorphine 0.02mg/kg, propofol 7 mg/kg bolus+0.4 mg/kg/min), fifteen adult mongrel dogs (33 +/- 3 kg) were intubated and ventilated. Thereafter, a limited right-sided intercostal thoracotomy was performed using aseptic technique. At least two mediastinal nerves were identified on the intrapericardial surface of the SVC such that when electrical stimuli were repeatedly delivered to these sites a bradycardia response and subsequent atrial tachyarrhythmia were consistently induced<sup>8,9,13</sup>. Focal electrical stimulation was performed using a train of 5 electrical stimuli (1–2 mA, 1 ms duration; 5 ms pulse interval) delivered during the atrial refractory period. The beginning of the stimulus train was timed 20-30 msec following depolarization of the nearest atrial regions to avoid direct atrial muscle capture. This was maintained synchronized with each subsequent atrial beat until the required response was achieved. Stimulation was interrupted immediately on the appearance of any atrial arrhythmia. Once spontaneous termination of the tachyarrhythmia occurred, stimulation was reapplied to verify reproducibility of arrhythmia initiation. Initially, in order to facilitate localization at the terminal experiment one to four months later of stimulation

sites sutures were threaded superficially around two such nerve sites, one of which underwent cryoablation (described below). In subsequent animals, a photograph of the anatomy of ablated and nonablated nerves was used as reference for the terminal experiments. Continuous records of stimulation pulses, intracardiac electrograms, blood pressure and surface EKG were obtained via the software Spike2© (Cambridge Electronic 2007). Figure 1 shows an example of stimulation leading to atrial fibrillation.

We defined the maximal bradycardia response elicited before the start of atrial arrhythmia by measuring the time (in msec) between the two last local atrial electrograms (A-A interval) before the first ectopic beat arose. This measurement was compared to the A-A interval recorded just before the beginning of ICN stimulation.

### Animal Groups

*Control Group (n=4):* A sham procedure involving general anesthesia and a right-sided thoracotomy was performed in 4 dogs. At least 2 nerves were identified on the SVC which when stimulated induced atrial arrhythmias on repeat stimulation. The thorax was then closed and residual air removed. The animals were allowed to recover with appropriate antibiotic and pain management. Two of these dogs underwent terminal experimentation one month and two dogs 2 months after the initial surgery and nerve identification.

*Cryoablation Group (n=11):* In this group of animals, two mediastinal nerve sites were identified which, when repeatedly stimulated induced AF. Thereafter, cryothermia (-60 to -80°C for 30s) was applied to one of these nerve sites using a Cryocath 7F catheter with a 4 mm-length tip. Thirty minutes after cryoablation, electrical stimuli were re-applied to these two nerve sites to verify that the bradycardia-tachyarrhythmia response remained inducible at the non-ablated sites

but not at the ablated site. Once non-inducibility at the ablated site was confirmed, the thorax was closed in layers and, following removing of residual air from the thoracic cavity, the animals were allowed to recover with appropriate antibiotic and pain management.

Of these 11 animals, four underwent the terminal experimental protocol at 1 month and three at 2 months (Early Cryo; n=7) post-surgery; another 4 animals underwent the terminal experiment at 4 months following cryoablation (Late Cryo).

#### Terminal experiment:

Terminal experiments were performed under anesthesia (following sedation) using chloralose (25–50 mg/kg IV bolus supplemented with 25 mg/kg IV as required). Animals were intubated and ventilated; the heart was exposed through a bilateral thoracotomy. The stimulation protocol described above was repeated at the two sites previously identified at the initial surgery. In addition, other mediastinal nerves on the anterior and posterior surface of the SVC were visually identified and stimulated, as described above but using also a larger electrical current (3–5mA), to test AF inducibility in these other non-ablated mediastinal nerves.

Assessment of the integrity of autonomic neural inputs to the intrinsic cardiac nervous system was performed by applying supramaximal electrical stimuli individually to the right and left cervical vagosympathetic trunks as well as the right and left stellate ganglia. Thereafter, neurons in the right atrial ganglionated plexus (RAGP) were preferentially activated by local administration of nicotine (1 µg/ml) into their arterial blood supply (via a catheter placed in the right coronary artery).

#### Cardiac Responses to ICNS activation

The effects of ICNS activation on the atrial myocardium and its modification by localized cryoablation were determined by the ability of mediastinal nerve inputs to the ICNS to induce atrial tachyarrhythmia. This was done by assessing the effects of mediastinal nerve stimulation on sinus node function as measured by the maximal bradycardia response elicited by nerve stimulation before the onset of atrial arrhythmias. The effects of mediastinal nerve stimulation on the atrioventricular nodal function was also assessed by monitoring the maximal ventricular response rate during episodes of ICNS-induced AF.

### Statistical Analysis

Categorical variables are expressed as absolute number and percentage. Chi square tests were employed where appropriate. Continuous data were expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean as analyzed with either the Student's t-test or, for non-parametric values, with the Willcoxon-Mann-Whitney test. Analysis of variance (ANOVA) was used for comparison among data obtained from more than two groups. Post hoc analysis was done using the Student-Newman-Keuls test for all pairwise comparisons. We assumed an alpha error of 5% and a beta of 80%. The data bank statistical calculations and graphs were performed using the software MedCalc® V.7.3. Experimental data were analyzed first by comparing all control data versus data obtained from all animals in which cryoablation was performed. Subsequently, the control group was compared to the Early and Late Cryo groups. Animals in the one or two months post-ablation studies were grouped as Early Cryo as there no difference in results was obtained at those times.

## Results

Table 1 lists the characteristics identified for each experimental animal as well as the number of AF episodes induced by mediastinal nerve stimulation. Figure 2 shows a schematic representation of the anatomy of the ablated and non-ablated sites in each animal.

**Inducibility of Atrial fibrillation - overview.** During the terminal experiment, neural stimulation induced AF in all control dogs (n=4). In all the animals that underwent cryoablation, AF was no longer inducible by stimulation an ablated site following application of cryothermia at the initial surgical intervention. Thus, in those animals in which a neural site was cryoablated, AF remained uninducible at that site. On the other hand, in 10 of the 11 animals AF was induced when other (non-treated) nerve sites were stimulated.

**Inducibility of Atrial fibrillation - details.** In the control group, AF was inducible at 91% of nerve sites at which focal electrical stimuli were applied during the terminal experiments. In the cryoablation group, neural stimulation elicited AF at only 33% of nerve sites tested (Difference: 57.8., 95%CI: 27.8 to 87.8, P=0.0011). Figure 3 illustrates data showing the stratification of data obtained from both cryoablation groups as separated into the Early and Late Cryo groups. Comparing with control group data, AF was induced on stimulation of only 21 % of nerve sites tested in the Early Cryo group (P<0.05) versus 54% of nerve sites tested in the Late Cryo group (P<0.05).

Differences were also identified among groups when comparing the number of bursts of electrical stimuli required to successfully initiate AF. A greater number of trains of electrical stimuli were required to induce AF in the Early Cryo group compared to the control group (Fig. 4A). These stimuli numbers returned toward baseline values in the Late Cryo group.

**Neurally induced bradycardia initiated before the onset of AF.** The maximal bradycardia response (A-A interval) induced before the first atrial ectopic beat was shorter in animals which had previously undergone localized neural cryoablation compared to the control group (38 msec vs 85msec;  $p=0.03$ ). Figure 4B compares the control group against dogs stratified by time (Early and Late) following cryoablation. This bradycardia response was reduced significantly early following cryoablation compared to control animals ( $p<0.05$ ); lesser (nonsignificant) bradycardiac modification was identified at 4 months post-cryoablation.

**Ventricular rate during induced AF.** The maximal ventricular response rate during ICNS stimulation-induced AF was higher in the Control group ( $272\pm 21$  bpm) than in the entire group that underwent cryoablation ( $244\pm 44$  bpm;  $P =0.01$ ). Comparing the Early and Late Cryo groups, a significantly lower maximal ventricular response rate was elicited during AF in the Late ( $P<0.05$ ), but not in the Early Cryo group, compared to control animals (Fig. 4C).

**Duration of neurally induced AF.** Episodes of neurally induced AF lasted longer in control animals ( $80\pm 114$  sec) compared with those that underwent cryoablation ( $16\pm 4$  sec;  $P=0.0008$ ), with the greater effect occurring in the Late Cryo group. (Fig. 4D)



**Integrity of parasympathetic and sympathetic efferent neuronal inputs to the ICNS.**

Responses to vagal (marked bradycardia with or without AV block or transient asystole) or stellate ganglion stimulation (tachycardia) were similar in all groups. In accord with that, responses elicited by local nicotine infusion into the right coronary artery supplying the right atrial ganglionated plexus (initial bradycardia followed by tachycardia) were similar in all groups.

## Discussion

In our study, as in others<sup>8,13,16</sup>, we were able to consistently induce atrial tachyarrhythmias by direct electrical stimulation of nerve bundles arising from the thoracic vagosympathetic trunk that runs over the ventral surface of the SVC in dogs. This was achieved by applying stimuli during the atrial refractory period so as to avoid direct muscle capture. Armour et al<sup>17</sup> have previously demonstrated that the delivery of cryothermia (at temperatures around 0°C) to these nerve bundles rendered the arrhythmias non-inducible on stimulation of the cooled focus. After cryoablation of these vago-sympathetic nerve bundles using a lower temperature of -60°C, we demonstrated persistent elimination of the ability of the ablated neural site to induce atrial arrhythmias when stimulated.

The effects of cryoablation on a single nerve bundle in our experimental animals led to disruption of ICNS function. In contrast to lower animals, the neuronal hierarchy in mammals is not arranged in a simple serial fashion<sup>14,18,19</sup>. Instead, it consists of interconnected networks of neurons. We were able to demonstrate that the normal function of these networks could be disrupted by the destruction of a single nerve bundle. Evidence for such a functional disruption was provided by the alteration of the tachyarrhythmia response elicited by neural stimulation of non-ablated sites, even following cryoablation of another small mediastinal nerve.

**Inducibility of Atrial fibrillation:** At the terminal experiment, AF was still inducible in all control animals and in 10/11 animals that had undergone cryoablation of a single neural site when other sites were stimulated. In one dog we were not able to induce AF post-cryoablation by

stimulation of any mediastinal nerve, including those that were not previously ablated, nor at sites located cranial, caudal, medial or lateral to the ablated site. Thus, overall ablation did obtund the capacity of a small mediastinal nerve to induce atrial arrhythmias when stimulated at the same site that had produced arrhythmias pre-ablation.

Although AF was still inducible in most animals, the proportion of sites tested at which neural stimulation remained capable of inducing AF was lower in animals post cryoablation. This is likely due to a stunning effect on the ICNS that such an injury might induce as a result of damage to one of its inputs. However, this effect was time-dependent in as much as it diminished with time though it was not completely reversed following cryoablation with longer observation times (i.e., 4 months). These data imply that full reinnervation had not occurred by 4 months following local mediastinal nerve cryoablation.

There was also a difference identified in the number of stimulation bursts required to initiate a tachyarrhythmia response post-ablation. This was most evident early (1-2 months) following cryoablation. In the Late Cryo group (4 months post ablation), the number of stimuli bursts needed to induce atrial tachyarrhythmia returned to baseline. The early change may reflect difficulty in recruiting a significant sympathetic response involved in initiating atrial ectopy responsible for the onset of atrial tachyarrhythmia. In the longer-term, the decreased stimulation requirement identified may reflect a re-organization of the ICNS over time such that its response characteristics were capable of returning to baseline function.

**The bradycardia response elicited before the beginning of AF** can be modified by ablation of ICNS components<sup>20,21</sup>. In our study, the bradycardia elicited before the AF episode was less marked in the Early Cryo group, paralleling the decrease in inducibility of the atrial

tachyarrhythmia. This change probably represents an impairment in the parasympathetic component involved in mediastinal nerve stimulation. The effect of localized cryoablation on this bradycardiac response was significantly attenuated in animals studied 4 months post-ablation. This return toward baseline values likely also represents a long-term adaptation to localized damage and reorganization of the ICNS, including resprouting of parasympathetic efferent axons.

Data from other authors<sup>22</sup> on the long-term effects of vagal denervation show that at 4 weeks post destruction of selected neuronal plexi by radiofrequency, AF is still inducible. Although this was also true in our study, a major difference remains in that in our animals the ease of inducibility and characteristics of AF (duration and maximal ventricular response rate) differed over time post-cryoablation since they gradually returned towards baseline values with time.

Data from experiments using canine models comparing pulmonary vein neuronal plexus stimulation to activation via acetylcholine and norepinephrine show similar effects on action potential characteristics<sup>23</sup>. These can be characterized as marked shortening of myocyte action potential durations and the appearance of early afterdepolarizations. When the mediastinal neuronal sites were destroyed with radiofrequency ablation in this study, AF could still be induced by stimulating other (distal) loci such as the base of each pulmonary vein distal to the ablated ganglia with trains of high frequency stimuli coupled to each atrial paced beat so as to fall within the refractory period to achieve local nerve stimulation without atrial excitation. In addition, AF could be induced by applying electrical stimuli over epicardial fat containing the ganglionated plexus near the right superior and left superior pulmonary veins<sup>23</sup>.

A recent study in patients with AF<sup>24</sup> showed that autonomic ganglia surrounding the left atrium can be ablated from an atrial endocardial approach. However, in a subset of these patients with vagally-mediated AF, ablation of these neural elements (as well as the subtending atrial muscle) was not found to be sufficient to prevent re-induction of AF with high-frequency left atrial endocardial stimulation. These data also suggest that remodelling of the intrinsic cardiac nervous system can arise post local ablation.

**Heart rate response during induced AF:** In animals studied 4 months following localized neural cryoablation, the maximal ventricular response rate identified during induced episodes of AF was lower than those identified in control dogs, as well as when compared with the early ablated group (1-2 months following cryoablation). The rapid ventricular response in both the control animals and Early Cryo group may be explained by the delay encountered in the final experiment group (i.e., whether studied one to two months following initial surgery). In such animals, presumably there was an ongoing subacute inflammatory process that, combined with a hyperadrenergic postoperative state, may modify the atrioventricular nodal functional response to AF. This increase in the adrenergic drive and diminished parasympathetic activity was also demonstrated by the increase in mean heart rate during the first two weeks after surgery in control and experimental groups (as determined by weekly post-operative serial heart rate recordings at rest).

**Duration of AF induced by ICNS stimulation.** Although inducibility of AF recovered with time following localized cryoablation, there was a demonstrable reduction in the duration of the induced episodes of AF. This effect was greatest in the Late Cryo group. Such an

observation could indicate the presence of significant clinical benefit following localized neuronal cryoablation, if the same type of response occurs in humans following neuronal cryoablation. As there is a direct correlation between duration of AF and the formation of thrombus inside the left atrium <sup>25</sup>, shorter episodes of AF may suggest a diminished risk of thromboembolism following neuronal cryoablation. Furthermore, since it is commonly accepted that “AF begets AF”<sup>26</sup>, shortening of such episodes could also decrease the likelihood of progression to chronic AF secondary to atrial electrical remodelling.

**Conclusions.** These results suggest that focal damage to ICNS inputs acutely attenuates any bradycardia responses and reduces the inducibility of AF provoked by destabilization of the ICNS. This occurs in the presence of preserved descending vagal and sympathetic efferent neuronal inputs to the heart. Recovery of inducibility with time indicates the plasticity of the ICNS in response to injury. Despite recovery of inducibility, AF duration remains significantly reduced on long term follow-up. The challenge in this approach to AF therapy will be to determine the optimum extent of neuronal ablation required to significantly diminish the burden of AF in the long term without impairing normal cardiac inotropic and chronotropic responses.

## References

1. Go AS, Hylek EM, Phillips KA et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA* 2001;285(18):2370-2375.
2. Fuster V, Ryden LE, Cannom DS et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: full text: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation) developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Europace* 2006;8(9):651-745.
3. Pappone C, Santinelli V, Manguso F et al. Pulmonary vein denervation enhances long-term benefit after circumferential ablation for paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2004;109(3):327-334.
4. Scanavacca M, Pisani CF, Hachul D et al. Selective atrial vagal denervation guided by evoked vagal reflex to treat patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation* 2006;114(9):876-885.
5. Oral H, Chugh A, Scharf C et al. Pulmonary vein isolation for vagotonic, adrenergic, and random episodes of paroxysmal atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004;15(4):402-406.
6. Oral H, Pappone C, Chugh A et al. Circumferential pulmonary-vein ablation for chronic atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2006;354(9):934-941.
7. Onorati F, Curcio A, Santarpino G et al. Routine ganglionic plexi ablation during Maze procedure improves hospital and early follow-up results of mitral surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008;136(2):408-418.
8. Armour JA, Hageman GR, Randall WC. Arrhythmias induced by local cardiac nerve stimulation. *Am J Physiol* 1972;223(5):1068-1075.
9. Armour JA, Randall WC, Sinha S. Localized myocardial responses to stimulation of small cardiac branches of the vagus. *Am J Physiol* 1975;228(1):141-148.
10. Armour JA. Cardiac effects of electrically induced intrathoracic autonomic reflexes. *Can J Physiol Pharmacol* 1988;66(6):714-720.
11. Armour JA, Randall WC. Functional anatomy of canine cardiac nerves. *Acta Anat (Basel)* 1975;91(4):510-528.

12. Arora RC, Hirsch GM, Johnson HK, Hancock FC, Armour JA. Function of human intrinsic cardiac neurons in situ. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280(6):R1736-R1740.
13. Page P, Andrew AJ, Yin Y, Vermeulen M, Nadeau R, Cardinal R. Differential effects of cervical vagosympathetic and mediastinal nerve activation on atrial arrhythmia formation in dogs. *Auton Neurosci* 2006;128(1-2):9-18.
14. Page PL, Dandan N, Savard P, Nadeau R, Armour JA, Cardinal R. Regional distribution of atrial electrical changes induced by stimulation of extracardiac and intracardiac neural elements. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995;109(2):377-388.
15. Dubuc M, Roy D, Thibault B et al. Transvenous catheter ice mapping and cryoablation of the atrioventricular node in dogs. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999;22(10):1488-1498.
16. Nadeau R, Cardinal R, Armour JA et al. Cervical vagosympathetic and mediastinal nerves activation effects on atrial arrhythmia formation. *Anadolu Kardiyol Derg* 2007;7 Suppl 1:34-36.
17. Armour JA, Richer LP, Page P et al. Origin and pharmacological response of atrial tachyarrhythmias induced by activation of mediastinal nerves in canines. *Auton Neurosci* 2005;118(1-2):68-78.
18. Janes RD, Brandys JC, Hopkins DA, Johnstone DE, Murphy DA, Armour JA. Anatomy of human extrinsic cardiac nerves and ganglia. *Am J Cardiol* 1986;57(4):299-309.
19. Sakurai A, Wilkens JL. Tension sensitivity of the heart pacemaker neurons in the isopod crustacean *Ligia pallasii*. *J Exp Biol* 2003;206(Pt 1):105-115.
20. Scherlag BJ, Nakagawa H, Jackman WM et al. Electrical stimulation to identify neural elements on the heart: their role in atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2005;13 Suppl 1:37-42.
21. Scherlag BJ, Yamanashi W, Patel U, Lazzara R, Jackman WM. Autonomically induced conversion of pulmonary vein focal firing into atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(11):1878-1886.
22. Oh S, Zhang Y, Bibevski S, Marrouche NF, Natale A, Mazgalev TN. Vagal denervation and atrial fibrillation inducibility: epicardial fat pad ablation does not have long-term effects. *Heart Rhythm* 2006;3(6):701-708.
23. Scherlag BJ, Nakagawa H, Jackman WM et al. Electrical stimulation to identify neural elements on the heart: their role in atrial fibrillation. *J Interv Card Electrophysiol* 2005;13 Suppl 1:37-42.
24. Danik S, Neuzil P, d'Avila A et al. Evaluation of catheter ablation of periatrial ganglionic plexi in patients with atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2008;102(5):578-583.



25. Stoddard MF. Risk of thromboembolism in acute atrial fibrillation or atrial flutter. *Echocardiography* 2000;17(4):393-405.
26. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995;92(7):1954-1968.

### Figure Legends:

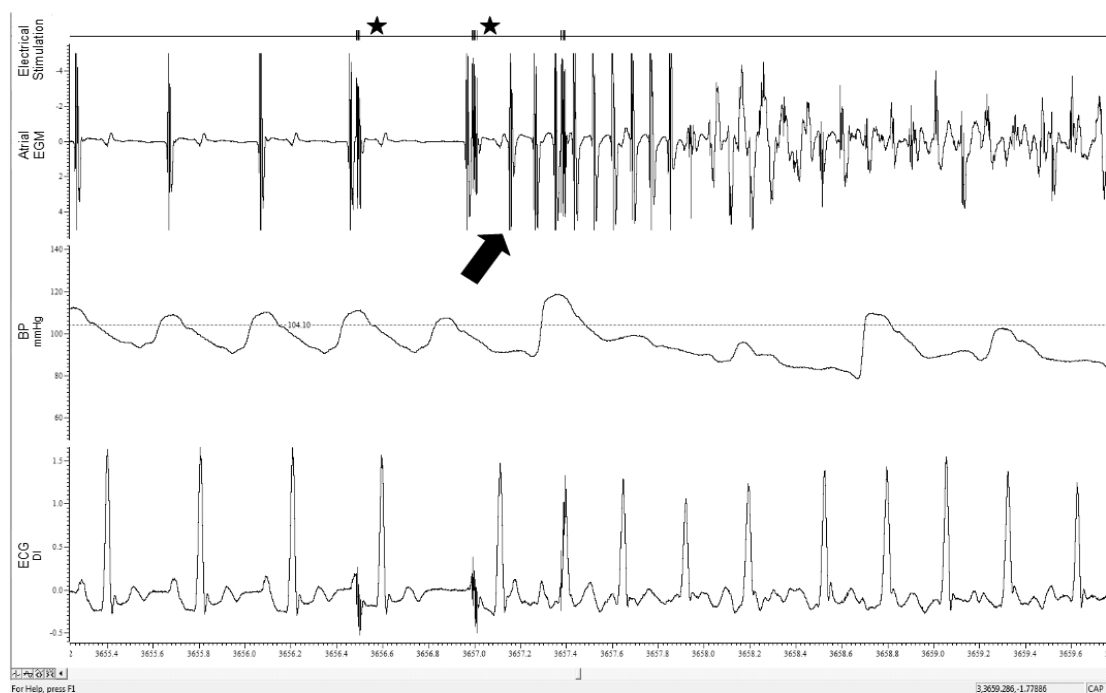
**Figure 1-** AF induction . The black stars are pointing to the two bursts of electrical stimulation(each burst consisting of 5 electrical stimuli 1–5 mA, 1 ms duration; 5 ms pulse interval, delivered on the atrial refractory period) just before the first ectopic beat (large arrow) that leads to AF. EGM= eletrogram; BP=blood pressure.

**Figure 2-** Schematic representation of the right atrium (RA) and the intrapericardial portion of the superior vena cavae (SVC) showing the place where cryoablation was done in each animal (grey circle). Letter “A” to “J” are the selected sites tested for AF induction in the terminal experiment. FP=fat pad; TS= terminal sulcus; RAA=right atrial appendage.

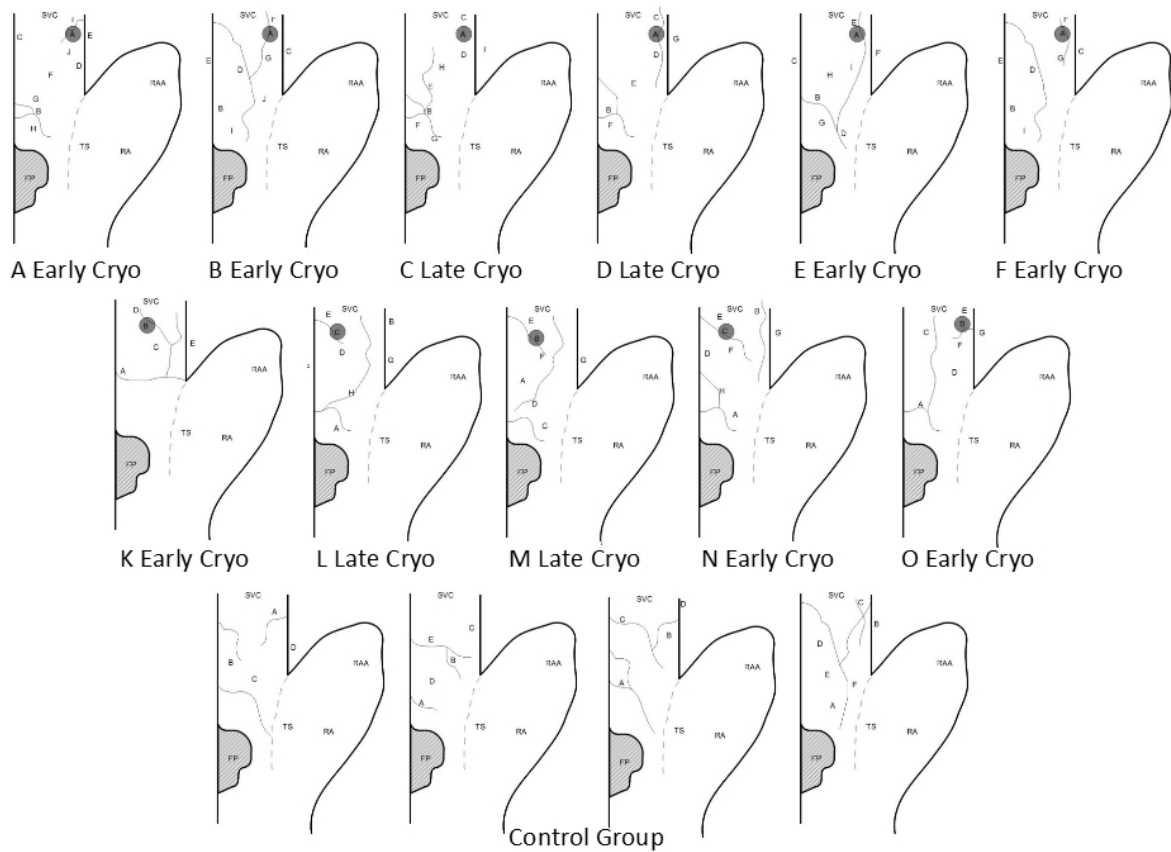
**Figure 3-** Percentage of sites with stimulation induced AF in Control animals and Early and Late Cryo Groups following cryoablation of a single superior vena cava nerve site. ANOVA F-ratio: 17.76; significance level of  $P < 0.001$ , Student-Newman-Keuls test for all pairwise comparisons found a  $P < 0.05$  for Control versus either experimental group, as well as between Early and Late Cryo groups.

**Figure 4 A:**Number of stimuli trains needed to induce AF. ANOVA F-ratio: 6.43;  $P=0.003$ , **B:**Maximal bradycardic response before ICNS induced AF. ANOVA. F-ratio:4.6,  $P=0.014$ , **C:**Maximal heart rate during ICNS induced AF. ANOVA F-ratio:8.88,  $P < 0.001$ . **D:**Duration of ICNS stimulation induced AF. ANOVA F-ratio:6.3,  $P=0.003$ . All pairwise comparisons were performed using Student-Newman-Keuls test. Values shown are Mean $\pm$ S.E.

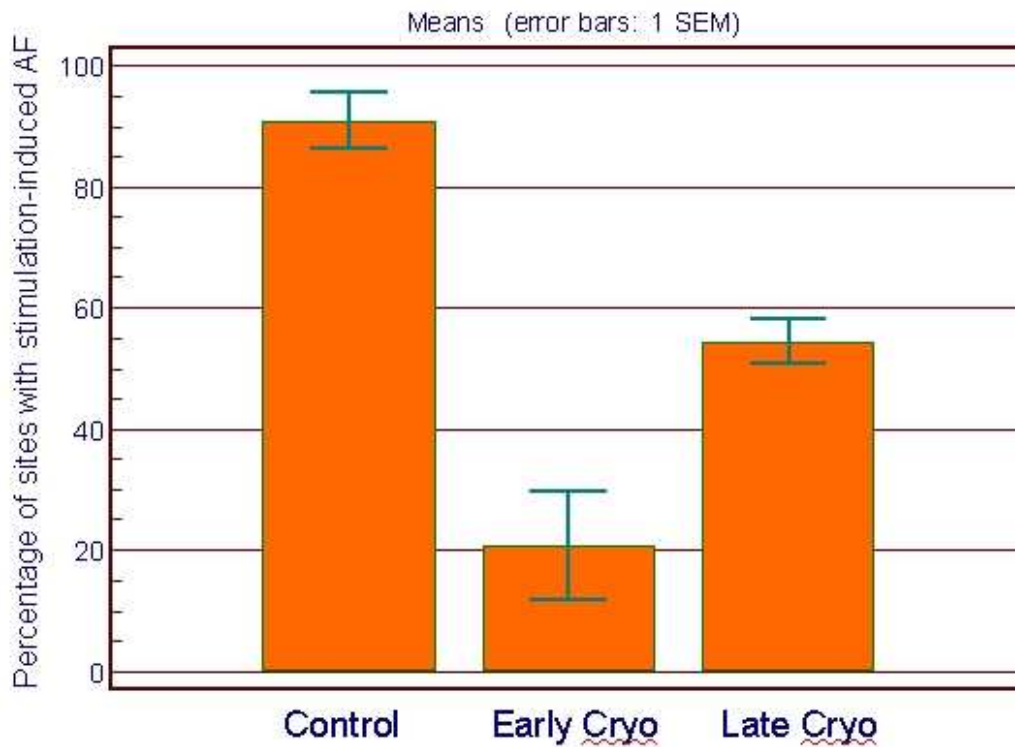
## FIGURES



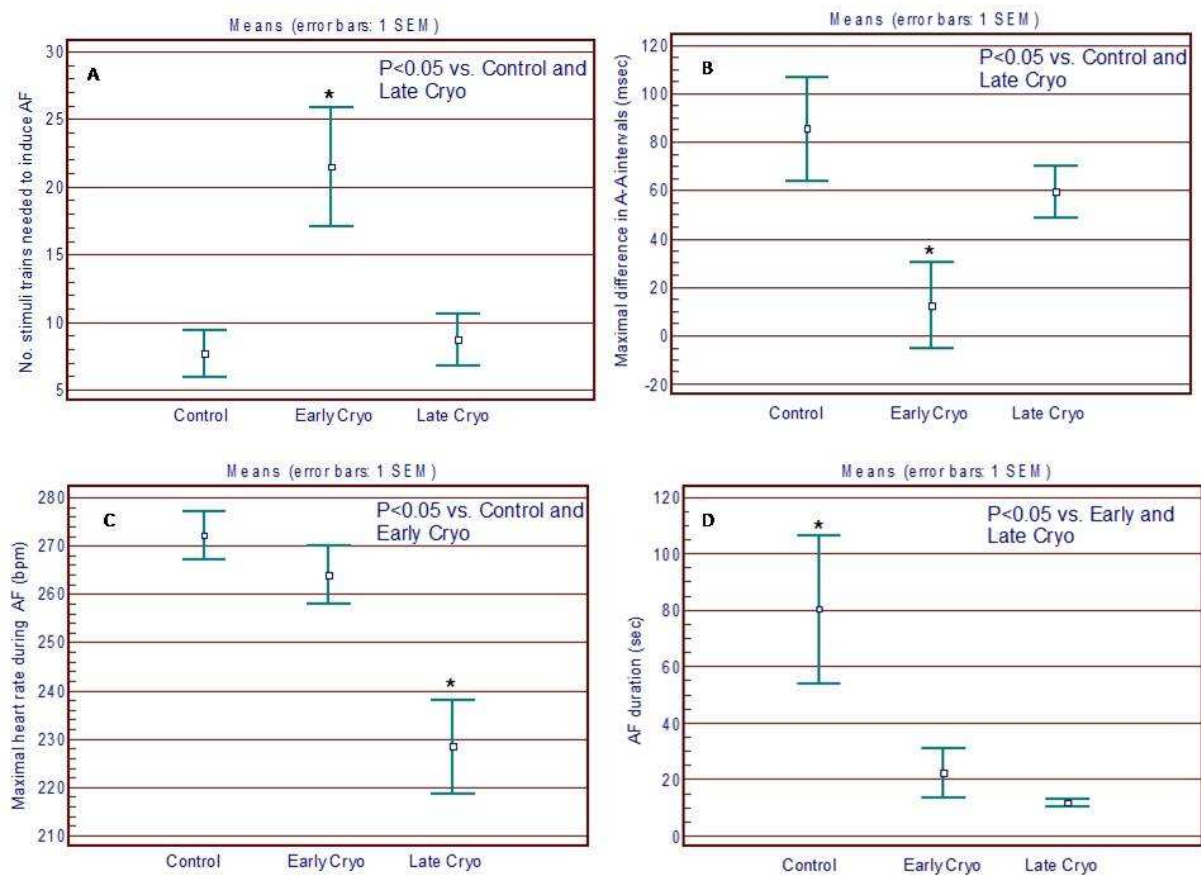
**Figure 1-** AF induction . The black stars are pointing to the two bursts of electrical stimulation(each burst consisting of 5 electrical stimuli 1–2 mA, 1 ms duration; 5 ms pulse interval, delivered during the atrial refractory period) just before the first ectopic beat (large arrow) that leads to AF. EGM= eletrogram; BP=blood pressure.



**Figure 2-** Schematic representation of the right atrium (RA) and the intrapericardial portion of the superior vena cava (SVC) showing the place where cryoablation was done in each animal (grey circle). Letter “A” to “J” are the selected sites tested for AF induction in the terminal experiment. FP=fat pad; TS= terminal sulcus; RAA=right atrial appendage.



**Figure 3-** Percentage of sites with stimulation induced AF in Control animals and Early and Late Cryo Groups following cryoablation of a single superior vena cava nerve site. ANOVA F-ratio: 17.76; significance level of  $P < 0.001$ , Student-Newman-Keuls test for all pairwise comparisons found a  $P < 0.05$  for Control versus either experimental group, as well as between Early and Late Cryo groups.



**Figure 4- A: Number of stimuli trains needed to induce AF.** ANOVA F-ratio: 6.43; P=0.003, **B: Maximal bradycardic response before ICNS induced AF.** ANOVA. F-ratio:4.6, P=0.014, **C: Maximal heart rate during ICNS induced AF.** ANOVA F-ratio:8.88, P<0.001. **D: Duration of ICNS stimulation induced AF.** ANOVA F-ratio:6.3, P=0.003. All pairwise comparisons were performed using Student-Newman-Keuls test. Values shown are Mean±S.E.

**Table 1- Characteristics of animals used in the study.**

Subject (Gender/Wgt-Kg)	Group/ Expt. Month	Terminal Expt. No. of stimulated sites	Terminal Expt. No. of sites with AF inducible (%)	No. of AF episodes
A (M/27)	Abl/ 2	10	1 (10%)	1
B (F/30)	Abl/2	10	1 (10%)	1
C (F/34)	Abl/4	9	5 (56%)	5
D (F/37)	Abl/4	7	3 (43%)	7
E (F/32)	Abl/1	10	1 (10%)	3
F (F/32)	Abl/1	9	1 (11%)	4
G (F/32)	Cont/1	4	4 (100%)	5
H (M/29)	Cont/2	5	4 (80%)	5
I (M/24)	Cont/1	4	4 (100%)	4
J (M/33)	Cont/2	6	5 (83%)	5
K(M/26)	Abl/2	5	0 (0%)	0
L (M/26)	Abl/4	8	5 (62%)	10
M (F/30)	Abl/4	7	4 (57%)	4
N (F/30)	Abl/1	8	6 (75%)	8
O (M/27)	Abl/1	7	2 (28%)	5

**F=female, M=male,**

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)