

ARTIGO ORIGINAL

## Modulação eletrofisiológica das aurículas e veias pulmonares: interação da estimulação simpática e parassimpática na inducibilidade de fibrilhação aguda auricular num modelo experimental *in vivo*

Mário Oliveira<sup>a,\*</sup>, Gabriela Postolache<sup>b</sup>, Vera Geraldês<sup>b</sup>, Vitor Silva<sup>b</sup>, Sérgio Laranjo<sup>b</sup>, Cristiano Tavares<sup>b</sup>, M. Nogueira da Silva<sup>a</sup>, Rui Ferreira<sup>a</sup>, Isabel Rocha<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Serviço de Cardiologia, Hospital de Santa Marta, Lisboa, Portugal

<sup>b</sup> Unidade de Sistema Nervoso Autónomo, Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa, Portugal

Recebido a 9 de junho de 2011; aceite a 4 de novembro de 2011

Disponível na Internet a 11 de fevereiro de 2012

### PALAVRAS-CHAVE

Modelo animal;  
Vago;  
Simpático;  
Refratariedade;  
Velocidade  
de condução;  
Fibrilhação auricular

**Resumo** A influência do sistema nervoso autónomo (SNA) na génese da fibrilhação auricular (FA) envolve múltiplos mecanismos complexos com impacto nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas. A importância dos efeitos da estimulação autonómica no substrato elétrico auricular e das veias pulmonares (VP) e na vulnerabilidade para FA requer melhor compreensão.

**Objetivo:** Avaliar os efeitos da estimulação vagal (estim\_vag) e simpática (estim\_simp) aguda na condução e refratariedade das aurículas e VP e na inducibilidade de FA no coração de coelho *in vivo* com inervação autonómica preservada.

**Métodos:** Estudámos 17 coelhos New Zealand e ventilámos os sexos. Para abordagem de «torax-aberto» procedeu-se a anestesia, intubação e ventilação após bloqueio neuro-muscular. O ECG foi obtido a partir de 3 derivações dos membros. Os eletrogramas foram registados com 4 eléctrodos monopolares colocados na superfície epicárdica, distribuídos ao longo das aurículas e com um eléctrodo circular adaptado à porção proximal das VP. Estimulou-se o nervo vago cervical direito e o tronco simpático torácico com eléctrodos bipolares de platina. Estudámos os períodos refratários efetivos (PRE) e a condução elétrica auricular, entre a aurícula direita lateral-alta (AD) e a aurícula esquerda lateral-alta (AE), e entre AD e VP, em condições basais e durante estim\_vag, estim\_simp e estimulação autonómica combinada (dual\_estim). Para indução de FA, procedeu-se a *pacings* rápido (50 Hz, 10 s, isolado ou com estim\_vag, estim\_simp ou dual\_estim) com eléctrodo bipolar no apêndice auricular direito (AAD), apêndice auricular esquerdo (AAE) e VP.

**Resultados:** Em condições basais: os PRE eram maiores no AAE e registou-se um atraso na ativação da AD para as VP, comparando com a condução interauricular. Durante estim\_vag ou dual\_estim: os PRE aumentaram significativamente em todos os locais, o intervalo de condução interauricular variou de  $20 \pm 4$  ms para  $30 \pm 10$  ms ( $p < 0,05$ ) e  $31 \pm 11$  ms ( $p < 0,05$ ),

\* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: m.martinsoliveira@gmail.com (M. Oliveira).



importantes na gênese da FA, havendo evidência de que os episódios de FA paroxística são frequentemente precedidos por flutuações do balanço autonómico<sup>8-10</sup>. Trabalhos experimentais também têm contribuído para melhorar a compreensão da influência arritmogénica do SNA nos mecanismos subjacentes à FA<sup>11-16</sup>. No modelo do cão foi sugerido que as arritmias auriculares eram causadas por alterações da atividade autonómica e sua influência nas VP e veia cava superior<sup>13</sup>. No mesmo modelo, a estimulação simpática e vagal foi também capaz de encurtar os períodos refratários efetivos (PRE) auriculares e facilitar a ocorrência de circuitos de reentrada<sup>17</sup>. Além disso, a distribuição heterogénea da inervação autonómica a nível das aurículas pode contribuir para o substrato associado à FA, particularmente na ausência de anomalias estruturais<sup>17</sup>. Foi também demonstrado que a estimulação dos plexus ganglionares cardíacos, que modulam a inervação autonómica, provoca libertação local de neurotransmissores do simpático e parassimpático que podem aumentar o automatismo e encurtar a duração do potencial de ação e refratariedade locais<sup>15</sup>. Recentemente, no modelo do cão, num trabalho com registo direto da atividade autonómica eferente, demonstrou-se que as descargas simultâneas simpático-vagais são frequentemente o fator iniciador de taquicardia auricular paroxística e de FA após um período de *pacíng* auricular esquizo de alta-frequência<sup>18</sup>. Embora se reconheça que o SNA possa desempenhar um papel importante na fisiopatologia da FA, permanece por esclarecer qual o impacto (isolado ou em combinação) da atividade simpática e/ou vagal na arritmogénese das aurículas e sua implicação na gênese, manutenção e interrupção da FA. Têm sido desenvolvidos vários modelos animais para caracterizar os efeitos eletrofisiológicos da estimulação autonómica, de forma a contribuir para a compreensão dos mecanismos complexos subjacentes à FA. No entanto, esta tarefa importante desta atividade experimental tem sido levada a cabo em modelos de coração isolado. É reconhecida a necessidade de esclarecer a relação entre a ativação autonómica aguda *in vivo* e a vulnerabilidade para iniciar e manter a FA, nomeadamente porque a modificação da inervação autonómica, sobretudo em áreas cardíacas com grande densidade de terminações nervosas, pode ter implicações potenciais na terapêutica ablativa da FA<sup>14,19,20</sup>.

No presente estudo, foi avaliada a influência da estimulação aguda simpática e vagal na condução e refratariedade das aurículas e VP, bem como na indução e duração de FA, numa preparação de coração de coelho com inervação autonómica preservada.

## Material e métodos

### Preparação do modelo animal

Foram utilizados coelhos New-Zealand brancos de ambos os sexos (n = 17, 3,0-4,9 kg), anestesiados com pentobarbital sódico (60 mg/kg, i.v.). Através duma traqueostomia lateral colocou-se uma cânula a laringe e mistura de ar com O<sub>2</sub> (modelo 607, Harvard Apparatus, Reino Unido; 60 ciclos/min) após bloqueio neuromuscular (vecuronium 0,05 mg/kg/h, i.v.), para assegurar o controlo da frequência

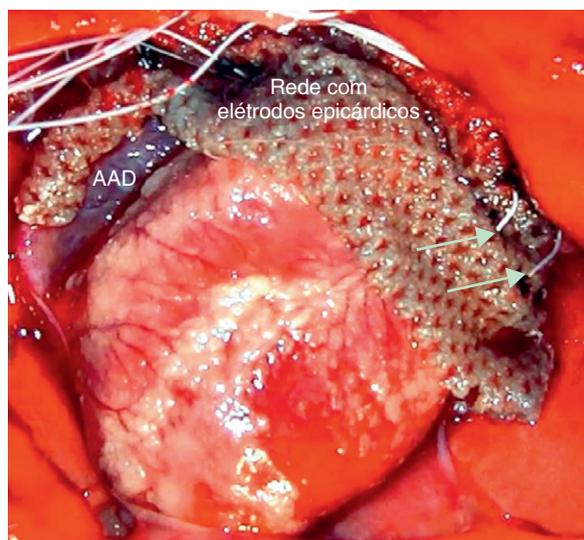
e do volume respiratórios. O grau de anestesia foi avaliado com base na monitorização da pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e atividade respiratória, utilizando-se doses suplementares dos fármacos para manter um efeito estável da anestesia geral. A artéria femoral foi canalizada para monitorização contínua da PA (transdutor SensoNor 840) e a veia femoral usada para administração de solução salina a 0,9% e fármacos. A bexiga foi cateterizada e drenada. A temperatura retal foi mantida a ~38 °C com recurso a uma placa de aquecimento colocada debaixo do animal (Harvard Apparatus, Reino Unido). O registo de ECG obteve-se com elétrodos bipolares subcutâneos colocados nos quatro membros, com amplificação e filtragem do sinal. O ECG, a PA e os eletrogramas foram continuamente monitorizados num polígrafo (Lectromed, Hertfordshire, Reino Unido) e analisados em computador (PowerLab, ADInstruments).

O animal anestesiado era colocado em decúbito ventral para exposição da porção dorsal do tórax, procedendo-se a uma incisão ao nível das vértebras C6-T2, utilizando eletrocautério e um afastador automático para acesso à vértebra T1, submetida a perfuração com broca de 2 mm até abertura da dura mater espinhal. Após posicionamento em decúbito dorsal, identificava-se o nervo vago cervical direito através de incisão na linha mediana do pescoço, seguindo-se o seu isolamento e preparação para estimulação elétrica bipolar com elétrodos de platina, com isolamento por parafina semissólida. Uma ligeira rotação permitia inserir um elétrodo bipolar através do canal espinhal com recurso a micromanipulador (WPI, M330), para estimulação do fluxo simpático torácico ao nível de T1, que inclui sobretudo fibras pré-ganglionares para o gânglio estrelado<sup>21</sup>. Os elétrodos para estimulação do nervo vago e tronco simpático foram conectados a um estimulador programável de múltiplos canais (Master8, AMPI, Israel). O programa de estímulo (20 Hz, duração do impulso - 2 ms), com a amplitude ajustada para induzir uma diminuição da FC de ~50%, e a estimulação simpática (3 Hz, duração do impulso - 1 ms) testada para obter um aumento da FC e da PA.

Além da monitorização da FC e PA, registámos séries de 30 segundos de intervalos RR para análise espectral com Transformada de Fourier (*Fast Fourier Transform*), com recurso a *software* MatLab (MathWorks, Natick, MA, EUA) em ambiente Origin (OriginLab, Origin Lab Corporation, Northampton, MA, EUA), para confirmação da estimulação autonómica, de acordo com descrição prévia<sup>22,23</sup>. A frequência espectral foi dividida em três componentes: VLF (*very low-frequency*; 0,01-0,1 Hz), LF (*low-frequency*; 0,1-0,3 Hz) e HF (*high-frequency*; 0,3-1 Hz). Os valores da banda HF foram atribuídos à modulação vagal e os da banda LF consideraram-se como refletindo a atividade simpática.

Procedemos a esternotomia mediana e abertura do pericárdio para exposição do coração e abordagem eletrofisiológica epicárdica das aurículas e VP. Depois da toracotomia, manteve-se uma pressão final expiratória de 1-2 cmH<sub>2</sub>O.

As experiências foram efetuadas em conformidade com as recomendações de «The Care and Use of Laboratory Animals», publicado pelo National Institute of Health, e mediante aprovação pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina de Lisboa.



**Figura 1** Preparação de tórax-aberto do coração de coelho com rede de nylon suportando eletrodos monopares epicárdicos da aurícula direita lateral-alta até à aurícula esquerda lateral-alta. As setas indicam dois eletrodos com contacto epicárdico na aurícula esquerda. AAD = apêndice auricular direito.

### Protocolo eletrofisiológico

Os eletrogramas foram registados com quatro eletrodos monopares (125- $\mu$ m Ag-AgCl, isolados com Teflon), colocados numa rede de nylon com espaçamento intereletrodos de 4mm e aplicados em posição epicárdica, da aurícula direita lateral-alta (AD) à aurícula esquerda lateral-alta (AE) (Figura 1). Um eletrodo de ponta circular (cabo coaxial) foi posicionado para estimulação e registo de eletrogramas. Os eletrogramas foram amplificados e filtrados de 0,5 a 300 Hz e de 30 a 250 Hz para registos monopares e bipares, respetivamente (Neurolog, Digitemer, Reino Unido). No final do procedimento os animais foram sacrificados com uma overdose de anestésico.

A ativação epicárdica foi registada em ritmo sinusal, com análise dos tempos de condução interauricular (entre a AD e a AE) e da AD até à despolarização das VP, em condições basais e durante estimulação vagal, simpática ou simpático-vagal simultânea. A estimulação para estudo dos PRE e indução de FA foi efetuada com eletrodo bipolar (0,1 mm, prata com isolamento de teflon) posicionado com micromanipulador (WPI, M330) no apêndice auricular direito (AAD) e apêndice auricular esquerdo (AAE), e com eletrodo circular nas VP. Em condições estáveis, procedeu-se a protocolo de estimulação programada (programador Master8, AMPI, Israel), com um extraestímulo durante *pacing* bipolar contínuo com ciclo de 300 ms (ou 20 ms inferior ao intervalo RR para FC >200 bpm). Utilizámos impulsos com duração de 1 ms e o dobro da intensidade do limiar de captura. O extraestímulo foi introduzido com intervalo de acoplamento 100 ms inferior ao do ciclo de base, diminuindo-se depois em intervalos de 5 ms até atingir o PRE. O PRE foi definido como o intervalo S1-S2 mais longo com falha de despolarização local. Os intervalos de condução e os PRE foram analisados em condições basais e durante estimulação vagal,

simpática ou combinada. Para avaliação da vulnerabilidade para indução de FA foi utilizado *pacing* de alta-frequência (50 Hz, 10 s, intensidade supralimiar), com eletrodo bipolar posicionado no AAD, AAE e VP, isolado ou combinado com estimulação vagal, simpática ou simpático-vagal. O protocolo de indução foi aplicado até três vezes em cada local de estimulação. Definiu-se FA como um ritmo auricular rápido desordenado, com ciclo, polaridade, configuração e amplitude variáveis e duração superior a cinco ciclos<sup>24</sup>. A duração da FA foi avaliada em cada uma das condições experimentais consideradas.

### Análise estatística

As variáveis contínuas foram expressas sob a forma de média  $\pm$  desvio padrão e as variáveis categóricas em frequências e percentagens. As comparações foram efetuadas pelo teste de ANOVA e teste *t* de Student para as variáveis contínuas. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição das variáveis contínuas. A análise comparativa dos valores dos PRE e intervalos de condução basais e durante estimulação autonómica foi efetuada com o teste *t* de Student emparelhado. Para as variáveis categóricas usámos o teste de  $\chi^2$ , com correção de Yates. Considerámos estatisticamente significativos os resultados com valor < 0,05. O programa estatístico utilizado foi o GraphPAD (GraphPad Software, Inc., California, EUA).

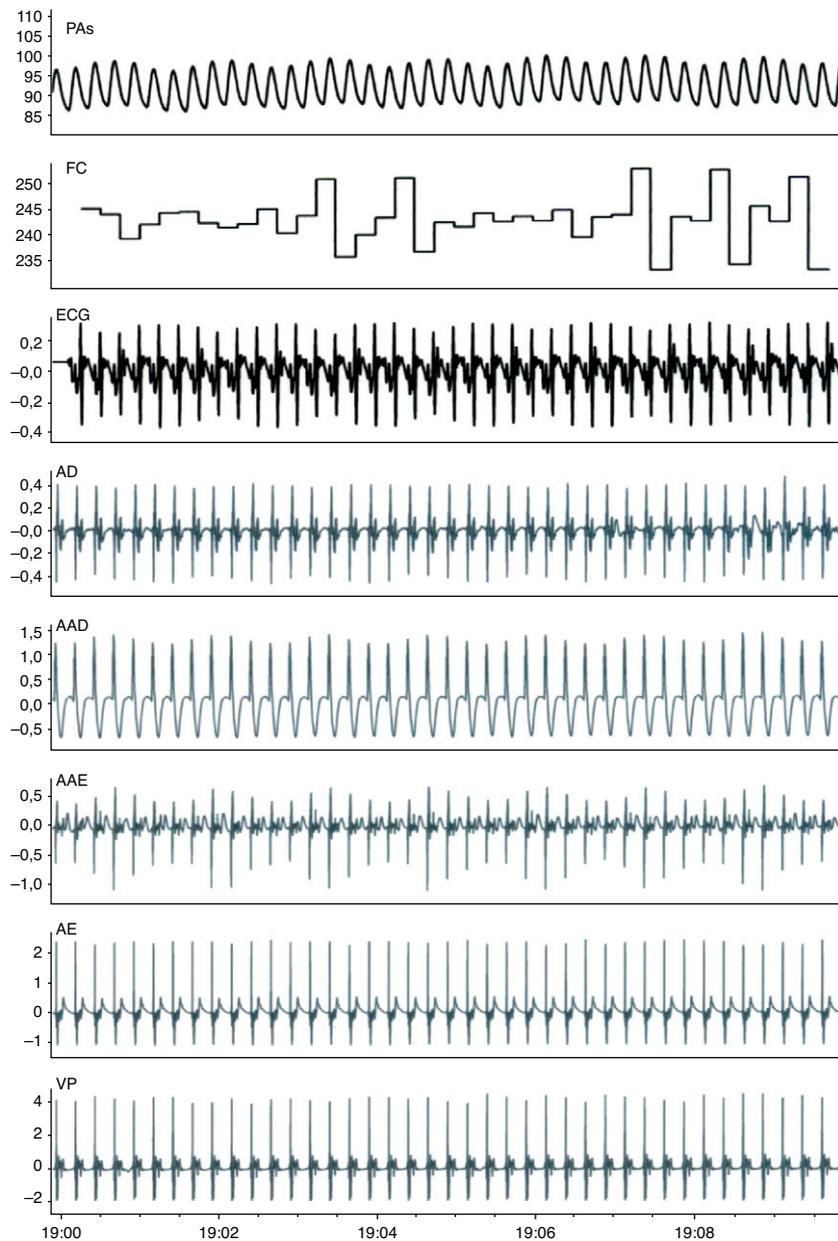
### Resultados

A Figura 2 mostra os registos de monitorização obtidos em condições basais. Após preparação do animal, a FC média era de  $211 \pm 37$  bpm (190-230 bpm) e a PA sistólica de  $80 \pm 17$  mmHg (65-90 mmHg). A estimulação vagal causou uma diminuição significativa da FC (de  $214 \pm 30$  bpm para  $100 \pm 31$  bpm,  $p < 0,01$ ) e da PA (de  $79 \pm 23$  mmHg para  $58 \pm 20$  mmHg,  $p < 0,01$ ) (Figura 3, Tabela 1). A estimulação pré-ganglionar simpática induziu um ligeiro aumento da FC (de  $210 \pm 34$  bpm para  $237 \pm 37$  bpm,  $p < 0,05$ ) e da PA ( $75 \pm 13$  mmHg para  $91 \pm 19$  mmHg,  $p < 0,01$ ) (Figura 3, Tabela 1). Após cessação da estimulação autonómica a FC e a PA retomaram os valores pré-estimulação.

A Figura 4 mostra a análise espectral dos intervalos RR com o padrão de distribuição das bandas de frequências relacionadas com o influxo simpático e parassimpático para o coração. Em comparação com o registo basal, a estimulação vagal aumentou a variabilidade da FC, com uma redução na razão LF/HF, e a estimulação simpática aumentou o componente LF e a razão LF/HF (Figura 5).

### Efeito da estimulação autonómica aguda nos parâmetros eletrofisiológicos

Os intervalos de condução entre a AD e a AE aumentaram com a estimulação vagal de  $20 \pm 4$  ms para  $30 \pm 10$  ms ( $p < 0,05$ ) e diminuíram para  $16 \pm 6$  ms (simpática) ( $p < 0,05$ ). A ativação simpático-vagal simultânea também modificou significativamente a condução interauricular (de  $21 \pm 5$  ms to  $31 \pm 11$  ms,  $p < 0,05$ ). O tempo de condução entre a AD e as VP aumentou durante a

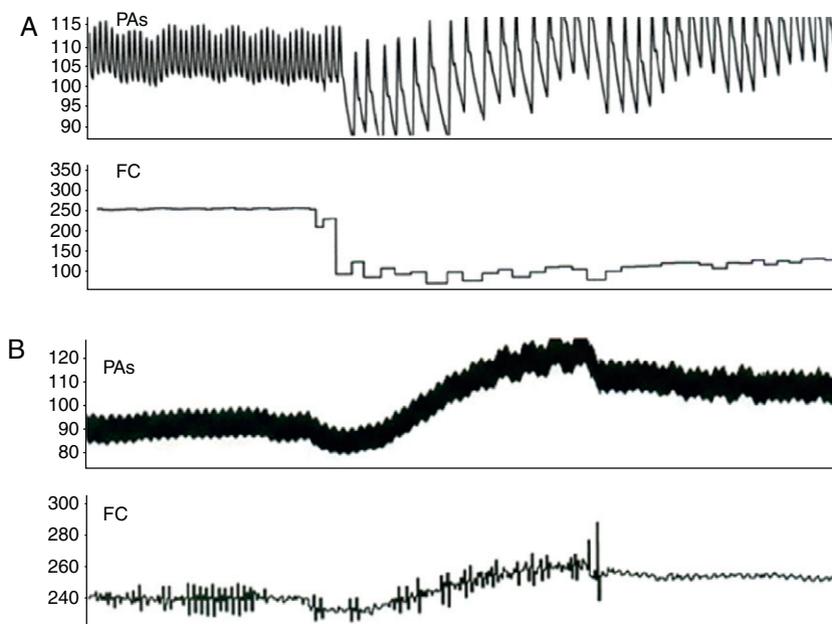


**Figura 2** Registos de monitorização obtidos em condições basais. Abreviaturas como no texto.

**Tabela 1** Efeito da estimulação autonómica na frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, parâmetros eletrofisiológicos e inducibilidade de fibrilhação auricular

	BASAL	VAGO	SIMPÁTICO	SIMPÁTICO-VAGAL
FC (bpm)	211 ± 37	100 ± 31 <sup>a</sup>	237 ± 37 <sup>b</sup>	190 ± 40 <sup>b</sup>
PA sistólica (mmHg)	80 ± 17	58 ± 20 <sup>a</sup>	91 ± 19 <sup>a</sup>	70 ± 21
Condução AD-AE (ms)	20 ± 3	30 ± 10 <sup>b</sup>	16 ± 6 <sup>b</sup>	31 ± 11 <sup>b</sup>
Condução AD-PV (ms)	24 ± 6	36 ± 14 <sup>b</sup>	17 ± 8 <sup>a</sup>	29 ± 14
PRE AAD (ms)	69 ± 16	48 ± 17 <sup>b</sup>	64 ± 15	51 ± 20 <sup>b</sup>
PRE AAE (ms)	83 ± 16 <sup>c</sup>	53 ± 21 <sup>b,c</sup>	56 ± 23 <sup>b</sup>	51 ± 23 <sup>b</sup>
PRE VP (ms)	59 ± 16	41 ± 17 <sup>b</sup>	49 ± 19	40 ± 18 <sup>b</sup>
Duração FA (s)	2,6 ± 1,4	6,8 ± 2,5 <sup>b</sup>	9,6 ± 3,7 <sup>b</sup>	6,1 ± 1,4 <sup>b</sup>

Abreviaturas como no texto. <sup>a</sup>p < 0,01; <sup>b</sup>p < 0,05; <sup>c</sup>(versus. AAD e VP na mesma condição).



**Figura 3** Registos pressão arterial sistólica (PAs) e da frequência cardíaca (FC).  
A) Durante estimulação vagal.  
B) Durante estimulação simpática.

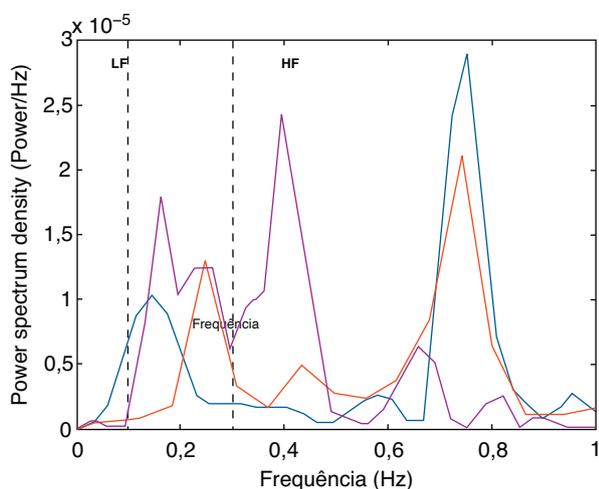
estimulação vagal ( $p < 0,05$ ), diminuiu com a estimulação simpática ( $p < 0,01$ ), mas não teve variação significativa com a estimulação simpático-vagal combinada (Tabela 1).

Relativamente aos valores dos PRE em basal e durante estimulação autonómica (Tabela 1): em basal e refratariedade era superior no AAE ( $83 \pm 16$  ms versus  $69 \pm 16$  ms no AAD e  $59 \pm 16$  ms nas VP,  $p < 0,01$ ). A estimulação vagal e simpático-vagal causou uma redução significativa consistente dos PRE no AAD, AAE e VP, enquanto a estimulação simpática resultou numa redução dos PRE somente no AAE. Durante a ativação autonómica os

PRE diminuíram de forma mais marcada no AAE que nos outros locais. No entanto, com a estimulação vagal mantiveram-se as diferenças estatisticamente significativas entre os PRE das VP e do AAE ( $p < 0,05$ ).

#### Efeito da estimulação autonómica aguda na inducibilidade de fibrilhação auricular

A estimulação autonómica influenciou significativamente a indução e a duração da FA (Tabela 1). Com *bursts* de 50 Hz no AAD, AAE e VP induziu-se FA, de forma intermitente, em 41, 35 e 53% dos coelhos, respetivamente. Durante a estimulação vagal, induziu-se FA, de modo reproduzível, em 76, 65 e 76% dos coelhos com *pacing* de alta-frequência (50 Hz versus. 50 Hz + vago,



**Figura 4** Alterações na análise espectral (Fast Fourier Transform) dos intervalos RR em condições basais (linha vermelha) e durante estimulação autonómica (tronco simpático torácico - linha magenta, vago cervical direito - linha azul). LF = low-frequency; HF = high-frequency.

50 Hz	50 Hz + vago
AAE → 41%	AAE → 76% <sup>a</sup>
AAE → 35%	AAE → 65%
VP → 53%	VP → 76%
50 Hz + simpático	50 Hz + SNA
AAE → 71%	AAE → 88% <sup>a</sup>
AAE → 65%	AAE → 100% <sup>a</sup>
VP → 76%	VP → 75%

**Figura 5** Inducibilidade de fibrilhação auricular nos vários locais de estimulação (AAD, AAE, VP) com *pacing* de alta-frequência isolado e em combinação com estimulação autonómica (vagal, simpática e simpático-vagal simultânea -SNA-). <sup>a</sup>p = 0.05. Abreviaturas como no texto.

$p < 0,05$  para o AAD), e a duração de FA aumentou significativamente com *pacings* no AAD ( $6,8 \pm 2,5$  s versus  $1,8 \pm 1,2$  s,  $p < 0,01$ ) e VP ( $3,6 \pm 1,6$  s versus  $1,7 \pm 0,7$  s,  $p < 0,05$ ). Em 4 animais, a FA foi iniciada com um extraestímulo combinado com estimulação vagal durante a avaliação do PRE no AAD.

A inducibilidade de FA aumentou durante a estimulação simpática (71, 65 e 76%, para o AAD, AAE e VP, respetivamente), sem atingir significado estatístico. Em dois animais induziram-se curtos períodos de FA com um extraestímulo nos diferentes locais de estimulação, e noutros dois ocorreram despolarizações prematuras espontâneas com origem em VP. A duração da FA aumentou significativamente somente com estimulação nas VP ( $9,6 \pm 3,7$  s versus  $1,7 \pm 0,7$  s,  $p < 0,05$ ). Durante estimulação combinada simpático-vagal, a FA tornou-se induzível de modo reproduzível com *pacings* de alta-frequência no AAD, AAE e VP em 88, 100 e 75% dos animais, respetivamente (50 Hz versus 50 Hz + simpático e vago,  $p < 0,05$  para o AAD e AAE), e a duração da FA aumentou em todos os locais de estimulação. A FA teve duração  $> 10$  s em 37,5% dos coelhos (somente com estimulação vagal ou simpático-vagal), interrompendo-se imediatamente após suspensão da estimulação vagal em 2/3 dos casos.

## Discussão

O presente estudo analisa o impacto da estimulação autonómica aguda em propriedades eletrofisiológicas auriculares e das VP, e na vulnerabilidade para indução de FA no modelo de coração de coelho *in vivo*. Através duma metodologia consistente, caracterizámos a influência da estimulação direta do nervo vago cervical direito e tronco simpático torácico na condução elétrica e parâmetros da refratariedade auricular e das VP e mostrámos que a duração da refratariedade pode contribuir para a indução e duração de episódios de FA.

Os resultados apontam para um prolongamento do tempo de condução entre as aurículas e as VP em ritmo sinusal, possivelmente relacionado com um atraso na junção AE-VP, que parece associar-se a condução decremental<sup>25</sup>. Neste modelo experimental, ocorreu um atraso significativo da condução interauricular durante estimulação vagal, e um encurtamento dos tempos de condução durante a ativação simpática. De facto, o tempo médio da condução interauricular foi cerca de duas vezes superior durante estimulação vagal, sendo menor o efeito ao nível da condução AD-VP, sugerindo um padrão não uniforme na resposta à ativação vagal, com impacto diferente nos atrasos de condução elétrica, o que pode relacionar-se com a heterogeneidade da influência da inervação vagal nas propriedades de condução a nível auricular<sup>26</sup>. Os PRE no AAE foram significativamente superiores aos registados no AAD e VP, sugerindo um perfil heterogéneo da refratariedade nos locais avaliados, quer em condições basais quer durante estimulação vagal. A estimulação vagal diminuiu a refratariedade auricular e das VP, enquanto a ativação simpática obteve uma redução significativa dos PRE somente no AAE. Os efeitos heterogéneos da estimulação autonómica na condução e refratariedade das aurículas e VP estão de acordo com possíveis diferenças regionais na inervação cardíaca, que podem influenciar o substrato funcional da FA, que se sabe depender de modificações da condução e do encurtamento dos PRE,

de modo a facilitar a ocorrência de múltiplos circuitos de reentrada no tecido auricular<sup>25,27</sup>. Os PRE mais curtos nas VP e AAD podem justificar a maior inducibilidade de FA com *pacings* de alta-frequência nestes locais. O aumento consistente da taxa de indução de FA e da duração da arritmia durante a estimulação autonómica aguda sugere que as variações rápidas da condução e refratariedade locais, e do tónus do SNA possam ser determinantes na vulnerabilidade para FA.

## Modelos animais e estudo da vulnerabilidade para fibrilhação auricular

Nos últimos anos, a experimentação envolvendo modelos animais tem procurado obter informação relativa aos mecanismos básicos subjacentes à fisiopatologia da FA, resultando num importante contributo para a compreensão de hipóteses eletrofisiológicas como a presença simultânea de múltiplas ondas de despolarização com orientação espacial variável, a atividade focal rápida, os rotores com condução fibrilhatória ou mesmo na identificação de zonas de atividade auricular elétrica fragmentada. No entanto, o desenvolvimento de modelos *in vivo* com inervação autonómica preservada, que permitam uma avaliação eletrofisiológica dinâmica na presença de diferentes condições da atividade do SNA e sua relação com a génese e manutenção da FA permanece um desafio na investigação atual.

Em cães, os circuitos de micro-reentrada, o automatismo e a atividade *trigger* têm sido apontados como mecanismos associados a ocorrência de arritmias auriculares<sup>28,29</sup>. Hayashi e colaboradores usaram estimulação vagal cervical para indução de FA com *bursts* de *pacings* auricular em cães anestesiados<sup>30</sup>. Em trabalhos recentes a estimulação vagal tem sido associada a encurtamento dos PRE auriculares e facilitação da indução de FA em cães<sup>17,31</sup>. Sabe-se que estes efeitos vagais e a inducibilidade de FA podem ser modificados após ablação epicárdica de plexos ganglionares<sup>12,15</sup>. Também em doentes submetidos a ablação de FA por cateter, o número de recorrências de FA é diminuído quando o procedimento inclui desinervação vagal seletiva<sup>32,33</sup>. Neste contexto, o conceito de que a desinervação cardíaca possa desempenhar um papel na prevenção da FA representa uma temática complexa e motivadora que necessita ser clarificada.

Em estudos prévios, a estimulação simpática foi menos eficaz do que a estimulação vagal na influência da refratariedade auricular e indução de FA<sup>11,34</sup>. No entanto, no modelo do cão submetido a *pacings* rápido crónico, a estimulação simpática induziu atividade repetitiva das VP e contribuiu para iniciar FA<sup>35</sup>. Também a estimulação combinada do simpático e parassimpático pode influenciar as propriedades eletrofisiológicas e aumentar a propensão para FA em cães<sup>16,35</sup>. Os efeitos eletrofisiológicos da atividade autonómica reflexa nas aurículas e VP podem assim ter um papel importante na fisiopatologia da FA.

Permanece por esclarecer a sequência de mecanismos responsáveis pela interrupção espontânea da FA. Poderia sugerir-se que a resolução (ou «inversão») das alterações autonómicas que acompanham o início da FA contribuem para terminar a arritmia. Tomita et al.,

demonstraram que as flutuações da atividade do SNA que precedem o início de episódios de FA retornam a valores normais imediatamente após terminar a FA<sup>8</sup>. No presente trabalho, utilizando o modelo intacto do coração do coelho, que tem baixa propensão para FA em condições basais, confirmamos a importância dos efeitos potenciais da interação simpático-vagal nas alterações da condução e refratariedade das aurículas e VP e sua contribuição para a inducibilidade e duração da FA. Além disso, a atividade vagal pareceu influenciar diretamente a interrupção da FA, já que em 2/3 dos animais com FA de maior duração a arritmia terminou imediatamente após cessação da estimulação vagal.

A evidência do papel do SNA na gênese da FA paroxística tem sido suportada em resultados clínicos e em modelos experimentais. Apesar de resultados controversos na análise da variabilidade da frequência cardíaca no período que precede o início espontâneo de FA, os episódios paroxísticos recorrentes parecem estar relacionados com flutuações dinâmicas do tônus autonômico, possivelmente dependendo do sinergismo entre o influxo adrenérgico e a modulação da atividade vagal<sup>5,18,36,37</sup>. São necessários estudos futuros para elucidar o impacto da inervação e da interação da atividade reflexa simpático-vagal na dinâmica complexa do substrato funcional da arritmogênese auricular.

### Limitações do estudo

Uma das limitações diz respeito à avaliação da refratariedade baseada em três locais (AAD, AAE e VP). Na realidade, o procedimento minucioso e demorado de cálculo dos PRE em condições basais e em diferentes condições de estimulação autonômica tornar-se-ia impraticável, nomeadamente no que respeita à manutenção da estabilidade da preparação *in vivo*. Além disso, a técnica de estimulação elétrica programada com um extraestímulo tem sido amplamente utilizada para o estudo da refratariedade. Estudos futuros poderão justificar o recurso a métodos diferentes para confirmar os atuais resultados. No entanto, no presente trabalho as alterações eletrofisiológicas documentadas, bem como o impacto na indução de FA, ocorreram imediatamente após estimulação autonômica, sugerindo uma clara relação entre os efeitos evocados pela modulação vagal e simpática e os resultados obtidos.

Finalmente, apesar de a indução de FA refletir vulnerabilidade para a arritmia, a dificuldade na sua manutenção, devido à pequena superfície auricular do coração do coelho, torna difícil o estudo dos mecanismos eletrofisiológicos subjacentes à perpetuação da FA.

### Conclusões

Este modelo experimental *in vivo* com inervação preservada permite estudar os efeitos da ativação simpática e vagal nas propriedades eletrofisiológicas das aurículas e VP. Os resultados mostram que a atividade vagal se associa ao aumento da condução interauricular e diminuição dos PRE das aurículas e VP, enquanto a estimulação simpática aumenta a velocidade de condução interauricular e entre as aurículas e VP, mas reduzindo a refratariedade somente no AAE. Esta preparação permite também avaliar o impacto da estimulação autonômica na inducibilidade de

FA e sua contribuição para a duração da arritmia. Os nossos dados suportam que o desenvolvimento deste modelo experimental pode fornecer informação importante no estudo da influência das interações da atividade autonômica com os mecanismos fisiopatológicos da FA.

### Responsabilidades éticas

Proteção dos seres humanos e animais. Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com os da Associação Médica Mundial e da Declaração de Helsinki.

### Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

### Bibliografia

1. Moe GK, Abildskov JA. Atrial fibrillation is a self-sustaining arrhythmia independent of focal discharge. *Am Heart J*. 1959;58:59-70.
2. Haissaguerre M, Jais P, Shah DC. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med*. 1998;339:659-66.
3. Mandapati R, Skanes A, Chen J, et al. Stable microreentrant sources: a mechanism of atrial fibrillation in the isolated sheep heart. *Circulation*. 2000;101:194-9.
4. Nattel S, Li D, Yue L. Basic mechanisms of atrial fibrillation - very new insights into very old ideas. *Annu Rev Physiol*. 2000;62:51-77.
5. Chen J, Wasmund SL, Hamdan MH. Back to the future: The role of the autonomic nervous system in atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2006;29:413-21.
6. Chen PS, Tan AY. Autonomic nerve activity and atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2007;4(3 Suppl):S61-4.
7. Coumel P. Autonomic influences in atrial tachyarrhythmias. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1996;7:999-1007.
8. Tomita T, Takei M, Saikawa Y, et al. Role of autonomic tone in the initiation and termination of paroxysmal atrial fibrillation in patients without structural heart disease. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2003;14(6):559-64.
9. Bettoni M, Zimmermann M. Autonomic tone variations before the onset of paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation*. 2002;105:2753-9.
10. Lombardi F, Tarricone D, Tundo F, et al. Autonomic nervous system and paroxysmal atrial fibrillation: a study based on the analysis of RR interval changes before, during and after paroxysmal atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2004;25(14):1242-8.
11. Liu L, Nattel S. Differing sympathetic and vagal effects on atrial fibrillation in dogs: role of refractoriness heterogeneity. *Am J Physiol*. 1997;273(2Pt2):H805-16.
12. Oh S, Zhang Y, Bibevski S, et al. Vagal denervation and atrial fibrillation inducibility: epicardial fat pad ablation does not have long-term effects. *Heart Rhythm*. 2006 Jun;3(6):701-8.
13. Schauer P, Scherlag BJ, Patterson E, et al. Focal atrial fibrillation: experimental evidence for a pathophysiologic role of the autonomic nervous system. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2001;12(5):592-9.
14. Schauer P, Scherlag BJ, Pitha J, et al. Catheter ablation of cardiac autonomic nerves from vagal afferent vagal atrial fibrillation. *Circulation*. 2000 Nov 28;102(22):2774-80.
15. Scherlag BJ, Patterson E, Po SS. The neural basis of atrial fibrillation. *J Electrocardiol*. 2006;39:S180-3.

16. Sharifov OF, Fedorov VV, Beloshapko GG, et al. Roles of adrenergic and cholinergic stimulation in spontaneous atrial fibrillation in dogs. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:483-90.
17. Arora R, Ulphani JS, Villuendas R, et al. Neural substrate for atrial fibrillation: implications for targeted parasympathetic blockade in the posterior left atrium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(1):H134-44.
18. Tan AY, Zhou S, Ogawa M, et al. Neural mechanisms of paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal tachycardia in ambulatory canines. *Circulation*. 2008;26:916-25, 118(9).
19. Melo J, Voigt P, Sonmez B, et al. Ventral cardiac denervation reduces the incidence of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;127:511-5.
20. Darge A, Reynolds MR, Germano JJ. Advances in Atrial Fibrillation Ablation. *J Invasive Cardiol*. 2009;21:247-54.
21. Craven J. The autonomic nervous system, sympathetic chain and stellate ganglion. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, February. 2008;9(2):39-41.
22. Moguilevski VA, Shiel L, Oliver J, et al. Power spectral analysis of heart-rate variability reflects the level of cardiac autonomic activity in rabbits. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 1996;58(1-2):18-24.
23. Postolache G, Postolache O, Silva Girão P. Wavelet and Fourier analysis of short-term rabbits' cardiovascular oscillation. Em: Proceedings of the IEEE Instrumentation and Measurement Technology Conference. 2006. p. 1801-6.
24. Hirose M, Leatmanorath Z, Laurita R, et al. Partial vagal denervation increases vulnerability to vagally induced atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2002;13:1272-9.
25. Ehrlich JR, Nattel S. Electrophysiological basis of atrial fibrillation. Em: Schwartzman D, Zenati MA, editores. Innovative management of atrial fibrillation. 1<sup>a</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2005. p. 3-18.
26. Katsouras G, Sakabe M, Comtois P, et al. Differences in atrial fibrillation properties under vagal nerve stimulation versus atrial tachycardia remodeling. *Heart Rhythm*. 2009;6:1465-72.
27. Pytkowski M, Jankowska A, Maciag A, et al. Paroxysmal atrial fibrillation is associated with increased intra-atrial conduction delay. *Europace*. 2008;10:1415-20.
28. Friedman HS, Sinha B, Tun A, et al. Zones of atrial vulnerability. Relationships to basic cycle length. *Circulation*. 1996;94:1456-64.
29. Hocini M, Ho SY, Kawara T, et al. Electrical conduction in canine pulmonary veins. Electrical and anatomic correlation. *Circulation*. 2002;105:2442-8.
30. Hayashi H, Fujiki A, Tani M, et al. Different effects of class Ic and III antiarrhythmic drugs on vagotonic atrial fibrillation in the canine heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31:101-7.
31. Lemola K, Chartier D, Yeh YH, et al. Pulmonary vein region ablation in experimental vagal atrial fibrillation: role of pulmonary veins versus autonomic ganglia. *Circulation*. 2008;117(4):470-7.
32. Pappone C, Santinelli V, Manguso F, et al. Pulmonary vein denervation enhances long-term benefit after circumferential ablation for paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation*. 2004;109:327-34.
33. 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;114:876-85.
34. Chen YJ, Tai CT, Chiou CW, et al. Inducibility of atrial fibrillation during atrioventricular pacing with varying intervals: role of atrial electrophysiology and the autonomic nervous system. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 1999;10(12):1578-85.
35. Chen YJ, Chen SA, Chang MS, et al. Arrhythmogenic activity of cardiac muscle in pulmonary veins of the dog: implication for the genesis of atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*. 2000;48:265-73.
36. Hou Y, Scherlag BJ, Lin J, et al. Ganglionated plexi modulate extrinsic cardiac autonomic nerve input: effects on sinus rate, atrioventricular conduction, refractoriness, and inducibility of atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:61-8.
37. Olshansky B. Interrelationship between the autonomic nervous system and atrial fibrillation. *Prog Cardiovasc Dis*. 2005;48(1):57-78.