

# Efeitos da Estimulação com Corrente Elétrica Contínua Pulsátil Sobre as Propriedades Eletrofisiológicas Atriais. Estudo Experimental da Fibrilação Atrial em Cães

Dalmo Antonio Ribeiro Moreira, Amanda Guerra Moraes Rego Sousa, Paulo Valente, Elizabete Hosri Leone  
São Paulo, SP

## Objetivo

*Avaliar se a estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil induz fibrilação atrial e os seus efeitos sobre as propriedades eletrofisiológicas atriais e as alterações histológicas atriais.*

## Métodos

*Foram submetidos à toracotomia lateral direita 22 cães e implantados eletrodos de marcapasso no sulcus terminalis (ST), apêndice atrial direito (ADb) e na região pósterio-inferior do átrio esquerdo (AE); um par de eletrodos foi suturado na auricleta direita para estimulação com bateria alcalina de 9 Volts conectada a uma sistema (LM 555) que transforma a energia contínua linear da bateria em corrente contínua pulsátil, durante 60 min. A biópsia epicárdica atrial foi realizada antes e após a estimulação atrial.*

## Resultados

*Não foram observadas diferenças nas durações dos períodos refratários efetivos atriais. Os tempos de condução intra-atrial, interatrial, bem como dos extra-estímulos atriais também prolongaram-se. A duração dos eletrogramas atriais prolongou-se durante ritmo sinusal e estimulação atrial programada; em 68% dos cães a fibrilação atrial foi induzida e sustentou-se. Foram observados edema intersticial e bandas de contração celular no subepicárdio à microscopia óptica, e intensa desorganização miofibrilar e aumento do tamanho das mitocôndrias à microscopia eletrônica.*

## Conclusão

*Esta técnica de estimulação atrial induz fibrilação atrial e provoca modificações atriais que aumentam sua vulnerabilidade para o surgimento de fibrilação atrial.*

## Palavra chave

*arritmia cardíaca; fibrilação atrial; eletrofisiologia*

O interesse despertado pela fibrilação atrial na atualidade deve-se não somente por ser uma arritmia freqüente mas, também, pelo alto risco de complicações que acarreta<sup>1</sup>. Devido à alta prevalência, aliada ao conhecimento cada vez maior das complicações e, também, com o grande progresso advindo do tratamento percutâneo de algumas arritmias, o interesse na abordagem terapêutica da fibrilação atrial vem aumentando nos últimos anos. Os conhecimentos recentes dos mecanismos eletrofisiológicos, envolvendo sua gênese, têm permitido entender melhor os fatores desencadeantes e de sua manutenção. Para que esses conhecimentos chegassem ao estágio atual e pudessem evoluir, muitos modelos experimentais foram descritos cujos resultados se assemelham aos dados obtidos em corações de humanos no laboratório de eletrofisiologia<sup>2-4</sup>. Apesar de todo avanço, a literatura não dispõe, até o presente, de uma técnica experimental simples e rápida para indução artificial e manutenção de fibrilação atrial em cães, que seja prática e pouco dispendiosa. Por esta razão, a utilidade de um modelo experimental simples e reprodutível, está implícita. Os modelos experimentais citados anteriormente utilizavam marcapassos especiais e sofisticados, controlados por sistemas computadorizados, capazes de estimulação rápida por períodos prolongados<sup>2,3</sup>. Entretanto, esses sistemas, são caros e nem sempre disponíveis em nosso meio, o que constitui um fator limitante e que retarda a evolução nos conhecimentos envolvidos no surgimento desta arritmia.

Da mesma maneira que a estimulação ventricular com corrente elétrica contínua causa fibrilação ventricular, imaginou-se ser possível experimentalmente, por meio da utilização de baterias alcalinas de 9 Volts, estimular-se os átrios e obter o mesmo efeito. Experimentos preliminares em nosso laboratório demonstraram que o contato direto da bateria com o epicárdio atrial produzia lesões importantes, que poderiam, eventualmente, influenciar nos resultados. Por esta razão optou-se pelo acoplamento da bateria a um sistema eletrônico para estimulação atrial, denominado LM555, que transforma a corrente contínua linear liberada pela bateria, em corrente contínua pulsátil, acarretando com isso menor risco de comprometimento da musculatura atrial. Este estudo foi planejado considerando-se a hipótese de que a estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil induz fibrilação atrial e pode provocar alterações das propriedades eletrofisiológicas atriais que facilitam a sua manutenção ou o seu surgimento espontâneo, possibilitando a pesquisa de novas modalidades terapêuticas em laboratório de experimentação. Assim,



os objetivos deste estudo foram: a) avaliar a eficácia da estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil para indução de fibrilação atrial em coração de cães; b) avaliar os efeitos desta modalidade de estimulação sobre as propriedades eletrofisiológicas atriais (período refratário efetivo; os tempos de condução intra-atrial e interatrial; a duração dos eletrogramas atriais em ritmo sinusal e durante a estimulação atrial programada; o índice de comprimento de onda do impulso atrial); c) avaliar a vulnerabilidade atrial à indução artificial ou ao surgimento espontâneo de fibrilação atrial após o período de estimulação; d) analisar as alterações histológicas no tecido atrial causadas pela estimulação atrial (remodelamento morfológico ou anatômico).

## Métodos

Foram incluídos neste estudo, cães saudáveis sem raça definida e de qualquer sexo, com peso variando entre 15 e 30Kg e excluídos cães idosos (idade estimada pelo aspecto da dentição) nos quais o surgimento de arritmias atriais espontâneas são mais comuns; animais com extra-sístoles atriais freqüentes (acima de 10/min), com taquicardias atriais ou fibrilação atrial paroxística ou persistente; animais que apresentassem espessamentos do pericárdio, alterações da coloração do epicárdio atrial, presença de fibrose atrial ou qualquer outra alteração que sugerisse acometimento cardíaco prévio por meio da inspeção direta após a abertura do tórax. Após medicação pré-anestésica (fentanil 1,0 mg/kg de peso por via intramuscular), foi administrado thiopental sódico (12,5 mg/kg de peso) por via intravenosa para indução anestésica. Após a intubação endotraqueal, a manutenção da anestesia foi realizada com oxigênio a 100% com respirador Takaoka modelo 670 (Takaoka, São Paulo) associada à administração contínua de halotano. A freqüência do respirador foi ajustada para manutenção de gasometria arterial dentro de limites fisiológicos (pH entre 7,3 e 7,4; pO<sub>2</sub> arterial acima de 90 mmHg; pCO<sub>2</sub> entre 35 e 40 mmHg e bicarbonato plasmático entre 20 e 30 mmol/l). Após a anestesia, os animais foram submetidos à toracotomia lateral direita no quarto espaço intercostal, seguida de exposição do coração no saco pericárdico. No epicárdio atrial foram implantados fios temporários de marcapasso nas seguintes regiões: a) átrio direito alto, próximo ao *sulcus terminalis* (identificado como ST); b) átrio direito anterior e inferior, próximo ao anel atrioventricular, logo abaixo do apêndice atrial (identificado como ADb); c) átrio esquerdo pósterio-inferior, próximo ao anel atrioventricular e ao apêndice atrial (identificado como AE); d) um par de eletrodos no apêndice atrial direito, que servia para estimulação atrial. As extremidades externas dos eletrodos epicárdicos foram conectadas a um polígrafo de múltiplos canais (FEAS Eletrônica®, Argentina), para registro dos eletrogramas bipolares das respectivas regiões atriais, juntamente com as derivações eletrocardiográficas D1, D2, aVF. Todos os registros foram realizados à velocidade de 100 mm/s e o ganho de registro de 1 cm equivalente a 1,0 mV.

Após a preparação do animal, e por meio de visão direta, foram realizadas biópsias do epicárdio atrial direito, na região ântero-lateral para análise histológica (amostra controle).

A determinação do período refratário atrial foi obtida pela estimulação atrial programada (estimulador FEAS®, Argentina), com ciclos de estimulação (intervalo S1-S1) de 300 e 200 ms,

para aferição do período refratário efetivo. Para sua obtenção, a estimulação foi realizada por meio dos eletrodos epicárdicos das regiões ST, ADb e AE, utilizada intensidade de 5,0 mA e com duração da largura de pulso de 2,0 ms. A intensidade de 5 mA foi adotada para se garantir o comando tecidual atrial constante e uniforme durante todo o experimento. Para aferição do período refratário efetivo foi utilizada a técnica clássica da estimulação atrial programada, sendo obedecido o seguinte protocolo: após introdução de 8 pulsos (ciclo de estimulação S1-S1 de 300 e 200 ms), eram aplicados extra-estímulos (S2) com intervalos de acoplamento (S1-S2) progressivamente decrescentes de 5,0 ms, até quando não mais se observasse captura atrial<sup>5</sup>.

Os intervalos para determinação dos tempos de condução intra-atrial e interatrial foram obtidos por meio da estimulação atrial contínua por 10s a partir de ST, com intensidade de 5,0 mA e largura de pulso de 2,0 ms. Com seqüência de pulsos a intervalos de 300 e 200 ms determinaram-se os tempos de condução entre ST e ADb (tempo de condução intra-atrial) e entre ST e AE (tempo de condução interatrial). O tempo de condução atrial dos estímulos prematuros, a partir da estimulação em ST para as regiões ADb e AE, foi obtido pela aferição do intervalo S2-A2 (intervalo compreendido entre a espícula liberada pelo estimulador e o respectivo eletrograma atrial do batimento prematuro nas regiões ADb e AE) com ciclos de estimulação de 300 e 200 ms. A variável dispersão da refratariedade atrial foi obtida a partir do conhecimento das durações dos períodos refratários atriais.

A vulnerabilidade atrial foi determinada com a estimulação atrial contínua e rápida, com intervalo S1-S1 de 100 ms (equivalente a 600 pulsos por minuto [ppm]), com intensidade de 5,0 mA, largura de pulso de 2,0 ms por períodos de 10s, por três vezes consecutivas, na região ST antes e após o período de estimulação atrial. A fibrilação atrial induzida por esta técnica era considerada *sustentada* se a duração fosse maior ou igual a 30s; ou *não sustentada*, quando a sua duração fosse menor que 30 segundos.

Os efeitos da corrente elétrica contínua pulsátil foram analisados após a estimulação atrial que era realizada quando os polos positivo e negativo de uma bateria de 9 Volts (Duracel®) eram conectados a um circuito eletrônico comercialmente disponível, denominado LM555®. Esse circuito é um sistema estável, que gera intervalos de estimulação ou oscilações previamente programados de maneira muito simples e de alta precisão. A forma de liberação da corrente elétrica, a partir da bateria, deixa de ser contínua e linear, para ser do tipo contínua e pulsátil. Assim, a energia da bateria é transformada em freqüências pré-programadas de estimulação, com variações da largura de pulso e da intensidade de estimulação que se julguem adequadas ao procedimento. Nesse protocolo, o sistema era programado para realizar estimulações a partir do apêndice atrial direito utilizando a corrente com intensidade de 5,0 mA e freqüência de 600 ppm, com largura de pulso de 2,0 ms, por período de 1h. Após o período de estimulação atrial, foram reavaliadas imediatamente as variáveis eletrofisiológicas obtidas na condição controle. Ao final do estudo, era realizada outra biópsia epicárdica atrial direita para análises histológicas, com microscopias óptica e eletrônica. Essas análises eram programadas para serem realizadas pelo menos em um para cada dois cães pela microscopia óptica e, em um para quatro cães pela a microscopia eletrônica. A seguir, os animais eram sacrificados com injeção

endovenosa de cloreto de potássio para indução de fibrilação ventricular, precedida pelo aprofundamento da anestesia.

**Definições - a) Fibrilação atrial:** ritmo cardíaco irregular, na ausência de atividade elétrica atrial ordenada (ausência de onda P), que é substituída por ondulações irregulares da linha de base; **b) período refratário efetivo atrial:** o mais curto intervalo S1-S2, no qual S2 não é seguido de ativação atrial<sup>5</sup>; **período refratário efetivo atrial global** é a média das durações obtidas nas três regiões ST, ADb e AE; **c) dispersão da refratariedade atrial:** definida pelo coeficiente de variação do período refratário efetivo atrial como sendo a razão entre o desvio padrão da média e a média dos períodos refratários multiplicada por 100, em cada ciclo de estimulação<sup>6</sup>; **d) tempos de condução intra-atrial e interatrial:** tempo decorrido para ativação de ADb e AE a partir da estimulação de ST, medido entre a espícula de estimulação (S) e os correspondentes eletrogramas bipolares locais (A1); tempo de condução atrial do extra-estímulo atrial é o intervalo medido entre a espícula de estimulação correspondente ao impulso prematuro (S2) e o respectivo eletrograma atrial (A2)<sup>5,7</sup>; **e) remodelamento anatômico atrial:** modificações histológicas observadas nas células e estruturas celulares (miofibrilas e mitocôndrias) e no meio intersticial causadas pela estimulação atrial; **f) vulnerabilidade atrial:** indução de fibrilação atrial pós-estimulação atrial rápida com ciclo de 100 ms realizada em três tentativas consecutivas. O tempo de duração da fibrilação atrial induzida correspondeu ao maior episódio documentado após os três períodos de estimulação atrial a 600 ppm e não à somatória da duração de curtos episódios da arritmia após cada fase da estimulação.

O manejo dos animais seguiu as regras nacionais e internacionais relacionadas ao estudo experimental em laboratório. O protocolo de estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição.

**Análise Estatística -** Foram comparadas as médias das variáveis eletrofisiológicas obtidas na situação prévia à estimulação atrial (situação controle) e após a mesma. Foram comparadas a média de duração do período refratário efetivo foi comparada dentro do mesmo ciclo de estimulação (intervalo S1-S1 de 300 ms e intervalo S1-S1 de 200 ms separadamente) para cada região ST, ADb e AE bem como para as três regiões (período refratário efetivo atrial global). O mesmo foi feito com as médias das durações do período refratário funcional das regiões ST e ADb. Essas variáveis foram também analisadas, comparando-se os valores das médias obtidas entre os ciclos de estimulação de 300 ms e entre aqueles com o ciclo de estimulação de 200 ms, tanto antes quanto após a indução de fibrilação atrial. Os tempos de condução intra-atrial e interatrial, tempo de condução atrial dos impulsos prematuros, índice de comprimento de onda do impulso atrial e a dispersão da refratariedade atrial foram comparados dentro do mesmo ciclo de estimulação, antes e após a estimulação atrial. Os resultados para análise comparativa são apresentados como média e erro padrão da média, enquanto que os resultados descritivos são apresentados como média e um desvio padrão. Os valores das variáveis contínuas (duração dos períodos refratários; tempos de condução atrial; índice de comprimento de onda do impulso atrial; dispersão dos períodos refratários atriais) foram comparados pelo teste *t* de Student pareado. Foram considerados significantes os valores  $p < 0,05$ .

## Resultados

Foram empregados 22 cães, 17 (77,27%) do sexo masculino e cinco (22,73%) do sexo feminino, sem raça definida, com média de pesos de  $23 \pm 12$  kg (variando entre 16 e 27 kg). A fibrilação atrial foi induzida em 100% dos animais durante a aplicação da corrente elétrica contínua pulsátil sobre o tecido atrial (fig.1). Após o surgimento da arritmia, a observação do campo cirúrgico evidenciava intensa dilatação das câmaras atriais com aumento da tensão de suas paredes, conforme percebido pela palpação. Foram observados períodos de uma resposta atrial para cada dois estímulos (captura atrial com relação 2:1), às vezes de 3:1, no início da estimulação que gradualmente foram se transformando em captura 1:1, logo seguidos de degeneração do ritmo atrial para fibrilação atrial, com condução atrioventricular variável. Em 19/22 cães (86,36%), interrupções ocasionais da estimulação por cerca de três a cinco segundos, por volta dos 30 minutos de estimulação, confirmaram a presença da fibrilação atrial como ritmo subjacente, indicando que a arritmia estava presente naquele período. Após a interrupção da estimulação atrial, a fibrilação atrial manteve-se espontaneamente em 12/22 cães (54,54%), por um período de  $155,17 \pm 212,69$  segundos (variando entre 10 segundos e 780 segundos). Nos outros 10 animais (45,46%), a interrupção da estimulação foi logo seguida de restabelecimento do ritmo sinusal.

Não se observaram diferenças significativas nas durações dos períodos refratários efetivos, comparando-se as condições pré e pós-estimulação atrial, tanto nas regiões ST, ADb e AE, com ciclos de estimulação de 300 e 200 ms. A média da duração do período refratário efetivo atrial global reduziu significativamente quando comparados os valores obtidos com os ciclos de 300 e 200 ms, tanto antes quanto após a estimulação atrial (tab. I). Comparan-

**Tabela I - Comparação das médias dos períodos refratários efetivos atriais globais entre os ciclos de 300 e 200 ms, obtidas antes e após a estimulação atrial com corrente elétrica contínua.**

	S1-S1 (300 ms)	S1-S1 (200 ms)	p <sup>#</sup>
Antes	119,60 ± 4,06	102,90 ± 4,08	0,006
Após	122,06 ± 4,07	105,31 ± 3,51	0,004
p*	0,671	0,660	

\* valor de p comparando-se as médias das durações do período refratário efetivo atrial na situação antes e após estimulação atrial com ciclos de 300 e 200 ms; # valores de p comparando-se as médias das durações do período refratário efetivo atrial entre os ciclos de 300 e 200 ms.



Fig. 1 - Registro eletrocardiográfico, obtido do cão 2, das derivações periféricas D1, D2 e aVF e dos eletrogramas bipolares epicárdicos atriais correspondentes às regiões ST, ADb e AE, nessa ordem de cima para baixo obtido durante indução de fibrilação atrial com estimulação atrial com corrente contínua pulsátil. Durante a fibrilação atrial observa-se a desorganização da atividade elétrica atrial nos canais correspondentes a ST e ADb. As espículas de estimulação (S) causadas pelo estimulador artificial estão presentes com intervalos de 100 ms. Registro a 100 mm/s.

do-se as médias das durações dos períodos refratários dentro do mesmo ciclo de estimulação (tab. I), as diferenças observadas não foram significativas.

A dispersão da duração do período refratário efetivo atrial, definida pelo coeficiente de variação do período refratário, foi similar nas duas situações, antes e após a indução de fibrilação atrial (tab. II). Entretanto, na determinação do período refratário efetivo atrial com ciclo de estimulação de 300 ms, houve aumento do seu coeficiente de variação em 14/21 cães (67%) indo de  $7,00 \pm 1,24$  ms antes para  $12,06 \pm 1,64$  ms após a estimulação atrial (aumento de 72%) e em 12/20 (60%) cães com ciclo de estimulação de 200 ms, indo de  $7,19 \pm 1,08$  ms para  $11,98 \pm 1,81$  ms (aumento de 67%). Dos 12 cães em que se observou aumento do coeficiente de variação do período refratário com ciclo de 200 ms após a estimulação atrial, 9 (75%) apresentaram também aumento da dispersão com ciclo de 300 ms. Esses achados indicam que, com o protocolo de estimulação utilizado nesse estudo, a dispersão da duração do período refratário efetivo tende a ser maior após o desencadeamento da fibrilação atrial.

O tempo de condução intra-atrial foi similar nas situações pré e pós-estimulação atrial, quando comparados dentro do mesmo ciclo de estimulação (intervalos S1-S1 de 300 ms e de 200 ms) (tab. III). O tempo de condução interatrial apresentou-se prolongado tanto com ciclo de 300 ms quanto com ciclo de 200 ms, entretanto somente com ciclo de estimulação de 200 ms houve diferença estatisticamente significativa.

Observou-se prolongamento significativo da média dos valores do tempo de condução dos extra-estímulos atriais, aplicados em ST e medidos em ADb e AE, com ciclos de estimulação de 300 ms e 200 ms, após a indução de fibrilação atrial em comparação com a situação controle (fig. 2). O prolongamento dos intervalos ST2-AE2 e ST2-ADb2 foi marcante após a estimulação atrial conforme pode ser observado na figura 3.

A duração dos eletrogramas atriais em ST, ADb e AE durante ritmo sinusal, antes e imediatamente após a estimulação atrial, encontra-se descrita na tab. IV. Pode-se observar que houve aumento da duração dos eletrogramas em ST e ADb e tendência de aumento da duração em AE, após o período de fibrilação atrial artificialmente induzida. Na figura 4 encontra-se um exemplo de

aumento da duração dos eletrogramas locais das três regiões após a estimulação atrial.

Antes e após a estimulação atrial, foi testada a indutibilidade da fibrilação atrial com a estimulação atrial a 600 ppm. Na situação controle, em nenhum animal conseguiu-se a indução de fibrilação atrial sustentada; a forma não sustentada foi observada em apenas três cães (13,60%; com média de durações de  $18,67 \pm 11$  segundos); em um animal (4,40%) foi induzido *flutter* atrial com duração de 23s. Nenhum outro tipo de arritmia atrial foi induzido nos outros 18 (82%) cães. Entretanto, após o período de 60min de estimulação atrial, a fibrilação atrial sustentada foi desencadeada em 15/22 cães (68,18%), com média de duração de  $148,00 \pm 123$ s (variando entre 35 e 420s). A fibrilação atrial não sustentada foi induzida em quatro animais (duração média de  $17,00 \pm 8,72$  segundos). Em apenas 3 (13,63%) cães, nenhuma arritmia foi induzida durante o teste da vulnerabilidade atrial. A estimulação programada de ST e ADb mostrou serem estes locais os mais vulneráveis para a indução da fibrilação atrial. Assim, com a estimulação em ST, a fibrilação atrial foi induzida em 5/8 (62,5%) cães; a estimulação de ADb induziu-a em 6/8 cães (75%) e a fibrilação atrial foi induzida com a estimulação em AE em apenas 2/8 cães (25%).

A biópsia epicárdica atrial foi realizada em 10 (45,5%) cães, com a retirada de tecido da região anterior do átrio direito, a cerca de 2 cm de distância de onde estava sendo realizada a estimulação atrial com corrente contínua. Na situação controle nenhuma alteração histológica foi observada. Entretanto, em 100% dos animais em que a biópsia foi realizada, após a indução de fibrilação atrial, foram observadas áreas de edema intersticial na região subepicárdica, e bandas de contração celular na região do subepicárdio foram observadas em 5/10 (50%) dos animais. A microscopia eletrônica, realizada em cinco animais, mostrou intensa desorganização miofibrilar, edema intersticial difuso além de hipertrofia importante das mitocôndrias. Essas últimas apresentavam desarranjo lamelar difuso além de áreas de edema e fragmentação de lamelas (fig. 5).

## Discussão

Este estudo demonstrou que a estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil induz fibrilação atrial de maneira constante e reprodutível. Em mais da metade do grupo de animais (54,54%) a arritmia persistiu espontaneamente por períodos de até 13min, mesmo após o interrupção da estimulação. Além disso, a fibrilação atrial induzida provocou alterações estruturais celulares, caracterizando o remodelamento anatômico atrial, conforme demonstrado pela biópsia epicárdica. A principal alteração da eletrofisiologia atrial observada nesta investigação foi o prolongamento do tempo de condução atrial.

	S1-S1 (300 ms)	S1-S1 (200 ms)
Antes	$8,71 \pm 1,53^*$	$11,12 \pm 1,96^{**}$
Depois	$10,53 \pm 1,37^*$	$11,56 \pm 1,49^{**}$
* p = 0,195; ** p = 0,804		

	Antes		Após	
	300 ms	200 ms	300 ms	200 ms
ST - ADb	$14,95 \pm 0,57^*$	$15,47 \pm 0,64^{**}$	$15,86 \pm 0,34^*$	$15,52 \pm 0,57^{**}$
ST - AE	$41,90 \pm 1,50^+$	$39,90 \pm 1,52^\#$	$45,59 \pm 1,88^+$	$46,47 \pm 1,63^\#$
* p=0,178; ** p = 0,954; + p = 0,132; # p = 0,005				

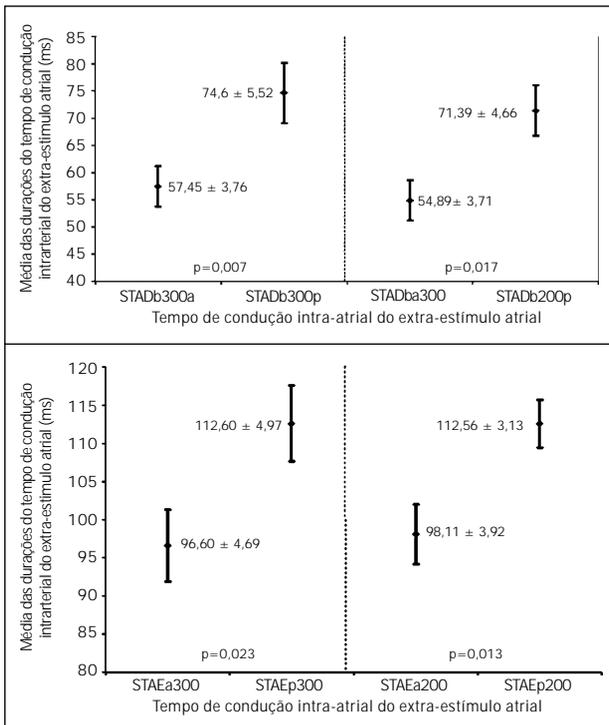


Fig. 2 - Efeitos da estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil sobre o tempo de condução do estímulo atrial prematuro (S2), aplicado à região de ST e o tempo que o mesmo demora para ser conduzido até a região ADb (parte superior) e para a região AE (parte inferior). Após o período de indução de fibrilação atrial artificialmente induzida, o maior retardo de S2 observado no intervalo ST-AE é maior do que o mesmo intervalo registrado antes da estimulação atrial, tanto com ciclo de 300 ms quanto com o ciclo de 200 ms. O mesmo foi observado quanto ao tempo de condução intra-atrial).

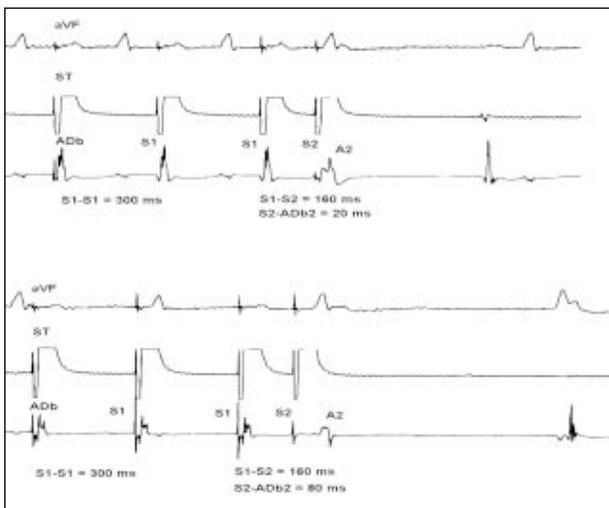


Fig. 3 - Duas situações distintas registradas no mesmo animal (cão 25). No traçado superior, momentos antes da estimulação atrial com corrente elétrica e, abaixo, imediatamente após a estimulação atrial. Nos dois registros pratica-se a estimulação atrial programada com ciclo de estimulação de 300 ms e intervalo de acoplamento (S1-S2) de 160 ms. No traçado inferior, ocorreu retardo maior do intervalo S2-A2 (80 ms) do que no traçado superior (S2-A2 de 20 ms).

A estimulação do apêndice atrial direito, com frequência de 600 ppm por 60min, provoca inicialmente captura atrial irregular, mas após decorridos cerca de 15min do início do procedimento, já se percebia claramente a resposta atrial numa relação 1:1, por alguns batimentos, seguida de intensa desorganização da atividade elétrica dessa região. Este achado sugere que, com o passar do tempo, o encurtamento progressivo da refratariedade atrial,

**Tabela IV - Média das durações dos eletrogramas atriais (em ms) registrados em ST, ADb e AE durante ritmo sinusal, antes e após a estimulação atrial.**

	Antes	Após	% Aumento	p
ST	58,77 ± 2,19	66,60 ± 1,80	13	0,001
ADb	60,18 ± 2,06	71,77 ± 2,07	19	<0,0001
AE	65,86 ± 5,16	76,04 ± 2,70	15	0,065

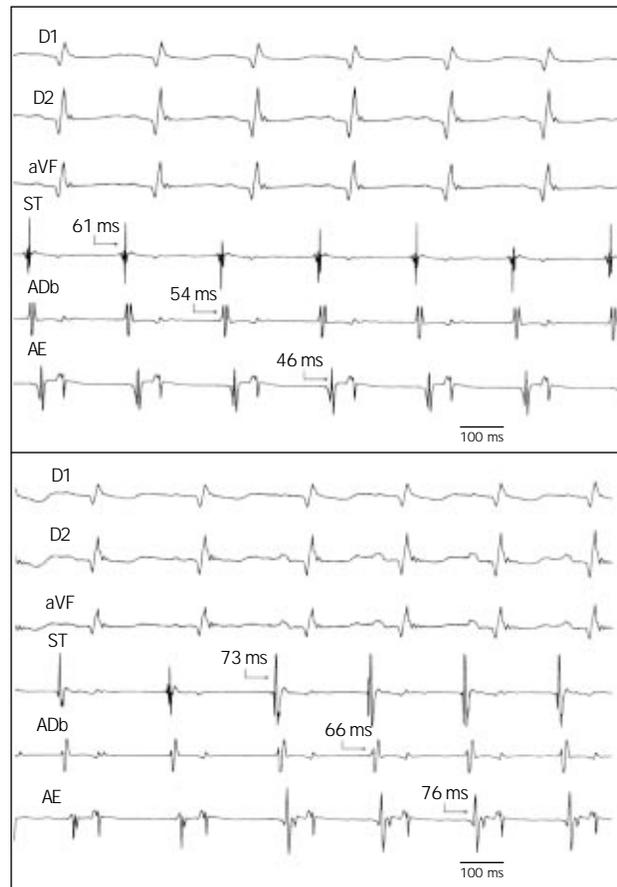


Fig. 4 - Derivações eletrocardiográficas D1, D2 e aVF e eletrogramas bipolares epicárdicos atriais, ST, ADb e AE, registrados no cão 11. Nos traçados superior e inferior apresentam-se as situações pré e pós-estimulação atrial com corrente contínua pulsátil, respectivamente. Ambos os traçados mostram ritmo sinusal. Houve aumento da duração dos eletrogramas bipolares atriais após a estimulação atrial.

com a persistência da estimulação rápida, permite capturas atriais mais frequentes, até próximo do período refratário efetivo, momento no qual as frentes de onda começam a coincidir com a fase de repolarização (período vulnerável atrial). Além disso, pode-se supor que a recuperação da excitabilidade atrial é heterogênea quando os átrios são ativados em seqüência rápida, o que faz com que o impulso caminhe mais lentamente em tecido pouco excitável. De acordo com Prinzmetal, a estimulação atrial rápida próxima do limiar de indução de fibrilação atrial, provoca retardos graduais da condução local que se tornam cada vez mais intensos, fato esse que intensifica a quebra de ondas de despolarização elétrica<sup>8</sup>.

A fibrilação atrial foi induzida em todos os animais durante o período de estimulação atrial e, em 54% deles, a arritmia persistiu espontaneamente, mesmo após a interrupção da estimulação. Esse fato deve-se provavelmente às modificações eletrofisiológicas e estruturais celulares que facilitariam a manutenção da arritmia. A maioria dos estudos relacionados à indução artificial de fibrilação

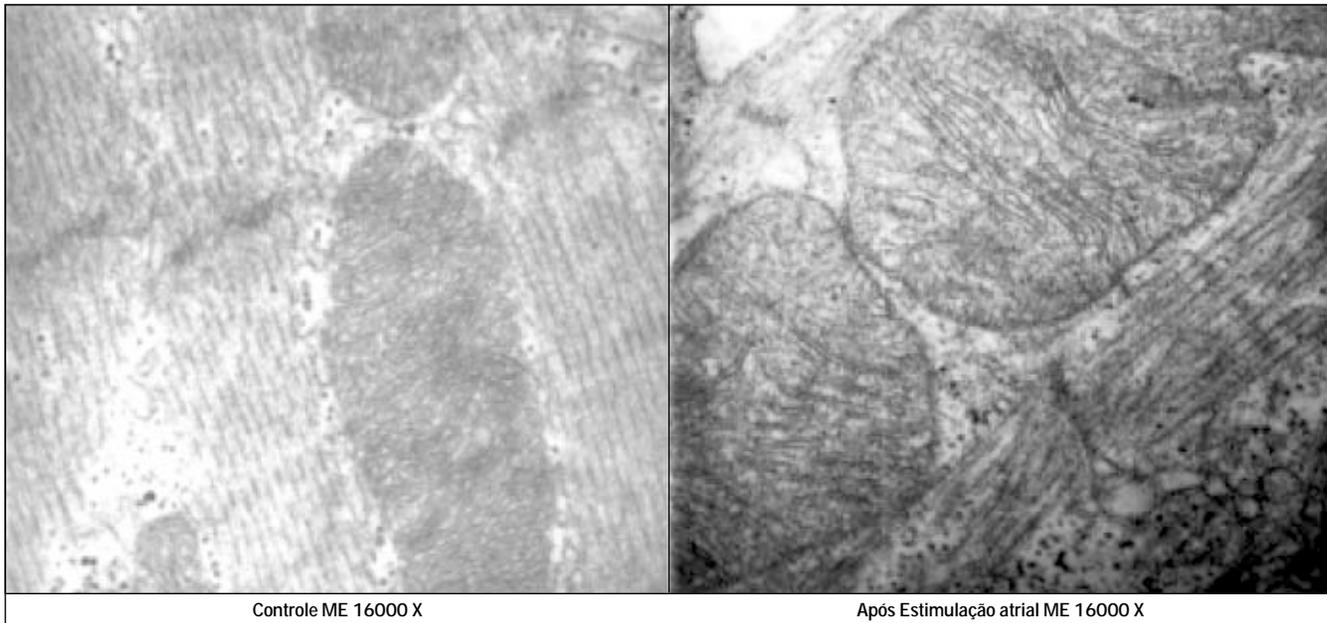


Fig. 5 - Microscopia eletrônica (ME) de tecido atrial, com aumento de 16000 vezes, mostrando os efeitos da estimulação atrial com corrente elétrica contínua pulsátil por 60 minutos sobre os miócitos. À esquerda, situação controle e à direita, após a estimulação atrial. Após a indução de fibrilação atrial há intenso desarranjo das miofibrilas. Chama a atenção o grande aumento das mitocôndrias e a desorganização de suas lamelas em comparação à situação controle.

atrial em laboratório obteve períodos progressivamente maiores dessa arritmia, à medida que o tempo de estimulação se prolongava<sup>2-4</sup>. Estas observações implicam ter havido mudanças estruturais nas células, associadas às alterações da eletrofisiologia. Provavelmente, períodos curtos de estimulação, como os empregados em nosso estudo, promovam apenas modificações transitórias e reversíveis da eletrofisiologia atrial, em resposta à frequência rápida de estimulação, diferentemente do que ocorre quando a estimulação prolonga-se por três ou quatro semanas. Em outras palavras, com períodos curtos de estimulação atrial, as alterações observadas seriam apenas funcionais e primárias relacionadas com a própria estimulação, indicando uma fase de adaptação celular à taquicardia, artificialmente induzida. Por outro lado, períodos mais longos de estimulação induziriam alterações estruturais mais intensas, tornando difícil a separação entre o efeito primário e o secundário da estimulação atrial, no surgimento da fibrilação atrial<sup>9</sup>.

A estimulação atrial com corrente contínua pulsátil causou modificações da eletrofisiologia celular. Em outros modelos experimentais, que incluem a estimulação atrial por mais de 24h, às vezes por semanas, é frequente observar-se prolongamento do tempo de condução atrial, principalmente nos experimentos em que se desenvolve insuficiência cardíaca<sup>2</sup>. Este fato ocorre devido à presença de fibrose tecidual e também à intensa desorganização estrutural das células<sup>10</sup>. O maior retardo da condução atrial encontrado em nosso estudo ocorreu no intervalo ST-AE, com a estimulação atrial com ciclo de 200 ms. Nesse caso, o retardo aconteceu com a estimulação atrial mais rápida e entre dois eletrodos distantes, ao invés de surgir também entre ST e ADb, próximos entre si. Este achado indica que a frente de onda encontra cada vez mais tecido parcialmente refratário à sua frente durante estimulações rápidas, já que o tempo de recuperação da excitabilidade local é mais prolongado nessa condição. O grau de retardo maior entre as regiões ST e AE, com ciclo de 200 ms e não com o ciclo de 300 ms, seria indicativo da inversão na adaptação da condução atrial a frequências mais rápidas, segundo Manios e

cols.<sup>11</sup>, tendo em consideração o potencial de ação monofásico. No átrio direito e com ciclos de estimulação mais longos (intervalo ST-ADb com ciclo de 300 ms), não se observou prolongamento do tempo de condução atrial, pois a recuperação da excitabilidade atrial é mais rápida próxima da fonte estimuladora, como foi o caso da estimulação em ST, o que reduziria a chance de condução do impulso elétrico em tecido ainda parcialmente refratário entre essa região e ADb<sup>8</sup>.

Um achado importante em nosso estudo foi a observação de que o tempo de condução atrial de impulsos prematuros esteve significativamente prolongado, após a estimulação atrial. A fibrilação atrial surge e tende a se perpetuar quando existe grau importante de retardo da condução do impulso elétrico, mesmo que não haja alterações da duração do período refratário atrial. Experimentalmente, já se demonstrou que em corações de coelhos, um retardo crítico da condução é necessário para se iniciar a atividade em um circuito reentrante<sup>12</sup>. Cosio e cols.<sup>7</sup> e Buxton e cols.<sup>13</sup> já demonstraram que pacientes com história clínica de fibrilação atrial apresentam prolongamento da condução de extrasístoles artificialmente introduzidas nos átrios, sendo essa uma marca da vulnerabilidade atrial para o surgimento de fibrilação atrial nessa população. Qin e cols.<sup>14</sup> demonstraram que pacientes com história de fibrilação atrial apresentam aumento muito mais significativo e intenso da inclinação da curva de condução atrial em relação à prematuridade dos extra-estímulos atriais do que os pacientes sem arritmias e que não havia diferença importante das durações de períodos refratários atriais em ambos os grupos, como observado em nosso estudo, sugerindo que a alteração do substrato atrial, representado pelo prolongamento do tempo de condução, era o fator mais importante para o desencadeamento de fibrilação atrial nos pacientes com história clínica dessa arritmia.

Uma das condições para o surgimento de fibrilação atrial, mesmo em corações normais, é a heterogeneidade da duração dos períodos refratários. O nosso estudo mostrou que nos animais, nos quais a vulnerabilidade ao surgimento de fibrilação atrial era maior,

a dispersão da refratariedade também o era. Dos 15 animais, nos quais se conseguiu a indução de fibrilação atrial sustentada após a pesquisa da vulnerabilidade atrial, 11 (73,3%) deles apresentavam aumento da dispersão da duração do período refratário efetivo atrial. Achado que sugere que a estimulação atrial causa um desarranjo eletrofisiológico tecidual, acarretando heterogeneidade regional dos períodos refratários. A ausência de modificações significativas na duração do período refratário efetivo atrial, após a estimulação atrial por 60min, e o aumento da sua heterogeneidade (ou seja maior dispersão) nos cães nos quais se induziu fibrilação atrial após aquele período são resultados similares aos de Fareh e cols<sup>5</sup> que observaram maior vulnerabilidade atrial nos animais que se submeteram à estimulação atrial a 400 ppm durante 24h. Nesses cães, a dispersão da refratariedade foi o principal fator relacionado à maior vulnerabilidade para indução artificial de fibrilação atrial, enquanto que o período refratário efetivo em si e o comprimento de onda não apresentaram qualquer relação.

Imediatamente após a interrupção da fibrilação atrial induzida, a duração dos eletrogramas locais prolongou-se significativamente durante ritmo sinusal, nas três regiões estudadas, particularmente em ST e ADb. Esse achado indica retardo local da condução com frequências cardíacas mais lentas, ou seja, efeito frequência-dependente reverso e pode ser um fator importante para o surgimento de novos episódios da arritmia, particularmente na presença de gatilhos, como as extra-sístoles atriais. Em estudo realizado por Tanigawa e cols.<sup>16</sup>, o mapeamento do átrio direito de pacientes com história de fibrilação atrial, com ou sem disfunção sinusal associada, evidenciou eletrogramas atriais fracionados, de longa duração, distribuídos heterogeneamente. Tai e cols.<sup>17</sup> realizando mapeamento endocárdico em pacientes com e sem arritmias atriais, demonstraram que os portadores de *flutter* ou fibrilação atrial paroxística apresentaram eletrogramas do átrio direito mais fracionados e de maior duração que os indivíduos sem qualquer arritmia atrial documentada. Nos cães de nosso estudo, alterações estruturais celulares caracterizadas pela presença de desorganização de miofibrilas, degeneração de miócitos, a interposição de tecido colágeno entre as miofibrilas e edema intersticial podem justificar retardos locais da condução e o conseqüente aumento da duração dos eletrogramas atriais<sup>18</sup>.

Na pesquisa da vulnerabilidade atrial, obteve-se fácil indução de fibrilação atrial na maioria dos animais (86,36%) após o período de estimulação atrial com corrente contínua. A sustentação da arritmia por um período maior que 30s foi observada em 68,18% deles, valor esse similar aos 67% dos cães do estudo de Gaspo e cols.<sup>19</sup>, nos quais o átrio direito foi estimulado por sete dias<sup>25</sup>. Baseado nas informações do estudo de Wijffels e cols.<sup>3</sup>, sabe-se, hoje, que são necessários tempos de estimulação longos para que os períodos de fibrilação atrial tornem-se sustentados por períodos de 24h ou mais<sup>3</sup>. Em nossos animais, contudo, a dispersão da refratariedade e o retardo local da condução do impulso foram suficientes para que a arritmia fosse induzida e sustentada em 73,30% deles, apesar do período de estimulação de 60min.

No nosso estudo, a estimulação atrial persistente provoca modificações da eletrofisiologia e da arquitetura atriais em coração de cães sem cardiopatia. As alterações provocadas devem aumentar a vulnerabilidade atrial ao surgimento espontâneo ou ao desencadeamento da arritmia por meio da estimulação atrial programada. Uma das maiores dificuldades para o estudo experimental da fibrilação atrial está relacionado com a sua indução e susten-

tação por períodos longos, para que se permita testar técnicas de tratamento não farmacológico. Com a maior vulnerabilidade do tecido atrial, tanto para a indução artificial quanto para o surgimento espontâneo e sustentado da arritmia, técnicas de cardioversão elétrica intracavitária e ablação percutânea com cateteres poderão também ser testadas, visto que se trata de um modelo simples e rápido para a obtenção dessa arritmia.

**Limitações do Estudo** - os resultados deste estudo foram obtidos após a estimulação atrial por um período de apenas uma hora. Além disso, os animais foram estimulados em vigência de anestesia geral e após a abertura do tórax, condições diferentes das de outros modelos já publicados. Assim, nossos resultados não podem ser comparados aos daqueles estudos ou extrapolados para situações em que a estimulação atrial seja realizada no endocárdio ou por mais tempo do que aquele utilizado nesta investigação.

Os registros dos eletrogramas atriais foram obtidos em três regiões, não permitindo, contudo, que conclusões a respeito de modificações, tanto da frequência atrial quanto das morfologias dos eletrogramas atriais de outras áreas não registradas, pudessem ser estabelecidas. Poder-se-ia aventar a hipótese de que a duração dos eletrogramas atriais estivesse alterada após a indução da fibrilação atrial, pelo eventual edema local causado pela sutura dos fios de marcapasso. Contra esta possibilidade está o fato de que a observação por até uma hora após o término do experimento, mostrava retorno gradual da duração destes eletrogramas à condição controle. Caso fosse de origem traumática, a tendência seria a persistência de tais alterações, provavelmente. Além disso, num estudo piloto realizado por nós, quando era utilizado o registro endocárdico com cateteres multipolares, o alargamento dos eletrogramas também era identificado mas somente após o protocolo de estimulação atrial.

Em nosso estudo não foram determinados o tamanho do átrio esquerdo nem a pressão intracavitária, de modo que a influência dessas variáveis nos resultados não pôde ser definida. Entretanto, a observação direta do campo cirúrgico mostrou que havia aumento importante de ambas as câmaras atriais, além da detecção da maior tensão na parede atrial avaliada, subjetivamente, pela palpção da massa muscular, nos momentos nos quais a fibrilação atrial estava sendo induzida. Com a interrupção da estimulação, essas alterações desapareceram. Durante a indução da fibrilação atrial não se observaram quedas significativas da pressão arterial sistêmica média que pudessem comprometer o estado hemodinâmico dos animais e influenciado os resultados.

Não é possível afastar a possibilidade de influências do sistema nervoso autônomo sobre os resultados observados neste estudo, visto que o bloqueio autonômico completo não foi realizado. Vale salientar entretanto, que as frequências cardíacas em ritmo sinusal, antes e após o período de estimulação atrial, não foram significativamente diferentes, o que pode ser um indicador sugestivo de que as condições autonômicas eram similares. Como o objetivo primário deste estudo era a avaliação de uma técnica rápida e eficaz para indução de fibrilação atrial, artificialmente, sem a preocupação em descrever mecanismos eletrofisiológicos, justificaria a não utilização da prática rotineira do bloqueio autonômico. Por outro lado, o remodelamento histológico, por nós observado, pode ter sido o principal responsável pelas alterações eletrofisiológicas aqui registradas, independentemente, de eventuais modificações do sistema nervoso autônomo.



## Referências

1. Prystowsky EN, Benson JRW, Fuster V et al. Management of patients with atrial fibrillation. A statement for healthcare professionals from the subcommittee on electrocardiography and electrophysiology, American Heart Association. *Circulation*. 1996; 93:1262-77.
2. Morillo CA, Klein GJ, Jones DL, Guiraudon CM. Chronic rapid atrial pacing. Structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation. *Circulation*. 1995; 91:1588-95.
3. Wijffels MCE, Kirchhof CJHJ, Dorland R, Allesie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation*. 1995; 92:1954-68.
4. Goette A, Honeycutt C, Langberg JJ. Electrical remodeling in atrial fibrillation. Time course and mechanisms. *Circulation*. 1996; 94:2968-74.
5. Josephson ME. *Clinical cardiac electrophysiology: techniques and interpretations*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993. 42p.
6. Ramanna H, Hauer RNW, Wittkamp FHM, Bakker JMT, Wever EFD, Elvan A. de Medina EOR. Identification of the substrate of atrial vulnerability in patients with idiopathic atrial fibrillation. *Circulation*. 2000; 101:995-1001.
7. Cosio FG, Palacios J, Vidal JM, Cocina EG, Gomez-Sanchez A, Tamargo L. Electrophysiologic studies in atrial fibrillation. Slow conduction of premature impulses: a possible manifestation of the background for reentry. *Am J Cardiol*. 1983; 51:122-30.
8. Prinzmetal M. Further Considerations on the Nature of Auricular Fibrillation. In Prinzmetal M.; Corday, E.; Brill, I.C.; Oblath, R.W.; Kruger, H.E.; eds. *Auricular arrhythmias*. Springfield: Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 1952. 258-75.
9. Zipes DP. Atrial fibrillation: a review of pathophysiology. *Semin Interv Cardiol*. 1997; 2:203-13.
10. Li D, Fareh S, Leung TK, Nattel S. Promotion of atrial fibrillation by heart failure in dogs. Atrial remodeling of a different sort. *Circulation*. 1999; 100:87-95.
11. Manios EG, Kanoupakis EM, Chlouverakis GI, Kaleboubas MD, Mavrakis HE, Vardas PE. Changes in atrial electrical properties following cardioversion of chronic atrial fibrillation: relation with recurrence. *Cardiovasc Res*. 2000; 47:244-53.
12. Allesie MA, Bonke FIM, Schopman FJG. Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. II. The role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res*. 1976; 39:168-77.
13. Buxton AE, Waxman HL, Marchlinski FE, Josephson ME. Atrial conduction: effects of extrastimuli with and without atrial arrhythmias. *Am J Cardiol*. 1984; 54:755-61.
14. Qin Y, Kaibara M, Hirata T. Atrial conduction curves in patients with and without atrial fibrillation. *Jpn Circ J*. 1998; 62:289-93.
15. Fareh S, Villemain C, Nattel S. Importance of refractoriness heterogeneity in the enhanced vulnerability to atrial fibrillation induction caused by tachycardia-induced atrial electrical remodeling. *Circulation*. 1998; 98:2202-09.
16. Tanigawa M, Fukatani M, Konoe A, Isomoto S, Kadana M, Hashiba K. Prolonged and fractionated right atrial electrograms during sinus rhythm in patients with paroxysmal atrial fibrillation and sick sinus node syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 1991; 17:403-8.
17. Tai CT, Chen A S, Tzeng JW, Kuo BI, Ding YA, Chang MS, Shyu, L.Y. Prolonged fractionation of paced atrial electrograms in patients with atrial flutter and fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37:1651-57.
18. Everett IV TH, Li H, Mangrum M, McRury, ID, Mitchell MA, Redick J.A, Haines DE. Electrical, morphological, and ultrastructural remodeling and reverse remodeling in a canine model of chronic atrial fibrillation. *Circulation*. 2000; 102:1454-60.
19. Gaspo R, Bosch RF, Bou-Abboud E, Nattel S. Tachycardia-induced changes in Na<sup>+</sup> current in a chronic dog model of atrial fibrillation. *Circ Res*. 1997; 81:1045-52.