

# Bloqueio Atrioventricular Total Experimental em Cães: observação por Tempo Prolongado

Eros Antonio de ALMEIDA(\*)

Relampa 78024-480

Almeida EA. Bloqueio atrioventricular total experimental em cães: observação por tempo prolongado. Relampa 2009;22(3):152-158.

**RESUMO: Fundamento:** O bloqueio atrioventricular (BAVT) induzido experimentalmente é um método de indução de bradicardia estável e permanente em estudos nos quais situações de baixa frequência cardíaca são exigidas. **Objetivos:** apresentar os resultados da técnica de indução e acompanhamento de BAVT experimental em cães, por tempo prolongado. **Casuística e Método:** O BAVT foi induzido cirurgicamente em 64 cães de raça mestiça, com peso médio de 12,84±4 kg, sob anestesia geral com thionembatal sódico (25 mg/Kg) e analgesia com fentanil e droperidol. A técnica consistiu de injeção de formol a 40% na região do nó atrioventricular, no feixe de Hiss ou em seus ramos, sem atriotomia. O eletrocardiograma foi usado durante o procedimento e mensalmente para controle. Doze animais foram seguidos por tempo prolongado. Os cães foram sacrificados por meio do aprofundamento anestésico. Após a morte, o coração dos animais foi retirado, fixado em formol e submetido a exames macro e microscópico da região superior do septo interventricular. **Resultados:** Na indução do BAVT, a taxa de sucesso foi de 92,33%, o bloqueio ocorreu 2,95±3,93 minutos após a aplicação do formol, após 4,58±3,55 tentativas. A frequência cardíaca foi de 45,58±15,66 batimentos por minuto e as complicações mais frequentes foram as arritmias ventriculares ocorridas durante o procedimento (59,38%). Em apenas quatro casos (6,78%) houve recuperação do ritmo sinusal. Em 12 animais, o tempo de observação foi de um ano e 10 meses em média, havendo alguns com até quatro anos de observação. As alterações anatomopatológicas encontradas foram necrose da região superior do septo interventricular, na fase precoce do procedimento, e fibrose e formação de tecido cartilaginoso, no final. **Conclusão:** A técnica usada para induzir o BAVT experimental mostrou-se eficaz, facilmente exequível e reprodutível. O bloqueio manteve-se por tempo prolongado, permitindo o monitoramento dos animais.

**DESCRIPTORIOS:** BAVT, bloqueio atrioventricular, bloqueio experimental, cão.

## INTRODUÇÃO

O bloqueio atrioventricular (BAVT) induzido experimentalmente tem sido usado em estudos sobre condução intracardíaca do estímulo elétrico, hemodinâmica, estimulação artificial, interpretação de padrões eletrocardiográficos e quaisquer outras situações que exijam frequência cardíaca baixa.

É utilizado com finalidade de pesquisa há muitos anos, sendo creditada a His Jr. a primeira tentativa de destruir a conexão entre átrios e ventrículos em corações de mamíferos. Ao fazê-lo, observou que a secção do feixe atrioventricular no coelho era seguida de independência completa do ritmo dos átrios e ventrículos<sup>1</sup>.

(\*) Médico. Professor Livre Docente da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas-UNICAMP. Endereço para correspondência: Departamento de Clínica Médica. Rua Albert Fleming, 40 - Cidade Universitária Zeferino Vaz. Distrito de Barão Geraldo. CEP: 13083-970 - Campinas-SP. Brasil. Telefones: (19) 3521.7803 / Fax: (19) 3289.4107. Email: eros@fcm.unicamp.br Trabalho recebido em 07/2009 e publicado em 09/2009

A depender do método de indução da bradicardia, situações mais estáveis e permanentes são produzidas. O método em questão presta-se a observações por períodos prolongados, o que não se consegue com outros utilizados para este fim, tais como o bloqueio sinusal e as drogas bradicardizantes<sup>2,3</sup>.

Em sua tese de livre docência, este autor verificou a influência da estimulação artificial na remodelação da ponta do ventrículo esquerdo de cães aparentemente normais, tendo utilizado o BAVT como forma de indução de bradicardia<sup>4</sup>. O objetivo do presente estudo é apresentar os resultados em relação ao bloqueio atrioventricular, mantido por tempo prolongado após a indução, esperando que tais informações possam ser úteis em estudos que necessitem do mesmo método.

## CASUÍSTICA E MÉTODOS

O cão foi o modelo animal escolhido para este projeto, por ser bem conhecida a distribuição anatômica do tecido específico de condução do estímulo elétrico cardíaco nessa espécie. Foram utilizados 64 exemplares de raça mestiça, pesando em média  $12,84 \pm 4$  kg. Os animais foram submetidos a jejum de 12 horas antes da cirurgia. Após o procedimento, foram mantidos em canil apropriado, com ração e água à vontade, respeitando as orientações do *US National Institutes of Health* para cuidados e uso de animais de laboratório (NIH *publication*, N 85-23 revisão).

Durante o procedimento cirúrgico os animais foram contidos mecanicamente em goteira de madeira do tipo Claude-Bernard, com acesso venoso nos membros inferiores para administração de medicamentos. Para a anestesia geral, utilizou-se thionembutal sódico (25 mg/Kg) e, para analgesia, fentanil e droperidol, administrados de acordo com a necessidade durante o ato cirúrgico. Após a indução anestésica, os animais foram intubados com cânulas de borracha e mantidos sob ventilação mecânica controlada, em ventilador especial para cães, marca Harvard, na frequência de 12 respirações por minuto, com ar ambiente.

Na indução cirúrgica do BAVT, para acesso ao coração, utilizou-se a toracotomia direita padrão, com abertura do pericárdio e exposição da veia cava superior, do átrio direito e da raiz da aorta. A técnica usada foi a de Steiner e Kovalik<sup>5</sup>, que consiste em obter o bloqueio por injeção de substância química na região do nó atrioventricular, no feixe de Hiss ou em seus ramos, sem atriotomia (figura 1).

Nessa técnica, o apêndice atrial direito é tracionado de modo a expor o sulco entre o átrio direito e a raiz da aorta. Uma agulha hipodérmica de 1,5 cm de comprimento, com a base dobrada em ângulo de aproximadamente  $60^\circ$  e fixada em uma seringa de insulina, é utilizada para a aplicação de 0,1 ml de

formol a 40%. A agulha é inserida no sulco entre o átrio e a raiz da aorta, direcionada paralelamente a esta, em sentido inferior e dorsalmente, em uma profundidade de 0,5 a 1 cm. Nessa profundidade, realiza-se a aspiração para verificar o retorno de sangue na seringa, com a finalidade de prevenir a introdução de formol na cavidade atrial. Na ausência de sangue, o formol é injetado e a agulha, retirada. Após a injeção, aguarda-se minutos para constatação do bloqueio atrioventricular. As injeções podem ser repetidas até que se alcance o objetivo visado.

O eletrocardiograma de 12 derivações foi o método escolhido para verificação do sucesso da técnica. Antes do procedimento cirúrgico, eletrodos foram adaptados em agulhas hipodérmicas de metal e instalados nos quatro membros e na região precordial do animal, com a finalidade de verificar a normalidade do traçado. Durante todo o experimento, os animais foram monitorados na derivação  $D_2$ , para verificar a instalação de bloqueio atrioventricular, arritmias cardíacas e distúrbios na morfologia das ondas P, QRS e T, além da repolarização ventricular. No final do experimento, traçava-se novo registro completo do eletrocardiograma. O exame era repetido após os primeiros sete e 15 dias para confirmação do ritmo cardíaco e, durante o acompanhamento, era repetido mensalmente, no mínimo, até o sacrifício dos animais.

Os cães foram sacrificados por aprofundamento anestésico e, após toracotomia esternal, examinava-se as condições anatômicas da cavidade torácica e retirava-se o coração. Após a fixação do órgão em formol, realizava-se um corte transversal a partir da ponta, até o septo interventricular, para exame macro e microscópico da região cardíaca superior.

## RESULTADOS

Dos 64 animais utilizados, o bloqueio do nó atrioventricular foi conseguido em 59 (92,33%), em um número de tentativas que variou de  $4,58 \pm 3,55$  vezes. Na maioria dos casos, o bloqueio ocorreu com menos de quatro tentativas,  $2,95 \pm 3,93$  minutos, em média, após a aplicação do formol. Após o procedimento, frequência cardíaca variou de zero a 60 batimentos por minuto ( $45,58 \pm 15,66$ ). As complicações observadas durante o procedimento encontram-se reunidas no quadro 1.

Antes do procedimento, os eletrocardiogramas apresentavam-se sem alterações patológicas, mantendo ritmo sinusal. Após, o animal mantinha o bloqueio atrioventricular (figura 2), com ritmo cardíaco de suplência ventricular. Durante a evolução, observou-se que apenas em quatro casos (6,78%) houve recuperação do ritmo sinusal. Doze animais foram acompanhados em um tempo médio de observação de um ano e 10 meses. Houve animais monitorados

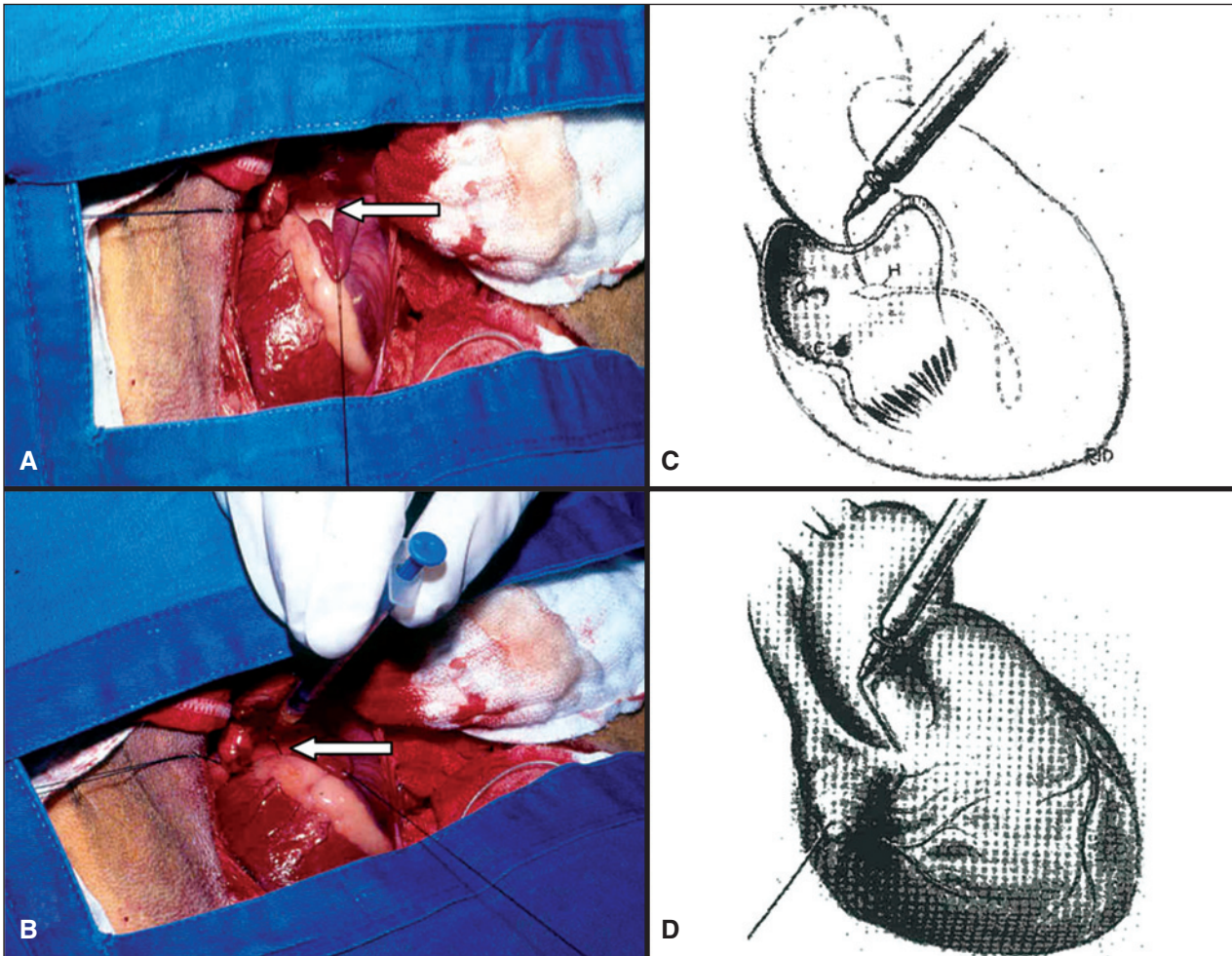


Figura 1 - A) Demonstração da exposição da raiz da aorta (seta), por tração do apêndice atrial direito. B) Demonstração da posição da seringa para introdução de formol na raiz da aorta (seta). C/D) Esquema da técnica utilizada<sup>5</sup>.

por até quatro anos de observação após a instalação do BAVT.

As figuras 3 e 4 exibem as alterações anatomo-patológicas encontradas, que incluem necrose da região superior do septo interventricular, na fase precoce do procedimento, fibrose e formação de tecido cartilaginoso ao final. Também foram observadas aderências fibróticas entre a parede do tórax e o pulmão direito na maioria dos animais, em pequena quantidade.

## DISCUSSÃO

Na literatura, observa-se que o bloqueio do nó atrioventricular em animais de experimentação é um método eficaz na indução de bradicardia permanente. Vem sendo utilizado desde 1906, quando se procurava provar a superioridade da teoria miogênica para explicar a difusão do estímulo elétrico responsável pela contração miocárdica, em detrimento da teoria neurogênica, predominante até aquela ocasião<sup>1</sup>.

**QUADRO 1**  
COMPLICAÇÕES OCORRIDAS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO BLOQUEIO ATRIOVENTRICULAR

Complicações	Número	%
Arritmias	38	59,38
- EV	20	52,63
- TV	17	44,74
- FV	03	7,89
- Flutter atrial	01	2,63
Alteração repolarização	11	17,18
Formol na circulação	04	6,25
Pneumotórax	03	4,68
Laceração pulmonar	04	6,25
Sangramento/punção	01	1,56
Hemotórax	01	1,56
Insuficiência cardíaca	01	1,56
Infecção	02	3,12

EV = Extrassístole Ventricular, TV = Taquicardia Ventricular, FV= Fibrilação Ventricular

Durante mais de um século, desde 1883, os métodos utilizados para desencadear o BAVT ex-



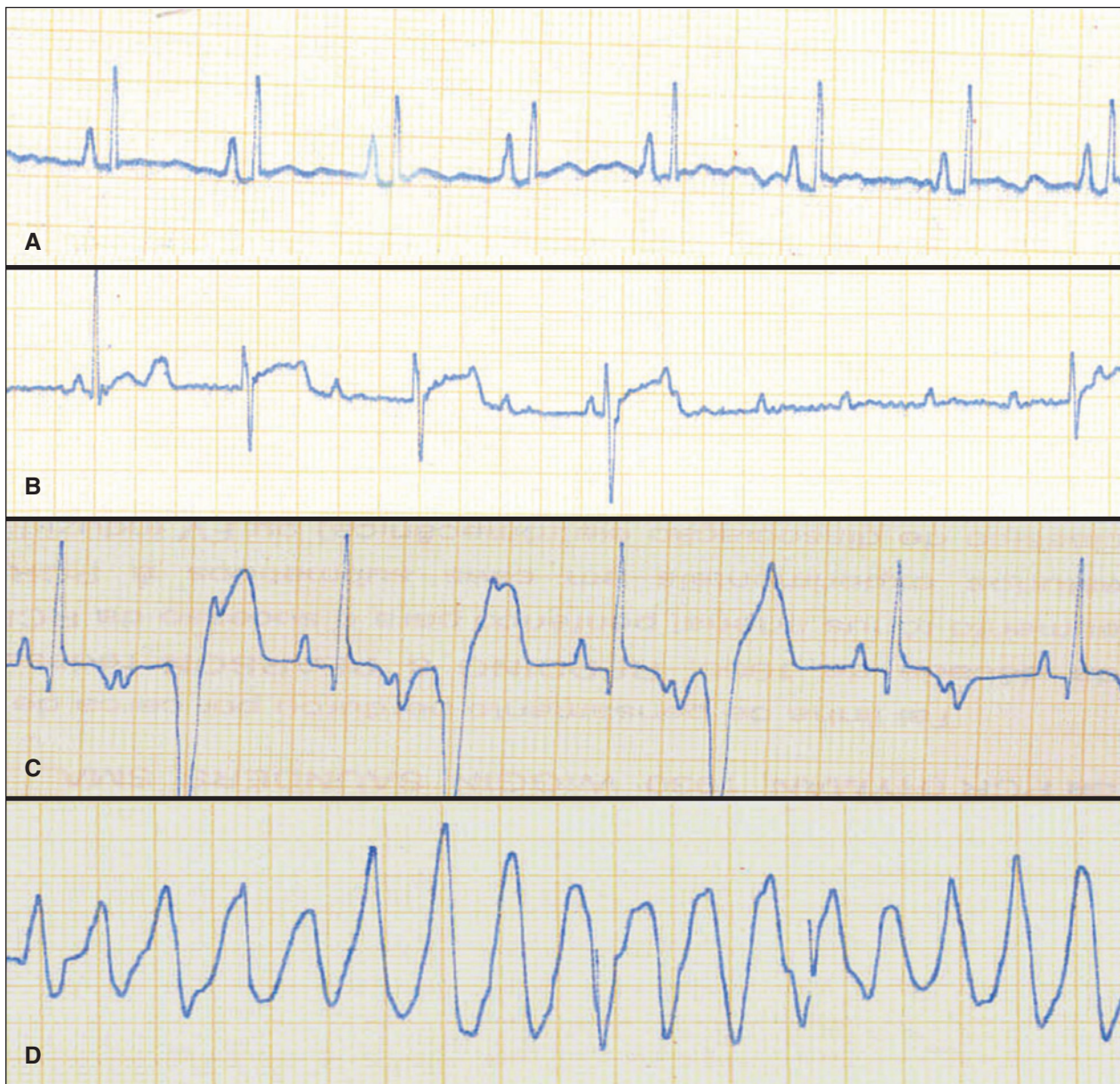


Figura 2 - Traçados eletrocardiográficos - A) Pré procedimento: Ritmo sinusal. B) Bloqueio atrioventricular total. C) Extrassístoles bigeminadas. D) Taquicardia ventricular polimórfica.

perimental foram revistos em pormenores na literatura, tendo sido classificados em dois grupos: com e sem utilização de toracotomia<sup>6</sup>. No primeiro grupo, o BAVT pode ser conseguido com ou sem atriotomia. Os mecanismos utilizados para lesão do nó AV podem ser mecânicos (secção, ligadura, esmagamento, cauterização, ablação pelo frio, radiofrequência ou microondas); químicos (injeção de substâncias que ocasionam necrose celular, tais como formol, ácido fênico entre outros) e isquêmicos (ligadura das artérias coronárias nutridoras da região do nó atrioventricular).

Na revisão da literatura<sup>7-15</sup>, o método descrito por Steiner e Kovalik<sup>5</sup>, utilizado neste estudo, demonstrou ser eficaz e possível de ser reproduzido facilmente, pois requer para sua realização apenas material de toracotomia, além de seringas e formol 40%. As primeiras tentativas foram bem sucedidas e o procedimento determinou um BAVT permanente em quase a totalidade dos animais. Esta técnica foi utilizada<sup>16</sup> recentemente em um experimento agudo com suínos, demonstrando que pode ser utilizada em outras espécies animais, com resultados superponíveis a aqueles descritos em cães, uma vez que

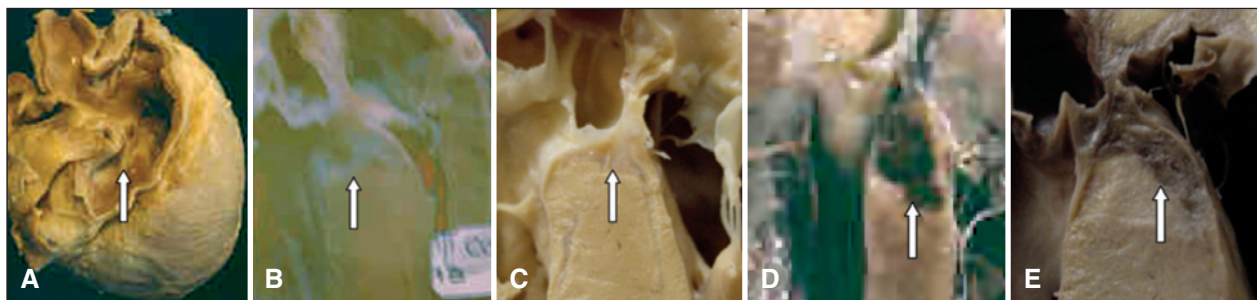


Figura 3 - Macroscopia da região superior do septo interventricular onde foi injetado formol. A, B e C - Áreas esbranquiçadas de fibrose em graus diferentes de intensidade, tardiamente à infiltração do formol (setas). D e E - Extensa área escura, irregular, correspondendo à necrose e hemorragia recentemente à infiltração (seta).

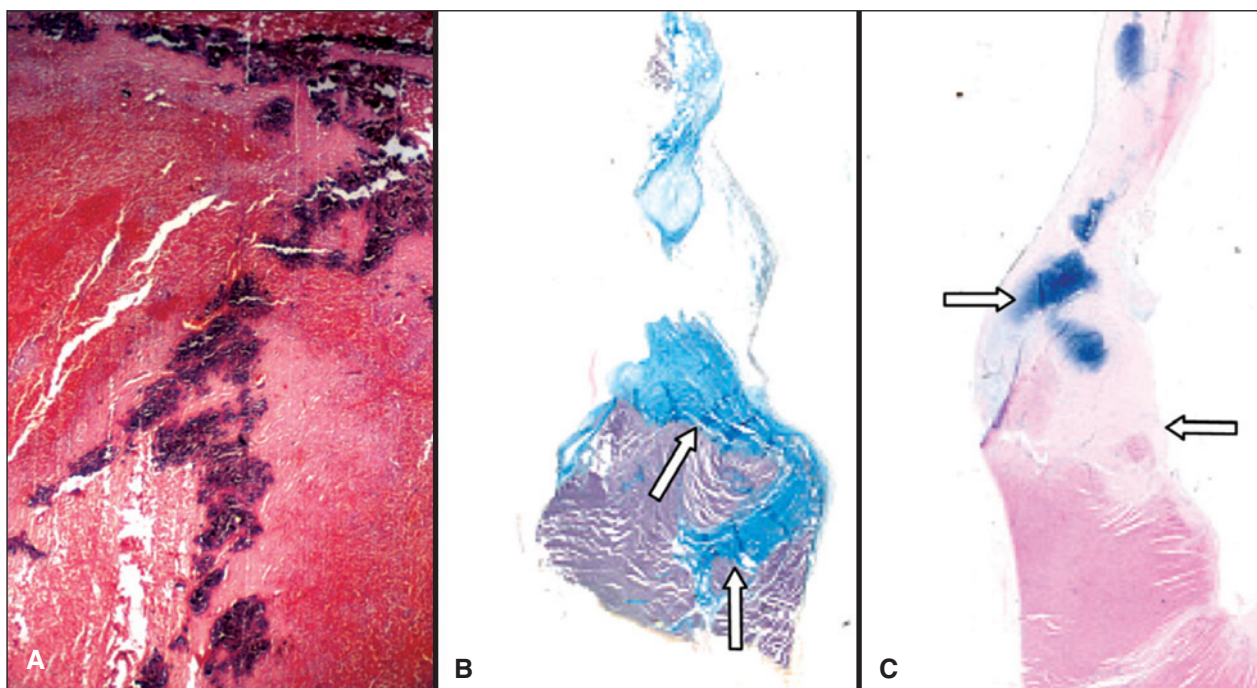


Figura 4 - Microscopia da região superior do septo interventricular onde foi injetado formol. A) Necrose e hemorragia (Coloração pela Hematoxilina e Eosina, 2,5x). B) Fibrose (Coloração pelo Tricrômio de Masson, 2,5x-setas). C) Fibrose e tecido cartilaginoso (Coloração pela Hematoxilina e Eosina, 2,5x - setas).

a utilização desses em experimentação científica está se tornando cada vez mais difícil.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o BAVT apresenta a vantagem de resultar em bradicardia acentuada e permanente, com alta porcentagem de sucesso na sua indução, permitindo a observação prolongada do próprio bloqueio ou de outros procedimentos desejados, como a estimulação artificial. Todavia, as complicações observadas (quadro 1) demonstraram que essa técnica de indução do bloqueio atrioventricular traz maior risco aos animais. Em particular, há o risco inerente ao uso da substância química que, se injetada na corrente circulatória, geralmente é mortal. Todavia,

este tipo de complicação teve baixa frequência neste estudo.

Chamou atenção a ocorrência de grande número de arritmias, assim como a gravidade dessas. Como pode ser observado (figuras 3 e 4), o agente químico, ao gerar necrose miocárdica, produz um infarto na região septal superior, determinando o BAVT, com as consequências esperadas em tal situação. A necrose e o BAVT são capazes de determinar arritmias graves como as registradas neste estudo (figura 2). A este fato também pode ser atribuída a alta mortalidade observada nesse tipo de indução experimental de BAVT, o que pode limitar a utilização da técnica de Steiner e Kovalik<sup>5</sup>.



Outro fato é que, geralmente, não se consegue induzir o BAVT na primeira injeção de formol e, à medida que se sucedem as tentativas, aumentam as chances de necrose e entrada da substância química na circulação. Neste estudo, foram feitas quatro tentativas, em média, antes de se induzir o BAVT. Nos animais em que foram necessárias mais de dez tentativas, a mortalidade foi de 100%, após um período de sobrevivência de apenas  $4,83 \pm 6,52$  dias, em média.

As demais complicações verificadas referiram-se ao procedimento cirúrgico como um todo, sendo factíveis de ocorrer em quaisquer dos métodos utilizados, motivo pelo qual muitos preferem abordagens que não envolvam a toracotomia. Para isso, é necessário dispor de recursos tecnológicos, tais como: aparelho de cateterismo cardíaco e cateteres para

ablação, entre outros. Assim, na medida do possível, outras formas de indução do BAVT devem ser utilizadas, procurando minimizar as complicações inerentes apenas ao procedimento cirúrgico.

O acompanhamento por até quatro anos de cães com BAVT experimental parece ser o maior tempo de observação já registrado. Na literatura pesquisada, os tempos relatados variaram de quatro meses<sup>3, 5, 11, 12, 15</sup> a um ano e seis meses<sup>17</sup>.

## CONCLUSÃO

A técnica utilizada para instalação do bloqueio atrioventricular total em cães mostrou-se eficaz, de fácil exequibilidade e reprodutibilidade, tendo induzido BAVT permanente por tempo prolongado.

Relampa 78024-480

---

Almeida EA. Experimental complete heart block in dogs: long-term follow-up. Relampa 2009;22(3): 152-158.

**ABSTRACT: Basis:** The experimental atrioventricular block is a method of steady and permanent bradycardia induction and it is useful in studies where low cardiac frequency is required. **Objective:** The aim of the study was to present the results of experimental atrioventricular block in dogs and to observe such block for a long period. **Material and Method:** Sixty-four domestic dogs (weight  $12.84 \pm 4$  kg) were anesthetized with thionembutal sodium (25 mg/kg). The block was done at the area of the atrioventricular node, Hiss' bundle or its branches, without atriotomy. Electrocardiogram was used during the procedure and for monthly monitoring till animals were sacrificed by deep anesthesia. Heart was removed and fixed in formaldehyde 10% and the upper area of the interventricular septum was submitted to macro and microscopic exams. Twelve animals were followed up for a long period. **Results:** The atrioventricular block was tried  $4.58 \pm 3.55$  times in each animal and it was successful in 92,33% of the cases, occurring  $2.95 \pm 3.93$  minutes after formaldehyde application. The cardiac frequency was  $45.58 \pm 15.66$  beats/min and ventricular arrhythmias were the most frequent complications seen during procedure (59,38%). Some animals were observed for up to four years and the average period was a year and 10 months. There was a recovery of sinusal rhythm in only 4 cases (6,78%). The anatomopathological changes were necrosis of the upper area of interventricular septum, at the beginning of the procedure; fibrosis and development of cartilaginous tissue, at the end of the experiment. **Conclusion:** The technique for experimental atrioventricular block proved to be efficient, easily performable, reproducible and with permanent BAVT for a long period.

**DESCRIPTORS:** atrioventricular block, experimental block, dog.

---

Almeida EA. Bloqueio auriculoventricular total experimental em cães: observação por tempo prolongado. Relampa 2009;22(3):152-158.

**RESUMEN: Fundamento:** El bloqueo auriculoventricular (BAV) inducido experimentalmente es un método de inducción de bradicardia estable y permanente en estudios en los que se requieren situaciones de baja frecuencia cardíaca. **Objetivos:** Presentar los resultados de la técnica de inducción y acompañamiento de BAV experimental en perros, por tiempo prolongado. **Casuística y método:** El BAV fue inducido quirúrgicamente en 64 perros de raza mestiza, con peso medio de  $12,84 \pm 4$  kg, bajo anestesia general con tiopental sódico (25 mg/Kg) y analgesia con fentanilo y droperidol. La técnica consistió en inyección de formol al 40% en la zona del nodo auriculoventricular, en el haz de His o en sus ramas, sin auriculotomía. El electrocardiograma fue utilizado durante el procedimiento y mensualmente para control. Doce animales fueron seguidos por tiempo prolongado. Los perros fueron sacrificados por medio de profundización anestésica. Tras su muerte, se extrajo el corazón de los animales, se lo fijó en formol y sometió a exámenes macro y microscópico de la zona superior del septo interventricular. Resultados: en la inducción del BAV, la tasa de éxito fue del 92,33%, el bloqueo ocurrió  $2,95 \pm 3,93$  minutos luego de la aplicación del formol, tras  $4,58 \pm 3,55$  intentos. La frecuencia cardíaca fue de  $45,58 \pm 15,66$  latidos por minuto y las complicaciones más frecuentes fueron las arritmias ventriculares sucedidas durante el procedimiento (59,38%). En sólo cuatro casos (6,78%) hubo recuperación del ritmo sinusal. En 12 animales, el tiempo de observación fue de un año y 10 meses en promedio, habiendo algunos con hasta cuatro años de observación. Las alteraciones anatomopatológicas encontradas fueron necrosis de la zona superior del septo interventricular, en la fase precoz del procedimiento, y fibrosis y formación de tejido cartilaginoso, al final. **Conclusión:** La técnica utilizada para inducir el BAV experimental se mostró eficaz, de ejecución y reproducción sencillas. El bloqueo se mantuvo por tiempo prolongado, permitiendo el monitoreo de los animales.

**DESCRIPTORES:** BAV, bloqueo auriculoventricular, bloqueo experimental, perro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Erlanger J. On the physiology of heart-block in mammals with especial reference to the causation of Stokes-Adams disease. *J Exp Med* 1906;8:8-57.
- 2 - Miyazawa K, Arai T, Shirato K. Regional contraction patterns of the left ventricle during ventricular pacing. *J Exp Med* 1978;124:261-6.
- 3 - Painvin GA, Gillette PA, Zinner A. Epicardial cryoablation of the bundle of His. An experimental study. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 1984;88:273-7.
- 4 - Almeida, EA - Remodelamento da ponta do ventrículo esquerdo do coração de cães normais estimulados com marcapasso artificial por tempo prolongado: enfoque na patogênese da lesão apical da cardiopatia chagásica crônica. Tese de Livre Docência 2005, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- 5 - Steiner C, Kovalik TW. A simple technique for production of chronic complete heart block in dogs. *J Appl Physiol* 1968;25(5):631-2.
- 6 - Weir EK, McMurtry IF, Grover RF. Experimental models of complete heart block. *Basic Res Cardiol* 1975;70:446-5.
- 7 - Hashiba K, Katayama AT, Takahashi A. Atrio-ventricular block produced by ligation of septal arteries in the dog. *Jpn Heart J* 1965;6(3):254-7.
- 8 - Wiebernick J. Experimental production of permanent heart block (total or bundle branch block) without circulatory arrest or extracorporeal circulation. *Thorax* 1966;21:401-4.
- 9 - Fisher VJ, Lee RJ, Christianson LC. Production of chronic atrioventricular block in dogs without thoracotomy. *J Appl Physiol* 1966;21(3):1119-1.
- 10 - MacDonald B. A simple method of producing experimental heart block in dogs. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 1967;53(5):695-7.
- 11 - Sealy WC, Hackel DB, Seaber AV. A study of methods for surgical interruption of the His bundle. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 1977;73(3):424-9.
- 12 - Randall OS, Westerhof N, Van Den Bos GC. Production of chronic heart block in closed-chest dogs: an improve technique. *Am J Physiol* 1981;241:H279-H282.
- 13 - Klein GJ, Sealy WC, Pritchett ELC. Cryosurgical of the atrioventricular node-His bundle: long-term follow-up and properties of the junctional pacemaker. *Circulation* 1980;61(1):8-15.
- 14 - Gonzalez R, Scheinman M, Margaretten W. Closed-chest electrode-catheter technique for His bundle ablation in dogs. *Am J Physiol* 1981;241:H283-H287.
- 15 - Holman WL, Ikhesita M, Lease JG. Elective prolongation of atrioventricular conduction by multiple discrete cryolesion. *The Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 1982;84:554-9.
- 16 - Mortati NL. Efeito agudo da estimulação ventricular multisítio no bloqueio atrioventricular experimental em suínos. *Rev Bras Marcapasso e Arritmia - Reblampa*. 2003;16(4):212-9.
- 17 - Fishbein MC, Tan KS, Beazell JW. Cardiac pathology of transvenous pacemakers in dogs. *American Heart Journal* 1977;93(1):73-81.