

Ecole Doctorale Biologie Santé

Université de Rennes 1

Rapport de Première Année de Thèse d'Université

2019-2020

**STIMULATION ÉPICARDIQUE DU SYSTEME
NERVEUX AUTONOME CARDIAQUE CHEZ UN
MODELE ANIMAL**

Dr Karl Bounader

Service de Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire

Laboratoire de traitement du signal et de l'image LTSI

INSERM 1099

CHU de Pontchaillou

Directeur de thèse : **Pr Erwan FLECHER**

Co-directeur : **Pr Jean-Philippe VERHOYE**

Abstract

Introduction

L'efficacité et les indications thérapeutiques des techniques connues de neuromodulation du système nerveux autonome cardiaque (SNAC) pour le traitement de l'insuffisance cardiaque sont limitées. Nous décrivons une nouvelle méthode de stimulation du SNAC au niveau épicaudique particulièrement adaptée pour les patients opérés d'une chirurgie thoracique, et qui pourrait être efficace pour le traitement des états d'insuffisance cardiaque aiguë.

Matériels et Méthodes

Des électrodes de stimulation épicaudiques temporaires utilisés conventionnellement en chirurgie cardiaque ont été placées au niveau du trajet des nerfs sympathiques et parasympathiques à destination des ventricules. Des enregistrements de la réponse hémodynamique du ventricule gauche à la stimulation électrique épicaudique du SNAC ont été réalisés chez quatre porcs par l'intermédiaire d'un cathéter de mesure de pression et de volume intracardiaque (PV Loop IntraCardiac Analyzer, Inca CD Leycom®).

Résultats

Il a été observé des effets hémodynamiques différents en fonction de la position des électrodes. Chez l'animal N°1, une stimulation simultanée des fibres sympathiques et parasympathiques est obtenue entraînant une optimisation de la fonction cardiaque du fait du respect de leur synergie d'action. Chez l'animal N°3, une amélioration du retour veineux vers l'oreillette gauche est observée secondairement à l'optimisation de la fonction hémodynamique droite. Chez l'animal N°4, une stimulation à dominante parasympathique est obtenue. L'animal N°2 est décédé du fait d'un passage en fibrillation atriale puis ventriculaire non récupérée.

Conclusion

Nos résultats montrent que la neuromodulation du système nerveux autonome cardiaque par le biais d'électrodes épicaudiques temporaires est possible et efficace, y compris en état d'insuffisance cardiaque aiguë.

Introduction

La nécessité d'optimiser les techniques actuelles de neuromodulation du système nerveux autonome cardiaque pour le traitement de l'insuffisance cardiaque a conduit à la publication par la société européenne de cardiologie d'une déclaration de position en 2017 encourageant médecins et chercheurs à poursuivre l'exploration de cette approche thérapeutique prometteuse¹.

Les techniques de neuromodulation actuellement connues sont : la stimulation du nerf vague² ou des barorécepteurs carotidiens³, la résection du bulbe carotidien⁴ et la dénervation rénale⁵⁻⁶ (Figure 1). Les preuves de leur efficacité étant variables en fonction des différentes publications, leur utilisation reste restreinte du fait d'une série de limitations et surtout de leur méthode invasive (Tableau 1). De plus, ces techniques consistent en la stimulation du système parasympathique et l'inhibition du système sympathique et de ce fait ne peuvent être efficaces que pour le traitement de l'insuffisance cardiaque **chronique** et non **aiguë**.

Kobayashi et al⁷ a été le premier à décrire la stimulation du système nerveux autonome directement au niveau du plexus cardiaque. Ses trois avantages principaux sont :

1- Le respect de la synergie d'action des systèmes sympathique et parasympathique ce qui optimiserait la fonction cardiaque en augmentant l'inotropisme du muscle cardiaque tout en maintenant une fréquence cardiaque stable

2- L'effet localisé à la zone cible : Le cœur

3- La stimulation du système sympathique qui permettrait l'utilisation de cette technique pour le traitement de l'insuffisance cardiaque **aiguë**

Ses expériences ont été conduites chez le chien par une stimulation épi-vasculaire du plexus cardiaque entre l'aorte ascendante et l'artère pulmonaire droite par le moyen d'une électrode bipolaire de cartographie cardiaque. Il en résultait une augmentation significative de la contractilité myocardique ainsi que du débit cardiaque⁷.

Plus récemment, Diaz et al⁸ a décrit une stimulation transveineuse du plexus cardiaque pour une durée de trois jours par le moyen d'un cathéter bipolaire positionné au niveau du tronc veineux innominé par abord veineux sous clavier gauche dont les résultats sont en cours d'évaluation.

Le plexus cardiaque est formé de fibres parasympathiques issues des deux nerfs vagues droits et gauches, ainsi que de fibres sympathiques issues de la moelle spinale cervicale basse et thoracique haute, qui se rejoignent au niveau de l'aorte ascendante et descendante. Ils pénètrent le cœur au niveau de son hile où ils se subdivisent en ganglions sub-plexiques à destination des faces ventrales et dorsales des oreillettes et des ventricules⁹.

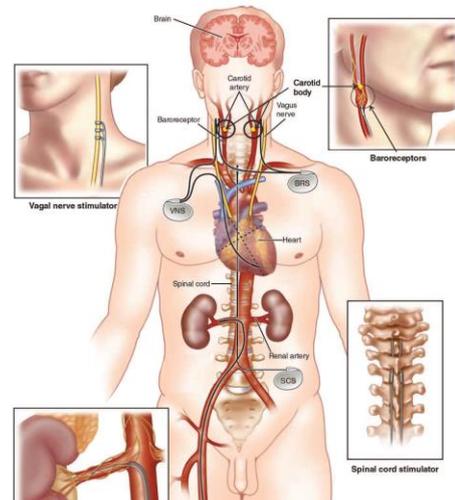


Figure 1. Représentation schématique des différentes thérapies invasives ciblant différents niveaux du système nerveux autonome actuellement à l'étude pour le traitement de l'insuffisance cardiaque. Bilsen et al¹

Stimulation du nerf vague	Locales : Altération vocale, toux, dyspnée, dysphagie, douleurs cervicales Cardiaques : Bradycardie, Asystolie Neurologique : Accident vasculaire cérébrale secondaire à la manipulation carotidienne
Stimulation des barorécepteurs carotidiens	Locale : Paralyse du nerf facial Cardiaques : Bradycardie, Asystolie Neurologique : Accident vasculaire cérébrale secondaire à la manipulation carotidienne
Réssection du bulbe carotidien	Absence d'amélioration des symptômes de l'insuffisance cardiaque Hypoxie nocturne Cardiaques : Bradycardie, Asystolie Neurologique : Accident vasculaire cérébrale secondaire à la manipulation carotidienne
Dénervation rénale	Efficacité non démontrée pour le traitement de l'insuffisance cardiaque Ablation nerveuse par radiofréquence difficile et incomplète Insuffisance Rénale aiguë Hypotension

Objectif

L'utilisation d'électrodes épicaudiques est pratique courante en chirurgie cardiaque en roue de secours aux troubles de conduction post opératoires requérant une stimulation cardiaque temporaire. De même la nécessité de recours aux inotropes après circulation extra corporelle est fréquente et varierait entre 30 % et 100 % des patients opérés de pontages coronariens¹⁰.

Notre objectif est d'évaluer les effets de la stimulation du plexus cardiaque au niveau épicaudique par le moyen des électrodes temporaires conventionnellement utilisés en chirurgie cardiaque. L'intérêt de cette approche serait de réduire l'utilisation d'amines aux effets secondaires systémiques chez les patients opérés d'une chirurgie cardiaque.

Dans un premier temps, nos expériences ont été conduites sur des modèles animaux sains afin de déterminer la sûreté et la faisabilité de cette technique ainsi que d'identifier les paramètres électriques et de positionnement optimaux.

Matériels et Méthodes

Les expériences ont été réalisées sur 4 porcs en collaboration avec les centres hospitaliers universitaires de Rennes et de Hanovre, au sein du centre universitaire de médecine vétérinaire d'Hanovre après soumission du protocole d'étude au comité régional d'éthique pour l'expérimentation Animale (Niedersächsischen Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, LAVES).

Des électrodes de stimulation épicaudiques temporaires utilisés conventionnellement en chirurgie cardiaque ont été utilisés (OSYPKA TME®, Figure 2) et placées à différentes positions, au niveau du trajet des

nerfs sympathiques et parasympathiques à destination des ventricules tel que décrit dans la littérature chez le porc¹¹⁻¹²⁻¹³ (Figure 3)

Un générateur de pulsion (SD9 Astro-med®) avec une large plage d'intensité, de fréquence et de durée de stimulation à été utilisé (Figure 2)

Les effets des stimulations ont été évalués par l'intermédiaire d'un cathéter de mesure de pression et de volume intracardiaque (PV Loop IntraCardiac Analyzer, Inca CD Leycom®, figure 2) introduit sous contrôle échographique dans le ventricule gauche au travers d'une bourse aortique. Les données ont été recueillies par l'intermédiaire d'un logiciel dédié Conduct NT®.

La calibration des volumes a été effectuées par injection de solution hypertonique (8,6% NaBic) ainsi que par thermodilution par l'intermédiaire d'une sonde de Swan Ganz relié à un appareil de monitoring hémodynamique avancée (Hemisphere advanced Monitor, Edwards®, Figure 2) elle-même reliée au dispositif INCA®.

Une ligne artérielle a été posée au niveau carotidien pour la surveillance de la pression artérielle. Cette dernière a été enregistrée par une vidéo-caméra filmant en continu le moniteur d'anesthésie au cours des 4 expériences.

Ce projet a été financé par une bourse de l'ADICARE (Association pour le Développement des Innovations en Cardiologie, Recherche et Enseignement)¹⁴

Résultats

Animal 1

Au total 15 mesures ont été réalisées à 2 différentes positions avant et après ischémie par ligature de l'IVA et de la coronaire droite. La fréquence de stimulation était à 20Hz, la durée de pulsation à 400 µms, et l'intensité variait de 20V à 40V. Nous présentons les résultats les plus significatifs.



Figure 2. Générateur à pulsion Grass SD9 AstroMed®, Electrodes épicaudiques temporaires Osypka®, Inca CD Leycom®, Moniteur avancé hemisphere Edwards®, catheter de PV loop

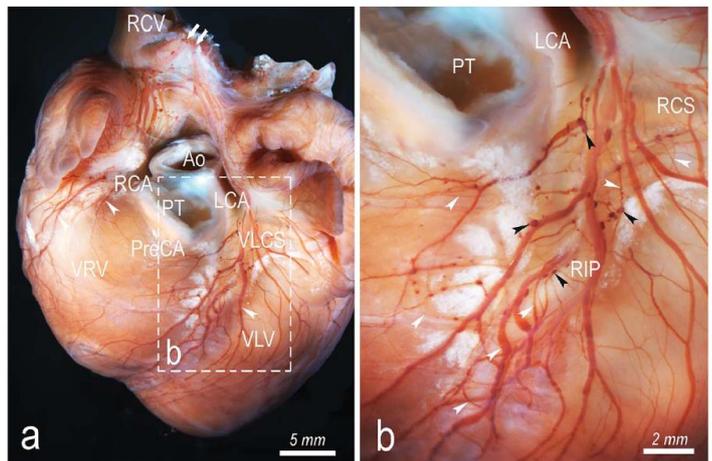


Figure 3. Vue ventrale de l'innervation ventriculaire du porc. Pauziene et al⁹. Ao : Aorte ; PT : Tronc pulmonaire ; LCA : Artère interventriculaire antérieure ; RCA : Artère coronaire droite ; PreCA : Région du conus arteriosus ; VLV : Face ventrale du ventricule Gauche ; VRV : Face ventrale du ventricule droit ; RCV : Veine cave supérieure ; RCS : Rameau circonflexe ; RIP : Rameau interventriculaire antérieur.

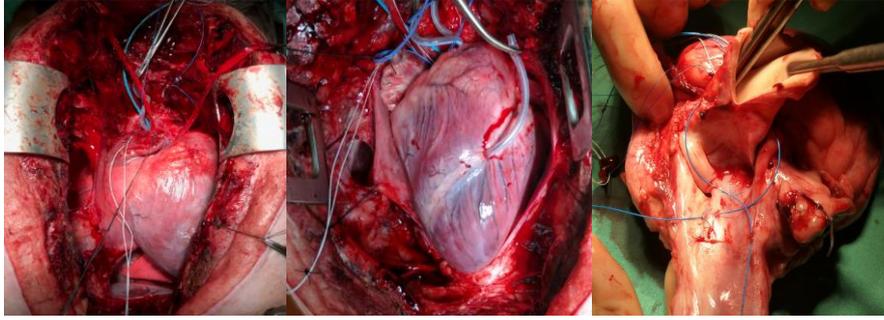


Figure 4. Positionnement des électrodes In vivo et Ex Vivo. Ligature de l'IVA moyenne.

1- Electrodes positionnées au niveau du hile cardiaque postérieur à l'aorte (Figure 4)

A cette position les fibres nerveuses cibles sont celles à destination du ventricule gauche

Après une défaillance biventriculaire induite par ligature de l'IVA puis de la coronaire droite (Figure 4). Deux enregistrements répétitifs aux intensités de 30 V ont été réalisées avec des résultats reproductibles : Augmentation de la pression artérielle systolique, du débit cardiaque, de la fraction d'éjection ainsi que de la contractilité cardiaque (Figure 5), sans effet sur la précharge puisque les volumes télédiastoliques du ventricule gauche restent stables, sachant que ces volumes sont élevés de base du fait de l'état d'insuffisance cardiaque aiguë.

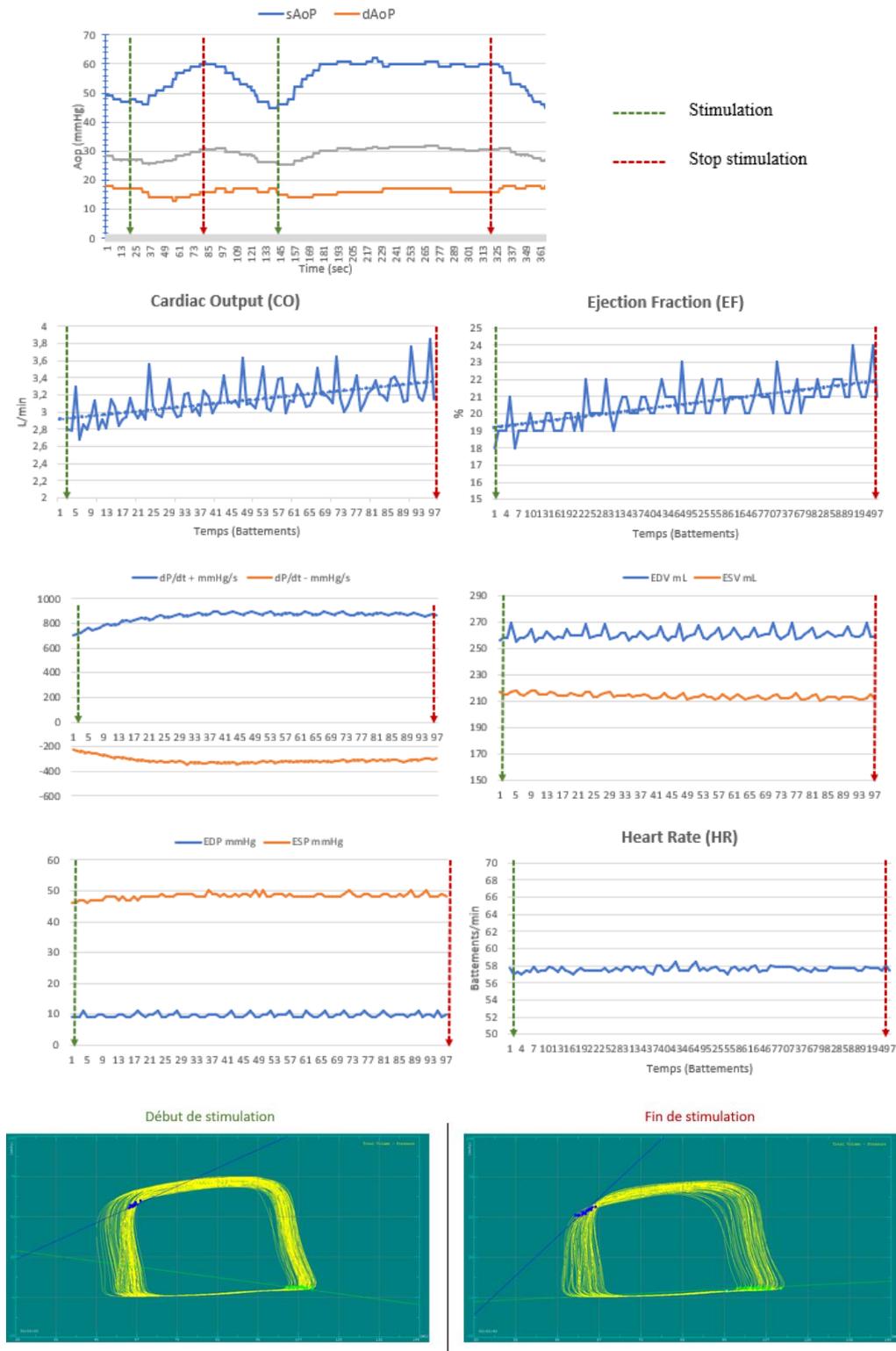


Figure 4. sAoP : Pression artérielle systolique ; dAoP : Pression artérielle diastolique ; mAoP : Pression artérielle moyenne ; CO : Débit Cardiaque ; EF : Fraction d'éjection ; EDV : Volume télédiastolique ; ESV : Volume télésystolique ; EDP : Pression télédiastolique ; ESP : Pression télésystolique ; HR : Fréquence cardiaque

2- Electrodes au niveau de la coronaire droite proximale

A cette position les fibres nerveuses cibles sont celles à destination du ventricule droit. Aucun changement hémodynamique n'a été noté à la stimulation à ce niveau-ci.

Animal 2

Dès la première stimulation au niveau de l'IVA proximale, une fibrillation atriale puis ventriculaire est survenue du fait du positionnement de l'électrode à proximité de l'oreillette gauche. L'animal a été perdu du fait d'une instabilité hémodynamique importante non récupérée malgré les mesures prolongées de réanimation.

Animal 3

Au total 15 mesures ont été réalisées à 2 différentes positions. La fréquence de stimulation était à 20Hz, la durée de pulsation à 400 μ s, et l'intensité variait de 30V à 40V.

1- Electrodes positionnées au niveau du hile du cœur postérieur à l'aorte

Aucune modification hémodynamique significative n'a été observé à cette position chez cet animal. Une tachycardie ventriculaire et une fibrillation auriculaire sont survenues aux intensités supérieures à 30V ainsi qu'à la suite de deux repositionnements des électrodes à proximité des oreillettes

2- Electrodes positionnées au niveau de l'arche aortique (stimulation epivasculaire)

7 mesures sont réalisées à cette position. Les résultats de la stimulation diffèrent selon deux schémas, bien qu'a position et intensité similaire, en fonction du volume télédiastolique du VG avant la stimulation (précharge) qui lui seul augmentait constamment à chaque stimulation.

En deçà d'un volume télédiastolique de base de 250 ml, une stimulation entraînait une augmentation du débit cardiaque et de la contractilité du ventricule gauche, associé à une augmentation des pressions artérielles systoliques ET diastoliques et cela de manière reproductible sur 4 mesures, sans effet sur le rythme cardiaque (Figure 5).

Au-delà de ce volume, une stimulation entraînait une diminution du débit cardiaque et de la contractilité du ventricule gauche (Figure 6).

Les variations respiratoires liés à la précharge sont de même fortement diminués pendant la stimulation. Cependant, les fortes variations respiratoires en dehors des stimulations rendent toute réalisation de statistiques entre les paramètres hémodynamiques sans et avec stimulation inexacts.

La ligature de l'IVA en aval de la première diagonale entrainera une fibrillation ventriculaire non récupérée.

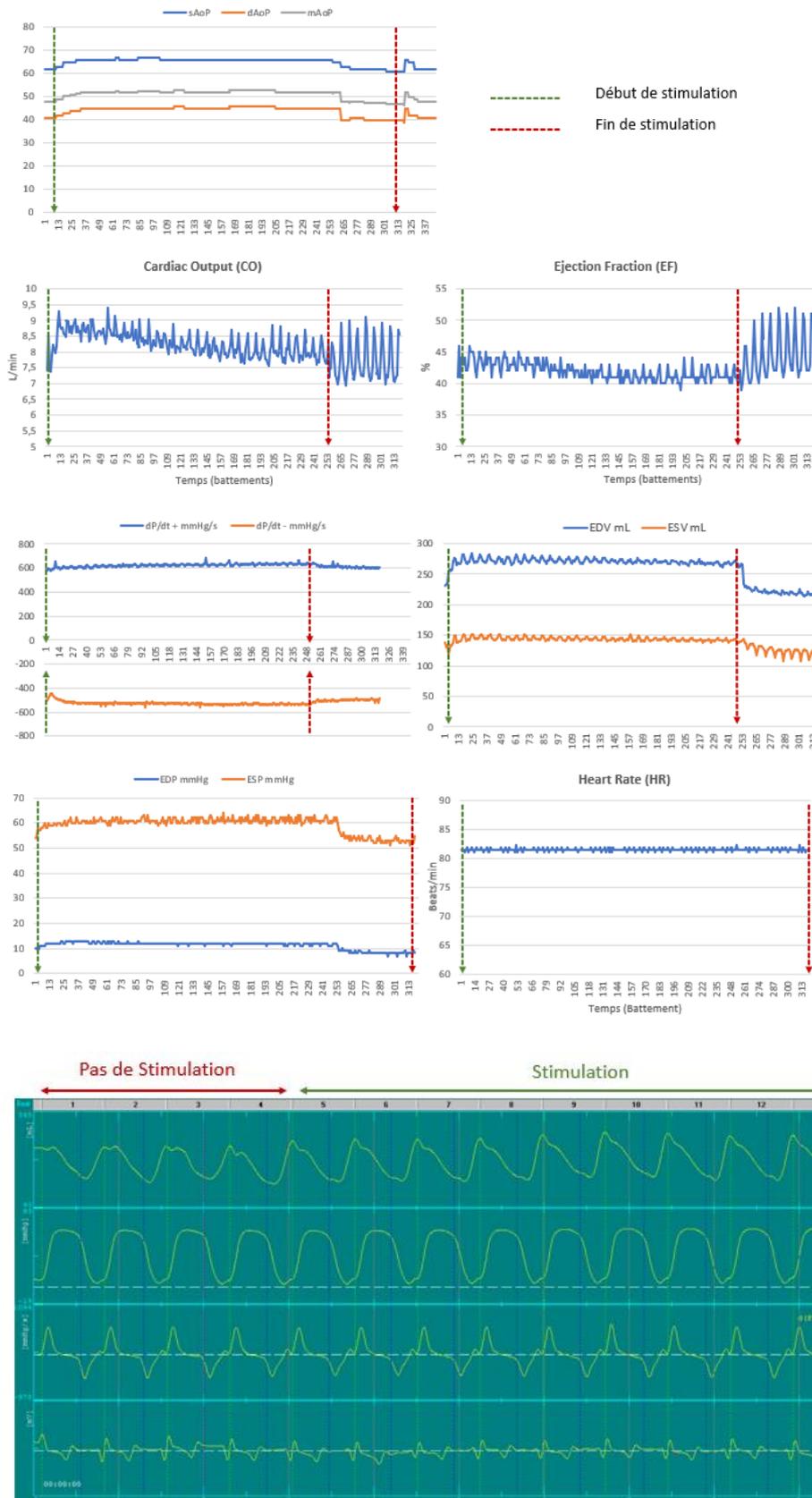


Figure 5. sAoP : Pression artérielle systolique ; dAoP : Pression artérielle diastolique ; mAoP : Pression artérielle moyenne ; CO : Débit Cardiaque ; EF : Fraction d'éjection ; EDV : Volume télédiastolique ; ESV : Volume télésystolique ; EDP : Pression télédiastolique ; ESP : Pression télésystolique ; HR : Fréquence cardiaque. Changement de la courbe de volume avec début de stimulation au battement 5.

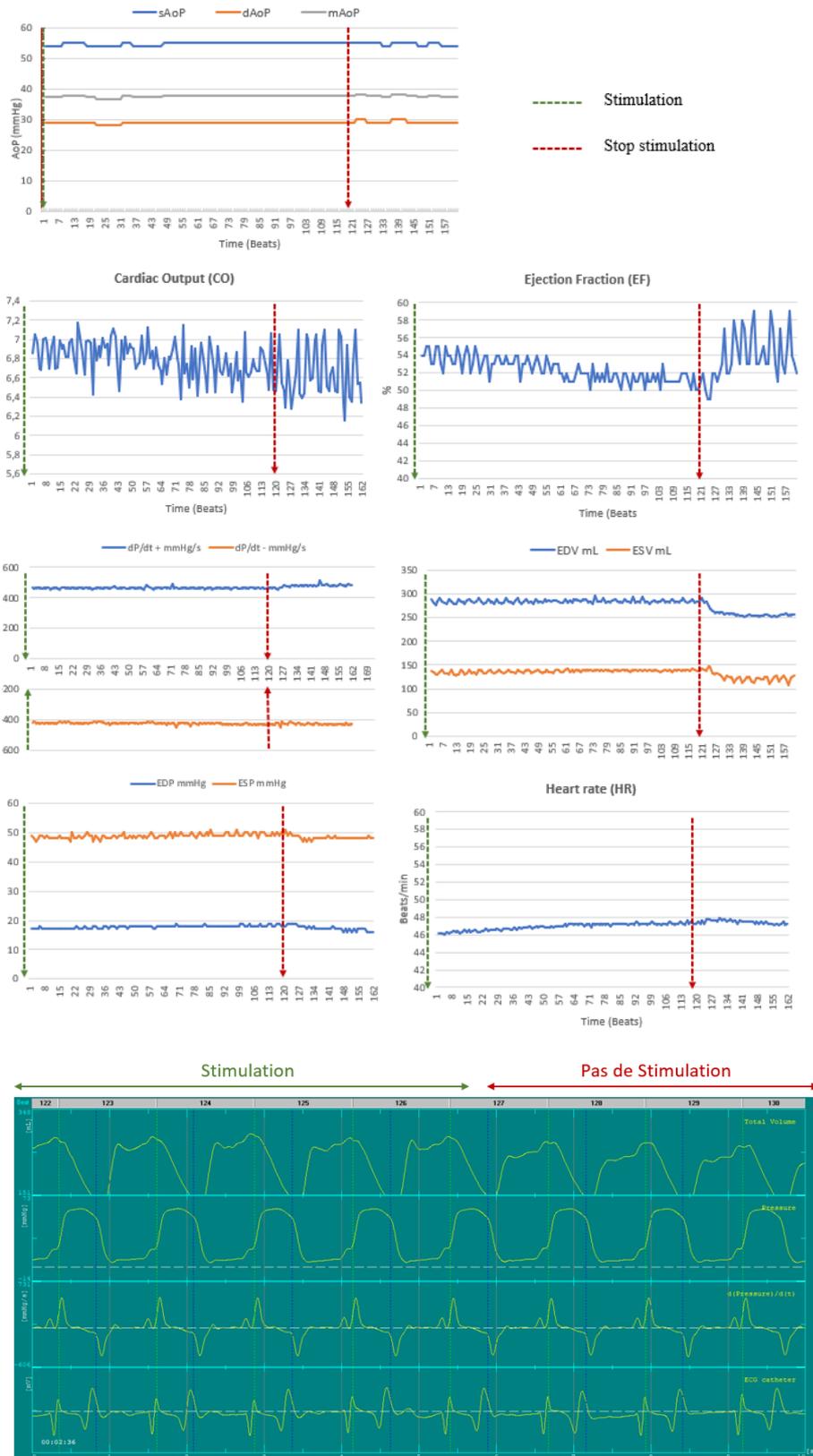


Figure 6. sAoP : Pression artérielle systolique ; dAoP : Pression artérielle diastolique ; mAoP : Pression artérielle moyenne ; CO : Débit Cardiaque ; EF : Fraction d'éjection ; EDV : Volume télédiastolique ; ESV : Volume télésystolique ; EDP : Pression télédiastolique ; ESP : Pression télésystolique ; HR : Fréquence cardiaque. Changement de la courbe de volume avec arrêt de stimulation au battement 127.

Animal 4

39 mesures ont été réalisées à deux différentes positions. La fréquence de stimulation variait de 2 à 20 Hz, la durée de pulsation de 0,4 ms à 40 ms, et l'intensité variait de 2 V à 40 V. À la suite d'un avis neurologique, la direction du courant appliqué a respecté celle du signal nerveux (électrode positive en aval de l'électrode négative) et la distance entre les deux électrodes était de 10 à 15 mm. De même, la ventilation a été arrêtée pendant les enregistrements afin de limiter les variations de la précharge.

A position identique, les effets des stimulations étaient semblables malgré la variation de paramètres électriques. Seul l'intensité de la réponse augmentait avec la puissance de la stimulation, malgré le fait que des réponses soient observées même à une faible fréquence de 2 Hz et intensité de 2 V.

1- Electrodes positionnés au niveau de la veine cave supérieure antérieure

A ce niveau, les fibres nerveuses stimulées sont à destination des faces ventrales des oreillettes et ventricules. Aucune arythmie n'a été enregistrée. La stimulation entraînait un effet parasympathique de façon reproductible sur 17 enregistrements successifs avec diminution de la fréquence cardiaque, de la $dp/dt +$, du débit cardiaque et de la FEGV. Un effet rebond notable de la $dp/dt -$ est observé à l'arrêt des stimulations accompagné d'une diminution des pressions intra ventriculaires. Les effets sur les volumes télésystoliques et télédiastoliques étaient négligeables (Figure 7)

2. Electrodes positionnés au niveau de l'arche aortique (stimulation épivasculaire)

A ce niveau, c'est l'origine du plexus cardiaque qui est stimulé. Les effets observés étaient semblables à celles des stimulations au niveau de la veine cave supérieure sur 8 stimulations successives à la différence d'une stabilité du rythme cardiaque et une augmentation significative des volumes télésystoliques et télédiastoliques. L'effet rebond entraînant une augmentation de la $dp/dt -$ et une diminution des pressions intraventriculaires à l'arrêt des stimulations était répétitive sur l'ensemble des stimulations. (Figure 8)

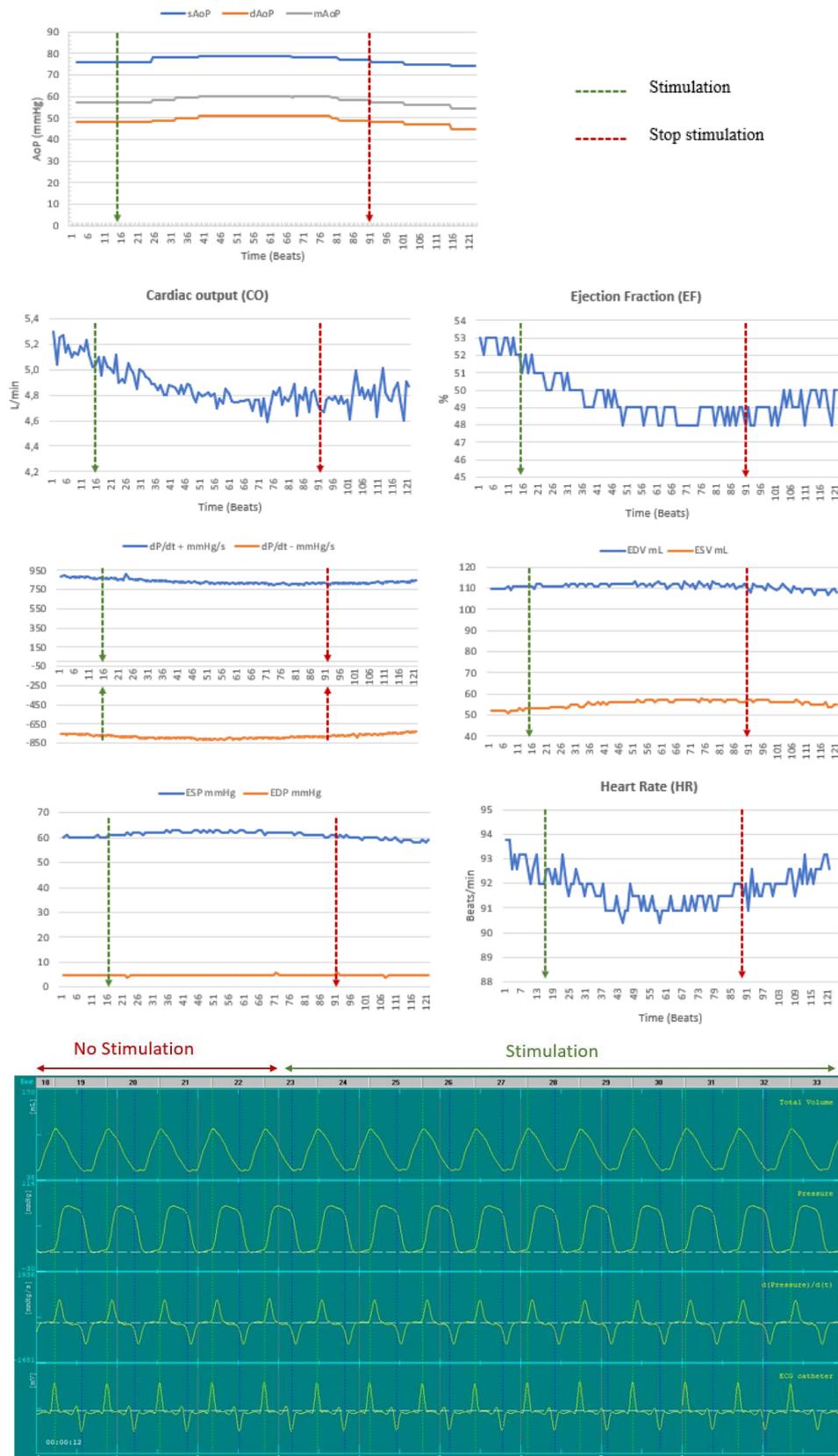


Figure 7. sAoP : Pression artérielle systolique ; dAoP : Pression artérielle diastolique ; mAoP : Pression artérielle moyenne ; CO : Débit Cardiaque ; EF : Fraction d'éjection ; EDV : Volume télédiastolique ; ESV : Volume télésystolique ; EDP : Pression télédiastolique ; ESP : Pression télésystolique ; HR : Fréquence cardiaque. Changement de la courbe de volume avec stimulation au battement 23

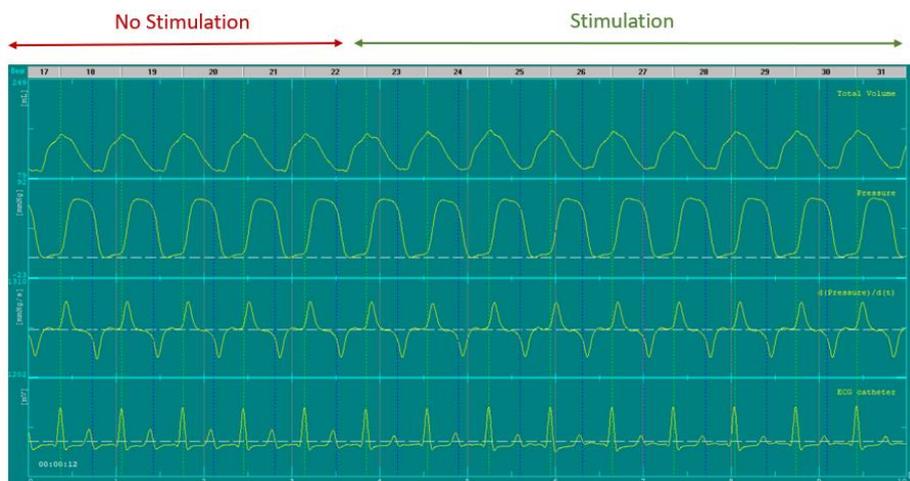
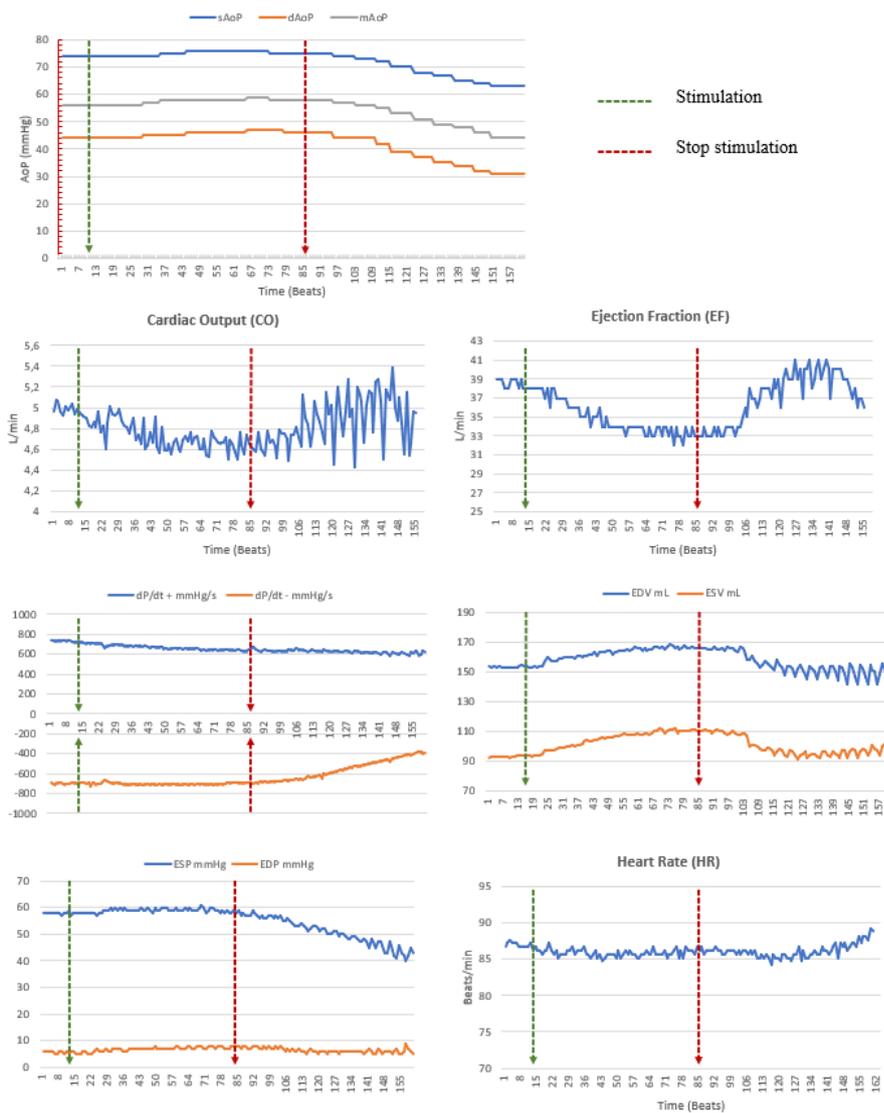


Figure 8. sAoP : Pression artérielle systolique ; dAoP : Pression artérielle diastolique ; mAoP : Pression artérielle moyenne ; CO : Débit Cardiaque ; EF : Fraction d'éjection ; EDV : Volume télédiastolique ; ESV : Volume télésystolique ; EDP : Pression télédiastolique ; ESP : Pression télésystolique ; HR : Fréquence cardiaque. Changement de la courbe de volume avec stimulation au battement 23

Discussion

Quel que soit l'espèce, le plexus cardiaque et ses fibres sympathiques et parasympathiques suivent le trajet des artères coronariennes. Il existe cependant quelques différences entre l'homme et le porc, la principale étant que les oreillettes porcines contiennent beaucoup plus de ganglions et de neurones intrinsèques que les ventricules contrairement à l'homme¹³. D'ailleurs, l'accès des nerfs médiastinaux à l'épicarde chez le porc se trouve au niveau des veines principales du cœur (Veine cave supérieure, veine azygos gauche, veines pulmonaires) alors que chez l'homme l'accès de ces nerfs médiastinaux à l'épicarde se font au niveau de la racine aortique et de l'artère pulmonaire principale¹³. Ces observations impliquent que les ventricules porcins sont fournis par des neurones épicaudiques topographiquement distincts par rapport à l'homme¹¹. De plus, le nombre moyen estimé de ganglions par cœur de porc est plus de deux fois inférieure à celle rapportée pour l'homme. Finalement, les fibres nerveuses adrénergiques (sympathiques) dominent dans l'épicarde du porc myocarde tout comme chez l'homme mais à proportion moindre¹².

Afin d'interpréter les résultats, les paramètres intrinsèques du cœur qu'on évaluera seront ceux impactés par la stimulation du système nerveux autonome cardiaque : La fréquence cardiaque, la précharge et la fonction ionotrope propre du cœur

Les résultats obtenus chez les 4 animaux différaient en fonction de la position des électrodes, ces derniers étant sensibles à un déplacement de l'ordre d'1 mm selon Kobayashi et al⁷.

Chez l'animal N°1, les électrodes étaient positionnées au niveau des fibres nerveuses à destination exclusive du ventricule gauche. Le résultat était une activation sympathique ET parasympathique du système autonome cardiaque à destination du ventricule gauche. En effet, nous avons observé une augmentation de la fonction inotrope du cœur ($dp/dt+$; débit cardiaque ; fraction d'éjection du ventricule gauche) malgré un volume télédiastolique et donc une précharge stable. L'activation parasympathique est démontrée par la stabilité du rythme cardiaque. Ainsi à ce niveau, la synergie d'action des deux systèmes sympathique et parasympathique est respectée permettant une optimisation de la fonction hémodynamique du cœur.

Chez l'animal N°3, cet effet n'a cependant pas pu être reproduit. Cependant à la position des électrodes au niveau de l'arche aortique, des effets hémodynamiques notables ont été notés suggérant la présence à ce niveau de ganglions plexiques à destination du cœur de façon identique à l'homme. L'effet principal observé était une augmentation de la précharge qui entraînait une augmentation de l'inotropisme et du débit cardiaque selon la loi de Franck-Starling jusqu'à la limite d'un volume télédiastolique de 250 ml, traduisant un dépassement de la capacité d'adaptation du cœur lorsque ce dernier est en état avancé de décompensation.

L'augmentation de la précharge pourrait être expliquée par plusieurs hypothèses

- Une augmentation de la contractilité de l'oreillette gauche, cependant la courbe de pression obtenue par PV Loop ne montre pas de modifications de l'onde P.
- Une fuite mitrale fonctionnelle secondaire ou aggravée par la stimulation, cette hypothèse a été éliminée à l'échographie transoesophagienne d'autant plus qu'elle ne concorde pas les enregistrements de diminution du débit cardiaque.
- Une amélioration du retour veineux dans l'oreillette gauche reste l'hypothèse la plus plausible et la seule concordante avec l'aspect des courbes de volumes qui démontrent une amélioration du remplissage passif du ventricule gauche. Ceci pourrait être expliqué soit par une amélioration de la fonction ventriculaire droite, soit par une diminution des résistances vasculaires pulmonaires à la stimulation à ce niveau.

Cet effet a été retrouvé de façon moins prononcée au même positionnement chez l'animal N°4. Chez ce dernier, un effet à prédominance parasympathique a été enregistré à la stimulation au niveau de la veine cave supérieure avec une fréquence cardiaque, une $dp/dt+$ ainsi qu'un débit cardiaque constamment diminués à chaque stimulation, y compris avec des fréquences et intensités de stimulation basses allant jusqu'à 2 Hz et 2 Volt.

Chez ces 3 animaux, aucun changement de conduction n'a été observé à l'analyse des ECG intracardiaques, une diminution sensible de l'amplitude l'onde T de repolarisation a été cependant observée chez les animaux 3 et 4.

Les différences d'effets entre les animaux peuvent être par plusieurs facteurs :

- Une position des électrodes sensible au mm près selon Kobayashi et al⁷
- Le sens de courant de stimulation des fibres et la distance de 10 à 15 mm entre les électrodes non respectés chez les premiers animaux en l'absence d'expertise neurologique à ce moment
- Une variabilité inter porcine de l'anatomie du plexus cardiaque entre ces deux animaux

De nouvelles expériences ayant pour but de répertorier les effets des stimulations du système nerveux autonome cardiaque à différents niveaux de l'épicaarde sont prévues *ex vivo*, sur cœur fraîchement explanté, en utilisant des amplificateurs des réponses nerveuses qui seront analysées à l'aide d'un logiciel dédié en collaboration avec des neurologues experts en stimulation nerveuse.

L'objectif à moyen terme sera de l'application clinique chez les patients opérés de chirurgie cardiaque (Chirurgie conventionnelle, assistance circulatoire mécanique gauche, transplantation cardiaque). L'objectif à plus long terme sera l'application de cette technique pour le traitement de l'insuffisance cardiaque avancée (à fraction d'éjection préservée ou non) ainsi qu'au traitement de l'hypertension pulmonaire chronique.

Conclusion

Nos résultats montrent que la neuromodulation du système nerveux autonome cardiaque par le biais d'électrodes épicaardique ou épi vasculaires temporaires est possible et efficace, y compris en état d'insuffisance cardiaque aiguë. De nouvelles explorations sont programmées afin de répertorier la topographie nerveuse du cœur porcine et sa réponse aux différents endroits de stimulations ainsi que les paramètres de stimulation optimaux.

Références

1. Van Bilsen M, Patel HC, Bauersachs J, et al. The autonomic nervous system as a therapeutic target in heart failure: a scientific position statement from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(11):1361-1378. doi:10.1002/ejhf.921
2. Premchand RK, Sharma K, Mittal S, et al. Extended Follow-Up of Patients With Heart Failure Receiving Autonomic Regulation Therapy in the ANTHEM-HF Study. *J Card Fail.* 2016;22(8):639-642. doi:10.1016/j.cardfail.2015.11.002
3. Zile MR, Abraham WT, Weaver FA, et al. Baroreflex activation therapy for the treatment of heart failure with a reduced ejection fraction: safety and efficacy in patients with and without cardiac resynchronization therapy. *Eur J Heart Fail.* 2015;17(10):1066-1074. doi:10.1002/ejhf.299
4. Niewiński P, Janczak D, Rucinski A, et al. Carotid body removal for treatment of chronic systolic heart failure. *Int J Cardiol.* 2013;168(3):2506-2509. doi:10.1016/j.ijcard.2013.03.011
5. Davies JE, Manisty CH, Petraco R, et al. First-in-man safety evaluation of renal denervation for chronic systolic heart failure: primary outcome from REACH-Pilot study. *Int J Cardiol.* 2013;162(3):189-192. doi:10.1016/j.ijcard.2012.09.019
6. Patel HC, Rosen SD, Hayward C, et al. Renal denervation in heart failure with preserved ejection fraction (RDT-PEF): a randomized controlled trial. *Eur J Heart Fail.* 2016;18(6):703-712. doi:10.1002/ejhf.502
7. Kobayashi M, Massiello A, Karimov JH, et al. Cardiac autonomic nerve stimulation in the treatment of heart failure. *Ann Thorac Surg.* 2013;96(1):339-345. doi:10.1016/j.athoracsur.2012.12.060
8. Diaz T, Marin y Kall C, Boehmer J, et al. Cardiac Autonomic Nerves Stimulation Improves Hemodynamics and Clinical Status in Advanced Heart Failure Patients. *J heart and lung transplantation.* 2020;39(4): S156. doi:10.1016/j.healun.2020.01.1098
9. Durães Campos I, Pinto V, Sousa N, Pereira VH. A brain within the heart: A review on the intracardiac nervous system. *J Mol Cell Cardiol.* 2018;119:1-9. doi:10.1016/j.yjmcc.2018.04.005
10. Williams JB, Hernandez AF, Li S, et al. Postoperative inotrope and vasopressor use following CABG: outcome data from the CAPS-care study. *J Card Surg.* 2011;26(6):572-578. doi:10.1111/j.1540-8191.2011.01301.x

11. Pauziene N, Rysevaite-Kyguoliene K, Alaburda P, et al. Neuroanatomy of the Pig Cardiac Ventricles. A Stereomicroscopic, Confocal and Electron Microscope Study. *Anat Rec (Hoboken)*. 2017;300(10):1756-1780. doi:10.1002/ar.23619
12. Batulevicius D, Skripka V, Pauziene N, Pauza DH. Topography of the porcine epicardiac nerve plexus as revealed by histochemistry for acetylcholinesterase. *Auton Neurosci*. 2008;138(1-2):64-75. doi:10.1016/j.autneu.2007.10.005
13. Arora RC, Waldmann M, Hopkins DA, Armour JA. Porcine intrinsic cardiac ganglia. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;271(1):249-258. doi:10.1002/ar.a.10030
14. www.adicare.org