

RAQUEL FILIPA PALMA GARCIA DOS SANTOS

**HISTOLOGIA DO SISTEMA DE CONDUÇÃO
CARDÍACO DO CÃO**

**Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em
Medicina Veterinária no Curso de Mestrado Integrado em
Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de
Humanidades e Tecnologias**

Orientador: Professor Doutor Luís Lima Lobo

Co-Orientadora: Professora Doutora Ana Godinho Diaz Faes

Universidade Lusófona De Humanidades e Tecnologias

Faculdade De Medicina Veterinária

Lisboa

2014

*Life is what happens to you while you're busy
making other plans.*

John Lennon

*We have the choice to use the gift of our life
to make the world a better place – or not to bother.*

Jane Goodall

*À Mãe, à Avó Isaura e ao Avô Palma:
que eu possa ser para eles o que eles
são para mim.*

Agradecimentos

À Mãe, à Avó Isaura e ao Avô Palma: obrigada por acreditarem sempre em mim, por vezes mais do que eu própria. Seriam precisas mais cem páginas para agradecer por tudo o resto.

Ao Pai, à Avó Rute e ao Avô António: obrigada pelo apoio e pela inspiração que me deram para ser mais e melhor.

À Ana e à Inês, as minhas “companheiras de armas” desde sempre, e ao Pedro, ao Hugo e ao Ricardo, por transformarem os momentos maus em bons e os momentos bons em fantásticos.

À Sofia e à Nakita, por toda a amizade, apoio e brincadeiras.

À Mariana, à Guida, ao Ricardo e ao Vicente por me terem “adoptado” e por me relembrares (por vezes à força) de que existia vida para além dos livros, trabalhos e exames.

Aos meus orientadores, o Prof. Luís Lobo e a Prof.^a Ana Godinho, por todo o apoio dado à realização deste projecto, bem como pela enorme disponibilidade demonstrada desde o início.

À Marli, à Susana, à Prof.^a Margarida, ao Prof. Faísca e a todos aqueles que durante este ano trabalharam no LACH e que me cederam um bocadinho do seu espaço de trabalho e perderam tempo a responder às minhas mil perguntas e dúvidas.

À Prof.^a Madalena Monteiro e ao Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, bem como ao Prof. Luís Lobo e ao Hospital Veterinário do Porto, por gentilmente terem cedido algumas das amostras incluídas neste projecto.

E, por último, ao Poupinhas, Ninja, Jerry, Maria, Tony, Tita, Mimi, Martini, Ollie, Samantha, Xaninho, Niko, Mafalda e Nessie, por tudo o que me ensinaram e continuam a ensinar, por me inspirarem a continuar e por todo o amor incondicional que só seres como vocês sabem dar.

Resumo

No presente trabalho é feita uma descrição histológica dos três principais componentes do SCC canino (Nó Sinusal, Nó Atrioventricular e Feixe Atrioventricular).

Foram examinados 12 corações de cães de diferentes raças, idades e sexos; os blocos de tecido contendo o SCC foram cortados tanto em plano transversal como em paralelo em secções com 6 µm de espessura, posteriormente coradas com Hematoxilina-Eosina, Tricrómio de Masson e Ácido Periódico de Schiff.

O NS revelou ter uma localização variável, tendo um aspecto histológico heterogéneo e não contendo células de transição no seu interior; observou-se a presença constante da artéria nodal na periferia do Nó.

O NAV tem uma localização constante, na junção atrioventricular direita, e é formado por células especializadas agrupadas em feixes rodeados por tecido conjuntivo, não possuindo uma zona de transição como acontece noutras espécies.

O Feixe Atrioventricular divide-se em dois ramos na porção membranosa do septo interventricular, e o Ramo Esquerdo é melhor observável do que o Ramo Direito.

O Tricrómio de Masson e o PAS revelaram-se ferramentas úteis na identificação e delimitação dos diferentes componentes do SCC, que demonstraram ser melhor visualizados em plano transversal.

As Vias Internodais, bem como outras estruturas recentemente referidas, não foram observadas.

Palavras-chave: Histologia; Nó Sinusal; Nó Atrioventricular; Feixe Atrioventricular; Cão

Abstract

In this study, a histological description of the three main components of the canine Cardiac Conduction System (Sinus Node, Atrioventricular Node and His Bundle) is made.

12 hearts from dogs of different breeds, ages and genders were examined; the tissue blocks that contained the CCS were cut in both transverse and parallel planes, in sections 6 μm thick; these were stained with Haematoxylin-Eosin, Masson's Trichrome and Periodic Acid-Schiff stains.

The SN has a variable location, a histologically heterogeneous look and doesn't contain transition cells; the nodal artery is consistently present in the Node's periphery.

The AVN is always located in the right atrioventricular junction, and it's formed by specialized cells arranged in bundles surrounded by connective tissue; unlike other species, the canine AVN doesn't have a transition zone.

The His Bundle splits in two branches in the membranous portion of the interventricular septum, and the Left Branch is best observed than the Right Branch.

Masson's Trichrome and Periodic Acid-Schiff stains are useful tools in the identification and delimitation of the different components of the CCS, and these are best studied in the transverse plane.

The Internodal Pathways, and other recently described structures, were not observed.

Key-Words: Histology; Sinus Node; Atrioventricular Node; His Bundle; Dog.

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

CFC – Corpo Fibroso Central

ENP – Extensão Nodal Posterior

ENPs – Extensões Nodais Posteriores

FAP – Feixe Atrioventricular Proximal

FAL – Feixe Atrionodal Lateral

FAM – Feixe Atrionodal Medial

FAS – Feixe Atrionodal Superior

FAV – Feixe Atrioventricular

Fig. – Figura

Figs. – Figuras

LNIV – Laboratório Nacional de Investigação Veterinária

mm – milímetros

NS – Nó Sinusal

NAV – Nó Atrioventricular

PAS – Ácido Periódico de Schiff

µm – micrómetros

SCC – Sistema de Condução Cardíaco

SRD – Sem Raça Definida

ULHT – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Índice

Índice de Tabelas	10
Índice de Figuras.....	11
1. Introdução.....	13
I. Contexto histórico.....	13
Critérios de Aschoff e Monckeberg	16
II. Constituição geral do Sistema de Condução Cardíaco.....	17
Áreas de interesse macroscópico	17
III. O Nó Sinusal.....	20
a. Cão	21
b. Humano.....	22
c. Vaca.....	26
d. Porco.....	26
e. Coelho.....	27
f. Ratazana.....	28
IV. O Nó Atrioventricular	29
a. Cão	29
b. Humano.....	31
c. Porco.....	32
d. Coelho.....	32
V. As Vias Internodais.....	35
VI. O Feixe Atrioventricular e as vias de condução ventricular	39
1. Cão	39
2. Humano.....	40
3. Vaca.....	42
4. Porco.....	43
5. Coelho.....	43
6. Ratazana.....	44
7. Ovelha.....	44
VII. Outros componentes do Sistema de Condução Cardíaco	47
VIII. Metodologias de estudo do Sistema de Condução Cardíaco	48
IX. Objectivos do trabalho.....	50
2. Materiais e métodos.....	51
a. Obtenção das amostras	51
b. Obtenção e preparação dos corações para histologia.....	51
c. Recolha do Nó Sinusal	53
d. Recolha do Nó Atrioventricular e Feixe Atrioventricular	55
e. Processamento e Inclusão	60
f. Corte, coloração e montagem	60
g. Observação microscópica e fotografia.....	61
3. Resultados.....	62
a. Descrição geral dos corações	62
b. Nó Sinusal.....	62
c. Nó Atrioventricular.....	69
d. Feixe Atrioventricular.....	Erro! Marcador não definido.
4. Discussão	78
a. Métodos de Estudo do Sistema de Condução	78
b. Nó Sinusal.....	79
c. Nó Atrioventricular.....	80
d. Feixe Atrioventricular.....	Erro! Marcador não definido.

e. Vias Internodais e outros componentes do Sistema de Condução Cardíaco	82
5. Conclusão.....	84
6. Bibliografia.....	87

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Resumo da história clínica dos animais cujos corações foram estudados.....	51
Tabela 2 – Medidas dos corações.....	62

Índice de Figuras

Fig. 1 - Ilustração realizada por Tawara demonstrando a via de condução desde o Nó Atrioventricular.....	14
Fig. 2 - Ilustração realizada por Tawara demonstrando o Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular a ramificar-se por todo o ventrículo esquerdo.....	14
Fig. 3 – Áreas de interesse macroscópico.	18
Fig. 4 – Preparação para estudo do Nó Sinusal humano	25
Fig. 5 – Secção histológica do corpo do Nó Sinusal humano, corada com Tricrómio de Masson.....	25
Fig. 6 – NAV, CFC e Vias Internodais	36
Fig. 7 – Localização macroscópica das Vias Internodais	37
Fig. 8 – Esquema representativo dos diferentes planos de corte da junção veia cava – átrio direito.....	49
Fig. 9 – Aspecto típico de um coração após fixação, onde é visível o local onde o átrio e ventrículo esquerdos foram abertos para facilitar a penetração do líquido fixador nos tecidos.	52
Fig. 10 – Medição da circunferência do óstio atrioventricular direito.	53
Fig. 11 – Vista cranial e endocárdica da junção veia cava cranial – átrio direito	53
Fig. 12 – Divisão da peça da junção veia cava cranial – átrio direito em fragmentos para estudo do NS em plano paralelo	54
Fig. 13 - Divisão da peça da junção veia cava cranial – átrio direito em fragmentos para estudo do NS em plano transverso.	54
Fig. 14 – Colocação das peças histológicas numa cassete de plástico, para estudo do NS em plano transverso	55
Fig. 15 – Vista geral da região da junção atrioventricular direita.	56
Fig. 16 – Pormenor da região ilustrada na figura anterior.....	56
Fig. 17 – Bloco de tecido usado para o estudo do NAV em plano paralelo	57
Fig. 18 – Típico bloco de tecido utilizado para o estudo do NAV em plano paralelo.....	57
Fig. 19 – Divisão do bloco de tecido da junção atrioventricular em duas metades, de forma a acomodar a espessura máxima permitida pelas cassetes de plástico.	58
Fig. 20 – Duas vistas do bloco de tecido utilizado para estudo do NAV em plano transverso	59
Fig. 21 – Divisão do bloco de tecido da junção atrioventricular em vários segmentos transversais	59
Fig. 22 – Posição em que as peças histológicas foram colocadas nas cassetes para processamento e inclusão, para estudo do NAV em plano transverso.....	60

Fig. 23 – Vista crânio-lateral direita de um coração de cão, onde está ilustrada a área onde se identificaram os Nós Sinusais dos corações estudados	63
Fig. 24 – NS, corte transverso, 40x, HE.	64
Fig. 25 – NS, corte transverso, 40x, HE.	65
Fig. 26 – NS, corte transverso, 400x, HE.	65
Fig. 27 – NS, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson.	66
Fig. 28 – NS, corte transverso, 100x, Tricrómio de Masson.	66
Fig. 29 – NS, corte paralelo, 40x, HE.	67
Fig. 30 – NS, corte paralelo, 100x, HE.	67
Fig. 31 – NS, corte paralelo, 100x, HE.	68
Fig. 32 – NS, corte paralelo, 40x, Tricrómio de Masson.	68
Fig. 33 – NS, corte paralelo, 100x, Tricrómio de Masson e NS, corte paralelo, 400x, Tricrómio de Masson.	69
Fig. 34 - Vista crânio-lateral direita de um coração de cão, com a parede atrial direita excisada, onde está ilustrada a área onde se identificaram os Nós Atrioventriculares dos corações estudados.	70
Fig. 35 – NAV, corte transverso, 40x, HE.	70
Fig. 36 – NAV, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson.	71
Fig. 37 – NAV, corte paralelo, 40x, HE, NAV, corte paralelo, 100x, HE, NAV, corte paralelo, 400x, HE e miocárdio ventricular de trabalho, corte paralelo, 400x, HE.	71
Fig. 38 – NAV, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson.	72
Fig. 39 – NAV, corte paralelo, 40x, HE e NAV, corte transverso, 40x, HE.	73
Fig. 40 – NAV, corte paralelo, 100x, HE.	73
Fig. 41 – NAV, corte transverso, 40x, PAS.	74
Fig. 42 – NAV, corte transverso, 100x, PAS e NAV, corte transverso, 400x, PAS.	74
Fig. 43 – NAV e Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, HE e NAV e Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson.	75
Fig. 44 – Ramo Esquerdo do FAV, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson.	76
Fig. 45 – Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS.	76
Fig. 46 – Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS e Ramo Direito do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS.	77
Fig. 47 – Ramo Esquerdo do Feixe de His, corte transverso, 400x, PAS.	77

1. Introdução

I. Contexto histórico

A descoberta do Sistema de Condução Cardíaco foi feita por Sunao Tawara, e publicada na Alemanha em 1906 (Akiyama, 2010).

Sunao Tawara nasceu em 1873, no Japão, e terminou o curso de Medicina na Universidade de Tóquio, em 1901. Impressionado com os avanços médicos na Alemanha, decidiu prosseguir os seus estudos naquele país e começou a trabalhar no Instituto de Anatomia Patológica de Marburg, sob a supervisão do Professor Ludwig Aschoff, que estava a realizar estudos sobre anatomo-patologia cardíaca, com o objectivo de determinar causas anatómicas de falha cardíaca (Akiyama, 2010). No âmbito destes estudos, Aschoff sugeriu a Tawara que estudasse o feixe muscular descoberto por His em 1893, na tentativa de, por alguma forma, relacionar este feixe com a ocorrência de falha cardíaca; His, que tinha descoberto este feixe muscular, assumiu que ele unia os átrios directamente à base do septo muscular (Silverman *et al.*, 2006). Embora acreditasse que este feixe conduzia o impulso eléctrico desde os átrios até à base dos ventrículos, His não tinha certezas sobre qual a forma do seu funcionamento (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Tawara tencionava seguir proximalmente e distalmente o curso deste feixe em corações de vários mamíferos, incluindo humanos, mas as descrições realizadas por His não eram suficientes para que ele localizasse facilmente este feixe; para além disto, distalmente ao Feixe de His, havia grupos de células de grande calibre que não estavam identificadas. Tawara relacionou estas células com as descritas por Purkinje em 1839 (as fibras de Purkinje) e percebeu que estavam em continuidade com o Feixe de His. A partir deste ponto, Tawara conseguiu seguir proximalmente o curso das fibras de Purkinje até ao ramo esquerdo e direito do Feixe de His; depois, Tawara percebeu que o Feixe de His estava ligado proximalmente a uma rede compacta de fibras, que formavam um Nó (aquela estrutura que hoje se denomina por Nó Atrioventricular) (Akiyama, 2010). Para além disto, Tawara conseguiu demonstrar conexões entre as fibras de Purkinje e os músculos ventriculares, bem como entre o Nó Atrioventricular e os músculos atriais (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Com todo este processo, Tawara conseguiu identificar uma via totalmente discernível, que começa nos músculos atriais e termina nos músculos ventriculares, a que chamou “Sistema de Condução de Estímulos”. Desde então, os componentes deste sistema de condução atrioventricular têm tomado vários nomes. O Nó Atrioventricular também é denominado por Nó de Tawara, Nó de Aschoff-Tawara ou Nó de Tawara-Aschoff; o Feixe de His também pode ser denominado Feixe Atrioventricular ou por Feixe de His-Tawara (uma vez que foi His quem o descobriu, mas foi

Tawara que entendeu a sua função) (Akiyama, 2010). As figuras 1 e 2 mostram as ilustrações desenhadas por Tawara e publicadas no seu trabalho.

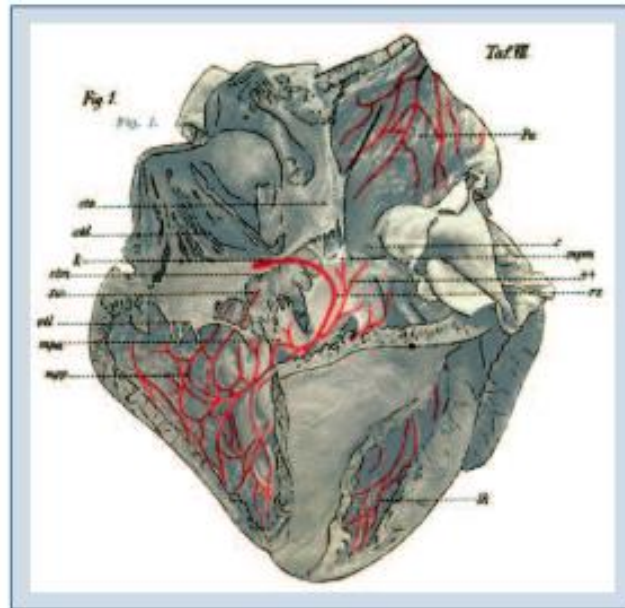


Fig. 1 - Ilustração realizada por Tawara demonstrando a via de condução desde o Nó Atrioventricular (k) até ao Feixe Atrioventricular, Ramo Direito (RS) e músculo ventricular direito do coração humano (Akiyama, 2010).

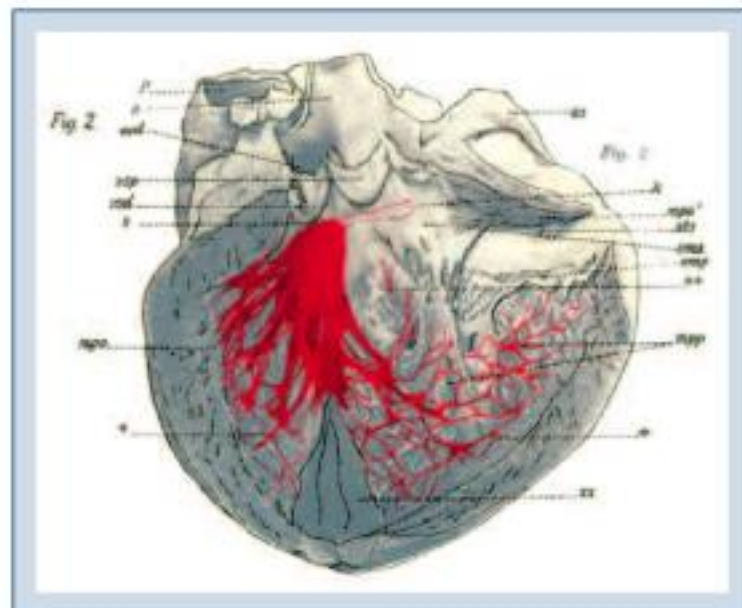


Fig. 2 - Ilustração realizada por Tawara demonstrando o Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular a ramificar-se por todo o ventrículo esquerdo; k - Nó Atrioventricular; vsd - folheto coronário da válvula aórtica; vsp - folheto não coronário da válvula aórtica; mpa - músculo papilar anterior; mpp - músculo papilar posterior; vma - folheto anterior da válvula mitral; vmp - folheto posterior da válvula mitral; + - local de divisão do Feixe Atrioventricular; ++ - ramificações terminais do Feixe Atrioventricular (Akiyama, 2010).

No início do séc. XX, o electrocardiograma havia sido recentemente inventado por William Einthoven, mas o mecanismo pelo qual as quatro câmaras cardíacas se contraíam

sincronicamente como uma unidade coesa continuava desconhecido. Assim, as descobertas de Tawara e a sua publicação, em 1906, não só explicaram este mecanismo de sincronização das câmaras cardíacas, como também deram a Einthoven e aos seus colegas uma poderosa base teórica para a interpretação do electrocardiograma; a descoberta do sistema de condução atrioventricular ajudou também à rápida popularização do electrocardiograma (Silverman *et al.*, 2006).

As descobertas de Tawara tiveram uma enorme importância na história da Medicina moderna, pelos seguintes motivos:

- Foram uma demonstração inequívoca de que as fibras do sistema de condução, em especial as fibras de Purkinje, estão envolvidas em tecido conjuntivo, isolando assim as fibras de condução das fibras de trabalho atriais ou ventriculares envolventes;
- Ofereceram a Einthoven e aos seus colegas a base teórica para a interpretação das ondas do electrocardiograma, o que permitiu a rápida difusão da electrocardiografia;
- Providenciaram uma fundamentação anatomo-fisiológica para que os electrofisiologistas compreendessem os mecanismos das várias arritmias cardíacas e taquicardias;
- Descreveram a localização precisa de todos os componentes do sistema de condução atrioventricular e a histologia de cada tipo de fibra de condução, facilitando assim a identificação destas estruturas pelos futuros investigadores;
- Identificaram o Feixe Atrioventricular, as fibras de Purkinje e os falsos tendões (fibras de Purkinje livres no interior da cavidade ventricular) como sendo componentes do sistema de condução atrioventricular;
- Providenciaram descrições e desenhos precisos sobre a histologia de cada componente do sistema de condução atrioventricular (Akiyama, 2010).

Com a publicação do trabalho de Tawara, Sir Arthur Keith, que então examinava histologicamente corações humanos com o objectivo de definir os mecanismos por detrás do encerramento das grandes veias durante a sístole atrial, foi compelido a tentar encontrar a área marca-passo do coração (já que Tawara tinha descoberto como é que o estímulo eléctrico era conduzido, mas não onde se iniciava). Keith já havia definido uma área de tecido pequena e condensada, justamente onde a veia cava se inseria na aurícula, mas não acreditou que fosse funcionalmente importante. A seguir à publicação do trabalho de Tawara, Keith, trabalhando com o então estudante Martin Flack, foi inspirado a estudar o coração de pequenos mamíferos, onde descobriram uma complexa estrutura na aurícula direita que estava presente em todos os corações subsequentemente estudados (o Nó Sinusal),

publicando esta descoberta em 1907 (Monfredi *et al.*, 2010). Todo o sistema de condução cardíaco, desde o Nó Sinusal até às Fibras de Purkinje nos músculos ventriculares, estava agora descoberto.

Critérios de Aschoff e Monckeberg

Pouco tempo após as descobertas de Tawara e Flack, começaram a surgir teorias sobre vias especializadas de condução que poderiam ser encontradas ao longo do miocárdio atrial (mais especificamente, ao longo da crista terminal), e que teriam a função de providenciar um tracto muscular directo desde o Nó Sinusal ao Nó Atrioventricular. Esta sugestão fez com que a Sociedade Alemã de Patologia discutisse este tema na sua reunião anual de 1910, que deu origem a um conjunto de critérios, propostos por Aschoff e Monckeberg, para o reconhecimento dos tractos anatomicamente especializados para a condução intracardíaca (Mazgalev *et al.*, 2001). Estes autores tomaram como padrão o eixo de condução atrioventricular descrito por Tawara, e usaram os componentes ventriculares deste sistema como exemplo de aplicação dos seus critérios (Anderson *et al.*, 2004).

Segundo estes critérios:

- Os tractos/tecidos de condução têm células histologicamente discerníveis das células miocárdicas normais;
- É possível seguir estes tractos em secções histológicas seriadas;
- Os tractos/tecidos de condução estão isolados do miocárdio de trabalho adjacente por uma bainha de tecido fibroso (Mazgalev *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2004).

Actualmente estes critérios continuam válidos, embora, como discutido mais à frente neste trabalho, existam componentes do sistema de condução que não cumprem estes critérios na totalidade.

II. Constituição geral do Sistema de Condução Cardíaco

O sistema de condução cardíaco tem quatro componentes principais:

- Nó Sinoatrial, ou Nó Sinusal, ou ainda Nó de Keith-Flack;
- Nó Atrioventricular, ou Nó de Aschoff-Tawara;
- Feixe Atrioventricular, ou Feixe de His;
- Rede de fibras de Purkinje (Guarda & Mandelli, 2002).

A função do Sistema de Condução é regular a excitação cardíaca, provocando a contração rítmica do miocárdio (Guarda & Mandelli, 2002).

O Sistema de Condução Cardíaco começa no Nó Sinusal – a área "marca-passo" do coração, localizado na porção cranio-ventral do átrio direito. Seguidamente, o impulso é conduzido até ao Nó Atrioventricular, situado na porção caudo-dorsal do átrio direito (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Depois, o Sistema de Condução continua com o Feixe Atrioventricular, que se divide em Ramo Esquerdo e Direito, e esses ramos descendem pelo septo interventricular, envoltos numa bainha de tecido conjuntivo fibroso que os isola do miocárdio ventricular de trabalho (ou seja, separa os miócitos especializados dos miócitos cardíacos normais) (Mazgalev *et al.*, 2001; Sánchez-Quintana & Ho, 2003). O Sistema de Condução termina no miocárdio ventricular com a rede de fibras de Purkinje (Guarda & Mandelli, 2002; Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Existem autores que referenciam ainda a existência de Tractos Internodais, isto é, feixes de tecido de condução que se estendem entre os Nós Sinusal e Atrioventricular (James *et al.*, 1996; Racker, 1999; Racker & Kadish, 2000; James, 2001; Racker, 2003); este assunto será abordado mais adiante neste trabalho.

Áreas de interesse macroscópico

De modo a examinar a histologia do sistema de condução, é necessário ter pontos de referência macroscópicos para ajudar a localizar estes tecidos especializados. A fig. 3 ilustra todos estes pontos.

O Nó Sinusal tem uma localização subepicárdica, e situa-se como se fosse uma cunha na união entre a musculatura da veia cava cranial e a aurícula direita, com a sua base justaposta à crista terminal (Guarda & Mandelli, 2002; Sánchez-Quintana & Ho, 2003); a distância entre o Nó Sinusal e o epicárdio é de cerca de 0.3 ± 1 mm (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Segundo Sánchez-Quintana e SY Ho, em 10% dos indivíduos, o Nó não se prolonga até à veia cava caudal; em vez disso, possui uma forma de ferradura em redor da porção ventral da (ou anterior) do óstio da veia cava cranial (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). O Nó Sinusal não pode ser reconhecido inequivocamente por simples observação macroscópica,

mas por vezes é visível uma porção de tecido mais esbranquiçado onde o Nó Sinusal se localiza no sulco terminal (Anderson *et al.*,1983).

O Nó Atrioventricular encontra-se na base do septo atrial no ápice de uma área denominada por Triângulo de Koch. O Triângulo de Koch situa-se sob a superfície endocárdica do átrio direito, encontra-se delimitado anteriormente pela inserção do folheto septal da válvula tricúspide, e posteriormente por um tendão fibroso, o Tendão de Todaro. Este tendão é a continuação fibrosa sub-endocárdica da válvula de Eustáquio, que se insere na musculatura atrial que separa o óstio do seio coronário da fossa oval (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Em alguns casos, não é possível identificar o Tendão de Todaro macroscopicamente; o centro do septo sinusal pode ser utilizado como limite atrial do Triângulo de Koch (Anderson *et al.*,1983). A base do Triângulo de Koch é formada pelo óstio do seio coronário e pela inserção do folheto septal da válvula tricúspide (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

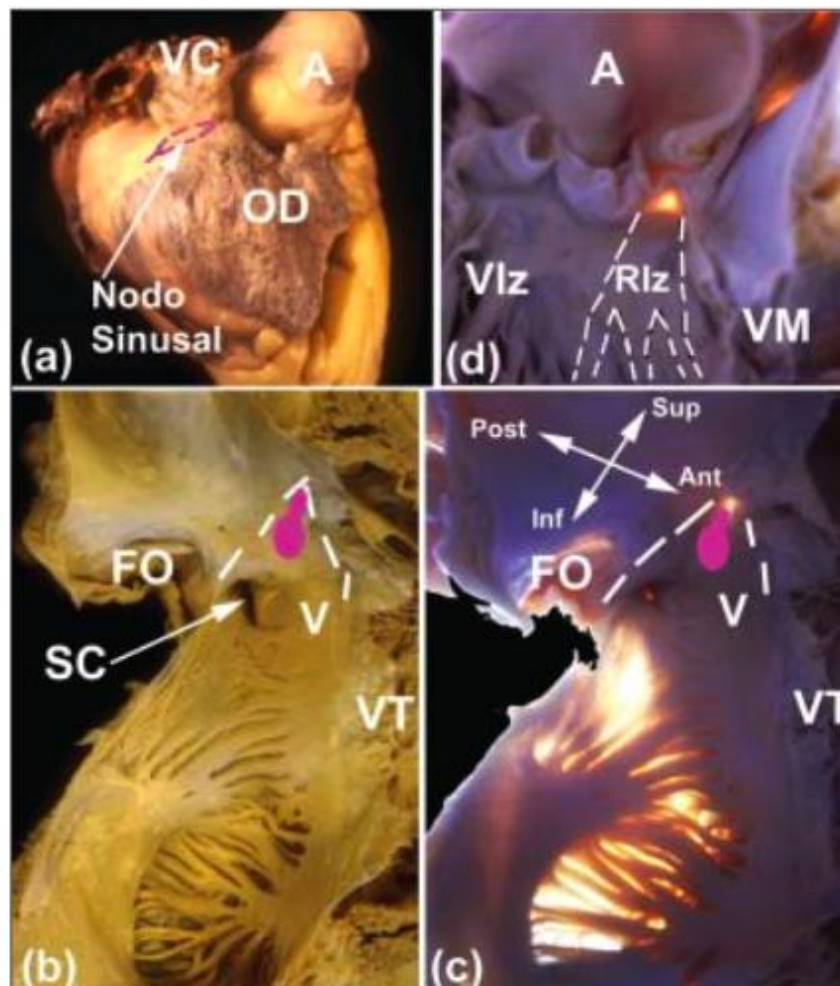


Fig. 3 – (a): vista epicárdica lateral da aurícula direita; a linha descontinua rosa representa a localização do Nó Sinusal. (b) e (c) – vista endocárdica normal e por transiluminação das paredes posterior e septal da aurícula direita, para demonstrar a fossa oval (FO) e os limites do Triângulo de Koch (linhas descontinuas brancas); TT – tendão de Todaro; VT – inserção do folheto septal da válvula tricúspide; V – vestibulo da

aurícula direita; SC – óstio do seio coronário; oval rosa – localização do Nó Atrioventricular. (d) – vista ventricular esquerda, para mostrar o septo membranoso por transiluminação; RIz – Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, cuja localização esta demarcada pelas linhas descontinuas brancas. A – aorta; OD – Aurícula direita; VC – veia cava superior; VD – ventrículo direito; VIz – ventrículo esquerdo; VM – válvula mitral (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

O Feixe Atrioventricular é a única porção do sistema de condução que perfura o Corpo Fibroso Central (CFC). O CFC é constituído pelo trígono fibroso direito (união entre o tecido conjuntivo dos folhetos das válvulas aórtica e mitral com o folheto septal da válvula tricúspide) e pela porção membranosa do septo interventricular (septo membranoso) (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). É difícil distinguir histologicamente o Nó Atrioventricular do Feixe Atrioventricular; a sua distinção faz-se, por este motivo, de forma anatómica: a partir do ponto em que o tecido de condução perfura o CFC, termina o Nó Atrioventricular e começa o Feixe Atrioventricular (Mazgalev *et al.*, 2001). Após atravessar o trígono fibroso direito, o Feixe Atrioventricular emerge sob o septo membranoso e divide-se em Ramo Esquerdo e Ramo Direito (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

O Ramo Direito do Feixe Atrioventricular atravessa a musculatura do septo interventricular em direcção à base do músculo papilar medial do ventrículo direito; depois, converte-se numa estrutura em forma de corda delgada que penetra toda a estrutura da trabécula septomarginal (ou banda moderadora), que une o músculo papilar medial ao músculo papilar anterior (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

A origem do Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular é sob a comissura entre os folhetos direito e posterior (ou não-coronário) da válvula aórtica; seguidamente, o Ramo Esquerdo descende pelo subendocárdio do septo interventricular (por vezes, este percurso é visível macroscopicamente devido ao brilho da lâmina fibrosa que envolve o Ramo Esquerdo) (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

III. O Nó Sinusal

O Nó Sinusal (NS) é uma estrutura relativamente pequena e em forma de cigarro localizada no sulco terminal, formado pela junção lateral da veia cava cranial com o remanescente do átrio direito (Anderson *et al.*, 1983; Oosthoek *et al.*, 1993). O tamanho do Nó Sinusal (ou seja, a sua proporção em relação ao tamanho do coração) é variável entre espécies (Boyett *et al.*, 2000).

No humano, o NS está sob a superfície epicárdica da crista terminal; noutras espécies, pelo menos uma parte do Nó está na região intercava (a região entre a veia cava cranial e a veia cava caudal). No gato, o NS na região intercava pode ascender até à superfície epicárdica da crista terminal; no cão, a porção de NS na região intercava parece estar adjacente à crista terminal. No coelho, o tecido do NS da região intercava atinge a superfície endocárdica da crista terminal e termina no ramo direito do feixe muscular do anel sinoatrial. Similarmente, no macaco, o tecido do NS eleva-se até à face endocárdica da crista terminal. Na maioria das espécies (coelho, ratazana, porco da Índia, macaco, porco e talvez humano), o NS pode estender-se desde a veia cava cranial até à veia cava caudal; no entanto, isto parece não ocorrer no coração bovino. Na região intercava, o NS pode ocupar toda a espessura entre o endocárdio e o epicárdio, tal como acontece no coelho, porco-da-índia e macaco; no entanto, no humano, cão e porco existe uma camada de músculo atrial entre o Nó Sinusal e o endocárdio (Boyett *et al.*, 2000).

Na maioria das espécies, o NS é composto por miócitos mais pequenos que os miócitos de trabalho normais, dispostos em feixes entrelaçados, que formam uma rede sem nenhuma orientação específica. Estes miócitos especializados coram fracamente com as colorações de rotina, e estão imersos numa matriz de tecido conjuntivo, que aumenta com a idade do indivíduo (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Esta matriz de tecido conjuntivo é constituída principalmente por colagénio e fibroblastos, e a sua quantidade em relação aos miócitos de condução varia de espécie para espécie (de 50% de tecido conjuntivo no Nó Sinusal de coelho, porco da Índia e ratazana até 75-90% no gato) (Boyett *et al.*, 2000).

Importa também referir que, para ilustrar a constituição celular do NS, existem dois modelos: o modelo do gradiente e o modelo do mosaico. De acordo com o modelo do gradiente, no interior do NS existem apenas células nodais especializadas, mas estas mostram uma transição suave quanto às suas propriedades (tamanho e propriedades eléctricas) da periferia para o centro; de acordo com o modelo do mosaico, existem dois tipos de células no interior do NS (as células atriais normais e as células nodais especializadas), cada um com propriedades (tamanho e propriedades eléctricas) razoavelmente uniformes. Este último modelo teoriza que a percentagem de células atriais de trabalho varia de 63% na

periferia do NS para 41% no seu centro. A partir de observações realizadas no NS do coelho, Dobrzynski *et al.* concluíram que, ao contrário do pressuposto no modelo do gradiente, e de acordo com o modelo do mosaico, existe uma mistura de células atriais e células nodais na periferia do Nó; no entanto, todas as células encontradas no centro do Nó foram células nodais, o que está em desacordo com o modelo do mosaico, segundo o qual cerca de 40% das células do centro do NS seriam miócitos atriais normais (Dobrzynski *et al.*, 2005). Os achados destes investigadores apontam assim para que elementos de ambos os modelos estejam correctos.

As células do Nó Sinusal preenchem apenas dois dos três critérios de Aschoff-Monckeberg:

1. O Nó é discernível porque é composto por redes de pequenas células densamente dispostas numa matriz de tecido fibroso; nos humanos, estas células estão geralmente (mas nem sempre) dispostas em redor da artéria nodal;
2. Exame de secções seriadas mostra a extensão do Nó e demonstra que, nas suas margens, apenas pequenas bandas de tecido especializado se estendem para o interior do miocárdio de trabalho adjacente; este é composto por células muito maiores, dispostas numa matriz de colagénio menos densa;
3. O terceiro critério de Aschoff-Monckeberg seria o isolamento do tracto de condução por uma bainha de tecido conjuntivo. Embora estejam envolvidas em tecido fibroso, as células do Nó Sinusal não estão isoladas do miocárdio de trabalho; se esse isolamento existisse, eliminaria o propósito do Nó Sinusal como local de “marca-passo” cardíaco. Para atingir esse propósito, as células do Nó Sinusal devem comunicar livremente com as células de trabalho; esta comunicação é realizada através de pequenas zonas de transição encontradas na margem do Nó (Mazgalev *et al.*, 2001).

a. Cão

O conhecimento sobre o Nó Sinusal do cão é ainda limitado, sendo que a maior parte dos pressupostos sobre a sua histologia são ainda obtidos a partir de estudos realizados noutras espécies; o estudo mais importante nesta área será talvez o realizado por Thomas James, nos anos 60 (James *et al.*, 1966).

Tal como nas outras espécies, o NS do cão está adjacente à crista terminal, na junção entre a veia cava cranial e o átrio direito (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

O NS é composto por células pequenas, distribuídas numa massa de colagénio de suporte. Para além de conter fibras de colagénio, o espaço intercelular do Nó Sinusal contém

capilares, fibrócitos e nervos; no entanto, não se observa contacto directo entre as terminações nervosas e a superfície celular das células de condução (James *et al.*,1966).

Thomas James refere haver dois grupos distintos de células no interior do NS do cão (o que também se verifica em humanos) e um terceiro grupo denominado como células de transição. O primeiro tipo celular parece-se com células do miocárdio normal de trabalho e é encontrado principalmente (mas não só) nas margens do Nó Sinusal. O segundo tipo celular presente é, segundo James, o grupo celular principal do NS e é denominado por células P; estas células parecem ser as células “marca-passo” do Nó Sinusal. As células P são pálidas, em contraste com o miocárdio circundante, muitas das suas características (quando observadas por microscopia electrónica) são semelhantes às das células miocárdicas primitivas embrionárias e são histologicamente muito semelhantes às células de Purkinje. Para além disto, as células P são arredondadas, medem apenas 5-10 µm de diâmetro, contêm menos miofibrilhas que as células miocárdicas normais e o seu citoplasma aparenta ser também mais vazio (James *et al.*,1966).

A maioria da porção central do NS do cão é composta por agregados de células P, mas a homogeneidade do Nó varia tanto em diferentes áreas deste como de coração para coração. Os agregados de células P não são esféricos, mas sim alongados, e formam feixes entrelaçados de fibras facilmente visíveis pela técnica histológica de rotina (James *et al.*,1966).

Desde o centro até à periferia do Nó, a forma e organização das células torna-se mais regular e os miofilamentos mais numerosos e organizados; o conteúdo em miofilamentos é menor na região dos agregados de células P e aumenta gradualmente em todas as direcções a partir desta região. As células de transição, presentes na periferia do Nó, têm um número crescente de miofilamentos; todos os estados de transição podem ser encontrados, com algumas células a serem muito semelhantes às células P e outras às células normais do miocárdio de trabalho (Boyett *et al.*, 2000). Esta organização do Nó Sinusal canino é muito semelhante à do Nó Sinusal humano. No entanto, o NS canino não está disposto em redor da artéria nodal; esta não ocupa a posição central típica do Nó humano, mas sim uma localização mais periférica (James *et al.*,1966; Boyett *et al.*, 2000).

b. Humano

O Nó Sinusal humano, em forma de crescente, está situado na junção entre a veia cava superior e o átrio direito (Monfredi *et al.*, 2010).

Recorrendo a técnicas de imuno-histoquímica, Oosthoek *et al.* realizaram uma reconstrução tridimensional do Nó Sinusal humano, em que foi possível observar que abas do NS se estendem subepicardicamente em direcção à veia cava cranial e subendocardicamente em direcção ao miocárdio atrial. Nestas abas há um aumento gradual

no tamanho das células nodais e uma diminuição gradual do tecido conjuntivo, em direcção à periferia do Nó. Em direcção ao epicárdio e ao endocárdio, as células do Nó Sinusal estão separadas do átrio por tecido conjuntivo denso, e existe uma alteração abrupta no tamanho dos miócitos (Oosthoek *et al.*, 1993a).

O centro do NS humano é facilmente reconhecível e é composto por miócitos pequenos (4-6 μm de diâmetro) organizados em filas de células que frequentemente se anastomosam e inclui tecido conjuntivo denso, capilares e fibras nervosas (Oosthoek *et al.*, 1993a). Os miócitos que constituem o NS humano são pequenos, pálidos, e com sarcómeros e retículos sarcoplasmáticos pouco desenvolvidos. Estão dispostos numa matriz de tecido conjuntivo altamente fibroso, com bordos irregulares, o que permite fazer a distinção com o tecido não-nodal, que contém muito menos tecido conjuntivo (Monfredi *et al.*, 2010). O NS humano está disposto em redor de uma artéria nodal característica (Oosthoek *et al.*, 1993a; Boyett *et al.*, 2000; Chandler *et al.*, 2011). Esta artéria, que é relativamente grande, ocupa uma posição subepicárdica ao lado da crista terminal e torna o Nó Sinusal facilmente reconhecível (Monfredi *et al.*, 2010).

Os miócitos nodais contêm poucas miofibrilhas e, assim, não apresentam estriações cruzadas. Os miócitos atriais são maiores, tendo um diâmetro de 15-20 μm , e o seu citoplasma é ocupado por miofibrilhas bem organizadas (Oosthoek *et al.*, 1993a).

Para além das células nodais típicas e das células atriais de trabalho, existem ainda as células de transição. As células de transição têm um número de mitocôndrias e miofibrilhas crescente, do centro do Nó para a periferia. Todos os estados de transição podem ser observados, com algumas células a serem semelhantes às células nodais típicas e outras a serem similares às células atriais; algumas células de transição são híbridas entre estes dois tipos celulares (Boyett *et al.*, 2000).

Desde o centro do Nó Sinusal em direcção ao miocárdio atrial, os miócitos nodais de transição têm propriedades morfológicas e electrofisiológicas intermédias entre as células nodais típicas e as miocárdicas normais, o que faz com que a exacta fronteira do NS seja ainda alvo de discussão (Oosthoek *et al.*, 1993a).

Recentemente, alguns autores propuseram que o Nó Sinusal humano é na realidade bem maior do que aquilo que é tipicamente representado na bibliografia existente. Estudos electrofisiológicos anteriores reportaram que o local de “marca-passo” pode, por vezes, mover-se ao longo de toda a crista terminal (um fenómeno denominado por “*wandering pacemaker*”), tendo sido observado a mudar de posição para qualquer local ao longo da crista terminal, entre os óstios das veias cava cranial e caudal (Chandler *et al.*, 2011). Monfredi *et al.* referem ainda mais indicadores desta grande extensão do NS humano. No coelho, o NS descende pela crista terminal, em direcção à veia cava caudal; há bastante variação entre indivíduos e os arranjos alternativos incluem uma extensão do Nó Sinusal através da crista

do apêndice atrial direito para ficar situado no sulco interatrial. O desenvolvimento embrionário do Nó Sinusal é controlado por um factor de transcrição, o Tbx3. O Tbx3 é apenas expresso no sistema de condução cardíaco (mais especificamente, no Nó Sinusal, no Nó Atrioventricular e nas primeiras porções do Feixe Atrioventricular); este factor actua como um regulador da transcrição que induz e mantém a formação do Nó Sinusal enquanto inibe a expressão dos genes atriais. No coração embrionário de rato, os tecidos com presença de Tbx3 continuam desde a veia cava cranial, pela crista terminal, até à veia cava caudal e depois em direcção ao Nó Atrioventricular. Para além de tudo isto, o NS humano tem muitas características que dificultam a sua ablação ou modificação por técnicas de cateterismo endocárdico (como é necessário nos pacientes com taquicardia sinusal): proximidade caudal da espessa crista terminal; efeito de arrefecimento pela artéria nodal (a ablação do Nó dá-se por dano térmico); necessidade de se realizar a ablação de toda a crista terminal, desde a veia cava cranial à veia cava caudal, para parar o ritmo sinusal (Monfredi *et al.*, 2010). Todos estes factores apontam assim para a grande extensão do NS humano.

Estudos histológicos realizados por Chandler *et al.* referem que, nas secções coradas com Tricrómio de Masson, o NS pode ser facilmente identificado, pois aparece centrado na artéria nodal e cora de azul devido ao alto conteúdo em tecido conjuntivo fibroso; o músculo atrial também pode ser facilmente identificado, porque é densamente organizado e cora de um vermelho muito forte. Para além disto, estes autores encontraram ainda um terceiro tecido: a área paranodal. Nas secções marcadas com Tricrómio de Masson, é possível visualizar esta área porque os miócitos aparecem dispostos mais dispersamente que no músculo normal, mas menos que no centro do NS. O arranjo celular disperso é o que distingue os miócitos paranodais; para além disto, a matriz extracelular na qual os miócitos paranodais estão incluídos é diferente da matriz extracelular do Nó Sinusal, porque aparece branca e não azul (ou seja, é composta por adipócitos em vez de tecido fibroso). Apesar de a histologia ser suficiente para identificar a área paranodal, Chandler e os seus colegas consideram que é necessário recorrer à imuno-histoquímica para delimitar com exactidão todo o Nó Sinusal. Por este método, estes autores referem que as dimensões do NS humano são: 29.5 mm de comprimento, 1.8 mm de espessura e 6.4 mm de largura, o que é maior do que o que tinha sido previamente descrito por Sánchez-Quintana, cujo trabalho revelou que o NS teria 13 mm de comprimento (Chandler *et al.*, 2011). As figuras 4 e 5 mostram as imagens histológicas do NS humano obtidas por Chandler *et al.*

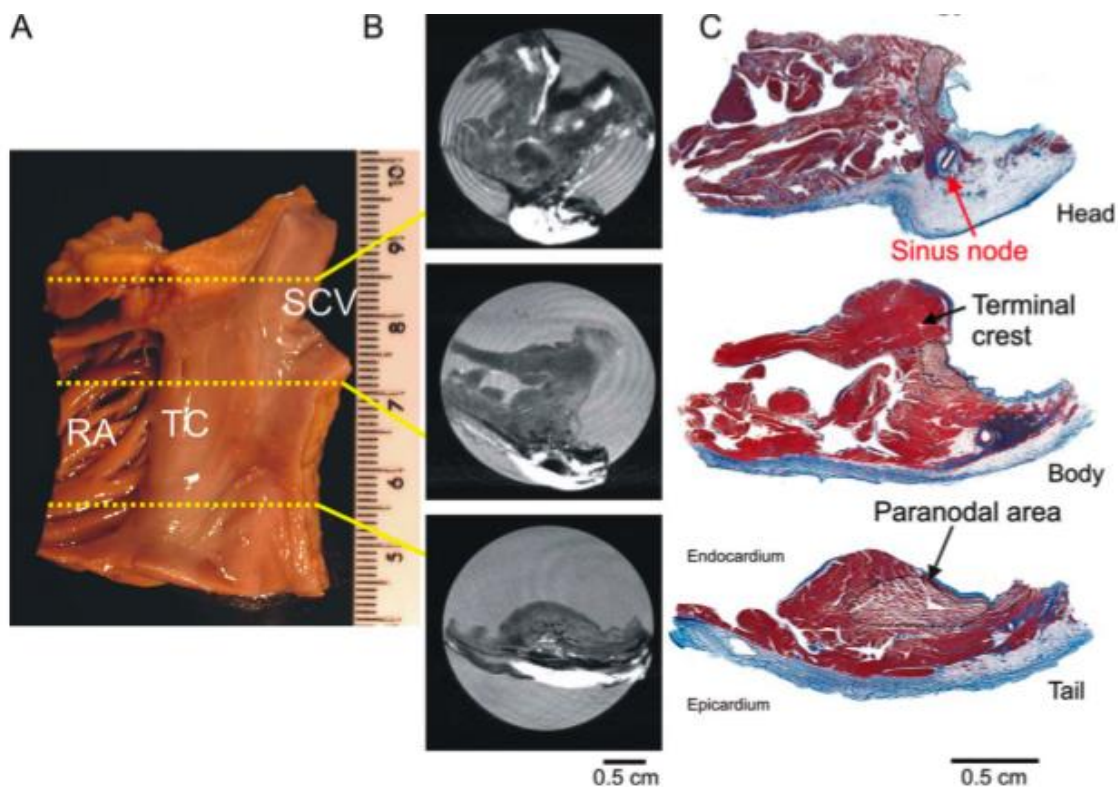


Fig. 4 – (A) – Preparação para estudo do Nó Sinusal humano, incluindo uma porção do átrio direito (RA), da crista terminal (TC) e da veia cava superior (SVC). As linhas amarelas delimitam os locais onde se encontram as três porções do NS humano: cabeça, corpo e cauda. (B) – Imagens do NS humano obtidas por ressonância magnética. (C) – Secções histológicas da cabeça, corpo e cauda do NS humano, coradas com Tricrômio de Masson. O NS está delimitado por uma linha tracejada vermelha e a área paranodal está delimitada por uma linha tracejada preta. Os miócitos aparecem corados de vermelho-arroxeadado e o tecido conjuntivo aparece corado de azul (Chandler *et al.*, 2011).

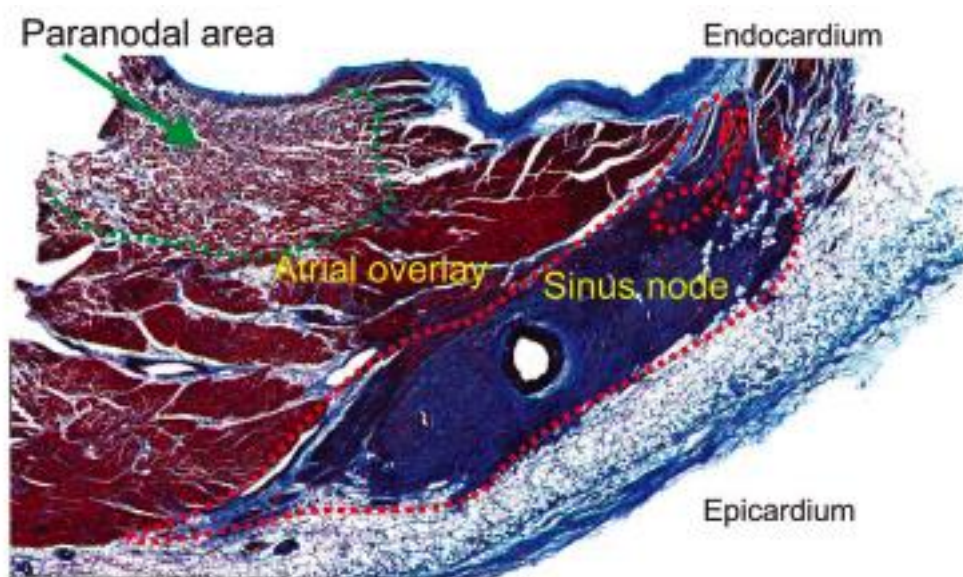


Fig. 5 – Secção histológica do corpo do Nó Sinusal humano, corada com Tricrômio de Masson. A área paranodal está indicada com uma seta verde, e o NS está delimitado por uma linha tracejada vermelha. No centro do NS, é bem visível a artéria nodal (Chandler *et al.*, 2011).

A função da área nodal não foi ainda exactamente determinada (Chandler *et al.*, 2011). Monfredi *et al.* sugerem que esta área, que inclui uma mistura de miócitos nodais e miócitos atriais de trabalho, pode facilitar a saída do potencial de acção do NS para o músculo atrial; alternativamente, esta área também pode estar envolvida no “marca-passo” normal, dado que o local de “marca-passo” cardíaco pode variar. A área paranodal pode também ser responsável por discrepâncias na condução que favorecem o aparecimento de taquicardias originadas na crista terminal (Monfredi *et al.*, 2010).

c. Vaca

O Nó Sinusal bovino está localizado na porção ventral da junção veia cava cranial – átrio direito (Oosthoek *et al.*, 1993a).

A porção central do NS bovino está colocada entre o endocárdio e o epicárdio. É composta por miócitos pequenos, dispostos de forma dispersa em tecido conjuntivo; este tecido conjuntivo é contíguo com o epicárdio, e está abundantemente presente neste lado do Nó. Para além de tecido conjuntivo, podem ser encontrados nervos e artérias na porção central do NS. A artéria nodal central não é característica do NS bovino; em vez dela, são encontrados vários ramos de vasos, especialmente na parte subepicárdica do Nó (Oosthoek *et al.*, 1993a).

Na periferia superior do Nó (em direcção à veia cava) e mais notoriamente na periferia inferior (em direcção ao átrio), filas de células nodais interdigitam-se com filas de células miocárdicas normais. Esta zona de co-existência de dois tipos celulares estende-se em direcção à veia cava cranial como uma camada subepicárdica e em direcção ao átrio como uma camada sub-endocárdica, e é mais extensa na parte inferior/atricial do Nó (Oosthoek *et al.*, 1993a).

Aparentemente, e ao contrário do que acontece em muitas outras espécies (ex.: coelho, ratazana, porco-da-índia, porco), o NS bovino não se estende até à veia cava caudal (Boyett *et al.*, 2000).

d. Porco

Tal como nas outras espécies, o Nó Sinusal do porco está situado na crista terminal, na junção entre a veia cava cranial e o átrio direito (Crick *et al.*, 1999).

O NS suíno tem a aparência de um charuto achatado e não tem uma região central, como existe no cão e no humano. Em média, menos de metade da espessura atrial é composta por tecido nodal (Crick *et al.*, 1999).

A artéria nodal é menos proeminente no porco do que no humano; esta artéria entra no Nó no seu bordo antero-superior, onde se divide em pelo menos dois ramos que por sua

vez se ramificam por todo o comprimento do Nó, até ao seu bordo postero-inferior (Crick *et al.*, 1999).

O Nó Sinusal suíno é composto por miócitos nodais pequenos (4-7 μm de diâmetro) e redondos, envolvidos numa matriz fibrosa extremamente densa; este tecido fibroso representa aproximadamente 60% do total da área do Nó, e contém vários vasos sanguíneos (Crick *et al.*, 1999).

As células nodais típicas do NS suíno são menos vazias e pálidas que no coelho e no cão, e contêm mais miofilamentos, que estão melhor organizados (Boyett *et al.*, 2000).

As regiões periféricas são histologicamente semelhantes ao centro do Nó; a fronteira entre a região nodal e a musculatura do átrio (onde os miócitos já são muito maiores, com 16-20 μm de diâmetro) é bem definida (Crick *et al.*, 1999).

e. Coelho

O Nó Sinusal do coelho é provavelmente o mais estudado, e é a partir de estudos realizados nesta animal que têm sido retiradas muitas conclusões válidas para as outras espécies.

Estudos realizados muito recentemente por Stephenson *et al.*, com recurso à Tomografia Computorizada após marcação dos tecidos de condução com um contraste à base de iodo, dão um óptimo contributo para o conhecimento destas estruturas (Stephenson *et al.*, 2012).

O Nó Sinusal do coelho não é exactamente um Nó compacto, como ocorre nas outras espécies, mas sim uma camada fina e extensa de células condutoras. Esta estrutura está localizada na região intercava (entre a veia cava cranial e a veia cava caudal) na parede caudal do átrio direito. O NS estende-se ao longo do aspecto lateral da crista terminal, que demarca o limite entre a região intercava e os músculos pectinados do apêndice atrial direito. No limite entre a região intercava e a crista terminal, Stephenson e os seus colegas referem haver evidências de interdigitações do NS com o músculo atrial, ou seja, o NS divide-se em redor da superfície endocárdica e epicárdica da crista terminal (Stephenson *et al.*, 2012).

Em trabalhos realizados anteriormente, Dobrzynski *et al.* observaram que as secções de músculo atrial normal aparentam ser extremamente diferentes umas das outras quando cortadas perpendicularmente ou paralelamente à crista terminal, estando todas as células em corte transversal ou em corte longitudinal, respectivamente. Pelo contrário, o centro do NS do coelho aparece sempre semelhante, tanto em corte transversal como em longitudinal; é possível identificar células em corte transversal e longitudinal quer se façam secções paralelas ou perpendiculares à crista terminal. A partir destas observações, é possível concluir que, enquanto que as células da parede atrial estão dispostas longitudinalmente ao longo da crista

terminal, as células no centro do NS não estão uniformemente organizadas, e estão dispostas em diferentes direcções para formar uma malha. Para além disto, enquanto que as células atriais na crista terminal estão densamente dispostas, as células no centro do NS do coelho estão dispostas de forma dispersa em redor de “ilhas” de tecido conjuntivo (Dobrzynski *et al.*, 2005).

Ainda segundo Dobrzynski *et al.*, as células atriais de trabalho têm 98 ± 4 μm de comprimento e 7 ± 1 μm de diâmetro, enquanto que as células nodais têm apenas 37 ± 3 μm de comprimento e 5 ± 0.2 μm de diâmetro. A porção central do Nó Sinusal do coelho ocupa um volume de 1.42 mm^3 , e a periferia do Nó ocupa 1.56 mm^3 . Tal como nos humanos, o NS do coelho estende-se até à veia cava caudal, tendo uma longa cauda que se projecta no interior da crista terminal até à veia cava caudal (Dobrzynski *et al.*, 2005).

f. Ratazana

O Nó Sinusal da ratazana é em forma de ferradura e ocupa a porção lateral e anterior da junção entre a veia cava cranial e o átrio direito, e continua ao longo da crista terminal na parte lisa da parede atrial direita (Oosthoek *et al.*, 1993a).

A parte superior do NS (a parte que rodeia a junção átrio-cava) ocupa toda a espessura da parede entre o endocárdio e o epicárdio. A parte inferior do Nó vai adelgaçando progressivamente, e é rodeada tanto endocárdica como epicardicamente por células miocárdicas normais (Oosthoek *et al.*, 1993a).

IV. O Nó Atrioventricular

O Nó Atrioventricular, ou Nó de Aschoff-Tawara, encontra-se contido na área denominada por Triângulo de Koch que, tal como já foi referido anteriormente, é formado pelo Tendão de Todaro, pelo ponto de ancoragem do folheto septal da válvula tricúspide ao septo interventricular e pelo óstio do seio coronário (Anderson *et al.*, 1983).

Em muitas espécies (mas com algumas excepções, como por exemplo o cão), o Nó Atrioventricular (NAV) é constituído por uma porção compacta e por uma zona de células de transição. A porção compacta tem uma forma semioval, está adjacente ao Corpo Fibroso Central (CFC) e divide-se em dois prolongamentos, que estão separados por uma artéria que vasculariza o NAV. A zona de células de transição, na periferia do Nó, é composta por células que têm um tamanho intermédio entre as células do NAV e as células do miocárdio normal de trabalho; estas células estão rodeadas por uma grande quantidade de tecido conjuntivo, mas não estão completamente isoladas do miocárdio de trabalho adjacente (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

O local exacto onde termina o NAV e começa o Feixe Atrioventricular é ainda alvo de controvérsia, uma vez que não existe uma distinção histológica clara entre as duas estruturas. O critério que melhor define esta divisão é o proposto por Tawara, que definiu que, após penetrar o CFC, o Nó Atrioventricular passa a denominar-se Feixe Atrioventricular; de acordo com esta definição, o NAV é, na sua totalidade, parte integrante da musculatura atrial (Mazgalev *et al.*, 2001).

O Nó Atrioventricular cumpre apenas dois dos critérios de Aschoff-Monckeberg. As suas células são morfológicamente distintas, formando malhas interligadas dispostas numa matriz fibrosa proeminente. Para além disto, o percurso desta estrutura pode ser seguido em secções histológicas seriadas, permitindo a identificação do Nó compacto e de duas extensões inferiores, cujo comprimento varia com a idade dos indivíduos. No entanto, o NAV não está isolado do miocárdio adjacente, não cumprindo assim o terceiro critério de Aschoff-Monckeberg (Mazgalev *et al.*, 2001).

a. Cão

O Nó Atrioventricular do cão localiza-se na região inferoanterior do septo interatrial, junto à porção inicial do septo membranoso; estende-se cerca de 3 mm desde a base do folheto septal da tricúspide, em direcção anterior, e está na porção posterior do Corpo Fibroso Central. De acordo com Racker, o NAV do cão contém pouco tecido adiposo e não inclui grandes vasos sanguíneos nem gânglios nervosos (Racker, 2003).

Em secções paralelas e perpendiculares ao eixo longo da junção atrioventricular, observam-se fascículos de células dispostos numa malha; os fascículos são de pequeno diâmetro e estão revestidos por uma bainha de colagénio (Racker, 2003).

Em secções transversas ao eixo longo da junção atrioventricular, o NAV aparece como um nó denso de fibras musculares especializadas que, quando é observado em pequena ampliação, não parece ter nenhum tecido conjuntivo entre as fibras; no entanto, quando o NAV é observado em grande ampliação, apresenta fibras de colagénio que se estendem em direcção ao Feixe Atrioventricular (Racker, 2003).

Na porção do NAV que está envolvida pelo CFC, os fascículos de miócitos especializados estão entrelaçados de modo a formar um remoinho, que é melhor observado em secções perpendiculares ao óstio atrioventricular direito. Quando se observam as secções em grande ampliação, é possível verificar que os miócitos especializados apresentam prolongamentos finos, que estão unidos entre si por pilhas de discos intercalares (Racker & Kadish, 2000).

Os miócitos do NAV têm uma zona citoplasmática perinuclear transparente e estriações uniformes e delicadas ao longo de todo o seu comprimento, incluindo nos prolongamentos finos em forma de dedos; existem fascículos nervosos que passam sobre estes prolongamentos finos e terminam nos miócitos do NAV (Racker & Kadish, 2000).

O miocárdio especializado do Nó Atrioventricular do cão é bem discernível do miocárdio normal de trabalho da junção atrioventricular porque este último está organizado em camadas bem definidas de miócitos, com pouco ou nenhum colagénio a separar as miofibras; os miócitos de trabalho têm poucas ou nenhuma ramificações, e estão unidos lado a lado ou extremidade a extremidade por discos intercalares proeminentes. Racker e Kadish referem que não existem ligações por discos intercalares entre os miócitos normais atriais e ventriculares e os miócitos do NAV; também não existe aposição directa dos dois tipos de miócitos, dado que os miócitos especializados estão segregados por tecido conjuntivo e colagénio (Racker & Kadish, 2000).

Num trabalho realizado em 1994, em corações de cão e de porco, McGuire *et al.* concluíram que secções de locais em redor do ânulo da válvula tricúspide mostravam que as células da superfície endocárdica teriam características morfológicas semelhantes às células nodais, mas não estariam organizadas em forma de feixes entrelaçados como estão no Nó Atrioventricular. Estas células eram mais pequenas que as células do miocárdio atrial de trabalho, tinham estriações menos marcadas e estavam frequentemente separadas umas das outras por tecido conjuntivo. Estes autores referem que estas células são provavelmente um remanescente do canal de tecido de condução atrioventricular que existe na fase embrionária, e que pode desempenhar um papel secundário na condução atrioventricular do impulso cardíaco (McGuire *et al.*, 1994).

Para além do Nó Atrioventricular, alguns autores propõe a existência de uma outra estrutura de condução atrioventricular, o Feixe Atrioventricular Proximal (FAP) (Racker, 1999; Racker & Kadish, 2000). O FAP é um feixe atrial de fibras de fino calibre, dispostas de forma paralela, que se estende desde o soalho do seio coronário e termina no Nó Atrioventricular. O FAP está associado ao epicárdio da porção mediosuperior do septo interatrial, à porção medial do tendão de Todaro e à metade posterior do folheto septal da válvula tricúspide (Racker, 1999). Histologicamente, o FAP é composto por pequenos fascículos de miocárdio especializado, paralelos em toda a sua extensão; estes fascículos estão envolvidos por uma bainha de colagénio, que impede o contacto entre fascículos dentro do FAP e isola os fascículos deste feixe do miocárdio de trabalho dos septos interatrial e interventricular. Existem numerosos gânglios nervosos contidos entre os fascículos, e vasos sanguíneos de grande calibre no interior do FAP e a flanquear os seus limites. Também existem numerosos vacúolos adiposos, mais proeminentes na transição entre o FAP e o septo interventricular (Racker & Kadish, 2000). Racker sugere que, devido à posição do FAP ao longo da crista do septo interventricular e à sua falta de envolvimento por parte do Corpo Fibroso Central, o Feixe Atrioventricular Proximal seja o principal alvo de lesões iatrogénicas durante valvuloplastias, estando esta lesão na origem de arritmias pós-cirúrgicas (Racker, 1999).

b. Humano

O Nó Atrioventricular humano localiza-se no lado direito do septo interventricular, na junção atrioventricular. Tal como nas outras espécies, o NAV humano é composto por células pequenas, que formam fascículos dispostos de forma entrelaçada (Inoue & Becker, 1998).

Ao contrário do que acontece por exemplo no cão, o Nó Atrioventricular humano é composto por duas zonas: uma zona de células nodais especializadas (o Nó compacto) e uma zona de células de transição (Inoue & Becker, 1998; Mazgalev *et al.*, 2001). As células de transição têm uma morfologia intermédia entre as células do Nó compacto e os miócitos normais de trabalho. Uma camada destas células de transição interpõe-se entre a porção compacta do Nó e o átrio direito, e depois existe outra camada destas células que se estende para o ânulo da válvula tricúspide (Mazgalev *et al.*, 2001).

No Nó compacto existe um estrato profundo, directamente sobreposto e parcialmente incluído no tecido conjuntivo do CFC; este estrato é composto por pequenas células entrelaçadas. Para além deste, existe um estrato mais superficial, que é composto por feixes celulares dispostos em forma de grelha (Inoue & Becker, 1998).

Inoue e Becker referem que o NAV humano possui uma a duas extensões, as Extensões Nodais Posteriores. As Extensões Nodais Posteriores (ENPs) são continuações directas no Nó compacto. São compostas por células pequenas, dispostas de forma

compacta, e ocasionalmente com uma organização semelhante ao NAV. O número e posição destas ENPs é variável: existem indivíduos que apenas possuem uma ENP, para a esquerda no NAV, outros que possuem uma ENP para a direita e ainda outros que possuem duas ENPs, tanto para a esquerda como para a direita do Nó Atrioventricular. Estes autores referem que a ENP pode estar envolvida na origem das taquicardias por reentrada atrioventricular (Inoue & Becker, 1998).

c. Porco

O Nó Atrioventricular suíno está localizado no centro do Triângulo de Koch, adjacente à inserção do folheto septal da válvula tricúspide. Quando observado em corte sagital, o NAV tem uma forma triangular; tal como acontece no humano, nesta espécie o NAV também possui uma zona de transição, que neste caso ocupa a maior parte do Nó (Crick *et al.*, 1999).

O NAV suíno mede cerca de 15 mm de comprimento, desde os miócitos da zona de transição até à penetração do tecido de condução no Corpo Fibroso Central. A zona compacta do Nó está directamente adjacente ao CFC, e a zona de transição começa no miocárdio atrial, contorna a região compacta pelo seu lado direito e insere-se no início do folheto septal da válvula tricúspide; não existe nenhuma barreira anatómica observável entre a zona compacta e a zona de transição. A região compacta do NAV suíno é composta por células pequenas e arredondadas, com cerca de 5-10 μm de diâmetro, e está adjacente (mas não incluída) ao CFC. A zona de transição é composta por células fusiformes, que muitas vezes se fundem entre si para formar uma rede semelhante à das fibras de Purkinje, e que estão incluídas numa densa matriz fibrosa. Estas células fusiformes são mais pequenas que os miócitos atriais (que medem 15-20 μm de diâmetro), mas significativamente maiores que as células arredondadas da região compacta (Crick *et al.*, 1999).

Crick *et al.* observaram ainda filas de células de transição nas extremidades mais posteriores do NAV, estendendo-se em direcção ao seio coronário e entrelaçando-se em feixes de miócitos atriais (Crick *et al.*, 1999). Estas estruturas podem corresponder ao Feixe Atrioventricular Proximal, sugerido por Racker e Kadish (Racker & Kadish, 2000).

d. Coelho

Quando observado em corte transversal, o tecido de condução atrioventricular do coelho tem origem entre o seio coronário e o septo membranoso, no ápice do Triângulo de Koch, e pode ser encontrado em redor da circunferência do ânulo da válvula tricúspide (Stephenson *et al.*, 2012).

Anderson *et al.* dividem o Nó Atrioventricular do coelho em duas zonas: uma porção mais pequena, compacta (o “Nó fechado”), e uma porção maior, com uma organização mais dispersa (o “Nó aberto”); estas duas zonas estão divididas por um colar fibroso, derivado do Corpo Fibroso Central. Segundo estes autores, o Nó fechado é aquele que está em continuidade directa com o Feixe Atrioventricular, ocupando uma posição anterior, e está rodeado nas suas superfícies anterior, profunda, superior e inferior pelo colar fibroso derivado do CFC, sendo que apenas pode contactar com a musculatura atrial pela junção com o Nó aberto. O Nó aberto (ou posterior) tem uma área muito maior, e os seus limites mais profundos são formados pelo ânulo fibroso, que o separa do septo interventricular; superiormente, o Nó aberto é contínuo com o miocárdio do septo interatrial (Anderson *et al.*, 1974).

Com base nas suas características histológicas, Anderson *et al.* dividiram as células do NAV do coelho em três tipos: as células de transição, as células nodais médias e as células nodais inferiores. As células de transição são encontradas na maior parte do Nó aberto, e têm uma morfologia intermédia entre as células do miocárdio atrial e as células nodais especializadas. São discerníveis dos miócitos atriais de trabalho por terem uma coloração mais pálida, menor tamanho e estarem separadas das outras células por septos de tecido conjuntivo. As células de transição terminam na base da tricúspide, e, ao longo da sua extensão, estão maioritariamente orientadas em direcção ao Nó fechado. As células nodais médias são células de transição que se fundem à entrada do Nó fechado e formam um nó de células esféricas densamente dispostas; estas células são pequenas, não estão separadas umas das outras por uma grande quantidade de tecido conjuntivo e estendem-se até metade do Nó fechado. As células nodais inferiores formam um feixe bem definido orientado paralelamente ao ânulo fibroso; ocupam a metade inferior do Nó fechado, e são maiores e coram mais intensamente do que as células de transição e as células nodais médias. As células nodais inferiores estão separadas por septos de tecido conjuntivo, no interior dos quais existem grandes feixes nervosos. Quando seguido anteriormente, o feixe de células nodais inferiores expande-se rapidamente e torna-se contínuo com o Feixe Atrioventricular; não é possível determinar este ponto de demarcação apenas com base em critérios morfológicos, por isso esta distinção é feita com base em critérios anatómicos: a partir do ponto em que o feixe de células nodais inferiores penetra o CFC, passa a denominar-se por Feixe Atrioventricular (Anderson *et al.*, 1974).

Alguns anos depois, Medkour e os seus colegas propuseram uma nova divisão do Nó Atrioventricular do coelho, desta vez em quatro zonas: a zona de transição, o Nó compacto, o feixe celular nodal inferior (que Anderson incluiu no Nó compacto) e a extensão nodal posterior. O feixe celular nodal inferior é a porção do NAV que conecta o Nó compacto com o Feixe Atrioventricular. A extensão nodal posterior (ENP) é contínua com o Nó compacto e com o feixe celular nodal inferior; é um feixe de tecido especializado pequeno e alongado, e

está localizado ao longo do lado inferior do Triângulo de Koch. A ENP estende-se ao longo do anel atrioventricular, passando sob o óstio do seio coronário; em direcção posterior, o comprimento da ENP é de cerca de $2488 \pm 331 \mu\text{m}$, o que corresponde a quase metade do comprimento total do NAV do coelho. A ENP tem uma forma ovóide (quando vista em corte transversal), com o diâmetro maior localizado ao longo do eixo atrioventricular; as suas dimensões vão reduzindo em localizações mais posteriores: o diâmetro máximo é de $617 \mu\text{m}$ e o mínimo de $117 \mu\text{m}$. Apesar de não ser encapsulada, a ENP forma um feixe contínuo bem definido, que estabelece contacto com os tecidos de transição adjacentes; esta característica é compatível com a comunicação funcional existente entre estas estruturas (Medkour *et al.*, 1998). Esta Extensão Nodal Posterior é análoga àquela referida por Inoue e Becker no coração humano (Inoue & Becker, 1998), e supõe-se que estará implicada na génese de taquicardias por reentrada atrioventricular também no coelho (Medkour *et al.*, 1998).

Recentemente, Jue Li *et al.* realizaram um modelo tridimensional computadorizado do NAV do coelho. Neste modelo, o tecido nodal aparece dividido em dois segmentos: a extensão nodal inferior e o feixe penetrante. A extensão nodal inferior (que corresponde à ENP referida por Medkour) está localizada entre o seio coronário e a válvula tricúspide. No centro da extensão nodal inferior, existe uma veia que divide os seus miócitos; o tecido nodal que está localizado acima da veia parece ser contínuo com o tecido atrial, mas o tecido nodal que fica sob este vaso está isolado por ele do tecido atrial e por tecido fibroso do músculo ventricular. No final da extensão nodal inferior, ao lado do feixe penetrante, há continuidade entre o tecido nodal e o tecido de transição adjacente; os miócitos nodais neste local são pequenos e dispersos. O feixe penetrante perfura o tecido fibroso que separa os átrios dos ventrículos, e emerge nos ventrículos como Feixe Atrioventricular. Na porção superior do feixe penetrante, os miócitos nodais são pequenos e organizados de forma densa: corresponde à porção compacta do Nó. Na porção inferior do feixe penetrante, os miócitos nodais são pequenos e estão organizados de forma dispersa em tecido conjuntivo; estas células são contínuas com os miócitos nodais inferiores da extensão nodal inferior. Tal como o Feixe Atrioventricular, o feixe penetrante está coberto por uma bainha de tecido conjuntivo (Li *et al.*, 2008).

Jue Li *et al.* referem ainda a existência de troncos nervosos proeminentes no interior do Nó Atrioventricular, com um tronco nervoso localizado ao lado da extensão nodal inferior e outro passando ao longo do tendão de Todaro, ao lado do feixe penetrante e em direcção ao Feixe Atrioventricular (Li *et al.*, 2008).

V. As Vias Internodais

Embora seja um assunto ainda controverso, alguns autores propõem a existência de tecidos de condução denominados por Vias Internodais; estas vias têm, teoricamente, a função de realizarem a ligação entre o Nó Sinusal e o Nó Atrioventricular.

Segundo Racker, existem no coração do cão três feixes atrionodais: o Feixe Atrionodal Superior (FAS), o Feixe Atrionodal Medial (FAM) e o Feixe Atrionodal Lateral (FAL) (Racker, 1999).

Os feixes atrionodais estão associados com o epicárdio do septo interatrial e com a crista do septo interventricular, e estão afastados cerca de um centímetro do ânulo fibroso. As miofibras destes feixes estão organizados em pequenos fascículos envolvidos por uma bainha de colagénio, e os vários fascículos formam um feixe também ele envolvido por colagénio. Os miócitos especializados dos feixes atrionodais medem cerca de 6 μm de diâmetro, têm estriações transversais uniformes, são unidos por discos intercalares que parecem ser mais proeminentes e numerosos do que os do Nó Atrioventricular e Feixe Atrioventricular, e não têm ligação com os miócitos normais de trabalho (Racker, 2003).

O Feixe Atrionodal Medial (FAM) está associado com o aspecto medial e bordo superior do óstio do seio coronário, e está subjacente ao epicárdio do septo interatrial supero-posterior; está também aposto ao aspecto medial do tendão de Todaro. Existe colagénio a separar os diferentes fascículos (mais evidente quando a secção histológica é realizada num plano transversal ou paralelo ao eixo longo da junção atrioventricular), e uma bainha de colagénio a envolver o feixe, mais visível no plano paralelo. O trajecto do FAM ao longo do epicárdio do septo interatrial é em direcção à extremidade direita da crista terminal, ao nível do bordo superior do óstio do seio coronário e da parede atrial posterior (Racker, 2003).

O Feixe Atrionodal Lateral (FAL) está associado à face lateral do óstio do seio coronário, e está subjacente e restrito ao bordo inferior e soalho do óstio do seio coronário. Este feixe internodal está subjacente ao epicárdio da porção inferoposterior do septo interatrial, está aposto à crista do septo interventricular e está vários milímetros afastado do ânulo fibroso da válvula tricúspide. A trajectória do FAL ao longo do epicárdio é em direcção à extremidade inferior direita da crista terminal, ao nível do bordo inferior do óstio do seio coronário e da parede atrial posterior (Racker, 2003).

O Feixe Atrionodal Superior (FAS) está subjacente à porção supero-anterior do septo interatrial, e está muito próximo da crista do septo interventricular. Em cortes paralelos à junção atrioventricular, este feixe parece unir-se ao Nó Atrioventricular, mas em cortes perpendiculares é possível verificar que está separado do NAV por tecido conjuntivo. A porção anterior do FAS percorre a porção supero-anterior da região da junção atrioventricular,

estando associada com a crista do Corpo Fibroso Central, que a separa do NAV; a bainha de colagénio do FAS é visível em cortes paralelos à junção atrioventricular, mas é melhor observada nos cortes perpendiculares e transversos (Racker, 2003).

James também defende a existência das Vias Internodais em corações humanos e de outras espécies, tendo debatido este assunto com Janse e Anderson desde 1974. James afirma que, ao longo da sua carreira, examinou mais de 1100 corações humanos, bem como corações de baleia, cão, vaca, cavalo, coelho e gato, e que encontrou evidências da existência das Vias Internodais em todos eles. Para examinar estes corações, James recolheu de cada um dois blocos de tecido, um contendo o Nó Sinusal e o outro contendo o Nó Atrioventricular, Feixe Atrioventricular e seus Ramos proximais. O bloco contendo o NS iniciava-se perto da junção da crista do apêndice atrial direito com a veia cava superior, e continuava-se posteriormente para incluir a válvula de Eustáquio e o seio coronário; este bloco continha também a crista terminal, 3 cm da parede livre do átrio direito e 2-3 cm da veia cava superior ou da região intercava. O bloco contendo os tecidos de condução da região da junção atrioventricular iniciava-se logo acima do septo membranoso e terminava na válvula de Eustáquio, contendo pelo menos 2 cm de septo interatrial e de septo interventricular. Cada bloco foi posteriormente dividido em secções com 2-3mm de espessura, que foram processadas, incluídas em parafina e micro-seccionadas (James, 2001).

James sugere três pontos de referência para localizar as Vias Internodais: a crista terminal, o feixe de Bachmann e a válvula (ou crista) de Eustáquio. A fig. 6 ilustra a histologia das Vias Internodais Posterior, Anterior e Medial, e a fig. 7 ilustra a localização macroscópica do seu trajecto (James, 2001).

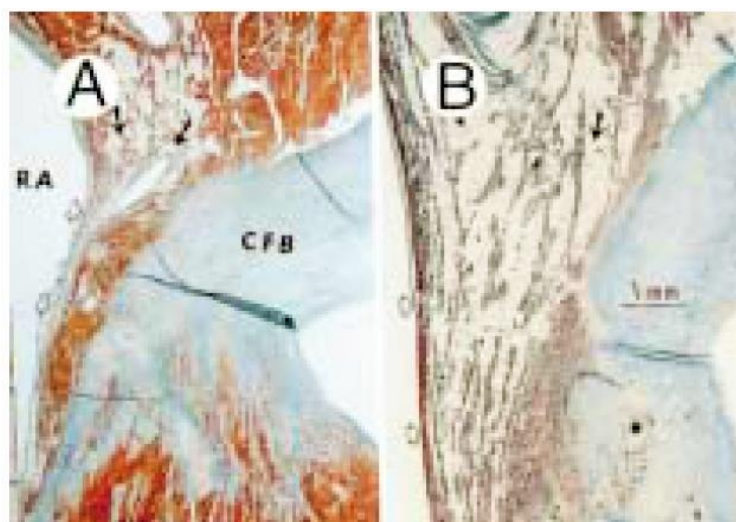


Fig. 6 – NAV, CFC e Vias Internodais. As setas pretas marcam a direcção da condução do impulso eléctrico nas Vias Internodais. (A) – seta à esquerda – Via Internodal Posterior; seta à direita – Vias Internodais Anterior e Medial; RA – átrio direito; CFB – Corpo Fibroso Central. (B) – conexões entre as Vias Internodais, logo acima do NAV. (James, 2001)

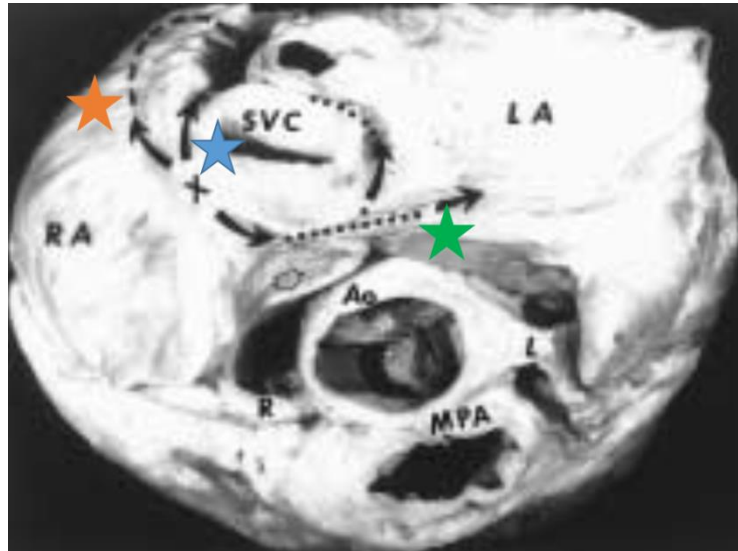


Fig. 7 – Localização macroscópica das Vias Internodais. Estrela laranja – percurso da Via Internodal Posterior; Estrela azul – percurso da Via Internodal Medial; Estrela verde – percurso da Via Internodal Anterior; X – localização do NS; SVC – veia cava superior; Ao – aorta; LA – átrio esquerdo; MPA – artéria pulmonar principal; R – origem da artéria coronária direita; L – origem da artéria coronária esquerda; RA – átrio direito. Adaptado de James, 2001.

Cada uma das três vias contém uma variedade de miócitos (incluindo agregados de células tipo-Purkinje), mas o tipo celular mais frequentemente encontrado é a célula de transição. Das 3 vias, a Via Internodal Medial é a menos consistente e a menos desenvolvida, sendo que a Via Internodal Posterior é a mais longa. As Vias Internodais atravessam os feixes musculares mais desenvolvidos e notáveis nos átrios humanos: a válvula de Eustáquio, o feixe de Bachmann e a crista terminal. Destas 3 estruturas, a crista terminal é a mais importante, tanto anatómica como funcionalmente; o impulso sinusal entra directamente na crista terminal, de onde é distribuído em 3 direcções diferentes: para cada trabécula do átrio direito, para a válvula de Eustáquio (Via Internodal Posterior) e para o Feixe de Bachmann, em direcção ao átrio esquerdo (Via Internodal Anterior) (James, 2001).

James e os seus colegas reforçam a importância destas vias na função do coração humano, propondo que a sua apoptose por processos autoimunes pode dar origem a arritmias fatais (James *et al.*, 1996).

Em oposição aos autores anteriormente referidos, Anderson *et al.* defendem que estes tractos não existem, e que a condução entre o Nó Sinusal e o Nó Atrioventricular se faz a partir da organização anisotrópica (ou seja, cujas propriedades dependem da organização das suas fibras) do miocárdio de trabalho atrial (Anderson *et al.*, 2004). Ainda segundo Anderson, a condução internodal ocorre preferencialmente ao longo de feixes musculares proeminentes: a crista terminal, o bordo anterior da fossa oval e o septo sinusal (Anderson *et al.*, 1983). No porco, Crick *et al.* observaram filas de células de transição nodais a estenderem-

se em direcção ao seio coronário e a entrelaçarem-se com feixes de miócitos atriais, mas também não encontraram quaisquer tractos de condução isolados na musculatura atrial (Crick *et al.*, 1999).

Nos seus estudos imuno-histoquímicos sobre a distribuição do Tbx3, um factor de transcrição que só é expresso pelo tecido de condução cardíaco, Hoogars *et al.* concluíram que este factor era também expresso nas regiões internodais. Nos corações examinados por estes autores, a expressão mais intensa de Tbx3 na região internodal dava-se na crista terminal, estendendo-se até ao Nó Atrioventricular, conectando assim o NS e o NAV; no entanto, Hoogars *et al.* não encontraram nenhum tracto de condução isolado nesta região, e consideram que, em termos de condução do impulso sinusal, esta área internodal tenha uma importância vestigial em animais adultos, sendo um remanescente do SCC embrionário primitivo (Hoogars *et al.*, 2004).

VI. O Feixe Atrioventricular e as vias de condução ventricular

Isolado no interior do Corpo Fibroso Central, o Feixe Atrioventricular é a primeira parte da via de condução ventricular (Mazgalev *et al.*, 2001).

O Feixe Atrioventricular (FAV) é a primeira estrutura no sistema de condução cardíaco que satisfaz os três critérios de Aschoff-Monckeberg: as células do FAV são histologicamente discerníveis, é possível seguir o seu percurso de secção em secção e, ao contrário do Nó Sinusal e do Nó Atrioventricular, está isolado do septo interventricular por tecido fibroso. Estes critérios continuam válidos para as porções mais distais da via de condução ventricular, que estão isoladas do miocárdio ventricular adjacente por bainhas de tecido conjuntivo, até às fibras de Purkinje terminais (nos ápices ventriculares), onde essas bainhas cessam gradualmente de existir (Mazgalev *et al.*, 2001).

Tal como já foi referido anteriormente, o Feixe Atrioventricular divide-se em Ramo Esquerdo e Ramo Direito, que depois dão origem à rede de fibras de Purkinje.

1. Cão

O Feixe Atrioventricular do cão estende-se anteriormente desde o NAV e mede cerca de 3 mm até ao ponto em que se divide em Ramo Esquerdo e Direito. Está incluído na porção anterior do CFC, onde penetra o septo fibroso (o tecido fibroso denso que forma o soalho do CFC); também está subjacente ao septo interatrial inferoanterior, e atinge a crista do septo ventricular quando se ramifica (Racker, 2003).

Histologicamente, o FAV do cão é um feixe estreito, composto por fascículos de miócitos especializados envolvidos em bainhas de colagénio; os miócitos apresentam discos intercalares longos, poucos processos celulares e os fascículos contêm feixes de fibras nervosas brancas que se entrelaçam com as miofibras. Tal como no NAV, os miócitos do FAV têm uma zona perinuclear transparente e estriações uniformes e delicadas ao longo de todo o seu comprimento, e o interior do feixe contém poucos ou nenhuns vacúolos adiposos, para além de não conter vasos sanguíneos de grande calibre. Na união entre o NAV e o FAV, os fascículos de miócitos especializados alteram abruptamente a sua organização, passando de uma organização entrelaçada, no NAV, para uma disposição em paralelo, no FAV (Racker & Kadish, 2000).

2. Humano

O Feixe Atrioventricular humano trespassa o CFC no ápice do Triângulo de Koch, perfurando o tecido fibroso para atingir directamente o interior do tracto de saída ventricular esquerdo. Nesta posição, o FAV está directamente relacionado com as válvulas mitral, tricúspide, aórtica e septo membranoso. Quando penetra no tracto de saída sub-aórtico, o FAV divide-se em Ramo Esquerdo e Direito; geralmente, esta divisão dá-se através da porção muscular do septo interventricular, entre este e o septo membranoso, mas também pode ocorrer na face esquerda do septo interventricular. O Ramo Esquerdo ramifica-se sucessivamente pela face lisa do lado esquerdo do septo interventricular, enquanto que o Ramo Direito prossegue na direcção do eixo longo do NAV. Existem três divisões principais do Ramo Esquerdo do FAV humano (anterior, septal e posterior), arranjadas em forma de leque em direcção ao ápice ventricular; o Ramo Direito, por contraste, é uma estrutura estreita em forma de corda. Geralmente, o Ramo Direito do FAV corre intramiocárdicamente para atingir o lado direito do septo interventricular, passando através da porção posterior da trabécula septomarginal e sob o músculo papilar medial. Seguidamente, estende-se pelo corpo da trabécula septomarginal até atingir o ápice ventricular direito, onde posteriormente se ramifica (Anderson *et al.*, 1983).

Com um estudo realizado em 32 corações humanos, Massing e James concluíram que a configuração anatómica do Feixe Atrioventricular e dos seus ramos no coração humano é extremamente variável (Massing & James, 1976).

Em 20 dos 32 corações, uma porção do FAV localizava-se no interior da margem inferior do septo membranoso e depois ao longo do lado esquerdo da crista do septo interventricular. Nestes corações, a origem do Ramo Esquerdo tinha uma espessura de 2 a 14 mm, e dava-se desde o FAV no endocárdio septal esquerdo; o Ramo Direito atravessava para o lado direito do septo interventricular na margem anteroinferior do septo membranoso, através de uma camada de colagénio com cerca de 1 mm de espessura (Massing & James, 1976).

Em 4 dos 32 corações observados, o FAV distal ao CFC atravessou o lado esquerdo da crista do septo interventricular vários milímetros abaixo do septo membranoso. Num destes corações, a porção anterior do FAV inseriu-se no miocárdio, ficando 1 mm abaixo do endocárdio septal esquerdo; neste coração, o Ramo Esquerdo originou-se muito mais anteriormente, atravessando 1 mm do septo interventricular para atingir o endocárdio septal esquerdo. Nos restantes 3 corações, o Ramo Esquerdo originou-se directamente no endocárdio septal esquerdo. Em 3 destes 4 corações, o Ramo Direito passou para o lado direito do septo através de 2-4 mm de músculo do septo interventricular e no 4º coração o Ramo Direito atravessou a margem inferior do septo membranoso (Massing & James, 1976).

Em 3 dos 32 corações estudados, o FAV distal ao CFC estava totalmente contido dentro da margem inferior do septo membranoso, até sair pelo bordo anteroinferior deste, tornando a origem do Ramo Esquerdo mais anterior que o usual; o Ramo Direito angulou-se ligeiramente para a direita e inferiormente para manter contacto com o endocárdio septal direito (Massing & James, 1976).

Em 5 dos 32 corações examinados, o FAV anterior ao CFC dirigiu-se para a direita da crista do septo interventricular. Nestes corações, o Ramo Esquerdo começou como um feixe estreito (no máximo com 1.5 mm de largura), que atravessou para a esquerda do septo através da base do septo membranoso; para lá desta origem estreita, o Ramo Esquerdo alargou-se abruptamente ao atingir o lado esquerdo do septo interventricular. Nestes 5 corações com Feixes de His à direita, o Ramo Direito formou uma continuação directa com o FAV, enquanto que nos outros 27 corações a junção Feixe Atrioventricular – Ramo Direito formou um ângulo obtuso (Massing & James, 1976).

Anatomia do Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular

Segundo Massing e James, a característica mais importante da anatomia do Ramo Esquerdo é a sua marcada variabilidade entre indivíduos. No trabalho mencionado anteriormente, estes autores referem que a origem do Ramo Esquerdo é muito larga nalguns dos corações estudados, sendo estreita noutros (varia entre 1 e 14 mm de largura), e é significativamente influenciada pela relação anatómica do FAV com o septo interventricular. A origem do Ramo Esquerdo em corações com Feixes de His do lado direito era uniformemente estreita, mas mesmo nos corações com o FAV do lado esquerdo a origem do Ramo Esquerdo poderia ter apenas 2-3 mm de espessura. À medida que descende pelo septo interventricular em direcção ao ápice do coração, o Ramo Esquerdo alarga-se, em alguns casos de forma abrupta e noutros mais gradualmente (Massing & James, 1976).

O tamanho, número, localização e configuração das subdivisões do Ramo Esquerdo são imprevisíveis. Em alguns corações havia várias subdivisões anteriores, cada uma originando-se separadamente a partir do tronco principal do Ramo Esquerdo, enquanto que noutros havia uma única divisão anterior, que depois se subdividia; nos primeiros corações, algumas das subdivisões anteriores interligavam-se proximalmente ou distalmente com grupos de fibras do Ramo Esquerdo a meio do septo interventricular. No entanto, em alguns corações não havia divisão do Ramo Esquerdo pelo menos durante os primeiros 10 mm do seu percurso, chegando a não ocorrer qualquer divisão ao longo de mais de 20 mm (Massing & James, 1976).

Os primeiros milímetros proximais do Ramo Esquerdo variam entre espessuras de 4 a 25 camadas celulares e estão resguardados do endocárdio e músculo septal por colagénio (Massing & James, 1976).

À medida que o Ramo Esquerdo prossegue distalmente, alargando-se anterior e posteriormente, os grupos centrais de fibras do ramo mantêm a mesma espessura e colagénio subjacente, enquanto que os grupos de fibras anteriores e posteriores têm pouco ou nenhum colagénio subjacente, e a sua espessura varia entre 1 e 10 camadas celulares; é frequente ocorrer separação e reunião de grupos de fibras (Massing & James, 1976).

Após 10-20 mm da sua origem, o músculo liso sub-endocárdico e o colagénio que se sobrepõem ao Ramo Esquerdo quase desaparecem, e toda esta estrutura perde a sua camada de colagénio subjacente que a separa do septo muscular, o que torna a identificação e delineação do Ramo Esquerdo distal mais difícil; as células do Ramo Esquerdo distal são geralmente maiores e têm uma coloração mais pálida em relação às células do miocárdio de trabalho ventricular adjacente (Massing & James, 1976).

Anatomia do Ramo Direito do Feixe Atrioventricular

Na maioria dos corações observados por Massing e James, o Ramo Direito, alguns milímetros após a sua origem, aproximou-se do endocárdio do lado direito do septo interventricular antes de se dirigir anteriormente e apicalmente 0.5-1 mm sob o endocárdio. Em todos os corações observados por estes autores, o Ramo Direito do FAV permaneceu uma estrutura estreita (com menos de 1 mm de largura) e não ramificada ao longo de todo o septo interventricular (Massing & James, 1976).

3. Vaca

Ao contrário do que acontece no coração humano, no qual a transição dos miócitos de pequeno diâmetro no NAV para os miócitos de grande diâmetro do FAV se dá de forma gradual, no coração bovino esta transição dá-se abruptamente, como é típico dos ruminantes; os miócitos do FAV bovino atingem os 70 µm de diâmetro, e formam uma rede envolta por tecido conjuntivo (Oosthoek *et al.*, 1993b).

Recorrendo a métodos histológicos e imuno-histoquímicos, Oosthoek *et al.* delinearão o Feixe Atrioventricular bovino, bem como toda a rede ventricular de fibras de Purkinje. Segundo estes autores, sob o endocárdio do lado esquerdo do septo interventricular, os principais feixes do Ramo Esquerdo do FAV são encontrados em agregados envolvidos em tecido conjuntivo denso; não se observam ramificações destes feixes que se afastem do septo interventricular. No entanto, para além destes agregados de feixes principais, são encontrados também feixes mais pequenos e solitários no subendocárdio; estes feixes estão rodeados apenas por uma fina camada de tecido conjuntivo. Estudando secções seriadas do septo interventricular, Oosthoek *et al.* demonstraram que estes feixes solitários estão em continuidade com grupos de fibras de Purkinje localizadas intramuralmente, no interior do miocárdio do septo interventricular; estes tractos intramurais consistem em grandes (cerca de

80 µm) fibras de Purkinje envolvidas em tecido conjuntivo, e são característicos apenas dos corações de ungulados e de galinhas (Oosthoek *et al.*, 1993b).

Na parede ventricular livre, foram encontrados feixes de fibras de Purkinje sob todo o endocárdio, tanto no ventrículo direito como no ventrículo esquerdo. Estas fibras de Purkinje têm a mesma morfologia que as dos feixes principais do septo interventricular, mas estão organizadas em grupos mais pequenos e estão rodeadas por uma camada de tecido conjuntivo mais finas; esta bainha de tecido conjuntivo desaparece gradualmente em direcção ao final dos tractos. Os feixes sub-endocárdicos formam uma rede bidimensional; os tractos intramurais ramificam-se a partir desta rede e penetram o miocárdio. Os tractos intramurais de fibras de Purkinje estão organizados em folhetos (ou lamelas) que formam uma rede entre os feixes musculares ventriculares. As terminações das fibras de Purkinje estão aleatoriamente distribuídas no interior da rede de fibras e, assim, são encontradas em todos os locais do miocárdio, à excepção de uma camada subepicárdica com cerca de 2 mm. Ao contrário do que está descrito noutras espécies, como o coelho, no coração bovino não existem folhetos de células de transição entre as fibras de Purkinje sub-endocárdicas e o miocárdio ventricular (Oosthoek *et al.*, 1993b).

4. Porco

Após perfurarem o Corpo Fibroso Central, as células fusiformes do Nó Atrioventricular suíno tornam-se maiores e mais redondas, para formarem o Feixe Atrioventricular. Inicialmente, o FAV é composto pelo mesmo tipo de células que as regiões de transição do NAV, parecendo estar ligado a este posteriormente; apenas uma pequena proporção da região compacta do Nó parece estar em contacto com a região proximal do Feixe Atrioventricular (Crick *et al.*, 1999).

A maioria do FAV suíno é formada pela transformação de células fusiformes da região de transição nodal em grandes fibras de Purkinje, que se anastomosam entre si frequentemente; estas fibras começam com 60-70 µm de diâmetro, e vão aumentando progressivamente de tamanho (até aos 90 µm de diâmetro à medida que o feixe avança até à sua bifurcação e se divide em Ramo Esquerdo e Ramo Direito (Crick *et al.*, 1999).

5. Coelho

O Feixe Atrioventricular do coelho inicia-se no ápice do triângulo de Koch, e é formado por miócitos especializados de pequeno diâmetro (Li *et al.*, 2008).

O Ramo Esquerdo do FAV emerge como uma estrutura em forma de fita, com cerca de 2 mm de largura, que se estende sobre o septo interventricular, atingindo 4 mm no seu ponto mais largo (Stephenson *et al.*, 2012).

O Ramo Direito, por contraste, emerge como uma estrutura muito mais fina, com apenas 0.75 mm de largura, embora tenha também aparência de fita (Stephenson *et al.*, 2012).

Os dois ramos do FAV do coelho podem ser seguidos ao longo do septo interventricular; o Ramo Esquerdo tem um percurso vertical, no mesmo eixo que o FAV, e o Ramo direito projecta-se anteriormente antes de descer em direcção ao ápice ventricular (Stephenson *et al.*, 2012).

A rede de Purkinje do coração do coelho ocupa a cavidade luminal, com grandes porções da rede a atravessarem as câmaras ventriculares de um lado ao outro. Aparentemente, a Rede de Purkinje é mais extensa no ventrículo esquerdo do que no ventrículo direito (Stephenson *et al.*, 2012).

O número de ramificações, calibre das fibras de Purkinje e volume total da rede de fibras de Purkinje é variável de animal para animal, mas a existência de ramificações desde o septo interventricular para a parede livre e do septo interventricular para os músculos papilares parece ser constante (Stephenson *et al.*, 2012).

6. Ratazana

O Feixe Atrioventricular da ratazana é uma estrutura larga e achatada, em contraste com a maioria das espécies, em que esta estrutura tem uma forma alongada (Stephenson *et al.*, 2012).

Os dois ramos do FAV da ratazana têm uma estrutura uniforme e em forma de fita, ambos medindo cerca de 0.5 mm de largura (Stephenson *et al.*, 2012).

A rede de Purkinje do ventrículo esquerdo está localizada na região apical, com uma aparência em forma de concha, com a maioria dos ramos a percorrer a superfície endocárdica em direcção à base do coração sem que hajam ramificações a atravessar a câmara ventricular (Stephenson *et al.*, 2012).

7. Ovelha

Recorrendo a injecções sub-endocárdicas de tinta-da-China, de forma a evidenciar a bainha de colagénio que reveste os tractos de condução ventricular, Ansari *et al.* estudaram a rede de fibras de Purkinje do coração de ovelha (Ansari *et al.*, 1999).

No ventrículo esquerdo, o Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular emerge a partir da musculatura sub-aórtica e descende pela parede septal ventricular (Ansari *et al.*, 1999). Aproximadamente a meio entre o orifício aórtico e o ápice ventricular esquerdo, o Ramo Esquerdo divide-se em ramo anterior e ramo posterior; o ramo anterior atinge o músculo papilar anterior através de fibras pseudo-tendinosas e o ramo posterior cruza a cavidade ventricular com uma fibra pseudo-tendinosa para atingir o músculo papilar posterior (Ansari *et al.*, 1999). As fibras de Purkinje envolvem os músculos papilares entre o ápice e a base do músculo, com muitas ramificações a dirigirem-se à base do músculo e ao ápice ventricular; a metade apical do músculo papilar, em contraste, não tem nenhuma fibra de Purkinje superficiais sub-endocárdicas visíveis ao exame macroscópico. A partir da base dos músculos papilares, as fibras de Purkinje ramificam-se para formarem uma extensa rede de Purkinje sub-endocárdica. Algumas fibras correm sob o folheto mural da válvula mitral, chegando muito perto do anel fibroso do óstio atrioventricular, e forma uma rede extensa na parede ventricular (Ansari *et al.*, 1999).

O Ramo Direito é muito mais difícil de demonstrar com injeções sub-endocárdicas de tinta-da-China do que o Ramo Esquerdo. O Ramo Direito descende pela parede septal e insere-se na banda moderadora para atingir o músculo papilar anterior do ventrículo direito, ramificando-se em fibras de Purkinje que circundam esta estrutura. Feixes maiores do Ramo Direito descem em direcção à base dos outros músculos papilares, e formam uma extensa rede ao longo do ventrículo direito; ao contrário do que acontece no ventrículo esquerdo, esta rede não tem um arranjo poligonal, formando uma rede menos organizada, com numerosos feixes de fibras de Purkinje arranjados de forma paralela por longas distâncias, antes de se anastomosarem entre si (Ansari *et al.*, 1999).

As células que compõem estes tractos de condução estão organizadas por fascículos e são células fibrilares pálidas e multinucleadas; os seus centros não têm estrias, mas estas células possuem um bordo estriado que as envolve, e estão orientadas tanto paralela como perpendicularmente aos miócitos ventriculares de trabalho (Ansari *et al.*, 1999).

Ao contrário do que se observa no coelho e no porco, não são encontradas na ovelha zonas de células de transição no Feixe Atrioventricular e subseqüentes ramos. Tanto o FAV como os seus ramos e até as fibras de Purkinje da ovelha estão revestidos por proeminentes bainhas de tecido conjuntivo (Ansari *et al.*, 1999).

Num trabalho mais recente, Ryu *et al.* descrevem a existência de uma rede de Purkinje intramural (ou seja, no interior do miocárdio) no coração da ovelha, e descrevem também a prevalência dos diferentes tipos de células existentes das vias de condução ventriculares. Segundo estes autores, no NAV ovino predominam as células de transição (com forma delgada, núcleos rectangulares e localizados no centro da célula), enquanto que no FAV, Ramo Direito e Esquerdo, rede sub-endocárdica e rede intramural predominam as células de

Purkinje (células muito grandes e ovais, com um ou dois núcleos, poucas miofibrilhas e corpos celulares pálidos) (Ryu *et al.*, 2009).

A rede intramural de células de Purkinje estende-se ao longo do miocárdio e une-se proximalmente à extensão sub-endocárdica dos ramos do Feixe Atrioventricular. Em cortes histológicos dos ventrículos esquerdo e direito, tanto nas paredes septais como nas paredes ventriculares livres, é possível encontrar células de Purkinje, normalmente em agregados mas por vezes também sozinhas. Estas células estão geralmente associadas a bainhas de tecido conjuntivo que as separam dos miócitos de trabalho adjacente; no entanto, este isolamento por tecido conjuntivo não é evidente em todos os agregados de células de Purkinje. Nas paredes ventriculares livres esquerda e direita, células de Purkinje intramurais (tanto em agregados como isoladas) estão geralmente interligadas entre si e entre agregados; algumas destas células têm uma conexão histológica com a rede sub-endocárdica de células de Purkinje. Não existem células de Purkinje isoladas, porque os miócitos de trabalho têm conexões com elas (Ryu *et al.*, 2009).

Na rede intramural de células de Purkinje tanto das paredes septais como das paredes ventriculares livres, as células de Purkinje tendem a tornar-se mais pequenas em diâmetro, à medida que se afasta da rede sub-endocárdica. Na periferia da rede, as junções histológicas entre as células de Purkinje e os miócitos de trabalho normais são ocasionalmente encontradas; as células de Purkinje imediatamente proximais às junções com os miócitos normais perdem frequentemente as suas bainhas de colagénio (Ryu *et al.*, 2009).

Dada a continuação proximal com a rede sub-endocárdica e as junções distais com os miócitos de trabalho, Ryu e os seus colegas pressupõem que as células de Purkinje intramurais, especialmente aquelas que compõem a rede intramural septal, parecem constituir a via terminal do sistema de condução na parede ventricular. Estes autores referem ainda que, em corações com hipertrofia ventricular, a orientação predominante dos miócitos na parede ventricular esquerda é alterada durante o processo patológico; isto pode perturbar a rede intramural de fibras de Purkinje, causando assim anormalidades eletrofisiológicas (Ryu *et al.*, 2009).

VII. Outros componentes do Sistema de Condução Cardíaco

De acordo com investigações recentes, o Nó Sinusal, o Nó Atrioventricular, o Feixe Atrioventricular e a rede de fibras de Purkinje não são os únicos tecidos de condução no coração; existem outras células do tipo nodal no coração, que são provavelmente vestígios do sistema de condução embrionário (Boyett, 2009).

No embrião, o coração é inicialmente uma estrutura linear tubular, composta por miocárdio primário. Durante o desenvolvimento embrionário, esta estrutura tubular dobra-se sobre si própria para formar as câmaras cardíacas, que passam a ser compostas por miocárdio de trabalho; o miocárdio primário do coração tubular passará então a formar os diferentes elementos do Sistema de Condução Cardíaco, através da expressão de um factor de transcrição, o Tbx3 (Hoogars *et al.*, 2007). No coração embrionário de rato, o tecido que expressa o Tbx3 estende-se desde a veia cava cranial até à parede dorsal do átrio direito, e também está presente na junção entre os átrios e os ventrículos, estendendo-se para o interior destes, dando assim origem ao NS, NAV, FAV e fibras de Purkinje (Hoogars *et al.*, 2004). No entanto, no coração embrionário de rato, este tecido também está presente na periferia dos óstios das válvulas tricúspide e mitral, persistindo estes tecidos nodais até à idade adulta, formando o Anel Nodal Tricúspide e o Anel Nodal Mitral (Hoogars *et al.*, 2004; Hoogars *et al.*, 2007).

Num estudo mais recente, e recorrendo também a imuno-histoquímica, Yanni *et al.* descobriram 3 grupos de células nodais na periferia da raiz da artéria pulmonar e na periferia da aorta (Yanni *et al.*, 2009). Dois dos grupos celulares correspondem aos anéis nodais tricúspide e mitral já referidos por Hoogars *et al.*, (Hoogars *et al.*, 2004; Hoogars *et al.*, 2007), mas o outro grupo, localizado no septo interatrial, foi denominado por Yanni *et al.* como Nó Retro-Aórtico (Yanni *et al.*, 2009). O Nó Retro-Aórtico é contínuo com os anéis nodais mitral e tricúspide, e também com o Nó Atrioventricular (Yanni *et al.*, 2009).

No entanto, nenhuma destas estruturas parece desempenhar qualquer papel na iniciação e condução normais do potencial de acção cardíaco; no entanto, estas estruturas podem ter uma participação importante na génese de arritmias como a taquicardia atrial e a taquicardia ventricular (Boyett, 2009).

VIII. Metodologias de estudo do Sistema de Condução Cardíaco

O coração (em conjunto com os grandes vasos), os pulmões, a traqueia, e o esófago devem ser todos excisados da cavidade torácica em bloco. Seguidamente, o coração deve ser separado dos pulmões dissecando entre o átrio esquerdo e as veias pulmonares e o átrio direito e a veia cava, aorta descendente e tronco pulmonar; a aorta e a veia cava devem ser seccionadas a 1-3 cm do seu ponto de origem no coração (Liu, 1992; Bishop, 1999).

Antes da fixação, as câmaras cardíacas devem ser abertas para facilitar a penetração do líquido fixador nos tecidos. Assim o tronco pulmonar deve ser seccionado longitudinalmente, estendendo-se a incisão pelo ventrículo direito, ao longo da parede ventricular livre, ápice cardíaco, parede ventricular dorsal e parede dorsal do átrio direito até à veia cava caudal, evitando cortar músculos papilares, cordas tendinosas ou a válvula tricúspide; a veia cava cranial também não deve ser seccionada, para evitar a destruição do Nó Sinusal (Bishop, 1999). Seguidamente, o ventrículo esquerdo deve ser aberto com uma incisão no ápice e depois em direcção anterior até à aorta e, posteriormente, para o átrio esquerdo, sem danificar os músculos papilares, as cordas tendinosas e os folhetos da válvula mitral (Liu, 1992).

Após estes procedimentos, o coração deve ser gentilmente lavado sob água corrente (para remover os coágulos sanguíneos que possam estar no interior das câmaras cardíacas) e depois deve ser fixado em solução de formol tamponado a 10%, durante pelo menos 24h (Bishop, 1999).

Para o estudo histológico do Nó Sinusal, a junção da veia cava cranial com a parede livre do átrio direito deve ser excisada em bloco e dividida depois em secções com 2-3 mm de espessura (Liu, 1992; Guarda & Mandelli, 2002; Sánchez-Quintana & Ho, 2003). As secções histológicas devem incluir tanto tecido da veia cava cranial como da parede atrial, para englobar todo o tecido da região do sulco terminal, onde a maior parte do Nó Sinusal estará localizado (Robinson & Maxie, 1993; Crick *et al.*, 1999).

Por vezes, pode ser útil realizar a medição da circunferência do óstio atrioventricular direito, para o utilizar como termo de comparação com o tamanho do Nó Atrioventricular em diferentes animais. Para tal, após a abertura do ventrículo direito com uma incisão sagital na parede ventricular livre, esta deve ser distendida e a circunferência do óstio atrioventricular medida com recurso a uma régua flexível ou a um fio (Racker *et al.*, 1991; Bishop, 1999).

O Sistema de Condução Cardíaco pode ser estudado em corte transversal e/ou em corte paralelo. O plano transversal é um plano que apresenta as células do miocárdio seccionadas no seu eixo mais curto, e o plano paralelo é o plano em que as células se

apresentam seccionadas no seu eixo mais longo, paralelo ao epicárdio/endocárdio. A **fig. 8** ilustra estes planos, exemplificando os cortes dos blocos histológicos para estudo do Nó Sinusal (Racker *et al.*, 1991).

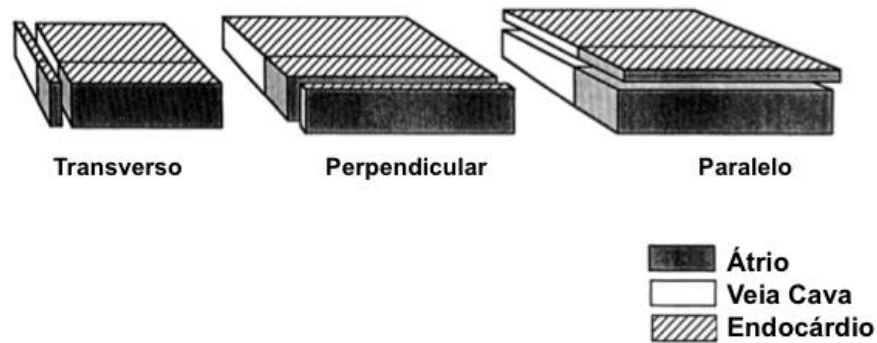


Fig. 8 – Esquema representativo dos diferentes planos de corte da junção veia cava – átrio direito. Adaptado de Racker *et al.*, 1991.

Para o estudo histológico do Nó Atrioventricular e do Feixe Atrioventricular em plano paralelo, deve ser recolhido um bloco de tecido que inclua o tecido desde o seio coronário ao bordo cranial do folheto septal da válvula tricúspide; este bloco deverá também conter tecido do septo interatrial e da porção mais dorsal do septo interventricular, e irá incluir o NAV, o FAV e o início dos Ramos Esquerdo e Direito do FAV (Robinson & Maxie, 1993; Racker, 1999). Seguidamente, este bloco deve ser dividido em peças com 3 mm de espessura, num eixo paralelo ao folheto septal da tricúspide (Robinson & Maxie, 1993).

Para estudo do NAV e do FAV em plano transversal, deve ser retirado um bloco vertical de tecido da junção atrioventricular direita contendo o tecido cardíaco desde o óstio do seio coronário à margem anterior da crista supraventricular. Este bloco deve conter cerca de 0.5 cm de músculo septal atrial, 1 cm de músculo septal ventricular e todo o folheto septal da válvula tricúspide. O bloco deve ser posteriormente dividido em secções com 2-3 mm de espessura, num eixo perpendicular à linha de junção dos septos interatrial e interventricular (Kaneshige *et al.*, 2007).

Depois de processados de acordo com as técnicas histológicas de rotina, todas as peças são incluídas em parafina e seccionadas em cortes de 6 µm (Liu, 1992). As colorações utilizadas para estudo do Sistema de Condução Cardíaco são:

- Hematoxilina-Eosina (Liu, 1992; Robinson & Maxie, 1993);
- Tricrómio de Masson, devido ao alto conteúdo em colagénio do tecido de condução (Liu, 1992; Robinson & Maxie, 1993);
- Ácido Periódico de Schiff (PAS), que põe em evidência o alto conteúdo em glicogénio dos tecidos do Sistema de Condução (Liu, 1992).

IX. Objectivos do trabalho

Apesar de a descoberta do Sistema de Condução Cardíaco ter sido publicada há mais de um século, os estudos sobre o SCC do cão são escassos e dispersos ao longo do tempo. Para além disto, muitos dos estudos publicados foram realizados com recurso à imuno-histoquímica e outras técnicas complexas, e outros focaram-se apenas numa porção dos tecidos de condução, destruindo as outras para estudar a porção de interesse.

Assim, o presente trabalho pretende descrever histologicamente o SCC do cão recorrendo a técnicas histológicas simples e facilmente exequíveis nos laboratórios anatómo-patológicos de rotina.

Este trabalho tem como objectivos:

- Descrever a histologia normal do SCC do cão, em animais de várias idades e portes;
- Ilustrar uma técnica histológica para o estudo dos 3 componentes mais importantes do SCC (NS, NAV e FAV) no mesmo animal;
- Averiguar a utilidade das colorações especiais (Tricrómio de Masson e Ácido Periódico de Schiff) no estudo do SCC do cão e delimitação dos seus diferentes componentes;
- Providenciar um protocolo que possa ser realizado durante uma necrópsia de rotina, especialmente em animais que tenham sofrido uma morte súbita sem causa aparente;
- Contribuir para a discussão sobre a localização de alguns componentes do SCC no cão;
- Contribuir para a discussão sobre a possível existência de certos componentes do SCC, teorizados anteriormente por alguns autores.

2. Materiais e métodos

a. Obtenção das amostras

Entre Maio de 2013 e Fevereiro de 2014, foram estudados 12 corações recolhidos em necrópsias nas instalações da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias – Faculdade de Medicina Veterinária (ULHT-FMV), do Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV) e do Hospital Veterinário do Porto (HVP). Na tabela 1 é feita uma breve descrição de cada animal.

Tabela 1 – Resumo da história clínica dos animais cujos corações foram estudados.

Nº	Raça	Sexo	Idade (anos)	Peso (kg)	Causa da morte	Doença cardíaca prévia?
1	Labrador	Macho	3	?	Linfoma	Não
2	?	?	?	?	Eutanásia	Não
3	SRD	Macho	?	20	Tumor hepático e pulmonar	Não
4	SRD	Macho	?	15	Eutanásia	Não
5	SRD	Macho	17	8	Eutanásia	Não
6	Cocker Spaniel	Macho	13	19,5	Eutanásia	Não
7	Pastor Belga	Macho	11	26	Eutanásia	Não
8	SRD	Fêmea	10	11	Tromboembolismo cerebral	Não
9	SRD	Macho	?	12	Pneumonia	Não
10	SRD	Fêmea	12	17	Pleuropatia	Não
11	Leão da Rodésia	Macho	?	31	Tamponamento cardíaco	Neoplasia cardíaca
12	SRD	Fêmea	17	6,5	Patologia cardíaca com arritmia	Dilatação cardíaca

? – informação não providenciada; SRD – sem raça definida.

b. Obtenção e preparação dos corações para histologia

A obtenção e preparação dos corações para estudo histológico foram realizadas segundo o protocolo sugerido por Liu (Liu, 1992) e Bishop (Bishop, 1999).

A cavidade torácica dos animais foi aberta, e separou-se o coração dos restantes órgãos dissecando entre o átrio esquerdo e as veias pulmonares e o átrio direito, veia cava, aorta ascendente e tronco pulmonar. Sempre que possível, os corações foram fotografados antes da fixação. Tomou-se um especial cuidado a fim de preservar a junção veia cava cranial – átrio direito, para não se perderem os tecidos onde se poderia localizar o Nó Sinusal.

Os corações foram preparados para a fixação realizando um corte longitudinal em ambos os ventrículos, sensivelmente ao nível do centro da parede ventricular livre, para

facilitar a penetração do líquido fixador nos tecidos; foi tomada especial precaução para evitar cortar os músculos papilares, cordas tendinosas e folhetos valvulares. Os corações foram lavados sob água corrente, instilando água nas câmaras cardíacas para retirar a máxima quantidade possível de coágulos sanguíneos que estivessem no interior das câmaras.

Seguidamente, todo o coração foi colocado num recipiente com gargalo largo e solução de formol tamponada a 10%, em quantidade suficiente para que todo o coração ficasse submerso. Todos os corações foram fixados pelo menos durante 72 horas. A fig. 9 ilustra o aspecto típico dos corações após fixação.



Fig. 9 – Aspecto típico de um coração após fixação, onde é visível o local onde o átrio e ventrículo esquerdos foram abertos para facilitar a penetração do líquido fixador nos tecidos.

Depois de fixados, todos os corações foram medidos, tendo sido registada a largura máxima, altura máxima e comprimento da circunferência do óstio ventricular direito, tal como sugerido por Racker (Racker *et al.*, 1991) e Bishop (Bishop, 1999). A fig. 10 exemplifica a medição da circunferência do óstio atrioventricular direito.

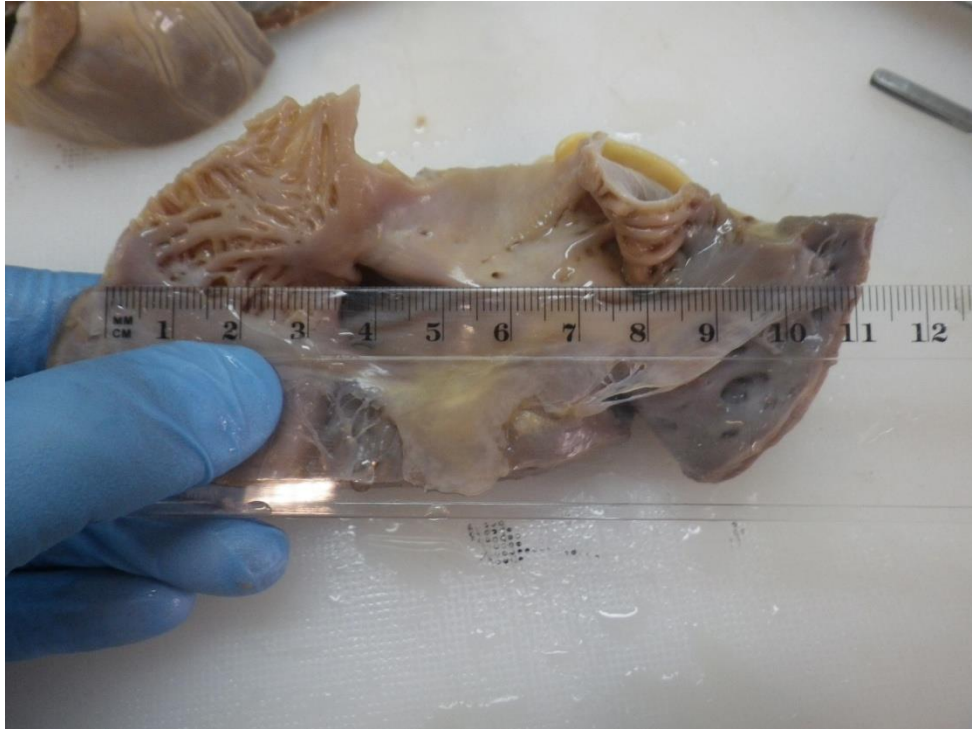


Fig. 10 – Medição da circunferência do óstio atrioventricular direito.

c. Recolha do Nó Sinusal

Conforme sugerido por vários autores (Liu, 1992; Robinson & Maxie, 1993; Crick *et al.*, 1999; Guarda & Mandelli, 2002; Sánchez-Quintana & Ho, 2003), toda a região contendo o ângulo entre a veia cava cranial e o átrio direito, incluindo a crista terminal, foi retirada em conjunto; a fig. 11 demonstra esse corte.

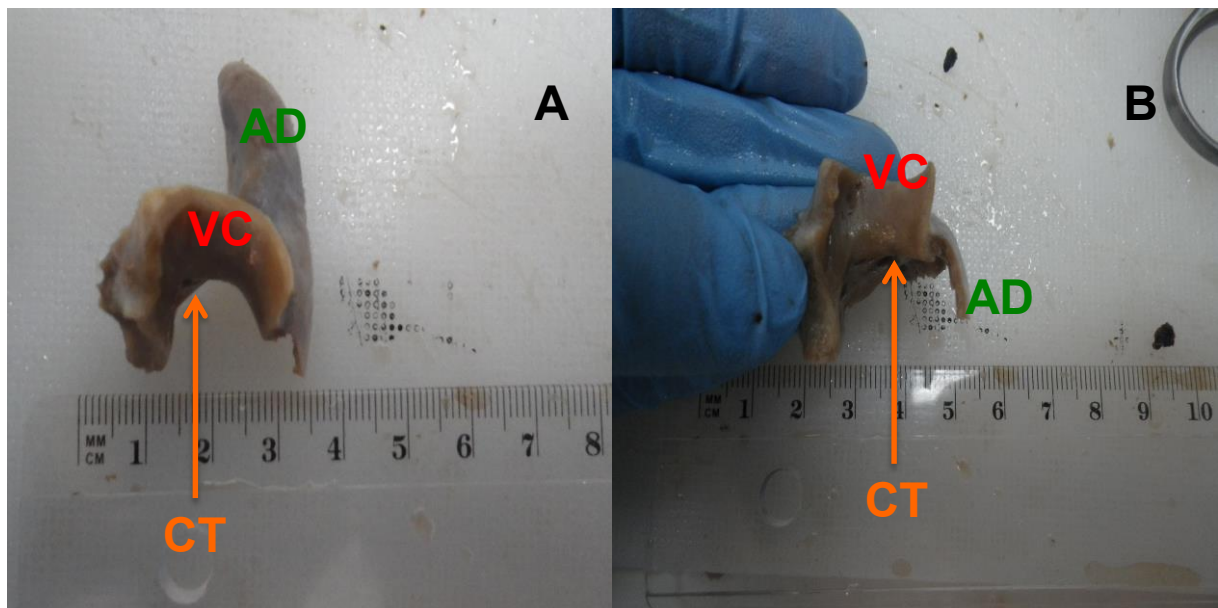


Fig. 11 – (A) – Vista cranial da junção veia cava cranial – átrio direito; (B) – Vista endocárdica da junção veia cava cranial – átrio direito. VC – veia cava cranial; AD – átrio direito; CT – crista terminal.

Seguidamente, a amostra foi cortada em fragmentos com 2-3 mm de largura. Os fragmentos foram colocados em cassetes individuais para inclusão em parafina; alguns foram incluídos para corte em plano paralelo (ou seja, do epicárdio em direcção ao endocárdio) e outros para serem cortados em plano transverso (ou seja, com o epicárdio e o endocárdio visualizados no mesmo corte histológico). Para garantir a inclusão do Nó Sinusal, todo o anel formado por este bloco foi estudado. Os blocos foram numerados e o local correspondente a cada bloco foi registado, para posteriormente se poder determinar a localização do Nó Sinusal em cada coração. As figs. 12 e 13 ilustram este processo, e a fig. 14 ilustra o aspecto dos blocos de tecido obtidos.

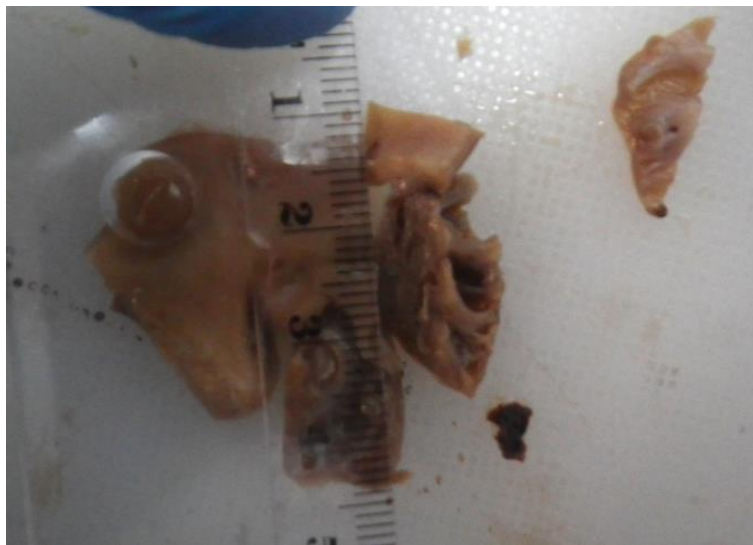


Fig. 12 – Divisão da peça da junção veia cava cranial – átrio direito em fragmentos para estudo do NS em plano paralelo. Para este plano, os fragmentos são colocados nas cassetes de plástico na posição ilustrada na imagem, ou seja, com o epicárdio voltado para baixo.



Fig. 13 - Divisão da peça da junção veia cava cranial – átrio direito em fragmentos para estudo do NS em plano transverso. Note-se que a largura de cada fragmento é menor do que o ilustrado na imagem anterior, para se adaptarem à espessura permitida pela cassete.

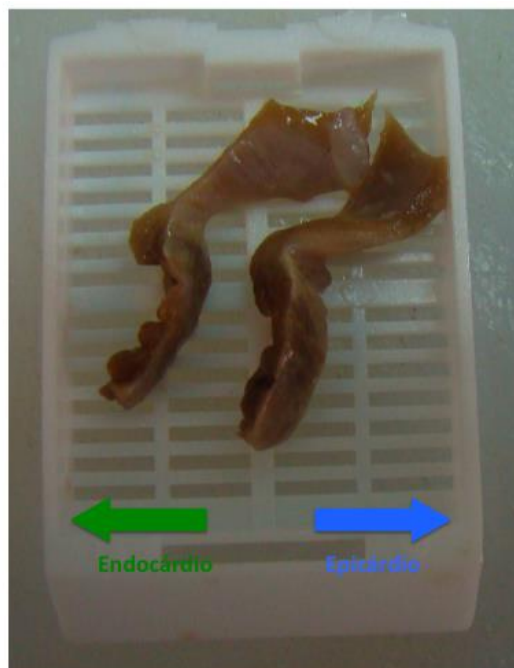


Fig. 14 – Colocação das peças histológicas numa cassette de plástico, para estudo do NS em plano transverso. Note-se a posição em que as peças são colocadas na cassette, com o epicárdio virado para a direita e o endocárdio para a esquerda.

d. Recolha do Nó Atrioventricular e Feixe Atrioventricular

Foram obtidos dois tipos de blocos de tecido, um para visualização do NAV em plano paralelo e outro para visualização do NAV no plano transverso.

Para visualização do NAV no plano paralelo, e seguindo a sugestão de Racker (Racker, 1999), foi retirado um bloco de tecido contendo o tecido cardíaco desde o óstio do seio coronário até ao extremo anterior do folheto septal da válvula tricúspide. Este bloco continha cerca de 1 cm de tecido atrial e 1 cm de tecido ventricular (embora em animais mais pequenos contivesse menos tecido atrial, por razões explicadas mais adiante neste trabalho), e foi cortado transversalmente em 2 ou 3 porções de 2-3 mm, conforme a espessura do septo interventricular do animal em questão. Os segmentos foram depois dispostos em cassetes de plástico para processamento e inclusão com a face endocárdica voltada para baixo, de forma a ser a primeira a ser cortada no micrótomo. Os blocos foram numerados e o local correspondente a cada bloco foi registado, para posteriormente se poder determinar a localização do Nó Atrioventricular em cada coração. As figuras 15-19 ilustram a configuração anatómica típica da região da junção atrioventricular direita, bem como os blocos de tecido utilizados para estudo do NAV no plano paralelo.



Fig. 15 – Vista geral da região da junção atrioventricular direita; a seta vermelha indica o folheto septal da válvula tricúspide.

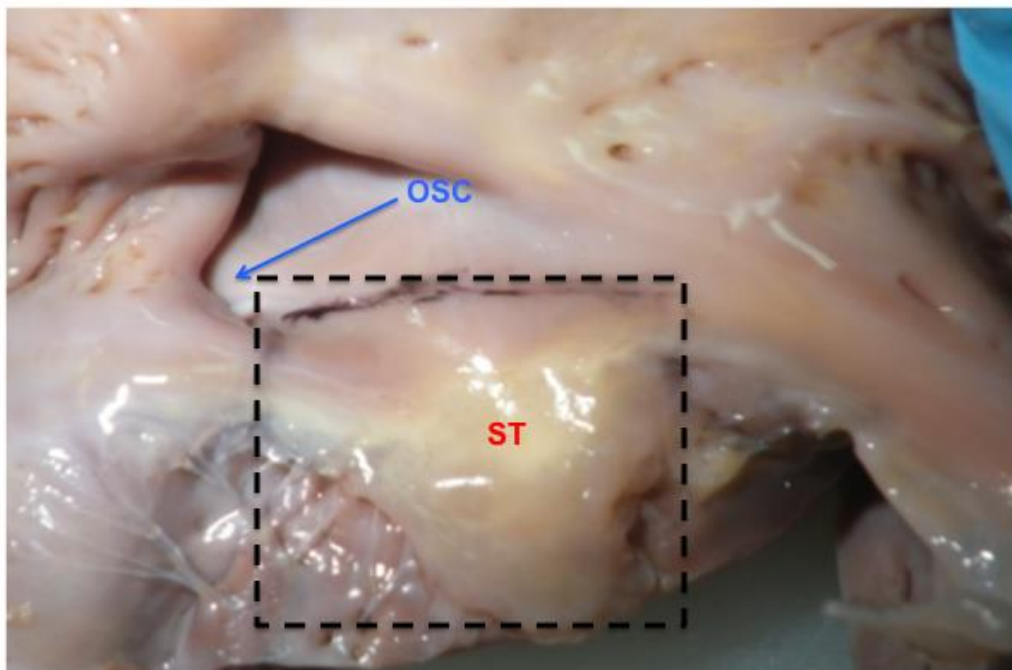


Fig. 16 – Pormenor da região ilustrada na figura anterior. A linha tracejada negra marca os limites do bloco de tecido utilizado para o estudo do NAV no plano paralelo. OSC – óstio do seio coronário; ST – folheto septal da válvula tricúspide.

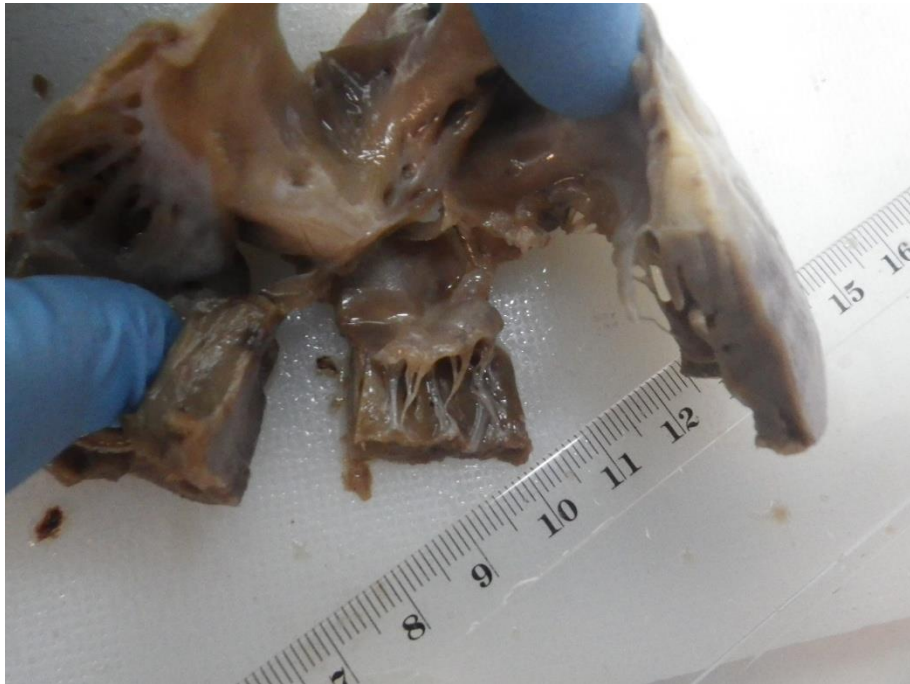


Fig. 17 – No centro da imagem, o bloco de tecido usado para o estudo do NAV em plano paralelo, já destacado do músculo circundante.

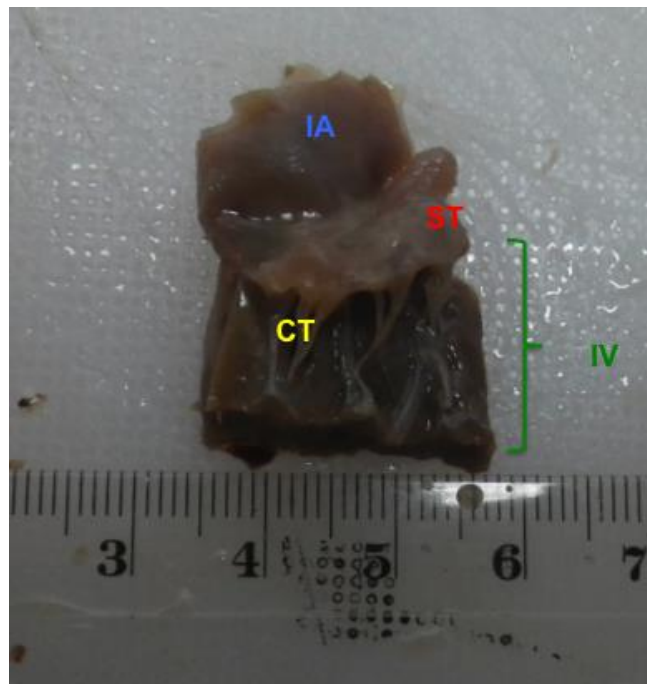


Fig. 18 – Típico bloco de tecido utilizado para o estudo do NAV em plano paralelo. Inclui a totalidade do folheto septal da tricúspide (ST) e algumas cordas tendinosas (CT), bem como parte dos septos interatrial (IA) e interventricular (IV).

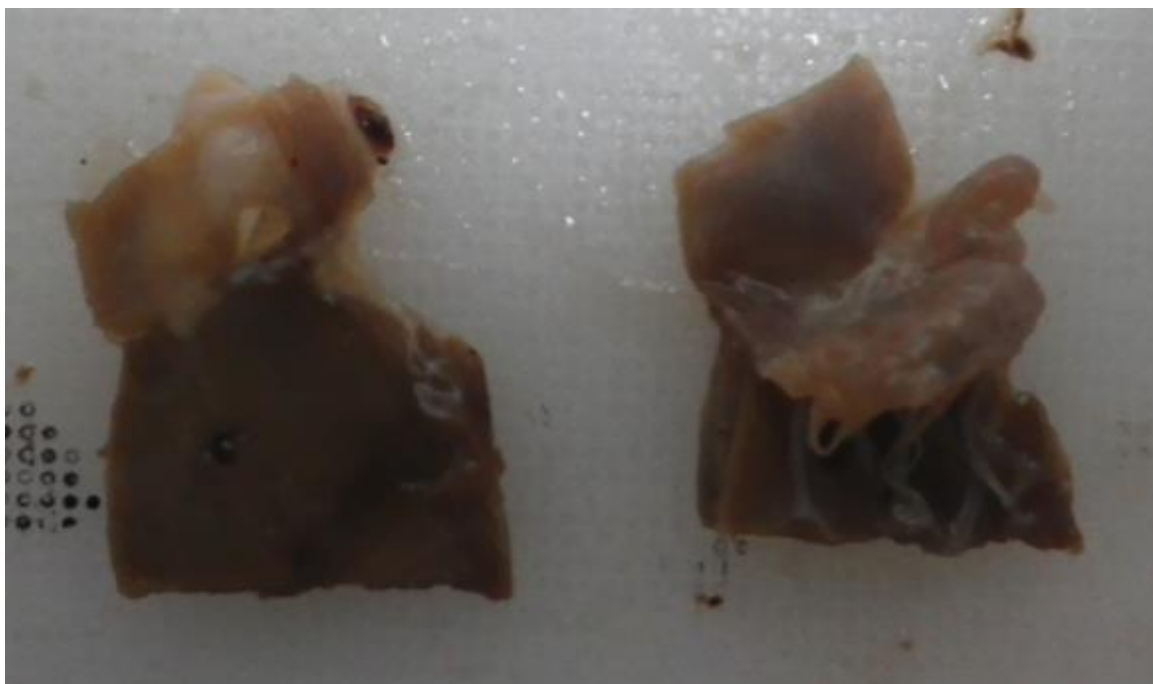


Fig. 19 – Divisão do bloco de tecido da junção atrioventricular em duas metades, de forma a acomodar a espessura máxima permitida pelas cassetes

Para visualização do NAV no plano transversal, foi retirado um bloco vertical da junção atrioventricular contendo o tecido cardíaco desde o óstio do seio coronário à margem anterior da crista supraventricular. Este bloco continha cerca de 0.5 cm de músculo atrial, 1-2 cm de músculo ventricular, todo o folheto septal da válvula tricúspide, algumas cordas tendinosas e, por vezes, músculos papilares. Este bloco foi dividido em secções com cerca de 2 mm de espessura, perpendiculares à linha de junção dos septos interatrial e interventricular, tal como sugerido por Kaneshige *et al.* (Kaneshige *et al.*, 2007). Os segmentos foram depois dispostos em cassetes de plástico para processamento e inclusão de forma a que a face endocárdica ficasse virada para o lado direito, com a válvula numa posição o mais natural possível e de forma a que cada bloco terminasse na porção correspondente ao início do bloco seguinte. O Feixe Atrioventricular foi também estudado recorrendo a estes blocos. As figuras 20 a 22 ilustram o processo utilizado para estudar o NAV e o Feixe Atrioventricular em corte transversal.

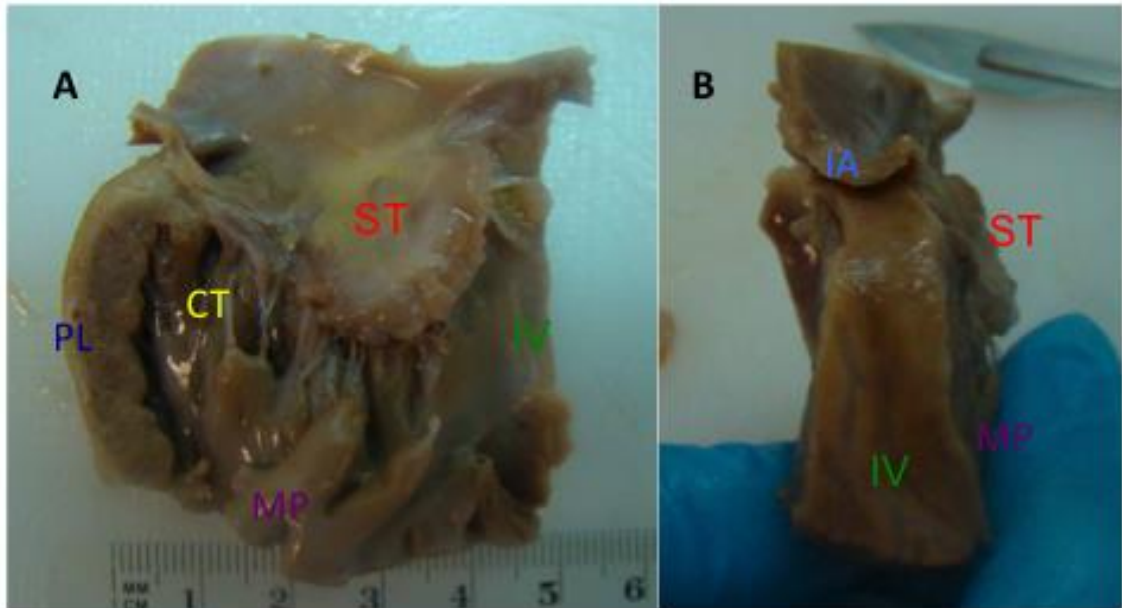


Fig. 20 – Duas vistas do bloco de tecido utilizado para estudo do NAV em plano transverso. (A) – ST – folheto septal da válvula tricúspide; CT – cordas tendinosas; PL – parede ventricular livre direita; MP – músculos papilares; IV – septo interventricular. (B) – IA – septo interatrial; ST – folheto septal da válvula tricúspide; MP – músculos papilares; IV – septo interventricular.



Fig. 21 – Divisão do bloco de tecido da junção atrioventricular em vários segmentos transversais, num eixo perpendicular à linha de união dos septos interatrial e interventricular.

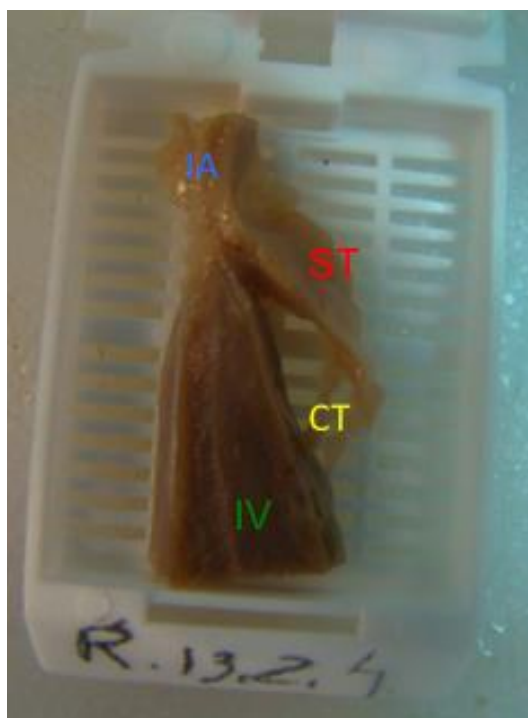


Fig. 22 – Posição em que as peças histológicas foram colocadas nas cassetes para processamento e inclusão, para estudo do NAV em plano transversal. IA – septo interatrial; ST – folheto septal da válvula tricúspide; CT – cordas tendinosas; IV – septo interventricular.

e. Processamento e Inclusão

As peças histológicas foram processadas num processador histológico automático Microm STP-120.

Seguidamente, as peças foram incluídas em blocos de parafina, orientadas segundo o plano de corte desejado para cada bloco.

f. Corte, coloração e montagem

Os blocos de tecido foram cortados num micrótomo Microm HM-325 em secções com 6 μm de espessura.

Foram realizados seis cortes de cada bloco, 3 de uma localização superficial e outros 3 após desbaste de 25 a 50 μm . O primeiro e o quarto corte de cada bloco foram corados com Hematoxilina-Eosina, deixando os outros cortes reservados para colorações especiais (Tricrómio de Masson e Ácido Periódico de Schiff); estas foram efectuadas em todas os cortes onde eram encontradas estruturas de interesse. Todos estes procedimentos foram realizados de acordo com as técnicas de rotina do Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia da FMV-ULHT.

Os cortes histológicos foram colocados em lâminas de vidro, imersos em meio de montagem e cobertos com lamelas de vidro.

g. Observação microscópica e fotografia

Todas as lâminas foram observadas com um microscópio óptico Olympus BX51.

As fotografias presentes neste trabalho foram realizadas recorrendo a uma máquina fotográfica Olympus DP50.

3. Resultados

a. Descrição geral dos corações

A tabela 2 contém as medidas de cada coração.

Tabela 2 – Medidas dos corações.

Nº	Altura máxima (cm)	Largura máxima (cm)	Comprimento da circunferência do óstio AV direito (cm)
1	11.5	8.5	11
2	?	?	?
3	11	9	11
4	7	5	?
5	10	7.5	9.5
6	9.5	6.5	9.5
7	13.5	9	14
8	7	4.3	7
9	11.3	7.5	10.5
10	8.5	6.5	9
11	?	8.5	12
12	?	5.8	8.5

? – Não foi possível determinar, uma vez que os corações não se encontravam completos, devido a necessidade de investigações histopatológicas.

b. Nó Sinusal

Neste trabalho, foi observado que a localização do Nó Sinusal é variável, não tendo sido encontrada nenhuma relação entre o tamanho dos animais/corações e a localização do NS.

O NS foi encontrado tanto ao longo da crista terminal como dorsalmente a esta (em direcção à veia cava cranial) ou ventralmente (em direcção ao átrio direito). A fig. 23 ilustra uma representação da área onde o NS foi encontrado nos diferentes corações. A fig. 24 demonstra um NS localizado abaixo da crista terminal. Para além disto, o NS mostrou ter uma localização predominantemente na metade cranial da crista terminal de alguns corações, enquanto que noutros tinha uma localização predominantemente latero-caudal.

Histologicamente, o NS encontra-se adjacente ao epicárdio, sendo que nesta junção se encontra uma grande rede de capilares e pequenas vénulas; o Nó é não capsulado, e está envolvido em tecido conjuntivo laxo. Quando visualizado com a coloração Hematoxilina-

Eosina (HE), o NS apresenta limites mal definidos. A fig. 25 demonstra todas estas características.

O NS é formado por uma rede de células de pequenas dimensões (quando comparadas com os miócitos do miocárdio adjacente), que apresentam um núcleo central e citoplasma pontilhado e pouco eosinofílico. As células nodais estão orientadas em várias direcções, e parecem formar feixes celulares; parece também haver adipócitos isolados entre as células nodais, tal como ilustram as figs. 25 e 26.

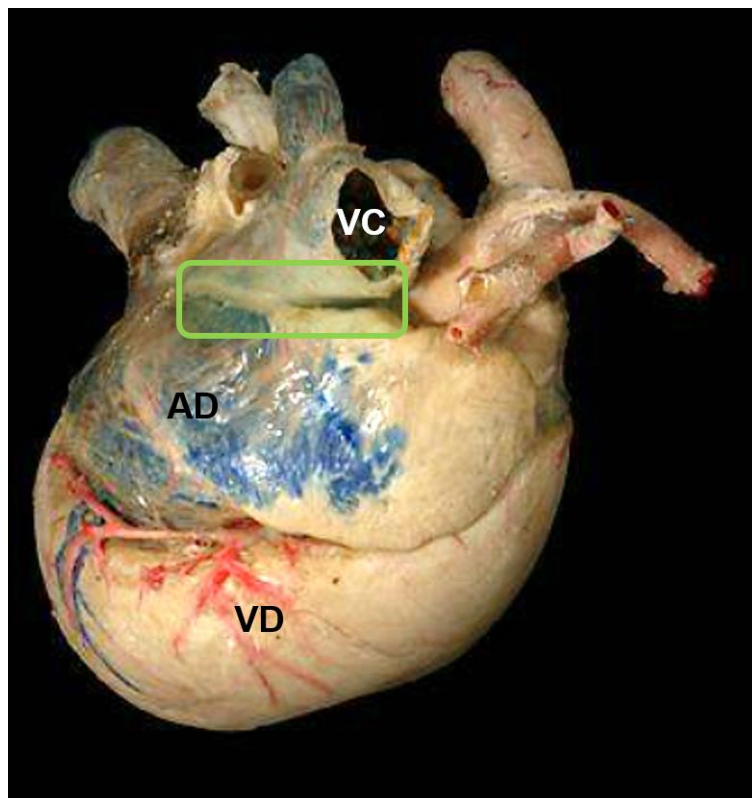


Fig. 23 – Vista crânio-lateral direita de um coração de cão, onde está ilustrada a área onde se identificaram os Nós Sinusais dos corações estudados (rectângulo verde). VC – veia cava cranial; AD – átrio direito; VD – ventrículo direito. Adaptado de Whalen (Whalen, 2003)

Observou-se também a existência constante de uma artéria nodal, que tem uma localização variável na periferia do Nó.

Quando observado, após ter sido corado com o Tricrómio de Masson, o NS foi facilmente identificado, pois apresentou uma tonalidade arroxeada, enquanto que o miocárdio de trabalho envolvente adquiriu um tom vermelho vivo, como demonstra a fig. 27. Esta coloração clarifica também o limite entre o epicárdio atrial e o NS, tal como é demonstrado na fig. 28.

Na periferia do Nó, encontrou-se por vezes uma zona em que feixes de células nodais estão intercalados com fibras musculares, nervos de grandes dimensões e grande quantidade de tecido adiposo, tal como demonstrado nas figs. 29, 30 e 31.

Quando observado em plano transverso, o NS possui uma localização e organização claras, como demonstra a fig. 25. No entanto, a delimitação e o reconhecimento da organização do NS em plano paralelo é mais difícil, não tendo sido possível por vezes definir exactamente os seus limites quando se observava o NS neste plano, tal como se observa na fig. 29. No entanto, a utilização do Tricrómio de Masson evidencia o NS em plano paralelo, tornando mais fácil a sua delimitação, tal como demonstrado nas figs. 32 e 33.

As Vias Internodais, propostas por James e Racker (James *et al.*, 1996, Racker, 1999; James, 2001; Racker, 2003), não foram encontradas.

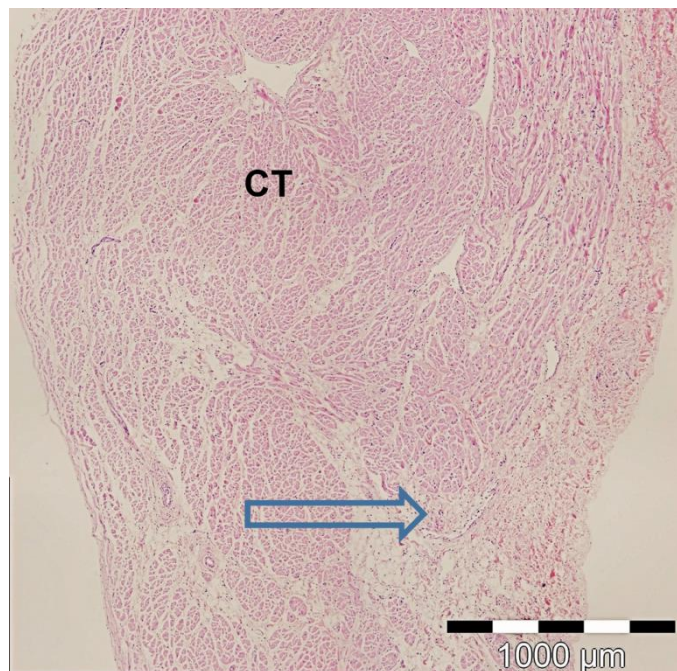


Fig. 24 – NS, corte transverso, 40x, HE. Neste caso, o NS foi encontrado abaixo da crista terminal, em direcção ao átrio. CT – crista terminal; seta azul – Nó Sinusal.

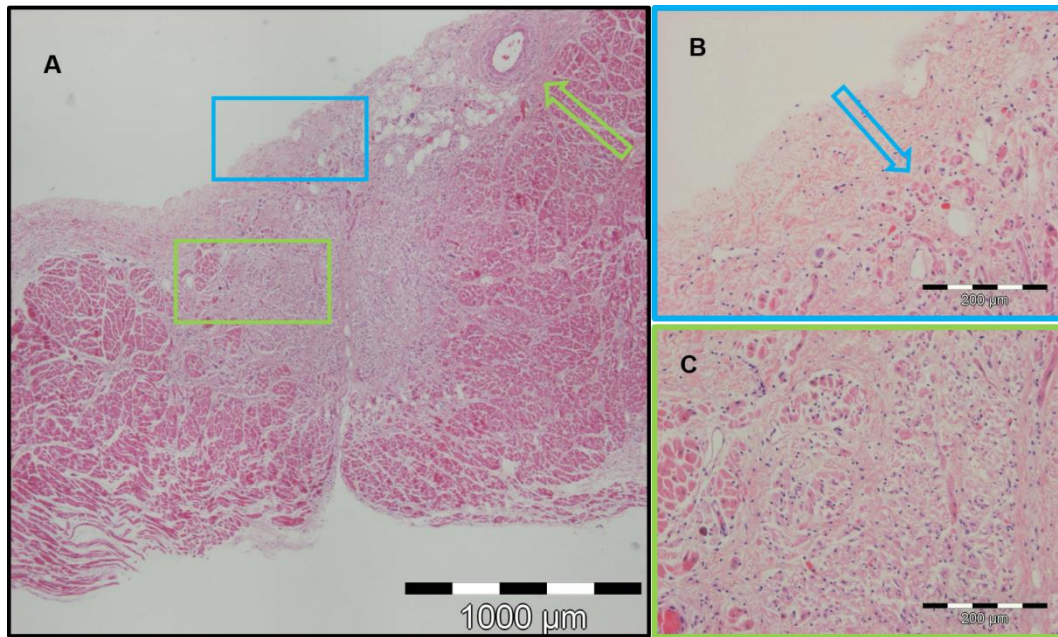


Fig. 25 – (A) – NS, corte transverso, 40x, HE. O NS está adjacente ao epicárdio, estando os seus limites mal definidos; a artéria nodal (seta verde) encontra-se localizada na periferia do Nó, também subjacente ao epicárdio, em direcção ao átrio. (B) – Ampliação da zona delimitada pelo rectângulo azul em A, 100x, HE. NS está rodeado por uma grande rede de capilares e pequenas vénulas, principalmente na junção com o epicárdio (seta azul); o NS é não capsulado, e está envolvido por tecido conjuntivo laxo. (C) – Ampliação da zona delimitada pelo rectângulo verde em A, 100x, HE. No centro do NS, aparecem apenas pequenos capilares, e em pouca quantidade.

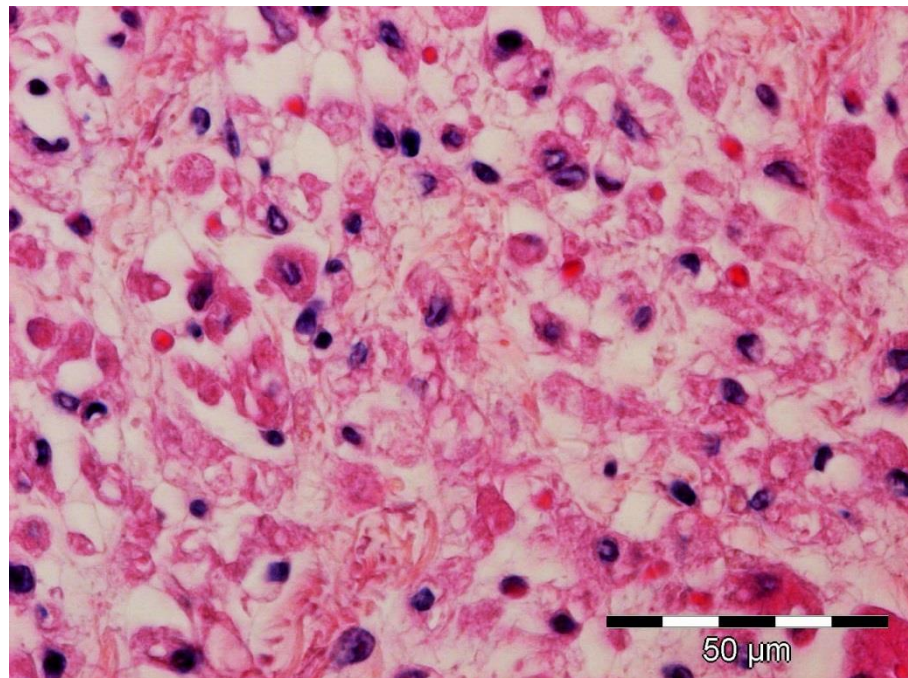


Fig. 26 – NS, corte transverso, 400x, HE. As células nodais são pequenas, arredondadas e estão organizadas em feixes que formam uma malha, dispostos em múltiplas direcções.

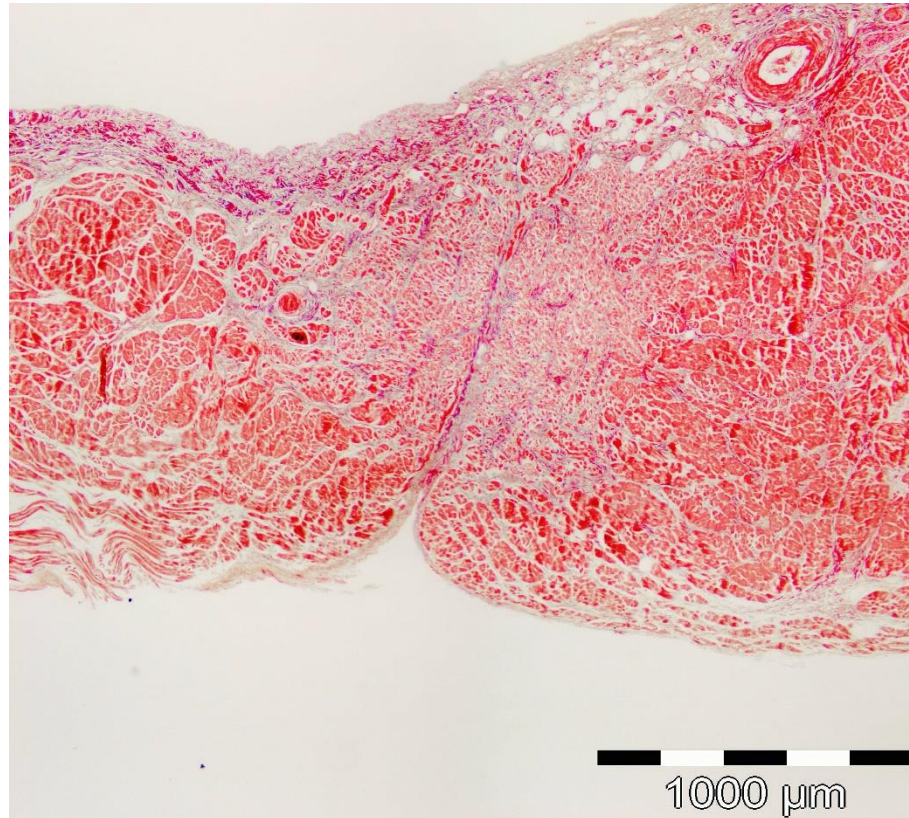


Fig. 27 – NS, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson. Quando utilizada esta coloração, o NS aparece mais azulado que o miocárdio de trabalho adjacente, devido ao seu alto conteúdo em finas fibras de colagénio.

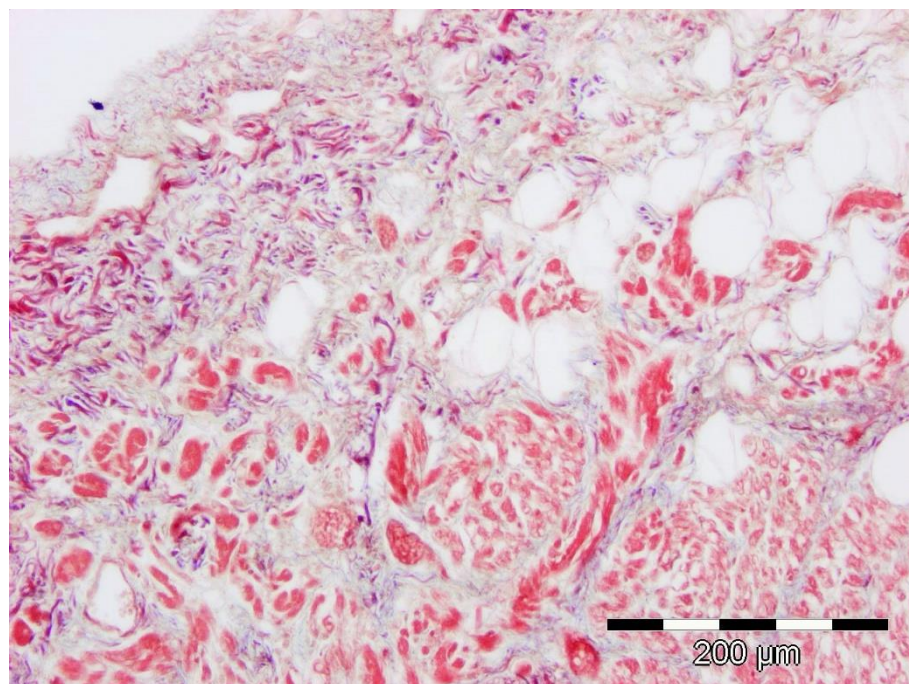


Fig. 28 – NS, corte transverso, 100x, Tricrómio de Masson. Observa-se o limite entre o tecido nodal e o epicárdio, uma vez que este assume uma coloração mais azulada, por conter mais colagénio que na região do Nó.

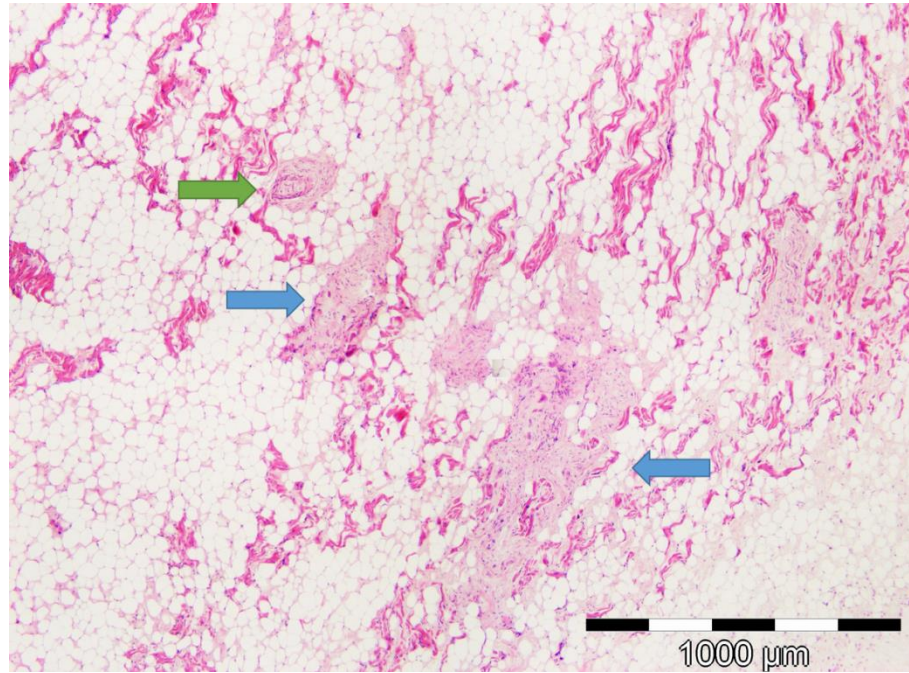


Fig. 29 – NS, corte paralelo, 40x, HE. Neste plano, observam-se áreas de tecido nodal (setas azuis) rodeadas por tecido adiposo e feixes nervosos. A artéria nodal (seta verde) está na periferia do Nó.

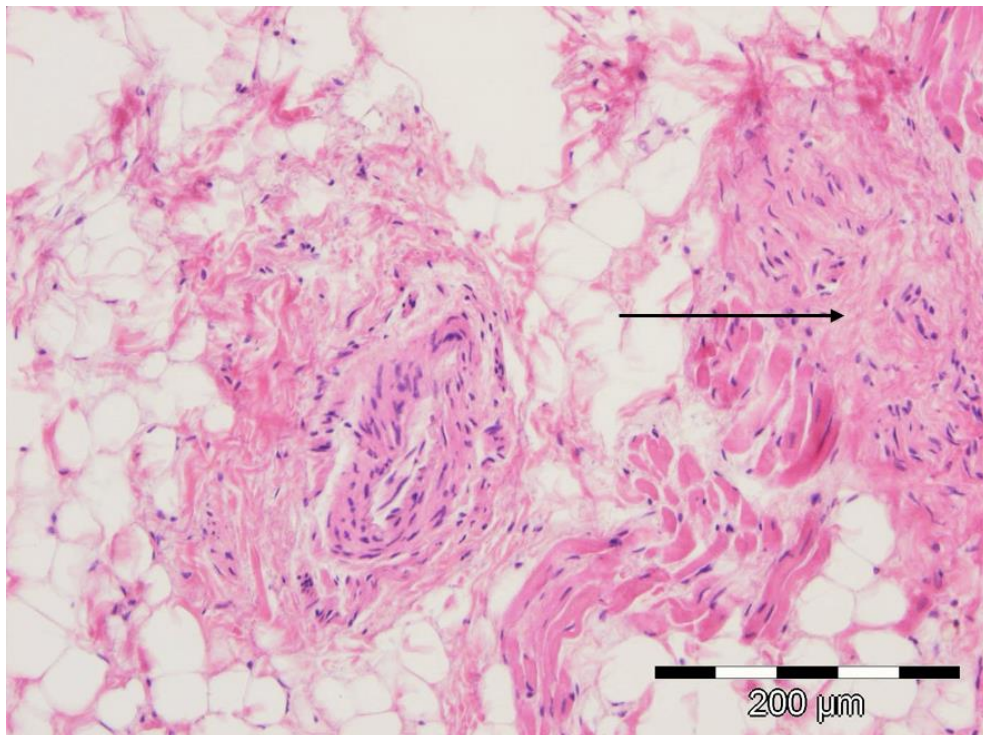


Fig. 30 – NS, corte paralelo, 100x, HE. Observam-se numerosos feixes de fibras nervosas intercaladas entre as células nodais; Seta preta – feixe nervoso.

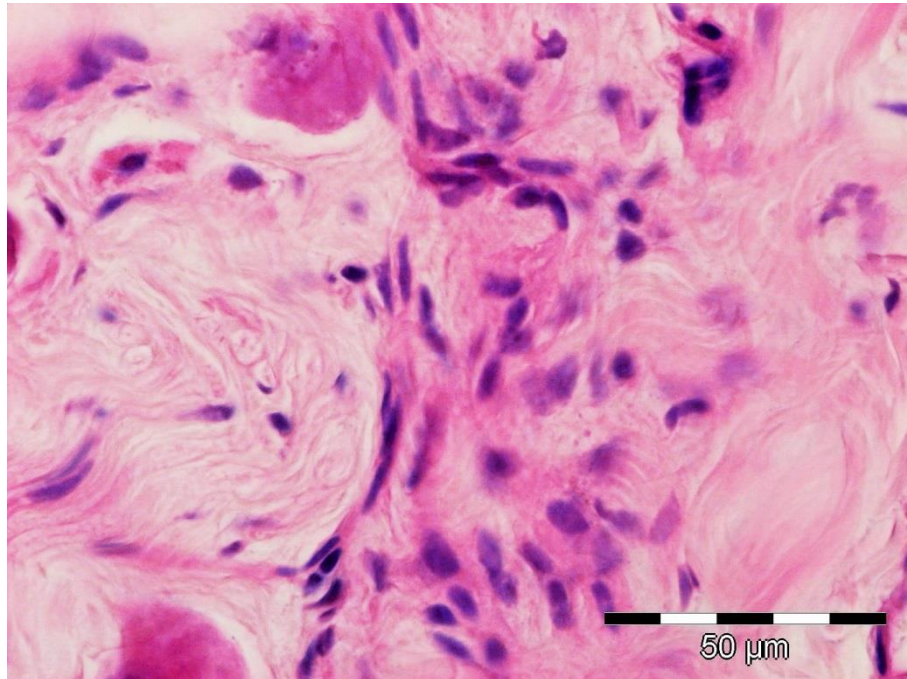


Fig. 31 – NS, corte paralelo, 100x. HE. São visíveis as células nodais, organizadas em várias direcções, e imersas numa matriz de colagénio abundante e junto a um feixe nervoso.

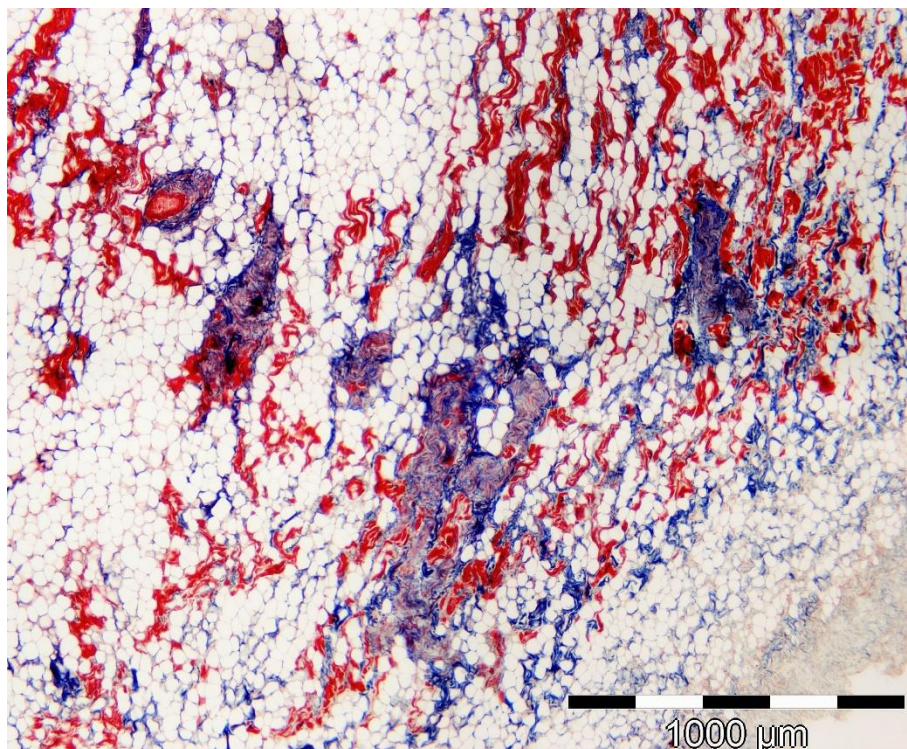


Fig. 32 – NS, corte paralelo, 40x, Tricrómio de Masson. Observa-se o NS em plano paralelo, envolvido por tecido adiposo, e onde se evidencia o colagénio das zonas do tecido nodal, que coram de azul, enquanto que as células do miocárdio normal de trabalho coram de vermelho vivo.

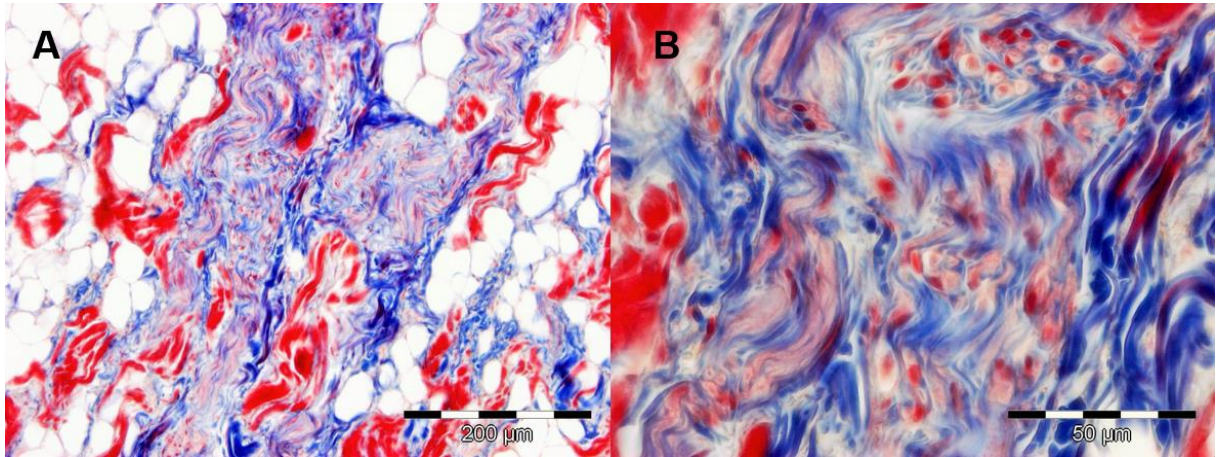


Fig. 33 – (A) – NS, corte paralelo, 100x, Tricrómio de Masson. A organização dos feixes celulares nodais (rosados) é evidente, bem como a matriz de colagénio (azul forte) que os rodeia. (B) – NS, corte paralelo, 400x, Tricrómio de Masson. A constituição celular do NS é evidenciada com o Tricrómio de Masson: as células nodais são pequenas e redondas, e coram de vermelho pálido, enquanto que a matriz de colagénio que as envolve cora de azul forte.

c. Nó Atrioventricular

A localização do Nó Atrioventricular revelou-se constante em todos os corações estudados, independentemente do seu tamanho (fig. 34).

A fig. 35 ilustra a histologia geral do NAV. O NAV está localizado na junção atrioventricular direita, na porção mais superior do septo interventricular (na porção de tecido mais delicado, denominado por septo membranoso), e está localizado sob o ponto de ancoragem do folheto septal da válvula tricúspide ao septo interventricular, tal como demonstra a fig. 36. Através do estudo desta região em corte transversal, foi possível demonstrar que o NAV ocupa uma posição central neste ponto de ancoragem, pois quando se dividia em cortes transversos o bloco de tecido da junção atrioventricular ilustrado anteriormente, o NAV estava sempre incluído nos fragmentos de tecido mais centrais. Através do estudo do NAV em corte paralelo, foi possível determinar que o NAV ocupa uma posição sub-endocárdica superficial.

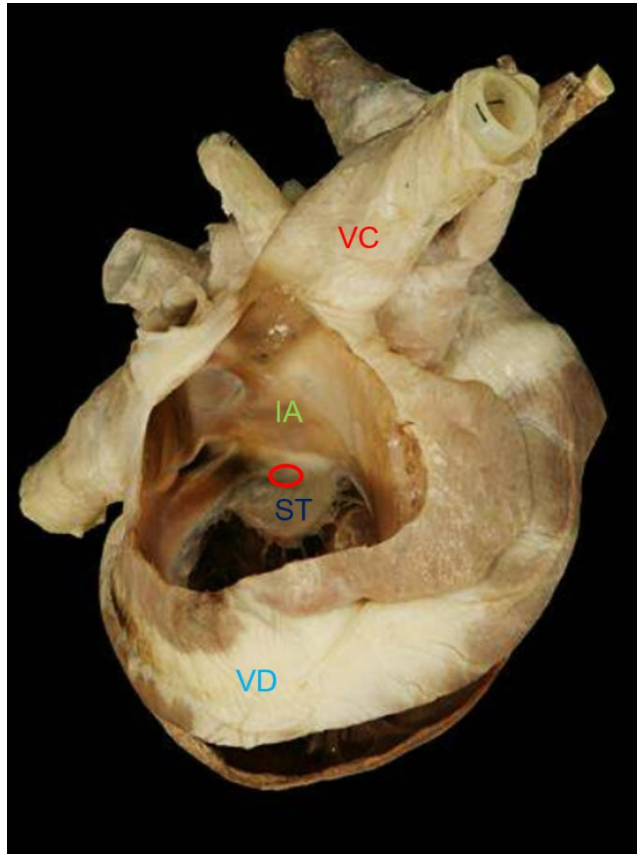


Fig. 34 - Vista crânio-lateral direita de um coração de cão, com a parede atrial direita excisada, onde está ilustrada a área onde se identificaram os Nós Atrioventriculares dos corações estudados (oval vermelha). VC - veia cava cranial; IA - septo interatrial; ST - folheto septal da válvula tricúspide; VD - ventrículo direito. Adaptado de Whalen (Whalen, 2003).

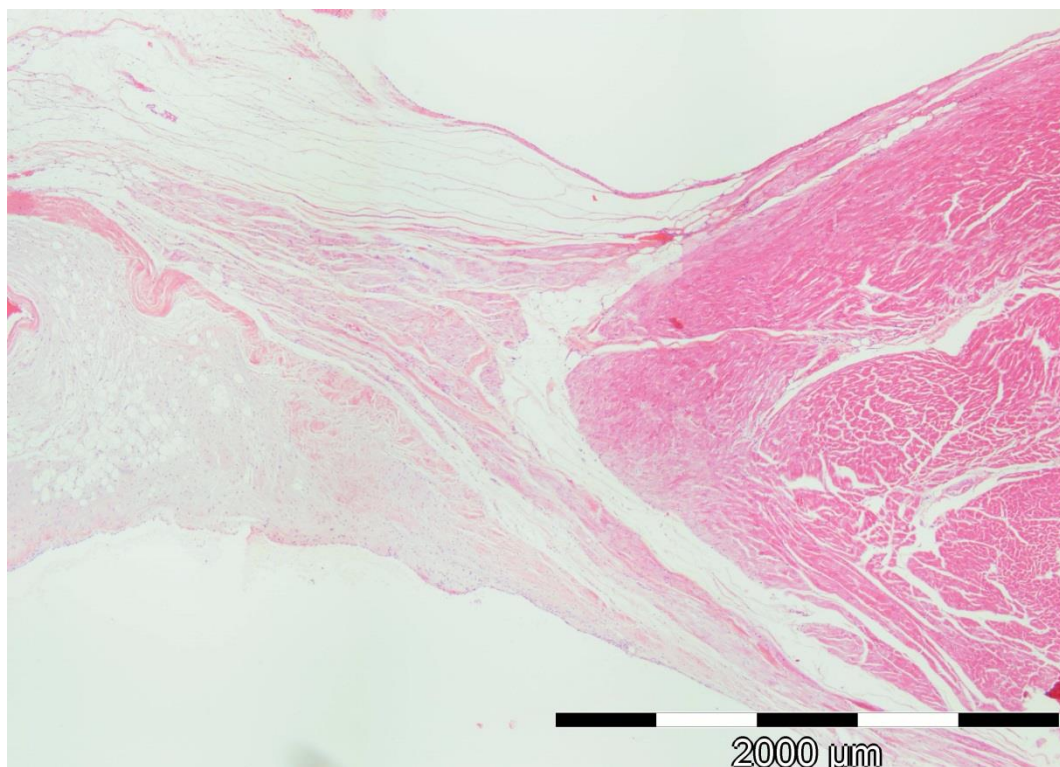


Fig. 35 - NAV, corte transverso, 40x, HE.

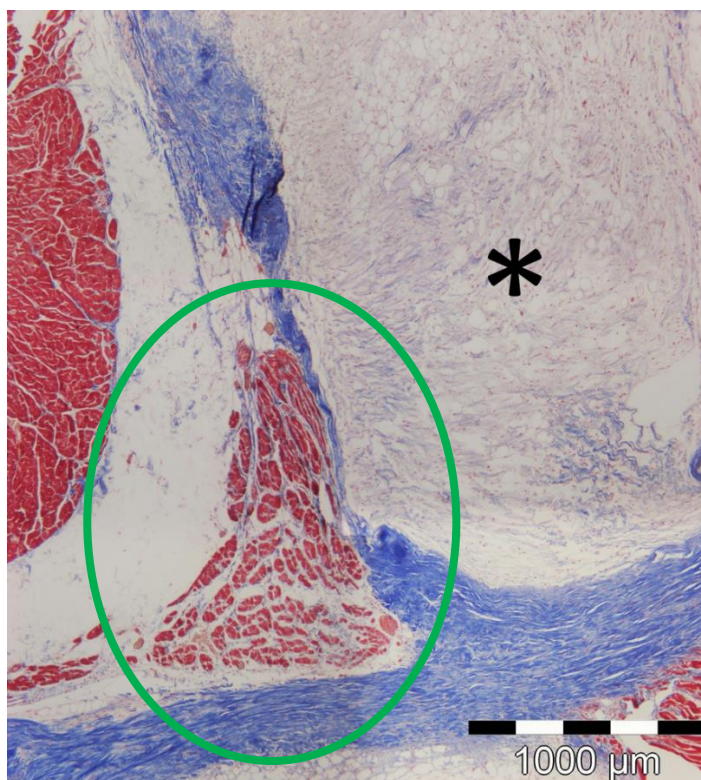


Fig. 36 – NAV, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson. É visível a localização do NAV (círculo verde) junto à inserção do folheto septal da válvula tricúspide (asterisco).

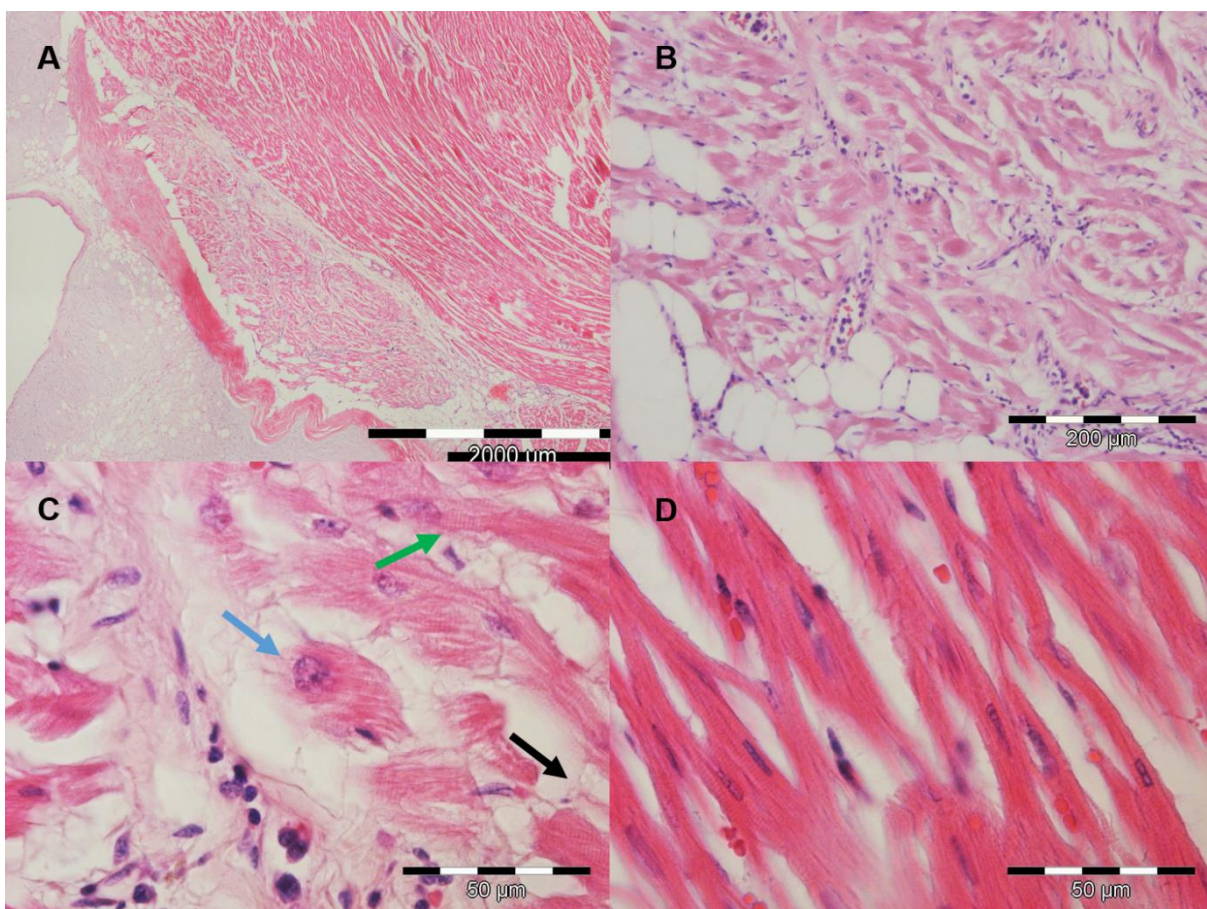


Fig. 37 – (A) – NAV, corte paralelo, 40x, HE. A orientação das células nodais em várias direcções é bastante visível; observa-se que o NAV está rodeado por tecido adiposo, sem libertar ramificações para o miocárdio

adjacente. (B) – NAV, corte paralelo, 100x, HE. Observa-se a orientação das células nodais em diferentes direcções. (C) – NAV, corte paralelo, 400x, HE. São observáveis nas células nodais as estriações celulares típicas das células musculares cardíacas (seta verde); as células nodais apresentam uma zona perinuclear transparente (seta azul), que se vai evidenciando em direcção à periferia do NAV; observam-se ainda as ramificações intercelulares (seta preta). (D) – Miocárdio ventricular de trabalho, corte paralelo, 400x, HE. Todas as células miocárdicas estão dispostas na mesma direcção, sem que haja uma zona perinuclear evidente.

Histologicamente, o NAV é formado por células de núcleo central e citoplasma filamentososo onde se observam estriações mais claras que as dos miócitos do miocárdio de trabalho adjacente. As células do NAV aparentam ser maiores que as células do Nó Sinusal. Em muitas células do NAV, é possível observar um halo branco à volta dos núcleos, formando uma zona perinuclear transparente, que se torna mais evidente em direcção à periferia do Nó; todas estas características estão demonstradas na fig. 37. As células nodais aparentam formar feixes, que estão rodeados por septos de tecido conjuntivo intercalados com grande número de pequenos vasos sanguíneos; esta característica é mais perceptível quando se observa o NAV corado com Tricrómio de Masson (os septos de tecido conjuntivo coram de azul, enquanto que os miócitos nodais coram de vermelho), tal como ilustra a fig. 38. Não se observou nenhum vaso sanguíneo consistentemente presente no interior e/ou na periferia de todos os Nós Atrioventriculares estudados.

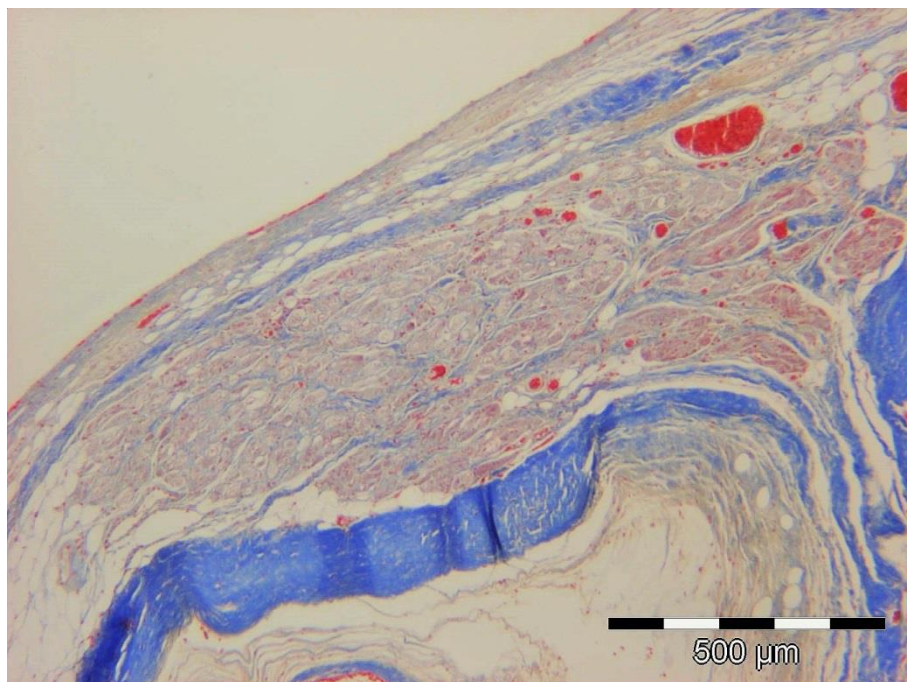


Fig. 38 – NAV, corte transversal, 40x, Tricrómio de Masson. O aspecto fibrilar do citoplasma é mais evidente do que quando corado com HE; podem observar-se os septos de tecido conjuntivo (de coloração azulada) a rodear os feixes celulares nodais, intercalados com grande número de pequenos vasos sanguíneos.

Os feixes celulares do NAV estão orientados em todas as direcções, o que lhe confere o mesmo aspecto quer seja visto em corte paralelo ou em corte transversal, enquanto que o

miocárdio adjacente, cujas células estão todas orientadas na mesma direcção, tem uma aparência distinta em cada plano, tal como demonstrado pelas figs. 37 e 39.

O NAV está rodeado por tecido adiposo, e não liberta ramificações para o miocárdio adjacente, tal como demonstrado pelas figs. 35 e 39. Entre as células miocárdicas e o tecido adiposo que rodeia o NAV podem ser encontradas fibras nervosas em grande quantidade, tal como demonstrado na fig. 40.

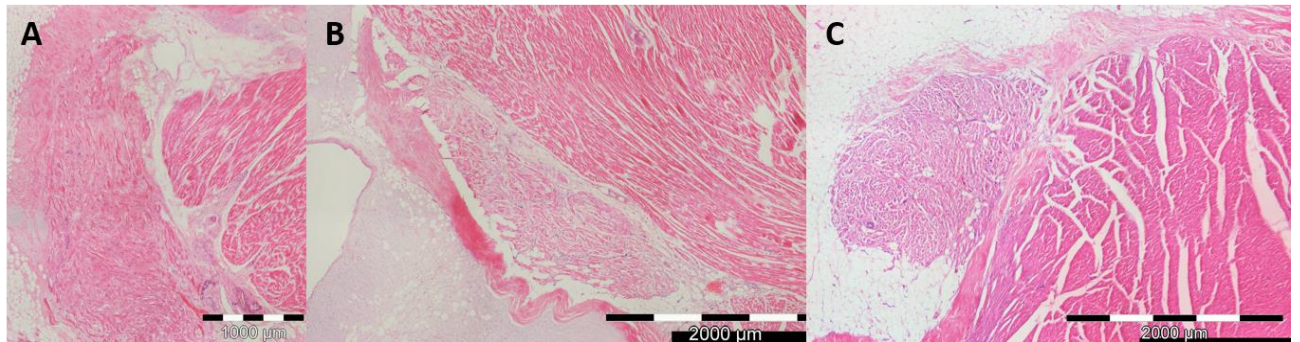


Fig. 39 – (A) e (B): NAV, corte paralelo, 40x, HE. (C): NAV, corte transverso, 40x, HE. Nestas 3 imagens, provenientes de 3 animais diferentes, a envólveça do NAV por tecido adiposo na face atrial (lado esquerdo da imagem) e por tecido conjuntivo na sua face ventricular (lado direito da imagem) é uma característica constante. Notavelmente, as células nodais têm a mesma aparência quer vistas em corte paralelo como em corte transverso, ao contrário das células miocárdicas ventriculares.

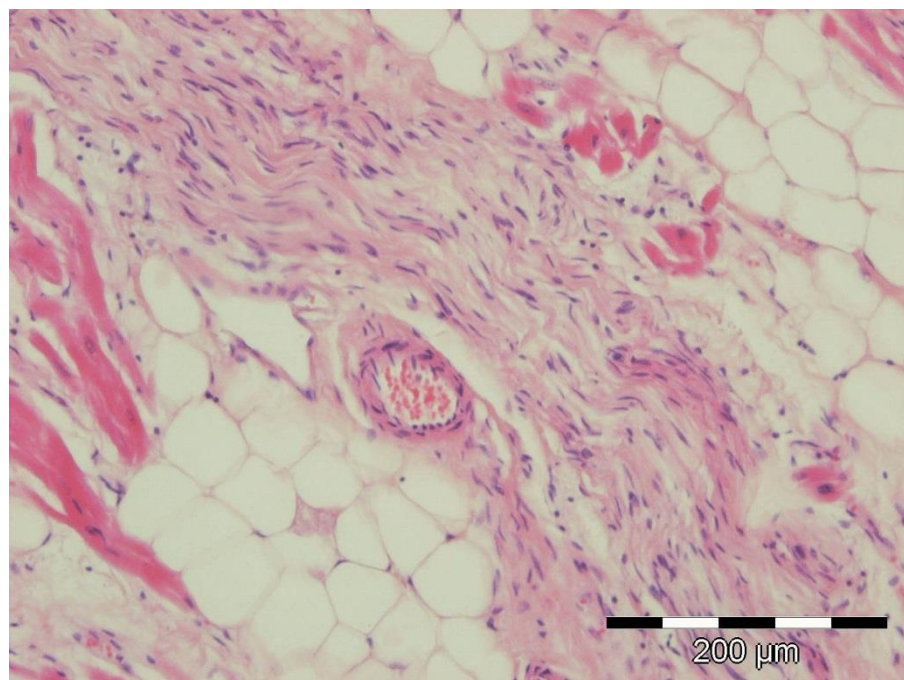


Fig. 40 – NAV, corte paralelo, 100x, HE. São visíveis fibras nervosas em grande quantidade, entre o tecido adiposo e as células miocárdicas.

Nas secções histológicas coradas com PAS, o NAV aparece intersectado por septos corados de rosa forte, devido ao seu alto conteúdo em glicogénio. Com esta coloração, é possível verificar que os feixes celulares que compõem o NAV estão revestidos por uma bainha que contém colagénio (que cora de azul forte com o Tricrómio de Masson) e com

glicogénio, que cora de rosa forte com o PAS; estas características são demonstradas pelas figs. 41 e 42.

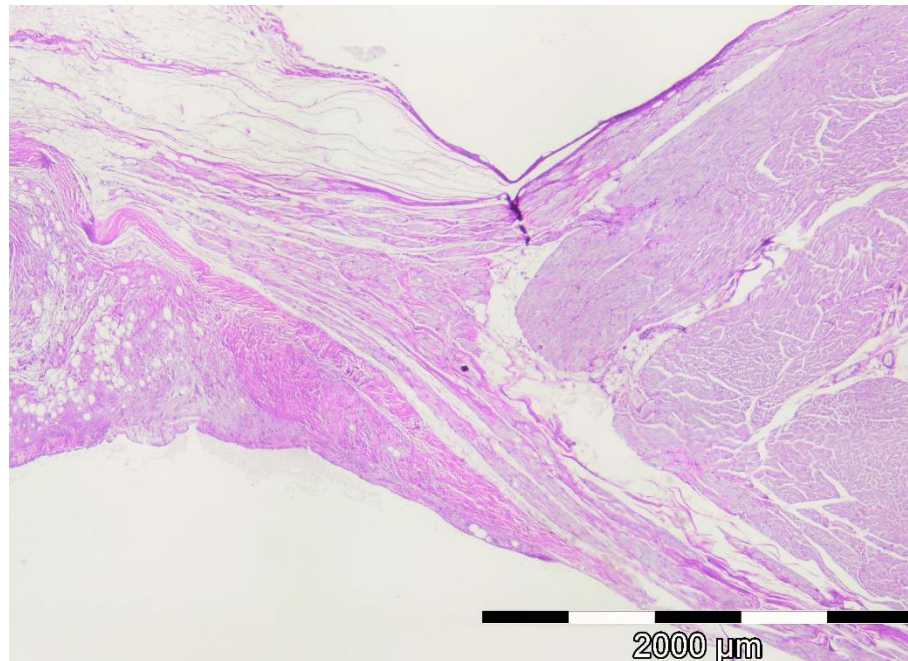


Fig. 41 – NAV, corte transverso, 40x, PAS. O PAS põe em evidência o alto conteúdo em glicogénio do NAV, corando aquela substância de rosa forte.

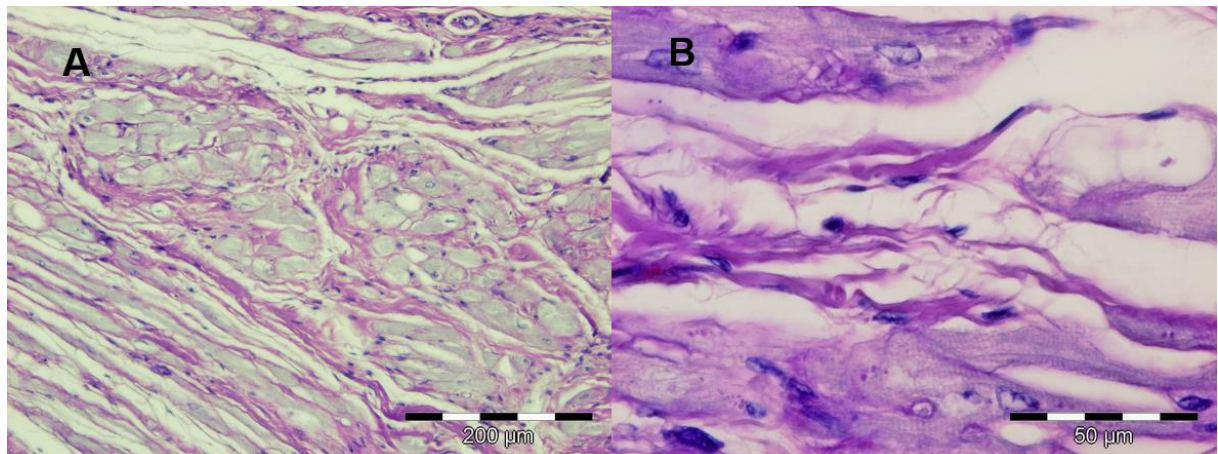


Fig. 42 – (A) – NAV, corte transverso, 100x, PAS. Os feixes celulares nodais são envolvidos por glicogénio, que cora de rosa forte. (B) - NAV, corte transverso, 400x, PAS. A zona perinuclear transparente é evidente, bem como o glicogénio que reveste as células nodais.

d. Feixe Atrioventricular

O Feixe Atrioventricular está localizado continuamente ao Nó Atrioventricular, entre o septo membranoso e o septo muscular interventricular. Quando atinge a porção muscular do septo interventricular, o FAV divide-se em dois ramos, o Ramo Esquerdo e o Ramo Direito.

Na sua porção inicial, os Ramos Esquerdo e Direito do FAV têm um percurso sub-endocárdico no septo interventricular, tendo apenas tecido conjuntivo a separá-los do lúmen

das câmaras ventriculares cardíacas, como demonstra a fig. 43. Histologicamente, não foi possível evidenciar o limite entre o NAV e o FAV nos corações estudados, como demonstra a fig. 43.

Os ramos do FAV estão envolvidos por bainhas de colagénio, que são melhor visualizadas quando se coram as secções histológicas com o Tricrómio de Masson. As células do FAV são semelhantes às células nodais do NAV, embora se tornem progressivamente maiores e a sua zona perinuclear se torne mais evidente, como demonstra a fig. 44. No interior do FAV, não se encontram vasos sanguíneos de grande calibre nem grande quantidade de adipócitos.

Quando coradas com PAS, é possível observar nas secções histológicas a bainha rica em glicogénio que reveste os ramos do Feixe Atrioventricular. O uso desta coloração permitiu a distinção entre a bainha de tecido conjuntivo rica em glicogénio e colagénio que reveste o FAV e os seus ramos do tecido conjuntivo pertencente às válvulas cardíacas. As figs. 45-47 ilustram uma secção histológica do FAV e seus ramos corada com PAS, onde é visível a existência de glicogénio a revestir estas estruturas.

Com os métodos já descritos neste trabalho, não foi possível seguir o restante percurso destas estruturas.

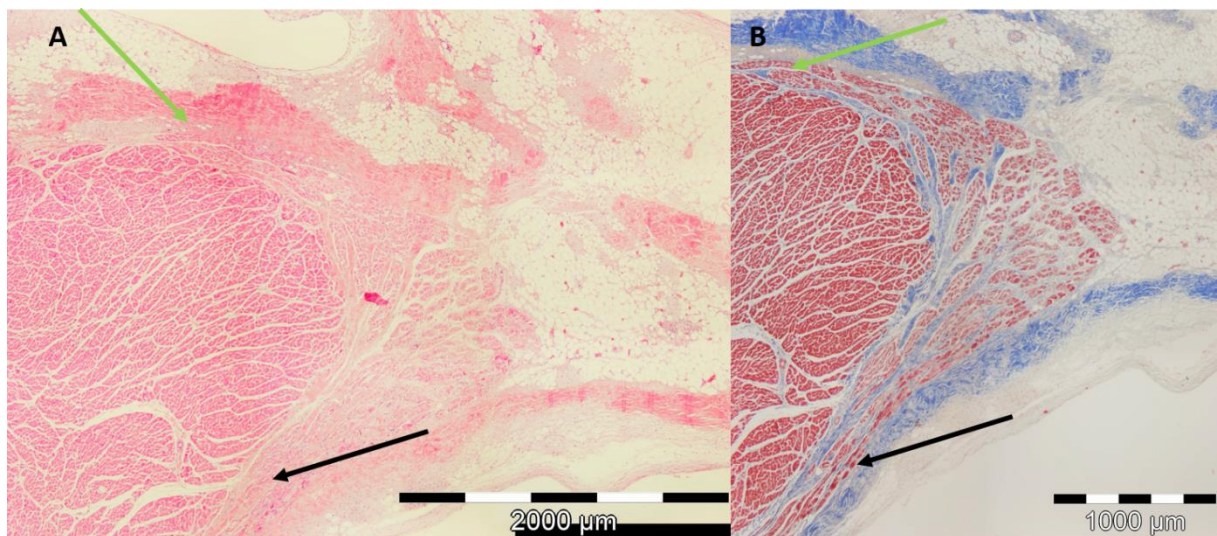


Fig. 43 – (A): NAV e Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, HE. (B): NAV e Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson. Em ambas as imagens, pertencentes ao mesmo coração, é visível o FAV em continuidade com o NAV, bem como o Ramo Direito (setas verdes) e o Ramo Esquerdo (setas pretas).

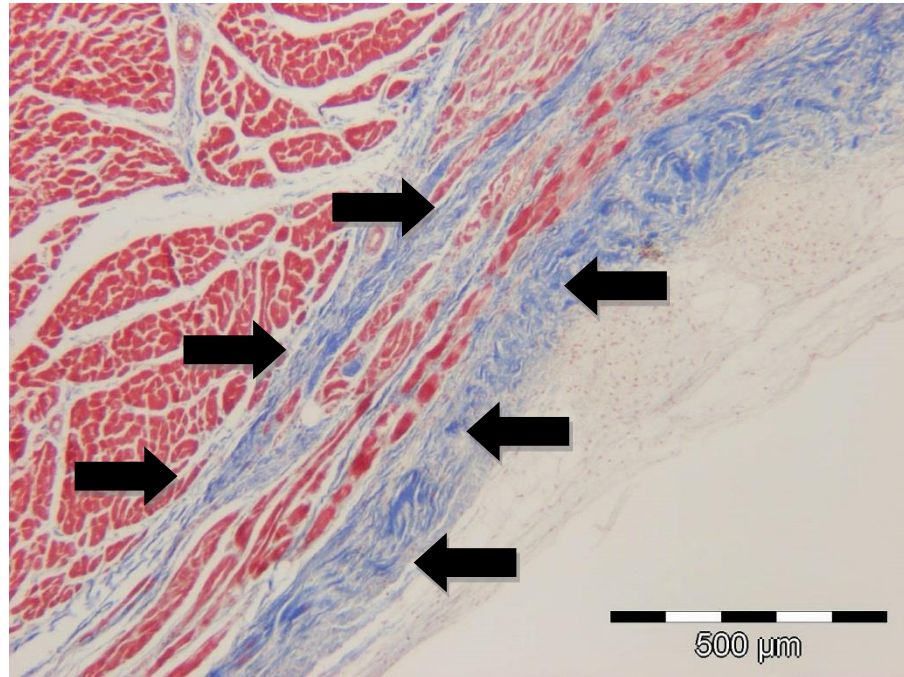


Fig. 44 – Ramo Esquerdo do FAV, corte transverso, 40x, Tricrómio de Masson. São visíveis as zonas perinucleares transparentes de tamanho progressivamente maior, bem como o isolamento do Ramo Esquerdo por uma bainha de colagénio (setas pretas).

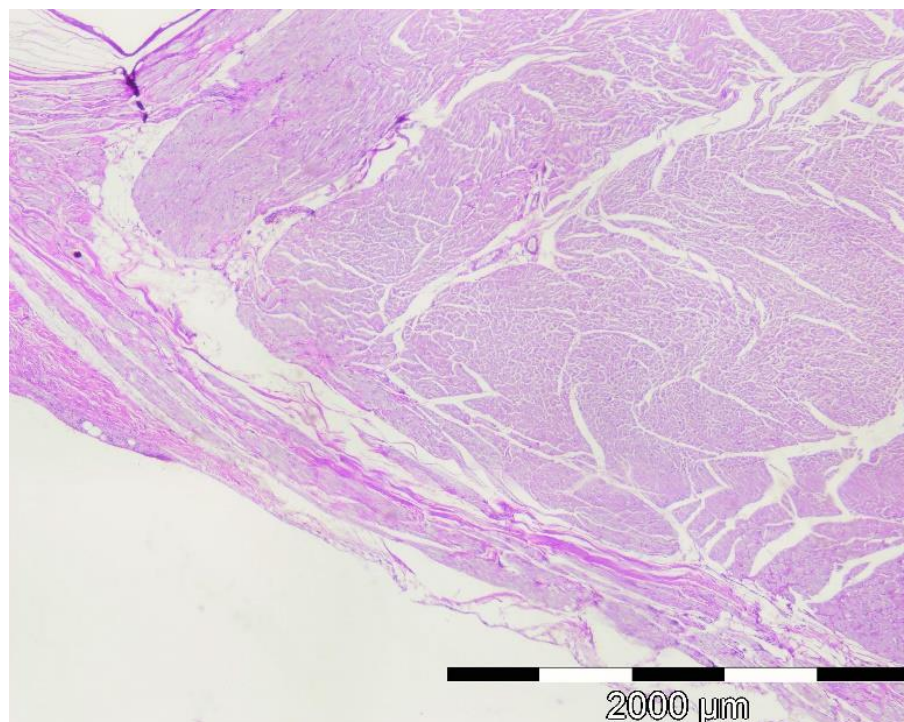


Fig. 45 – Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS. O PAS põe em evidência o Ramo Esquerdo do FAV, ao evidenciar o seu revestimento de glicogénio.

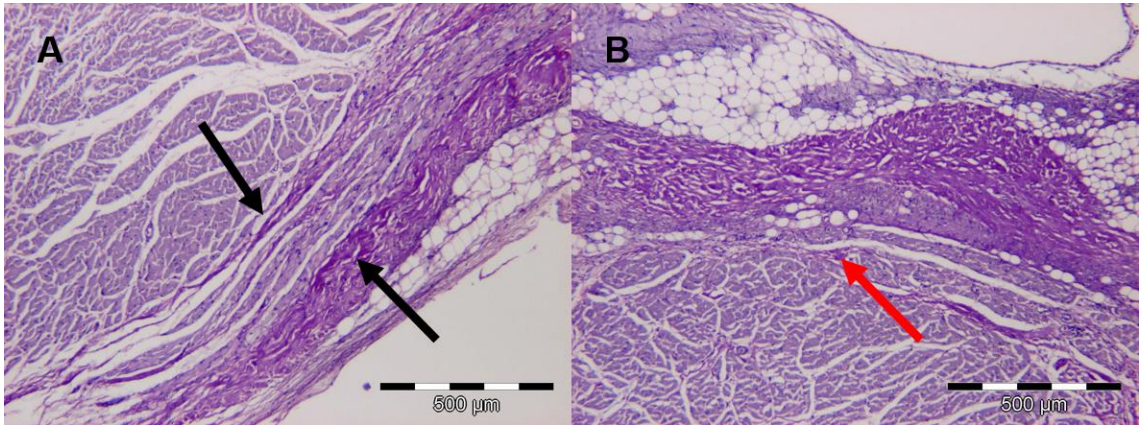


Fig. 46 – (A) Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS. (B) – Ramo Direito do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 40x, PAS. Em ambas as imagens, é visível que o revestimento por glicogênio do Ramo Esquerdo (setas pretas) é significativamente mais abundante que o do Ramo Direito (seta vermelha).

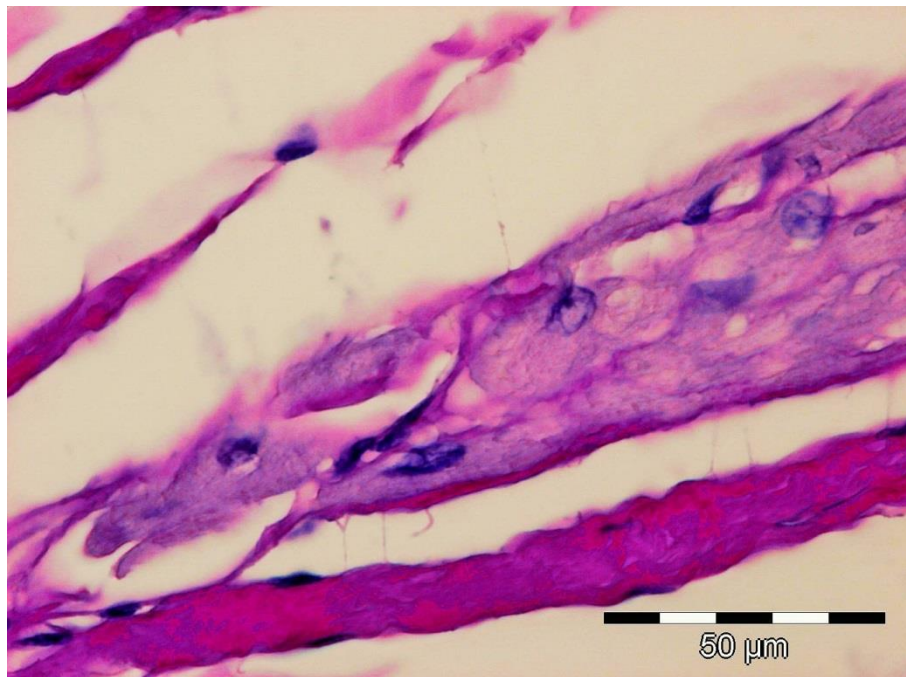


Fig. 47 – Ramo Esquerdo do Feixe Atrioventricular, corte transverso, 400x, PAS. Presença abundante de colagênio a revestir as células especializadas.

4. Discussão

a. Métodos de Estudo do Sistema de Condução

Os protocolos de estudo do Sistema de Condução Cardíaco (SCC) propostos por Liu, Bishop, Guarda e Mandelli e outros autores (Liu, 1992; Robinson & Maxie, 1993; Bishop, 1999; Crick *et al.*, 1999; Racker, 1999; Guarda & Mandelli, 2002; Sánchez-Quintana & Ho, 2003) mostraram-se muito úteis na realização deste estudo. No entanto, quanto ao estudo do Nó Sinusal, constatou-se que no cão, todo o tecido da junção veia cava – átrio direito deve ser preservada para estudo (e não apenas a região da crista terminal), devido à localização do NS do cão ser variável, como já foi referido nos resultados. Como medida de poupança de recursos, é aconselhável recolher todo o tecido da junção veia cava – átrio direito, colocá-lo em diferentes cassetes numeradas (anotando a localização de origem das peças histológicas contidas em cada cassete), processar e incluir todos os tecidos em parafina e depois estudar apenas as peças provenientes das localizações mais cranio-laterais. No caso de o NS não se encontrar presente nestas peças, deverão ser então estudadas as peças histológicas das cassetes seguintes, garantindo assim que o NS é encontrado.

Em relação ao estudo do Nodo Atrioventricular, existe um factor importante que deve ser considerado. Racker refere que, para o estudo do NAV, deve ser retirado um bloco de tecido que contenha 1 cm de músculo atrial e 0.5 cm de músculo ventricular (Racker, 1999). No entanto, em animais mais pequenos, verificou-se que, ao retirar tanto tecido atrial, poderia ocorrer dano do Nó Sinusal, impedindo assim o estudo do NS e do NAV no mesmo animal. Assim, deve ser retirado primeiro o bloco de tecido para o estudo do SN e só posteriormente o do NAV, com o tecido atrial restante; isto não tem influência no estudo do NAV, uma vez que este não tem uma localização tão cranial que ultrapasse o seio coronário, que deve ser usado como ponto de referência para a divisão entre estes dois blocos.

Quanto aos planos de corte (paralelo ou transverso), existem diferenças importantes entre as diferentes estruturas do SCC. O NS foi mais facilmente visualizado quando estudado em plano transverso: neste plano, a delimitação do Nó foi mais evidente, bem como a sua relação com a artéria nodal e o miocárdio de trabalho adjacente. O NAV, por contraste, foi igualmente observado quer em plano paralelo ou em plano transverso; no entanto, o Feixe Atrioventricular foi melhor estudado em corte transverso, uma vez que a sua divisão aparece claramente. Assim, e devido ao facto de não ser possível realizar ambos os planos de corte no mesmo coração, o plano transverso apresenta-se como a melhor opção de estudo histológico do SCC, tal como foi referido por Sánchez-Quintana e Ho (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

Quanto às colorações especiais, o Tricrómio de Masson revelou-se muito útil na delimitação dos limites do NS, NAV e FAV, uma vez que o tecido nodal aparece azulado,

devido ao seu alto conteúdo em colagénio, e o miocárdio de trabalho aparece vermelho escuro (Liu, 1992; Robinson & Maxie, 1993). A coloração com PAS também foi especialmente útil, em especial para o NAV e FAV, pois permitiu distinguir o tecido de condução (rico em glicogénio e, por isso, de coloração rosa forte) do tecido conjuntivo de suporte das válvulas cardíacas, que também cora de azul com o Tricrómio de Masson, por também ser rico em colagénio (Liu, 1992).

b. Nó Sinusal

Anderson e outros autores referem que o Nó Sinusal está localizado no sulco terminal, formado pela junção lateral da veia cava cranial com a parede atrial direita (Anderson *et al.*, 1983; Oosthoek *et al.*, 1993a; Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Neste trabalho, o Nó Sinusal apresentou uma localização variável, que não demonstrou ter nenhuma relação com o tamanho dos animais/corações: o NS foi encontrado tanto ao longo da crista terminal como acima ou abaixo desta (em direcção à veia cava cranial ou ao átrio direito, respectivamente), e tanto ocupou uma posição predominantemente cranial ou predominantemente latero-caudal, em relação à crista terminal.

Ao contrário do que se verifica na maioria das espécies (Boyett *et al.*, 2000), o Nó Sinusal do cão não parece estender-se à veia cava caudal. Tal como referido por Boyett *et al.*, o Nó Sinusal não se prolongou até ao endocárdio da crista terminal, sendo claramente visível uma banda de tecido muscular a separar o NS da face endocárdica atrial (Boyett *et al.*, 2000),

Tal como descrito por outros autores (James *et al.*, 1966; Sánchez-Quintana & Ho, 2003), no cão, o NS é formado por uma rede de células de pequenas dimensões, com citoplasma pouco eosinofílico, que formam feixes entrelaçados sem nenhuma direcção específica. James (James *et al.*, 1966) descreve a existência de capilares, fibrócitos e nervos na matriz extracelular do NS; nos corações examinados neste trabalho, também foi encontrada uma rede de capilares e pequenas vénulas, em especial na junção do NS com o epicárdio. Para além disto, foram também encontrados nervos de grandes dimensões e tecido adiposo, intercalados com as células nodais, em especial na periferia do NS. Tal como é referido por James *et al.* (James *et al.*, 1966), a homogeneidade do NS varia tanto em diferentes áreas, como de coração para coração, tal como foi observado neste trabalho.

Thomas James refere a existência de células de transição no interior do Nó Sinusal do cão (James *et al.* 1966); neste trabalho, não foi possível observar a existência destas células, observando-se apenas células miocárdicas normais e células nodais pequenas e esféricas – as “células” P referidas por James.

Na periferia do Nó, encontrou-se por vezes uma zona em que feixes de células nodais estavam intercalados com fibras musculares normais; este achado vai ao encontro do modelo do mosaico (Dobrzynski *et al.*, 2005), segundo o qual existe uma mistura de células atriais e células nodais na periferia do NS. No entanto, tal como nos estudos realizados por Dobrzynski (Dobrzynski *et al.*, 2005), não foram encontrados miócitos atriais de trabalho no centro do NS com as técnicas realizadas, não correspondendo integralmente ao modelo de mosaico.

Em todos os Nós Sinusais examinados, encontrou-se uma artéria nodal, que teve uma localização variável na periferia do Nó; este achado vai ao encontro do referido na bibliografia existente (James *et al.*, 1966, Boyett *et al.*, 2000).

Tal como referido na bibliografia existente (Mazgalev *et al.*, 2001), as células dos Nós Sinusais observados no presente trabalho preenchem apenas dois dos critérios de Aschoff-Monckeberg, uma vez que o NS é discernível do miocárdio adjacente e é possível seguir a sua extensão em secções histológicas seriadas, mas não está isolado do miocárdio adjacente por tecido conjuntivo, tal como acontece em outras espécies. Esta falta de isolamento por tecido conjuntivo está de acordo com a função de comunicação com as células atriais de trabalho desempenhada pelo NS.

c. Nó Atrioventricular

A localização do Nó Atrioventricular mostrou-se constante em todos os corações examinados, independentemente do seu tamanho, localizando-se esta estrutura na junção atrioventricular direita, no septo membranoso, sob o folheto septal da tricúspide; esta localização está de acordo com o referido na bibliografia consultada (Anderson *et al.*, 1983; Racker, 2003).

Neste trabalho, observou-se que o NAV é formado por células de núcleo central e citoplasma fibrilar, onde se observam estriações mais claras que as dos miócitos do miocárdio normal de trabalho, bem como uma zona perinuclear transparente. Estes resultados vão ao encontro do referido para o cão por Racker e Kadish (Racker & Kadish, 2000). Para além disto, e segundo estes autores, existem também fascículos nervosos que terminam nos miócitos do NAV (Racker & Kadish, 2000); esta característica anatómica também foi confirmada neste trabalho. Racker e Kadish referem ainda a existência de prolongamentos celulares finos, em forma de dedos, nos miócitos nodais do cão (Racker & Kadish, 2000). Esta característica das células nodais foi facilmente observada nos corações examinados.

Nos corações em estudo, as células nodais aparentaram formar feixes rodeados por septos de tecido conjuntivo; estes feixes celulares estavam orientados em várias direcções. Estas características celulares vão ao encontro do referido por Racker e Kadish, segundo os quais os fascículos celulares do NAV do cão formam uma malha, chegando a formar um

remoinho, e permitindo assim a distinção entre o NAV e o miocárdio de trabalho adjacente, já que neste último os miócitos estão todos alinhados na mesma direcção, e com pouco tecido conjuntivo entre eles (Racker & Kadish, 2000; Racker, 2003).

Racker refere que o NAV, ao contrário do NS, não contém grandes quantidades de tecido adiposo, gânglios nervosos ou vasos sanguíneos de grande calibre no seu interior (Racker, 2003); os Nós Atrioventriculares examinados neste trabalho mostram as mesmas características e, embora estejam presentes bastantes capilares não foi possível encontrar nenhum vaso sanguíneo consistentemente presente no interior e/ou na periferia de todos os NAV's estudados.

Em humanos e outras espécies, o NAV é constituído por uma porção compacta e por uma zona de células de transição (Inoue & Becker, 1998; Mazgalev *et al.*, 2001); nos NAV's examinados neste trabalho, não foi possível observar nenhuma zona de transição, o que vai ao encontro do referido por Sánchez-Quintana e Ho, segundo os quais o NAV do cão não apresenta zona de transição (Sánchez-Quintana & Ho, 2003).

Tal como referido na bibliografia existente (Mazgalev *et al.*, 2001), os NAV's examinados neste trabalho cumprem apenas dois dos critérios de Aschoff-Monckeberg; as suas células são morfológicamente distintas e o percurso desta estrutura pode ser seguido em secções histológicas seriadas, mas o NAV não está isolado do miocárdio de trabalho adjacente.

Recorrendo às técnicas histológicas utilizadas, não foi possível observar as células semelhantes às células nodais em redor do ânulo da válvula tricúspide, como referido por McGuire e seus colegas (McGuire *et al.*, 1994), em estudos realizados em corações suínos. Para se encontrarem estas células, seria necessário recorrer a blocos de tecido diferentes dos utilizados, o que dificultaria o estudo do NAV.

O Feixe Atrioventricular Proximal, proposto para o coração do cão por alguns autores (Racker, 1999; Racker & Kadish, 2000), também não foi encontrado, apesar de várias secções de tecido adjacente ao NAV terem sido examinadas neste trabalho, mais especificamente, toda a inserção do folheto septal da válvula tricúspide, incluindo a metade posterior do folheto septal onde, segundo os autores referidos, o FAP se encontra.

d. Feixe Atrioventricular

O estudo histológico do Feixe Atrioventricular realizado no presente trabalho demonstrou que esta estrutura é composta por células semelhantes às células nodais do Nó Atrioventricular, que se tornam progressivamente maiores ao longo do percurso do Ramo Esquerdo e do Ramo Direito e ficam com uma zona perinuclear transparente progressivamente mais evidente; estas características estão de acordo com as referidas na

bibliografia consultada referente ao cão (Racker & Kadish, 2000). Para além disto, o FAV e os seus ramos estão envolvidos por bainhas de colagénio ao longo do seu percurso, que isolam estas estruturas do miocárdio de trabalho adjacente; mais uma vez, esta característica está referida para o cão em estudos anteriores (Racker & Kadish, 2000).

Nos corações examinados, o FAV estava localizado continuamente ao NAV, entre o septo membranoso e o septo muscular interventricular, dividindo-se em Ramo Esquerdo e Ramo Direito quando atinge esta porção muscular; isto é semelhante ao que ocorre no FAV humano, embora no humano esta divisão possa também ocorrer no lado esquerdo do septo interventricular (Anderson *et al.*, 1983), o que não se verificou em nenhum dos corações caninos examinados neste trabalho.

Quando se coraram as secções histológicas com PAS, foi possível verificar que o Ramo Esquerdo tinha uma bainha rica em glicogénio substancialmente mais evidente do que a bainha que revestia o Ramo Direito. Este facto pode justificar porque é que, em trabalhos anteriores, onde se tentou corar esta bainha com Tinta-da-China para seguir o percurso dos ramos do Feixe Atrioventricular (Ansari *et al.*, 1999) foi muito mais difícil seguir o percurso do Ramo Direito. Para além disto, Sánchez-Quintana e Ho referem que, por vezes, é possível observar macroscopicamente o percurso do Ramo Esquerdo devido ao brilho da lâmina fibrosa que o envolve (Sánchez-Quintana & Ho, 2003). Isto pode também ser explicado pelo seu alto conteúdo em glicogénio, ao contrário do que ocorre no Ramo Direito.

O facto de estar isolado do miocárdio adjacente por uma bainha de colagénio faz com que o FAV seja a primeira estrutura do SCC a cumprir os três critérios de Aschoff-Monckeberg, tal como referido por Mazgalev e outros autores (Mazgalev *et al.*, 2001).

e. Vias Internodais e outros componentes do Sistema de Condução Cardíaco

James e Racker defendem a existência das Vias Internodais, feixes de tecido especializado que efectuam a condução do impulso sinusal desde o Nó Sinusal ao Nó Atrioventricular, tanto no cão como no humano (James *et al.*, 1996, Racker, 1999; James, 2001; Racker, 2003). Nos corações examinados neste trabalho, não foi encontrada nenhuma evidência da existência destes tractos especializados. Em cada coração, foi examinada a secção histológica que continha o NS, bem como as secções adjacentes a esta; o mesmo foi efectuado para os blocos de tecido do NAV. Estas porções de tecido são sensivelmente as mesmas que James utilizou para estudar as Vias Internodais (James, 2001), mas ainda assim não foi possível encontrar estes tractos. Para além disto, alguns blocos de tecido utilizados neste estudo para o exame do NAV foram os mesmos que os propostos por Racker (Racker, 1999; Racker, 2003) para o estudo das porções distais das Vias Internodais, e mais uma vez

não foi possível encontrar estes tractos. Assim, a hipótese apresentada por Anderson *et al.*, segundo os quais a condução entre o NS e o NAV se faz a partir da organização anisotrópica do miocárdio atrial (Anderson *et al.*, 2004) parece ser, à luz destes resultados, a mais provável.

Nenhum dos componentes adicionais do SCC – o Anel Nodal Tricúspide, o Anel Nodal Mitral e o Nó Retro-Aórtico (Hoogars *et al.*, 2004; Hoogars *et al.*, 2007; Yanni *et al.*, 2009) – foi encontrado nos corações examinados neste trabalho; isto não significa necessariamente que estas estruturas não estivessem presentes, dado que os trabalhos mencionados foram realizados com recurso à imuno-histoquímica, o que não aconteceu no presente estudo. Possivelmente, estes novos componentes do SCC não são morfológicamente muito distintos, e por essa razão não foram observados no exame histológico.

5. Conclusão

Com a realização deste trabalho, obtiveram-se as seguintes conclusões:

- A localização do NS não é constante no cão, devendo preservar-se todo o anel de tecido da junção veia cava – átrio direito quando se pretende estudar este Nó;
- A localização do NAV do cão é constante, encontrando-se esta estrutura na junção atrioventricular direita, na porção membranosa do septo interventricular, e a sua constituição histológica está de acordo com o descrito na bibliografia anteriormente referida;
- O NS, NAV e FAV são melhor estudados em plano transversal;
- O PAS é útil na observação do NAV e FAV, e o Tricrómio de Masson demonstrou ser uma ferramenta útil na observação dos três componentes estudados;
- No cão, o NS não parece estender-se à veia cava caudal, como seria de esperar em comparação com outras espécies;
- O NS tem um aspecto heterogéneo e variável entre indivíduos, tal como esperado;
- Não foram observadas células de transição no interior do NS;
- A constituição dos NS's observados não corresponde totalmente nem ao Modelo do Mosaico nem ao Modelo do Gradiente;
- A artéria nodal encontra-se constantemente presente nos NS's estudados, e estes não estavam isolados do miocárdio adjacente por tecido conjuntivo;
- Ao contrário do referido para outras espécies, não se observou a existência de uma zona de transição no NAV do cão;
- O Feixe Atrioventricular Proximal, bem como as Vias Internodais, o Anel Nodal Tricúspide, o Anel Nodal mitral e o Nó Retro-Aórtico não foram encontrados;
- A bainha de tecido conjuntivo do Ramo Esquerdo do FAV tem um conteúdo em glicogénio mais exuberante do que o do Ramo Direito, facilitando a sua visualização.
- Em todos os corações observados, a divisão do FAV ocorreu na porção membranosa do septo interventricular, não havendo perfuração da porção muscular do septo por tecido de condução.

Através do conhecimento da localização anatómica e estrutura histológica dos principais componentes do SCC do cão, é possível realizar necrópsias sem destruir as

referidas zonas e realizar estudos histopatológicos em casos suspeitos de doença cardíaca ou mortes súbitas.

Para estudar o percurso dos Ramos Esquerdo e Direito, bem como a rede de fibras de Purkinje, seria útil recorrer a métodos imuno-histoquímicos, tal como previamente realizado por alguns autores em corações bovinos (Oosthoek *et al.*, 1993b). Outra forma simples de estudar a rede de Purkinje teria sido recorrer a injeções sub-endocárdicas de tinta-da-China, tal como foi feito por Ansari *et al.* em ovinos (Ansari *et al.*, 1999); no entanto, esta técnica requer que sejam utilizados corações de animais recém-eutanasiados, o que não se coadunou com as condições logísticas disponíveis para a realização do presente trabalho. Para além disto, seria também interessante prosseguir com os trabalhos realizados por Massing e James (Massing & James, 1976) e estudar a variabilidade anatómica dos ramos do FAV no cão.

Quanto à possível existência das Vias Internodais seria interessante, em estudos futuros, continuar os trabalhos de Hoogars *et al.* (Hoogars *et al.*, 2004) e, com recurso à imuno-histoquímica, utilizando anticorpos contra o factor de transcrição Tbx3 (apenas expresso pelos tecidos do SCC), estudar a existência destas vias com mais detalhe e fiabilidade.

6. Referências Bibliográficas

- Akiyama, T. (2010). Sunao Tawara: Discoverer of the atrioventricular conduction system of the heart. *Cardiol J*, 17(4), 428-433.
- Anderson, R. H., Christoffels, V. M., & Moorman, A. F. (2004). Controversies concerning the anatomical definition of the conduction tissues. *Anat Rec*, 280B, 8-14.
- Anderson, R. H., Durrer, D., Janse, M. J., van Capelle, F. J., Billete, J., *et al.* (1974). A combined morphological and electrophysiological study of the atrioventricular node of the rabbit heart. *Circ Res*, 35(6), 909-922.
- Anderson, R. H., Ho, S. Y., & Becker, A. E. (1983). The surgical anatomy of the conduction tissues. *Thorax*, 38, 408-420.
- Ansari, A., Ho, S. Y., & Anderson, R. H. (1999). Distribution of the Purkinje fibres in the sheep heart. *Anat Rec*, 254, 92-97.
- Bishop, S. P. (1999). Necropsy techniques for the heart and great vessels. In P. R. Fox, D. Sisson, & S. Moïse, *Textbook of Canine and Feline Cardiology: Principles and Clinical Practice* (2nd ed., pp. 845-849). W.B. Saunders Company.
- Boyett, M. R. (2009). 'And the beat goes on' - The cardiac conduction system: the wiring system of the heart. *Exp Physiol*, 94, 1035-1049.
- Boyett, M. R., Honjo, H., & Kodama, I. (2000). The sinoatrial node, a heterogeneous pacemaker structure. *Cardiovasc Res*, 47, 658-687.
- Chandler, N., Aslanidi, O., Buckley, D., Inada, S., & Birchall, S. (2011). Computer three-dimensional anatomical reconstruction of the human sinus node and a novel paranodal area. (Wiley, Ed.) *Anat Rec*, 294, 970-979.
- Crick, S. J., Sheppard, M. N., Ho, S. Y., & Anderson, R. H. (1999). Localisation and quantitation of autonomic innervation in the porcine heart I: conduction system. *J Anat*, 195, 341-357.
- Dobrzynski, H., Li, J., Tellez, J., Greener, I. D., Nikolski, V. P., *et al.* (2005). Computer three-dimensional reconstruction of the sinoatrial node. *Circulation*, 111, 846-854.
- Guarda, F., & Mandelli, G. (2002). *Trattato di Anatomia Patologica Veterinaria*. Utet Medica.
- Hoogars, W. M., Barnett, P., Moorman, A. F., & Christoffels, V. M. (2007). T-box factors determine cardiac design. *Cell Mol Life Sci*, 64, 646-660.
- Hoogars, W. M., Tessari, A., Moorman, A. F., de Boer, P. A., Hagoort, J., *et al.* (2004). The transcriptional repressor Tbx3 delineates the developing central conduction system of the heart. *Cardiovasc Res*, 62, 489-499.
- Inoue, S., & Becker, A. E. (1998). Posterior extensions of the human compact atrioventricular node: a neglected anatomic feature of potential clinical significance. *Circulation*, 97(2), 188-193.
- James, T. N. (2001). The Internodal Pathways of the Human Heart. *Prog Cardiovasc Dis*, 43(6), 495-535.

- James, T. N., Martin, E. S., Willis, P. W., & Lohr, T. O. (1996). Apoptosis as a possible cause of gradual development of complete heart block and fatal arrhythmias associated with absence of AV node, sinus node and internodal pathways. *Circulation*, *93*, 1424-1438.
- James, T. N., Sherf, L., Fine, G., & Morales, A. R. (1966). Comparative ultrastructure of the sinus node in man and dog. *Circulation*, *34*, 139-163.
- Kaneshige, T., Machida, N., Yamamoto, S., Nakao, S., & Yamane, Y. (2007). A histological study of the cardiac conduction system in canine cases of mitral valve endocardiosis with complete atrioventricular block. *J Comp Path*, *136*, 120-126.
- Li, J., Greener, I. D., Inada, S., Nikolski, V. P., Yamamoto, M., Hancox, J. C. *et al.* (2008). Computer three-dimensional reconstruction of the atrioventricular node. *Circ Res*, *102*(8), 975-985.
- Liu, S.-K. (1992). Histopathologic Study of the Conduction System. In L. P. Tilley, *Essentials of Canine and Feline Electrocardiography: Interpretation and Treatment* (pp. 267-272). Lea & Febiger.
- Massing, G. K., & James, T. N. (1976). Anatomical configuration of the His bundle and bundle branches in the human heart. *Circulation*, *53*(4), 609-621.
- Mazgalev, T. N., Ho, S. Y., & Anderson, R. H. (2001). Anatomic-electrophysiological correlations concerning the pathways for atrioventricular conduction. *Circulation*, *103*, 2660-2667.
- McGuire, M. A., de Bakker, J. M., Vermeulen, J. T., Opthof, T., Becker, A. E., *et al.* (1994). Origin and significance of double potentials near the atrioventricular node. Correlation of extracellular potentials, intracellular potentials and histology. *Circulation*, *89*(5), 2351-2360.
- Medkour, D., Becker, A. E., Khalife, K., & Billete, J. (1998). Anatomic and functional characteristics of a slow posterior AV nodal pathway: role in dual-pathway physiology and reentry. *Circulation*, *98*(2), 164-174.
- Monfredi, O., Dobrzynski, H., Mondal, T., Boyett, M. R., & Morris, G. M. (2010, November). The anatomy and physiology of the Sinoatrial Node - a contemporary review. *Pace*, *33*, 1392-1406.
- Oosthoek, P. W., Virágh, S., Mayen, A. E., van Kempen, M. J., Lamers, W. H., *et al.* (1993a). Immunohistochemical delineation of the conduction system. I: the sinoatrial node. *Circ Res*, *73*(3), 473-481.
- Oosthoek, P. W., Virágh, S., Lamers, W. H., & Moorman, A. F. (1993b). Immunohistochemical delineation of the conduction system II: the atrioventricular node and Purkinje fibers. *Circ Res*, *73*(3), 482-491.
- Racker, D. K. (1999). The AV junction region of the heart: a comprehensive study correlating gross anatomy and direct three-dimensional analysis. Part I: Architecture and Topography. *Anat Rec*, *256*, 49-63.
- Racker, D. K. (2003). The AV junction region of the heart: a comprehensive study correlating gross anatomy and direct three-dimensional analysis. Part II: Morphology and cytoarchitecture. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *286*, 1853-1871.
- Racker, D. K., & Kadish, A. H. (2000). Proximal atrioventricular bundle, atrioventricular node and distal atrioventricular bundle are distinct anatomic structures with unique histological characteristics and innervation. *Circulation*, *101*, 1049-1059.

- Racker, D. K., Ursell, P. C., & Hoffman, B. F. (1991). Anatomy of the tricuspid annulus. Circunferential myofibers as the structural basis for atrial flutter in a canine model. *Circulation*, *84*(2), 841-851.
- Robinson, W. F., & Maxie, M. G. (1993). The Cardiovascular System. In K. V. Jubb, P. C. Kennedy, & N. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (4 ed., Vol. 3, pp. 7-8). Califórnia: Academic Press.
- Ryu, S., Yamamoto, S., Andersen, C. R., Nakawaza, K., Miyake, F., *et al.* (2009). Intramural Purkinje cell network of sheep ventricles as the terminal pathway of conduction system. *Anat Rec*, *292*, 12-22.
- Sánchez-Quintana, D., & Ho, S. Y. (2003). Anatomía de los nodos cardíacos y del sistema de conducción específico auriculoventricular. *Rev Esp Cardiol*, *56*(11), 1085-1092.
- Silverman, M. E., Grove, D., & Upshaw, C. B. (2006). Why does the heart beat? The discovery of the electrical system of the heart. *Circulation*, *113*, 2775-2781.
- Stephenson, R. S., Boyett, M. R., Hart, G., Nikolaidou, T., Cai, X., *et al.* (2012). Contrast enhanced micro-computed tomography resolves the 3-dimensional morphology of the cardiac conduction system in mammalian hearts. *PLoSOne*, *7*(4), e35299.
- Whalen, R. (2003). *Virtual Canine Anatomy*. Acedido em Maio de 2014, na página web College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences: <https://www.cvmb.colostate.edu/vetneuro/VCA3/vca.html>
- Yanni, J., Boyett, M. R., Anderson, R. H., & Dobrzynski, H. (2009). The extent of the specialized atrioventricular ring tissues. *Heart Rhythm*, *6* (5), 672-680.