

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA**

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE CÉLULAS MUSCULARES CARDÍACAS
EM HUMANOS ADULTOS E SENIS**

JOSE ANTONIO CARDOSO

RECIFE

2002

JOSE ANTONIO CARDOSO

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE CÉLULAS MUSCULARES CARDÍACAS
EM HUMANOS ADULTOS E SENIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfologia do Departamento de Anatomia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Morfologia.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Arruda de Moraes

RECIFE

2002

Cardoso, Jose Antonio

Análise morfométrica de células musculares cardíacas em humanos adultos e senis / Jose Antonio Cardoso. – Recife : O Autor, 2002.

40 folhas : il., tab., gráf.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Morfologia, 2002.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Morfologia – Coração – Fibras musculares. 2. Coração de adultos e idosos – Análise morfométrica. I. Título.

**611.018.63
611.1**

**CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)**

**UFPE
BC2004-429**



23076.008445/2002-20

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA

Recife, 12 de julho de 2002.

Of. Nº. 44/02

Do: Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Morfologia
Prof. Alexandre Motta Bittencourt

À: PROPESQ
Setor de Cursos e Programas

De ordem da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Morfologia, estamos encaminhando em anexo, documentação pertinente à aprovação da Banca Examinadora para defesa de Dissertação de Tese programada para o dia **30/07/02** do Mestrando **JOSÉ ANTONIO CARDOSO**. Informamos ainda, que estamos cientes do prazo mínimo de 20 dias para análise da proposta de banca examinadora para defesa de tese/dissertação, e que o envio da documentação só ter sido nesta data se dá pela impossibilidade financeira do Mestrando, haja vista que, o Mestrado em Morfologia não dispõe de Bolsa. Esperamos contar com a colaboração dessa Pró-Reitoria e dede já agradecemos antecipadamente.

Atenciosamente,


Prof. Alexandre Motta Bittencourt
Coordenador do Mestrado em Morfologia

PROPESQ


15:12 12/07/2002 REC-UFPE-DICOM-MORFOLOGIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ATA DA 21ª REUNIÃO DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, REALIZADA EM 20/06/02, ÀS 10:00 H.

Às 10:00 horas do dia vinte de junho de dois mil e dois, na sala de reunião do Mestrado em Morfologia do Centro de Ciências Biológicas, sob a Presidência do professor **ALEXANDRE MOTTA BITTENCOURT** – Coordenador do Mestrado – e o comparecimento dos seguintes professores: **JENNECY SALES CAVALCANTI, AUSTREGÉZIL VIEIRA DA COSTA SOBRINHO, CARLOS EDUARDO DE QUEIROZ LIMA, LIRIANE BARATELLA, SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES e DIÓGENES LUÍS DA MOTA**. Havendo quorum foi iniciada a sessão e o Senhor Presidente solicitou a secretária que fizesse a leitura da Ata da reunião anterior, realizada em 07/05/02; sendo aprovada por todos os presentes. Em seguida, o senhor Presidente apresentou toda a documentação para solicitação da formação da Banca Examinadora para defesa de Dissertação do aluno **José Antonio Cardoso** intitulada “Análise Morfométrica de Células Musculares Cardíacas em Humanos Adultos e Senis”. Ficou decido a data para a defesa de Dissertação que será no dia 30/07/02 às 14:00 horas, na sala 12 do CCB. O Colegiado aprovou a seguinte formação para a referida Banca: **TITULARES**: Profa. Dra. Elizabeth da Silveira Neves, Prof. Dr. Raul Manhães de Castro e o Prof. Dr. Jennecy Sales Cavalcanti; **SUPLENTE**: Profa. Dra. Maria Tereza Jansen de Almeida Catanho e o Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto. E não havendo mais nada a tratar, foi encerrada a sessão da qual para constar, Eu, Núbia Silva Vaz Santos, secretária, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada e pelos demais Membros presentes. Recife, 20 de junho de 2002.


Prof. Alexandre Motta Bittencourt
Coordenador do Mestrado em Morfologia

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

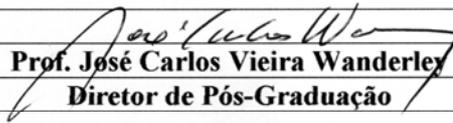
FOLHA DE INFORMAÇÃO E DESPACHO

PROCESSO No. 23076.008445/2002-20

FLS. No 022

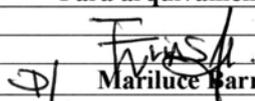
RUBRICA _____

Banca Examinadora proposta para a defesa da dissertação do(a) aluno(a) JOSÉ ANTONIO CARDOSO do MESTRADO em MORFOLOGIA. APROVO, uma vez que a referida banca atende às exigências da Res. 03/98 do CCEPE . Em, 24/07/2002.


Prof. José Carlos Vieira Wanderley
Diretor de Pós-Graduação

Ao Curso de Pós-Graduação em MORFOLOGIA:

Para arquivamento. Em 26/07/02

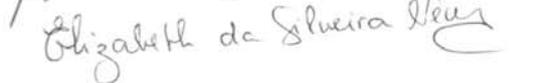

Mariluce Barreto
Setor de Cursos e Programas - PROPESQ



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Ata da defesa de Dissertação de Mestrado do aluno **José Antonio Cardoso**, intitulada: **“Análise Morfométrica de Células Musculares Cardíacas em Humanos Adultos e Senis”**. Apresentada no dia 30 de julho do ano de dois mil e dois, às 14:00h., na Sala “12” do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, tendo como orientadora a Profa. Dra. Sílvia Regina Arruda de Moraes. O Ato foi iniciado pelo Prof. Dr. Austregézilo Vieira da Costa Sobrinho, que anunciou a composição da Banca Examinadora: Profa. Dra. Elizabeth da Silveira Neves, o Prof. Dr. Jenneicy Sales Cavalcanti na qualidade de Presidente e o Prof. Dr. Raul Manhães de Castro como convidado externo ao Curso. Em seguida convidou o aluno a dar início a sua apresentação. Na oportunidade, foi dito que o aluno dispunha de até cinquenta minutos para sua exposição. Iniciada a sua explanação, com o auxílio de projetor de slides, o candidato apresentou o trabalho. Encerrada a exposição, a Banca Examinadora passou às arguições e em seguida, após a finalização dos debates, a Banca Examinadora solicitou que os presentes se retirassem, a fim de proceder a avaliação. Sendo o seguinte resultado: Profa. Elizabeth da Silveira Neves: **APROVADO**; Prof. Jenneicy Sales Cavalcanti: **APROVADO**; Prof. Raul Manhães de Castro: **APROVADO**. De acordo com as menções citadas e de acordo com o Regimento da Pós-Graduação em Morfologia, o aluno foi considerado: **APROVADO**; fazendo jus ao título de Mestre em Morfologia. E assim, a sessão foi encerrada e eu, Núbia Silva Vaz Santos, secretária da Pós-graduação em Morfologia lavrei a presente Ata que dato e assino com os demais Membros da Banca Examinadora. Recife, 30 de julho de 2002.

EM TEMPO:


Raul Manhães de Castro

Elizabeth da Silveira Neves

DEDICATÓRIA

Aos **meus Pais** JOSÉ PEDRO CARDOSO e MARIA RODRIGUES CARDOSO, que ensinaram-me a dar os primeiros passos na vida; o amor, a dedicação, apoio e incentivos dispensados todos esses anos.

À **Minha Esposa** VERA LUCIA DOS SANTOS CARDOSO e a **Minha Filha** EDLA NIEDJA DOS SANTOS CARDOSO por terem me acompanhado nesta jornada, muitas vezes porém no momento em que me encontrava em grandes dificuldades, sabendo superar minha ausência, dando apoio, dedicação, amor e incentivo, ajudando-me desta forma para que a concretização desta pesquisa se tornasse possível

AGRADECIMENTOS

A **DEUS** que todos os dias está do nosso lado ajudando a superar todas as dificuldades do dia-a-dia, obrigado Senhor por ter dado forças para concretizar mais uma das conquistas das nossas vidas.

À minha **Orientadora Prof^ª Dr.^a. SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES** que acreditando no meu sucesso, aceitou o convite de orientar na construção deste estudo, reafirmando a grande amizade existente. Diante de sábia orientação e do muito que me foi oferecido, o meu profundo respeito e agradecimento.

Aos **meus colegas do Depto de Anatomia da UFPE**, pela paciência nos momentos de mau humor de minha parte e pela força nos momentos de desânimo e ainda por aceitar fazer parte da construção deste estudo.

Aos **Professores ex-chefes do Depto de Anatomia da UFPE ANTONIO ROMEU CABRAL DE MEDEIROS, JENNECY SALES CAVALCANTE E ALEXANDRE MOTTA BITTENCOURT** que dedicados ao ensino e à ciência, minha sincera gratidão pelo incentivo, apoio e confiança em mim depositados em favor de minha formação e o desenvolvimento deste departamento

Ao **Prof. Dr. AUSTREGESILO VIEIRA DA COSTA SOBRINHO**, que dedica-se ao ensino e à ciência de forma brilhante, pelo incentivo e apoio, minha sincera e eterna amizade.

Ao **Prof.** TETSUO TASHIRO pelo apoio na utilização do seu laboratório e com sugestões para o desenvolvimento deste trabalho. Nosso agradecimento pelo acolhimento caloroso e agradável durante todo este período.

Aos **Prof.** CLAUDIO A. FERRAZ DE CARVALHO, II-SEI WATANABE e ROMEU RODRIGUES DE SOUZA do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, que depositaram voto de confiança quando iniciava meus estudos naquela instituição, transmitiram seus conhecimentos e experiências profissionais, para que a minha formação fosse também um aprendizado de vida

Aos **Funcionários** do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, em especial aos Srs. SEBASTIÃO APARECIDO BOLETA e ZILDA OLIVEIRA MARTIM pelos auxílios prestados na parte prática deste trabalho

Ao **Estagiário** JOSÉ EMERSON ABRANTES DINIZ pela paciência, atenção, auxílio, dedicação e pela troca de conhecimentos dispensados para execução deste trabalho.

Aos **colegas de turma** pela amizade e troca de experiências que contribuíram na concretização dos nossos trabalhos para conclusão do curso.

Aos **funcionários** do Depto de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco, pelo apoio e amizade durante esta jornada, o meu tributo de gratidão

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na construção deste trabalho.

ABREVIATURAS

- a_o mioc = área da secção transversa unitária do miócito.
 a_o nu = área da secção transversa unitária do núcleo
fc = fator de compressão
fs = fator de redução linear
Ic = direção do corte
Io = direção da face do bloco
Ió = comprimento do bloco do tecido a fresco
 l_o mioc = comprimento do perímetro unitário do miócito
Is = comprimento do tecido retraído
 Nmm^3 mioc = número de miócitos por unidade de volume
 Nmm^3 nu = número de núcleos por milímetro cúbico
S = septo interventricular
VD = ventrículo direito
VE = ventrículo esquerdo
 v_o mioc = volume unitário do miócito
 v_o nuc = volume unitário médio do núcleo
 V_v mioc = densidade volumétrica dos miócitos
 V_v nu = densidade volumétrica nuclear
hmioc = comprimento da miocélula
hnu = média do diâmetro maior e menor do núcleo
Pmioc = ponto na miocélula
Nmioc = secção de miocélula
Imioc = intersecção na miocélula
Pnu = ponto no núcleo
Nnu = secção do núcleo
 $0,98 \mu m$ = distância entre dois pontos (D)
100 = número de pontos do sistema-teste (Pt)
 $6 \mu m$ = espessura do corte histológico

LISTA DE FIGURAS

Fig. 01 – Valores médios da área da secção transversa unitária dos miócitos

Fig. 02 – Valores médios do comprimento do perímetro unitário do miócito

Fig. 03 – Valores médios do volume unitário do miócito

Fig. 04 – Valores percentuais da densidade volumétrica dos miócitos

Fig. 05 – Número de miócitos por unidade de volume

Fig. 06 – Valores da densidade volumétrica nuclear

Fig. 07 – Número de núcleos por milímetros cúbicos

Fig. 08 – Volume unitário médio do núcleo

Fig. 09 – Área da secção transversa unitária do núcleo

SUMÁRIO

RESUMO

1 INTRODUÇÃO.....	05
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	07
3 OBJETIVOS.....	11
3.1 Geral.....	11
3.2 Específicos.....	11
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1 Material.....	12
4.2 Métodos.....	12
4.2.1 CATETERIZAÇÃO E FIXAÇÃO DO MATERIAL.....	12
4.2.2 DISSSECÇÃO DO MATERIAL.....	12
4.2.3 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.....	13
4.2.4 ANÁLISE MICROSCÓPICA.....	13
4.2.5 ANÁLISES HISTOCITOMÉTRICAS.....	13
4.3 Análise Estatística.....	14
5 RESULTADOS.....	15
5.1 Área da secção transversa unitária do miócito.....	15
5.2 Comprimento do perímetro unitário do miócito.....	15
5.3 Volume unitário do miócito.....	16
5.4 Densidade volumétrica (fração de volume) dos miócitos.....	17
5.5 Número de miócitos por unidade de volume.....	18
5.6 Densidade volumétrica nuclear.....	18
5.7 Número de núcleos por milímetro cúbico.....	19
5.8 Volume unitário médio do núcleo.....	20
5.9 Área da secção transversa unitária do núcleo.....	20
6 DISCUSSÃO.....	22
7 CONCLUSÃO.....	28
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
ANEXOS	

RESUMO

O objetivo do trabalho foi realizar uma avaliação quantitativa nas células do miocárdio humano de indivíduos adulto jovem e senil e em cada grupo nas regiões ventriculares direita e esquerda e septal. Foram utilizados 10 corações de cadáveres de indivíduos sem enfermidades cardíacas, de ambos os sexos, com idade entre 20 e 87 anos, divididos em grupo adulto e senil. Os corações foram cateterizados através da artéria coronária esquerda, lavados com solução salina a 0,9% e fixados com paraformaldeído a 10% em tampão fosfato. Após a fixação durante um período de 48 horas, foram coletados fragmentos do miocárdio medindo 2x2 cm das parede ventricular direita (VD), ventricular esquerda (VE) e da parede septal (S) e processados por técnica histológica, incluídos em uma mistura de parafina com 5% de cera de carnaúba, seccionados e corados com hematoxilina férrica. Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos escolhidos aleatoriamente, e foram determinados os seguintes parâmetros estereológicos: área da secção transversa unitária do miócito (a_o mioc); comprimento do perímetro unitário do miócito (l_o mioc); volume unitário do miócito (v_o mioc); densidade volumétrica dos miócitos (V_v mioc); número de miócitos por unidade de volume ($N_{mm} \text{ } ^3\text{mioc}$); densidade volumétrica nuclear (V_v nu); número de núcleos por milímetro cúbico ($N_{mm} \text{ } ^3\text{nu}$); volume unitário médio do núcleo (v_o nu) e área da secção transversa unitária do núcleo (a_o nu). Foi aplicado o teste “t” de Student. Comparando os corações dos grupos adulto e senil, obtivemos os seguintes resultados: área da secção transversa unitária do miócito: Grupo Adulto ($S = 1,800 \mu\text{m}^2$, $VD = 1,635 \mu\text{m}^2$ e $VE = 1,836 \mu\text{m}^2$), no Grupo Senil ($S = 1,554 \mu\text{m}^2$, $VD = 1,509 \mu\text{m}^2$ e $VE = 1,710 \mu\text{m}^2$); comprimento do perímetro unitário dos miócitos: grupo Adulto ($S = 5,851 \mu\text{m}$, $VD = 5,571 \mu\text{m}$ e $VE = 5,498 \mu\text{m}$), grupo Senil ($S = 5,109 \mu\text{m}$, $VD = 5,162 \mu\text{m}$ e $VE = 6,197 \mu\text{m}$); volume unitário dos miócitos: grupo Adulto ($S = 87,754 \mu\text{m}^3$, $VD = 68,317 \mu\text{m}^3$

e VE = 73,328 μm^3), grupo Senil (S = 94,036 μm^3 , VD = 88,752 μm^3 e VE = 122,408 μm^3); densidade volumétrica dos miócitos: grupo adulto (S = 0,416 %; VD = 0,411 % e VE = 0,436), no grupo Senil (S = 0,400%; VD = 0,39 % e VE = 0,413 %); número de miócitos por unidade de volume: grupo Adulto (S = 2690066,1 mioc/mm³; VD = 2361561,7 mioc/mm³ e VE = 2294502,3 mioc/mm³), grupo Senil (S = 2702357,7 mioc/mm³; VD = 2493591,4 mioc/mm³ e VE = 2660843,3 mioc/mm³); densidade volumétrica nuclear; grupo adulto (S=0,032%, VD= 0,031% e VE=0,032%), grupo senil (S=2,980E-02, vd=2,840E-02 e VE=3,560E-02%); número de núcleos por milímetros cúbicos: grupo Adulto (S = 369081,67 nu/mm³; VD = 339481,12 nu/mm³ e VE = 332629,30 nu/mm³), grupo Senil (S = 409369,14 nu/mm³; VD = 34960,69 nu/mm³ e VE = 431970,04 nu/mm³); volume unitário médio do núcleo: grupo Adulto (S = 88,799 μm^3 ; VD = 102,136 μm^3 e VE = 98,393 μm^3), grupo Senil (S = 73,256 μm^3 ; VD = 84,041 μm^3 e VE = 83,009 μm^3); área da secção transversa unitária do núcleo: grupo Adulto (S = 2,145 μm^2 , VD = 2,040 μm^2 e VE = 2,015 μm^2), grupo Senil (S = 1,997 μm^2 , VD = 2,082 μm^2 e VE = 2,318 μm^2). As diferenças entre os dois grupos não foram estatisticamente significantes (p>0,05). Os resultados obtidos sugerem que ocorrem modificações nas dimensões da miocélula do coração humano no decorrer do envelhecimento do indivíduo, entretanto, essas diferenças são sutis e parece significar a adaptação do tecido às mudanças funcionais que se instalam no decorrer da vida.

SUMMARY

The aim of the work was to realize a quantitative evaluation in the cells of the human myocardium of young and aged adults and in each group in the right and left ventricular regions and the septal region. Ten (10) hearts of human corpse with no cardiopathy, of both sexes, in 27 – 80 age range, divided into two groups: adult and aged, were used. The hearts were catheterized through the left coronary artery washed with saline solution 0,9% and fixed with paraformaldehyde 10% in phosphate buffer. After the fixation, during a period of 48 hours, fragments of myocardium were collected with 2x2 cm of size of the right ventricular wall (VD), left ventricular wall (VE) and the septal wall (S) which were processed by histological technique, included in a mixture of paraffin with 5% carnauba wax, divided into sections and stained with ferric hematoxylin. In each section 30 microscopic fields were selected at random, analyzed and determined the following stereologic parameters: area of unitary transverse section of myocyte (a_o mioc); length of unitary perimeter of myocyte (l_o mioc); unitary volume of myocyte (v_o mioc); volumetric density of myocyte (V_v mioc); number of myocytes per unit of volume ($N_{mm} \text{ } ^3 \text{ mio}$); nuclear volumetric density (V_v nu); number of nucleus per cubic millimeter ($N_{mm} \text{ } ^3 \text{ nu}$); medium unitary volume of nucleus (v_o nu) and area of unitary transverse section of nucleus (a_o nu). The “t” test of Student was applied. Comparing the hearts of groups adult and aged, the following results were obtained: area of unitary transverse section of myocyte: Adult Group (S = $1,800 \mu\text{m}^2$, VD = $1,635 \mu\text{m}^2$ and VE = $1,836 \mu\text{m}^2$), Aged Group (S= $1,554 \mu\text{m}^2$, VD= $1,509 \mu\text{m}^2$ and VE = $1,710 \mu\text{m}^2$); length of unitary perimeter of myocyte: Adult Group (S= $5,851 \mu\text{m}$, VD= $5,571 \mu\text{m}$ and VE = $5,498 \mu\text{m}$), Aged Group (S = $5,109 \mu\text{m}$, VD= $5,162 \mu\text{m}$ and VE= $6,197 \mu\text{m}$); unitary volume of myocyte: Adult Group (S= $87,754 \mu\text{m}^3$, VD= $68,317 \mu\text{m}^3$ and VE = $73,328 \mu\text{m}^3$), Aged Group (S = $94,036 \mu\text{m}^3$, VD= $88,752 \mu\text{m}^3$ and VE = $122,408 \mu\text{m}^3$); volumetric

density of myocyte: Adult Group ($S = 0,416 \%$; $VD = 0,411 \%$ and $VE = 0,436$), Aged Group ($S = 0,400\%$; $VD = 0,39 \%$ and $VE = 0,413 \%$); number of myocytes per unit of volume: Adult Group ($S = 2690066,1 \text{ mioc/mm}^3$; $VD = 2361561,7 \text{ mioc/mm}^3$ and $VE = 2294502,3 \text{ mioc/mm}^3$), Aged Group ($S = 2702357,7 \text{ mioc/mm}^3$; $VD = 2493591,4 \text{ mioc/mm}^3$ and $VE = 2660843,3 \text{ mioc/mm}^3$); nuclear volumetric density: Adult Group ($S=0,032\%$, $VD= 0,031\%$ and $VE=0,032\%$), Aged Group ($S=2,980E-02$, $vd=2,840E-02$ and $VE=3,560E-02\%$); number of nucleus per cubic millimeter: Adult Group ($S = 369081,67 \text{ nu/mm}^3$; $VD = 339481,12 \text{ nu/mm}^3$ and $VE = 332629,30 \text{ nu/mm}^3$), Aged Group ($S = 409369,14 \text{ nu/mm}^3$; $VD = 34960,69 \text{ nu/mm}^3$ and $VE = 431970,04 \text{ nu/mm}^3$); medium unitary volume of nucleus: Adult Group ($S = 88,799 \mu\text{m}^3$; $VD = 102,136 \mu\text{m}^3$ and $VE = 98,393 \mu\text{m}^3$), Aged Group ($S = 73,256 \mu\text{m}^3$; $VD = 84,041 \mu\text{m}^3$ and $VE = 83,009 \mu\text{m}^3$); area of unitary transverse section of nucleus: Adult Group ($S = 2,145 \mu\text{m}^2$, $VD= 2,040 \mu\text{m}^2$ and $VE= 2,015 \mu\text{m}^2$), Aged Group ($S = 1,997 \mu\text{m}^2$, $VD= 2,082 \mu\text{m}^2$ and $VE = 2,318 \mu\text{m}^2$). The differences between the two groups were statistically insignificant ($p>0,05$). The obtained results suggest that modifications in the length of myocell of human heart occur during the aging process of the human being, however, these differences are subtle and seem to mean the adaptation of the tissue to the functional changes that happen during the period of life.

1 INTRODUÇÃO

A senescência tem sido um assunto amplamente discutido e de interesse mundial na atualidade, em decorrência do aumento da média de vida, ocasionando um crescimento da população senescente nos últimos anos.

O processo de envelhecimento normal está associado a uma variedade de mudanças físicas, psíquicas e culturais. O reconhecimento dessas alterações na estrutura e função cardiovascular que ocorre durante o envelhecimento da população é essencial para a avaliação das doenças cardíacas em pacientes idosos (LEWIS e MARON, 1992). Entretanto, o estudo dos efeitos apenas do envelhecimento sobre a estrutura e função cardiovascular é dificultado pela instalação de processos patológicos os quais podem ocultar as características do processo de envelhecimento funcional (SAFAR, 1990; CAMILLERI, 1992).

A percentagem de indivíduos idosos na população vem aumentando nos últimos anos e muitos desses indivíduos idosos apresentam doenças cardiovasculares. Dessa forma, o conhecimento das alterações fisiológicas normais que acompanham o envelhecimento do coração é de extrema importância (CHIDA et al, 1994), visto que muitos dos estudos desenvolvidos tratam das alterações observadas no coração senil associadas a distúrbios patológicos, enquanto poucos se referem ao processo de envelhecimento normal. O conhecimento das alterações fisiológicas que acompanham o processo normal de envelhecimento da espécie mostra-se de extrema importância até mesmo para melhoria da qualidade de vida do indivíduo.

A importância do estudo dos aspectos pertinentes a morfometria e estereologia do miocárdio humano são de importância no sentido de se compreender os mecanismos compensatórios observados nessa fase da vida. Entretanto, poucos são os dados na literatura que tratam dos aspectos morfométricos do coração durante o processo de envelhecimento normal,

embora este músculo seja largamente estudado, sob o ponto de vista qualitativo em diferentes mamíferos e no homem em situações patológicas diversas. (TRUEX, 1972; KORECKY e RAKUSAN, 1978; GERDES et al., 1979; HOSHINO et al., 1983; ANVERSA et al., 1986; OBERPRILLER et al., 1987; OLIVETTI et al., 1996; PEREIRA et al., 1998; DI SOMMA et al., 2000).

Embora existam estudos quantitativos do miocárdio normal em mamíferos (BISHOP e DRUMMOND, 1979; GERDES e KASTEN, 1980; ENGELMANN et al., 1987; MANDARIM-DE-LACERDA, 1987; BAI et al., 1990), aquela que diz respeito a avaliações histológicas quantitativas do miocárdio humano é escassa e irregular. A maioria dos artigos abordam medições dos vários elementos miocárdicos com alterações que variam conforme condições patológicas diversas. Poucos destes artigos contém dados significantes sobre as variações quantitativas em condições fisiológicas normais.

Os achados da literatura sugerem, entretanto, que o desenvolvimento das miocélulas cardíacas estaria diretamente relacionado com o desenvolvimento da hipertrofia das mesmas. Contudo, os estudos realizados, na sua grande maioria, restringem-se a estudos experimentais ou em humanos com alguma patologia pré-adquirida, o que impossibilita o estudo das modificações dessas células apenas decorrentes do envelhecimento fisiológico.

Sendo assim, conscientes da importância desse tema, elaboramos o presente trabalho, visando contribuir para um maior aprofundamento dos conhecimentos sobre os aspectos morfométricos das miocélulas do coração humano durante a fase senescente do indivíduo, com vistas à obtenção de subsídios no sentido de estabelecer correlações anátomo-funcionais que possam fornecer uma melhor compreensão dos processos patológicos tão frequentes nessa fase de vida do indivíduo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O interesse a cerca dos mecanismos que podem determinar a diferença observada na espessura das paredes ventriculares já é bastante antigo. TANDLER apud KEIBEL e MAIL (1912) demonstrou que a parede ventricular esquerda é definitivamente mais espessa do que a direita.

Entretanto, em 1930 PATTEN demonstrou que as espessuras das paredes ventriculares no feto são essencialmente iguais e que a parede mais espessada do ventrículo esquerdo é gradualmente adquirida como resultado do trabalho executado após o nascimento.

Corroborando com esse dado HARRISON et al. (1932) sugeriram que o diâmetro da fibra muscular cardíaca estaria diretamente relacionado ao batimento rítmico do coração.

ASHLEY (1945) verificou, com particular interesse, a presença de um maior diâmetro médio da fibra muscular cardíaca no ventrículo direito que no esquerdo.

ANGELAKOS et al. (1964), empregando preparações histológicas de corações de ratos adultos com idade de 6 a 7 meses, mensuraram o diâmetro de 3600 fibras encontrando valores de $11,8 \pm 4,8 \mu$ e $11,5 \pm 4,3 \mu$ respectivamente para os ventriculos direito e esquerdo, não sendo essas diferenças morfométricas entre as fibras musculares dos dois ventrículos estatisticamente significantes.

BRANDI e MCGREGOR (1969) demonstraram que a área de miocélula próxima à região endocárdica é maior que aquelas próximas à região epicárdica.

KORECKY e RAKUSAN (1978) concluíram que o desenvolvimento cardíaco normal em ratos recém-natos é quase inteiramente devido ao crescimento das miocélulas existentes, isto é, a hipertrofia celular.

Estudando o coração de ratos com idade de 110 meses, GERDES et al. (1979) observaram que no miocárdio ventricular esquerdo desses animais, as áreas da secção transversa das miocélulas eram 62% maiores nas áreas próximas ao endocárdio do que as áreas das miocélulas vizinhas à região do epicárdio.

HATT et al. (1979) comparando o tamanho das miocélulas em corações hipertróficos, verificaram que são maiores próximo ao endocárdio do que na região média, contudo em corações normais não observaram esta diferença.

GERDES e KASTEN (1980) analisando morfometricamente ventrículos de cães adultos, não verificaram diferenças regionais com relação ao volume percentual das miocélulas.

Estudos ecocardiográficos em indivíduos vivos demonstraram aumento da espessura da parede septal durante o envelhecimento, acompanhado por um pequeno aumento da espessura da parede ventricular esquerda (HENRY et al. ,1980)

RAKUSAN et al. (1980) não observaram diferenças nas miocélulas entre regiões ventriculares em corações de ratos normais, contudo, em corações hipertroficados, a região subendocárdica apresentou uma quantidade menor de miocélulas que em outras áreas do coração.

HOSHINO et al. (1983) mediram os diâmetros das fibras miocárdicas em diferentes regiões do coração humano adulto normal, hipertenso, e com cardiopatia hipertrófica, concluindo que há variação no diâmetro das miocélulas na parede ventricular esquerda e no septo, contudo não há diferença significativa entre as paredes ventriculares direita e esquerda.

LOUD et al. (1984) analisando corações de ratos que tiveram exercício pré-condicionado, observaram que houve um aumento na fração de volume no ventrículo direito, no entanto, observou erros na medição morfométrica quando relacionou medições em cortes oblíquos e transversos.

ANVERSA et al. (1986) demonstraram que, com o envelhecimento, ocorre uma diminuição no número e um aumento no tamanho dos miócitos no miocárdio humano.

ENGELMANN et al (1987) estudando ratos normotensos com idade de 1, 6, 12, 18 e 24 meses verificaram que a área da secção transversa da miocélula aumentou significativamente entre 12 e 18 meses e diminuiu significativamente entre 18 e 24 meses.

KITZMAN et al. (1988) demonstraram através de um estudo realizado em autópsias de 765 corações humanos normais, que a espessura das paredes ventriculares direita e esquerda permanece relativamente constante com o envelhecimento, enquanto que a espessura da parede septal aumenta significativamente. entre a terceira e décima décadas de vida.

BURNS et al. (1990) compararam a estrutura do ventrículo esquerdo e do septo interventricular de indivíduos geriátricos com idade entre 79 a 91 anos com indivíduos adultos com idade de 22 a 52 anos e encontraram uma hipertrofia relativa dos miócitos mais acentuada no miocárdio do grupo senil.

Segundo KITZMAN e EDWARDS (1990) com o envelhecimento ocorre um aumento na espessura da parede ventricular septal e, provavelmente, da parede ventricular esquerda com aumento significativo do peso do coração

OLIVETTI et al. (1991) em estudo realizado com 67 corações de indivíduos com idade entre 17 a 90 anos demonstrou uma perda de 38 e 14 milhões de miócitos na parede miocárdica dos ventrículos esquerdo e direito respectivamente que foi acompanhada por um progressivo aumento no volume do miócito por núcleo em ambos os ventrículos

Em 1994 CHIDA et al. analisando 141 corações humanos de ambos os sexos, com idade igual e superior a 60 anos e sem diagnóstico de alterações patológicas, observaram que havia uma significativa diminuição do volume do ventrículo esquerdo com o avançar da idade desses indivíduos.

OLIVETTI et al (1996) estudando 72 corações de indivíduos sem doenças cardiovasculares, com intervalo de idade variando de 26 a 93 anos de idade, verificaram que o envelhecimento não alterava a proporção relativa dos miócitos.

Em estudo experimental do miocárdio de ratos jovens e idosos ÁGUILA et al. (1998) demonstraram haver no envelhecimento uma diminuição no número de miócitos cardíacos e conseqüente hipertrofia compensatória das células remanescentes.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Comparar as diferenças quantitativas nas células (fibras) do miocárdio humano entre indivíduos adulto jovem e senil e em cada grupo nas regiões ventriculares direita, esquerda e septal.

3.2 Específicos

- Determinar a área da secção transversa unitária do miócito (a_o mioc)
- Determinar o comprimento do perímetro unitário do miócito (l_o mioc)
- Determinar o volume unitário do miócito (v_o mioc)
- Determinar a densidade volumétrica dos miócitos (Vv mioc)
- Determinar o número de miócitos por unidade de volume (Nmm^3 mioc)
- Determinar a densidade volumétrica nuclear (Vv nu)
- Determinar o número de núcleos por milímetro cúbico (Nmm^3 nu)
- Determinar o volume unitário médio do núcleo (v_o nu)
- Determinar a área da secção transversa unitária do núcleo (a_o nu)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram estudados corações de 10 cadáveres de indivíduos leucodermos e melanodermos, sem enfermidades cardíacas, de ambos os sexos, com idades variando de 20 a 87 anos, provenientes do Departamento de Anatomia da Universidade de São Paulo. Estes corações foram separados do seguinte modo, de acordo com a faixa etária:

Grupo 1, cinco indivíduos com 20 a 25 anos de idades;

Grupo 2, cinco indivíduos com 67 a 87 anos de idades.

4.2 Métodos

4.2.1 CATETERIZAÇÃO E FIXAÇÃO DO MATERIAL

Os corações foram cateterizados através da artéria. coronária esquerda, lavados com solução salina a 9%, sob pressão moderada e constante. Em seqüência o mesmo procedimento foi feito na artéria. coronária direita. A seguir injetava-se, pelas artérias coronárias, solução fixadora de paraformaldeído a 10% em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,3), até que se observasse a saída do líquido pelo seio coronário. Em seguida os corações eram imersos no mesmo fixador durante 48 horas.

4.2.2 DISSECÇÃO DO MATERIAL

Com auxílio de bisturi foram obtidos fragmentos do miocárdio medindo 2x2 cm das paredes ventriculares direita e esquerda ao nível da face esternocostal e da parede muscular do septo interventricular.

4.2.3 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os fragmentos obtidos foram colocados em frascos separados contendo a solução fixadora de Paraformaldeído 9% , onde permaneciam por cinco dias. Em seguida eram submetidos a processo de desidratação lenta por três passagens por solução de metilbenzoato e três passagens pela mistura de benzol-parafina em proporções crescentes após a desidratação e finalmente, foram incluídos em uma mistura de parafina com 5% de cera de carnaúba. Após a inclusão do material, cortes tangenciais de 6 μm de espessura foram obtidos em micrótomo JB4A-SORVALL, com as fibras musculares cardíacas seccionadas aproximadamente paralelas ao seu maior eixo. Foram também realizados cortes perpendiculares ao seu maior eixo e corados pelo método da hematoxilina férrica.

4.2.4 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos escolhidos aleatoriamente. A decisão de utilizar 30 campos distribuídos por todo o corte, deveu-se a resultado obtido em estudo piloto, no qual verificou-se que com esse número de campos obtinha-se um valor aceitável do desvio-padrão.

4.2.5 ANÁLISES HISTOCITOMÉTRICAS

A Análise Histocitométrica utilizada neste trabalho, está baseada em CHIZZOLA et al. (1967) e MANDARIM-DE-LACERDA E SAMPAIO (1987), utilizando-se de uma ocular Kpl, X10 (Carl Zeiss) com um sistema-teste de 100 pontos, proposto por WEIBEL et al. (1966), para estudo ao microscópio de Luz. O nosso material foi analisado em microscópio óptico Zeiss com aumento final de 1000X (10X ocular + 100X objetiva de imersão).

Secções de parafina para a microscopia de luz são comprimidas quando seccionadas,

permitindo que alguns parâmetros sejam estimados com a introdução de um erro sistemático. Para corrigir este erro utilizamos o Fator de Compressão ($f_c = l_c/l_o$), onde (l_c) é a direção do corte que sofreu compressão após secção (perpendicular ao fio da navalha), enquanto que o (l_o) é a direção da face do bloco no qual, o corte foi direcionado, paralelo ao fio da navalha, não sofrendo compressão (WEIBEL, 1979). Por outro lado os processos de fixação e inclusão levam à retração dos tecidos conduzindo à outro erro sistemático que pode ser medido pelo Fator de Redução Linear ($f_s = l_s/l_0$), onde o (l_s) é o comprimento do tecido retraído após processamento até a inclusão na parafina e, o (l_0) é o comprimento do bloco do tecido não submetido aos processos de fixação e inclusão (material fresco). Neste trabalho, entretanto, em vez de considerar as medidas do material (retraído) incluído em parafina, fizemo-las diretamente nas secções já na lâmina (LOUD et al., 1965). Assim (l_s) corresponde então à dimensão perpendicular à direção da compressão, ou seja, paralelo ao fio da navalha. Por conseguinte, (l_s) é igual a (l_o).

4.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada comparativamente entre as 3 regiões de cada grupo (VE, VD e parede septal) e entre os grupos adulto e idoso.

Para a comparação de pares de médias foi empregado o teste “t” de Student. No caso de comparações dentro de um mesmo grupo o teste empregado foi o do tipo pareado. Para a comparação entre os grupos adulto e idoso foi empregado o teste “t” não pareado (BERQUÓ et al., 1980).

Todos os testes foram realizados ao nível de significância de 5%. Para a montagem dos bancos de dados foi utilizado o programa Excel.

5 RESULTADOS

5.1 Área da secção transversa unitária do miócito (a_0 mioc)

A Fig. 01 mostra os valores médios da área da secção transversa unitária do miócito estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. A área da secção transversa unitária do miócito da região septal no Grupo Adulto foi de $1,800 \mu\text{m}^2$ e no Grupo Senil foi de $1,554 \mu\text{m}^2$ ($p > 0,05$). No VD do grupo Adulto a área foi de $1,635 \mu\text{m}^2$ e no grupo Senil foi de $1,509 \mu\text{m}^2$ ($p > 0,05$). No VE a área da secção transversa do miócito foi de $1,710 \mu\text{m}^2$ no grupo Adulto e de $1,836 \mu\text{m}^2$ no grupo Senil ($p > 0,05$).

No grupo Adulto não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$). No grupo Senil houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores das regiões VE e VD ($p < 0,05$) e VE e S ($p < 0,05$).

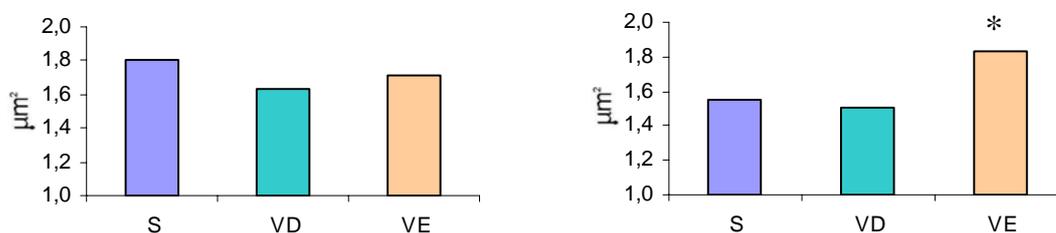


Figura 01 – Valores médios da Área da secção transversa unitária dos miócitos do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil. * $p < 0,05$

5.2 Comprimento do perímetro unitário do miócito (l_0 mioc)

A Fig. 02 apresenta os valores médios do comprimento do perímetro unitário do miócito estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores médios das regiões Septal e ventricular direita foram menores no grupo Senil ($5,109 \mu\text{m}$ e $5,162 \mu\text{m}$ respectivamente) do que no grupo Adulto ($5,851 \mu\text{m}$ e $5,571 \mu\text{m}$ respectivamente) ($p > 0,05$). Embora na região ventricular esquerda o comprimento do perímetro unitário do miócito tenha se

apresentado maior no grupo Senil (6,197 μm) do que no grupo Adulto (5,498 μm) a diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

No grupo Adulto não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$). No grupo Senil houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores das regiões VE e S ($p < 0,05$).

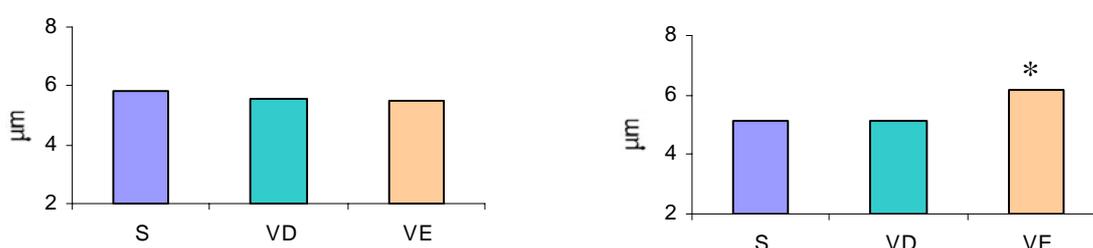


Figura 02 – Valores médios do Comprimento do perímetro unitário do miócito do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil. * $p < 0,05$

5.3 Volume unitário do miócito (v_0 mioc)

A Fig. 03 apresenta os valores médios do volume unitário do miócito estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores médios do volume das regiões Septal, Ventricular direita e Ventricular esquerda foram maiores no grupo Senil (94,036 μm^3 , 88,752 μm^3 e 122,408 μm^3 respectivamente) do que no grupo Adulto (87,754 μm^3 , 68,317 μm^3 e 73,328 μm^3). Entretanto a diferença não foi estatisticamente significativa.

No grupo Adulto não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$). No grupo Senil houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores das regiões VE e VD ($p < 0,05$).

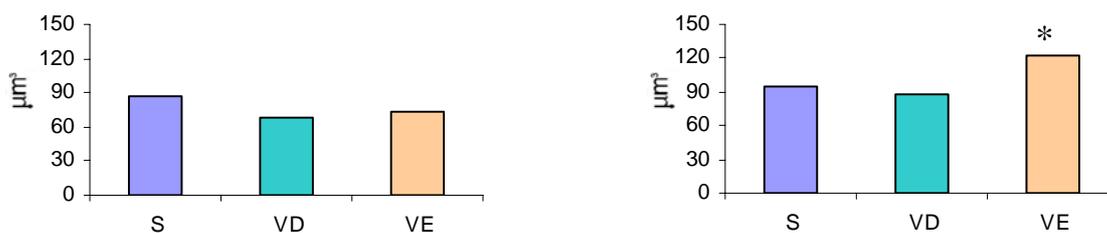


Figura 03 – Valores médios do Volume unitário do miócito do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil. * $p < 0,05$

5.4 Densidade volumétrica (fração de volume) dos miócitos (V_{mioc})

A Fig. 04 apresenta os valores percentuais da densidade volumétrica dos miócitos estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores percentuais foram maiores no grupo Adulto ($S = 0,416\%$; $VD = 0,411\%$ e $VE = 0,436$) do que no grupo Senil ($S = 0,400\%$; $VD = 0,39\%$ e $VE = 0,413\%$) ($p > 0,05$).

No grupo Adulto não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$). No grupo Senil houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os valores das regiões VE e VD ($p < 0,05$).

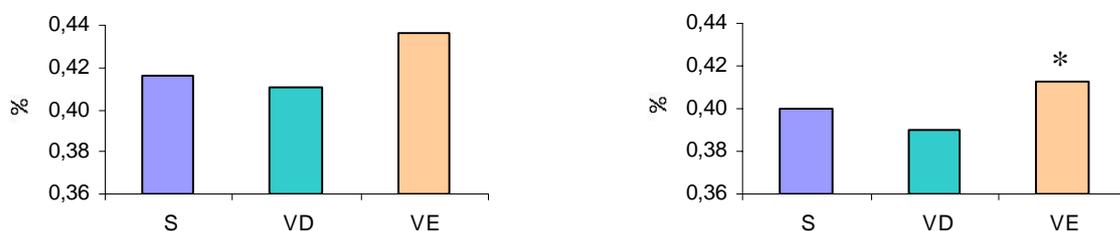


Figura 04 – Valores percentuais da Densidade volumétrica dos miócitos do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil. * $p < 0,05$

5.5 Número de miócitos por unidade de volume (N_{mm^3mioc})

A Fig. 05 apresenta o número de miócitos por unidade de volume estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores do número de miócitos por unidade de volume foram maiores no grupo Senil ($S = 2702357,7$ mioc/ mm^3 ; $VD = 2493591,4$ mioc/ mm^3 e $VE = 2660843,3$ mioc/ mm^3) do que no grupo Adulto ($S = 2690066,1$ mioc/ mm^3 ; $VD = 2361561,7$ mioc/ mm^3 e $VE = 2294502,3$ mioc/ mm^3) ($p > 0,05$).

Em ambos os grupos não houve diferença estatisticamente significante entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$).

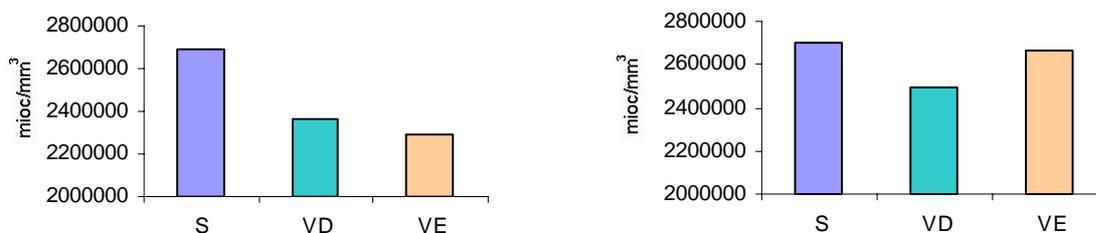


Figura 05 – Número de miócitos por unidade de volume do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil.

5.6 Densidade volumétrica nuclear (V_{vnu})

A Fig. 06 apresenta os valores percentuais da densidade volumétrica nuclear estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores percentuais da densidade volumétrica nuclear foram maiores no grupo Senil ($S = 2,980E-02$; $VD = 2,84E-02$ e $VE = 3,560E-02$) do que no grupo Adulto ($S = 0,032$; $VD = 0,031$ e $VE = 0,032$) ($p > 0,05$).

Em ambos os grupos não houve diferença estatisticamente significante entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$).

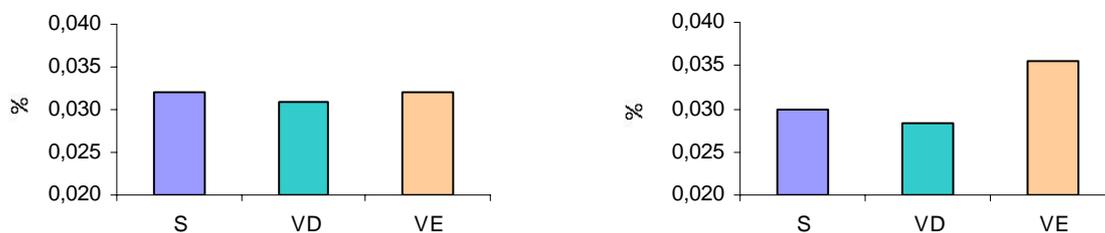


Figura 06 – Valores da densidade volumétrica nuclear do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil.

5.7 Número de núcleos por milímetro cúbico: ($N_{mm^3 nu}$)

A Fig. 07 apresenta o número de núcleos por milímetros cúbicos estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores do número de núcleo por milímetros cúbicos foram maiores no grupo Senil ($S = 409369,14 \text{ nu/mm}^3$; $VD = 34960,69 \text{ nu/mm}^3$ e $VE = 431970,04 \text{ nu/mm}^3$) do que no grupo Adulto ($S = 369081,67 \text{ nu/mm}^3$; $VD = 339481,12 \text{ nu/mm}^3$ e $VE = 332629,30 \text{ nu/mm}^3$) ($p > 0,05$).

Em ambos os grupos não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$).

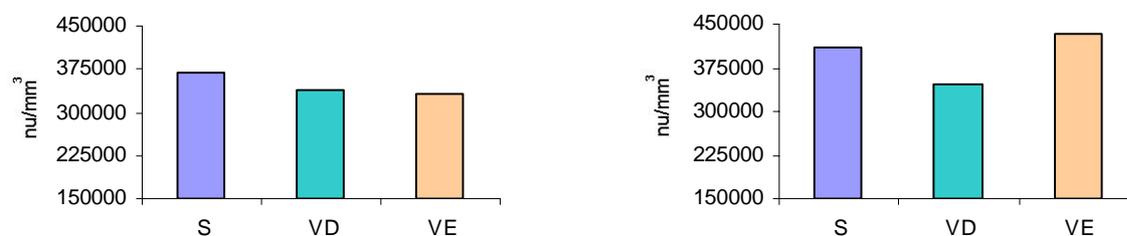


Figura 07 – Número de núcleos por mm^3 do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil.

5.8 Volume unitário médio do núcleo (v_0 nu)

A Fig. 08 apresenta o volume unitário médio do núcleo estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores do volume unitário médio do núcleo foram maiores no grupo Adulto ($S = 88,799 \mu\text{m}^3$; $VD = 102,136 \mu\text{m}^3$ e $VE = 98,393 \mu\text{m}^3$) do que no grupo Senil ($S = 73,256 \mu\text{m}^3$; $VD = 84,041 \mu\text{m}^3$ e $VE = 83,009 \mu\text{m}^3$) ($p > 0,05$).

Em ambos os grupos não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$).

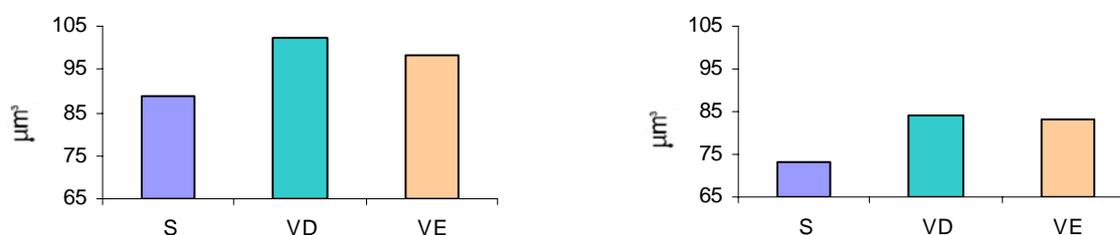


Figura 08 – Volume unitário médio do núcleo do coração humano. A – Grupo adulto; B – Grupo senil.

5.9 Área da secção transversa unitária do núcleo (a_0 nu)

A Fig. 09 apresenta a área da secção transversa unitária do núcleo estimados a partir da leitura de 150 campos microscópicos para cada grupo. Os valores da área da secção transversa unitária do núcleo foram maiores no grupo Senil nas regiões ventriculares direita e esquerda ($2,082 \mu\text{m}^2$ e $2,318 \mu\text{m}^2$ respectivamente) do que no grupo Adulto ($2,040 \mu\text{m}^2$ e $2,015 \mu\text{m}^2$ respectivamente). A região Septal apresentou um valor médio maior no grupo Adulto ($2,145 \mu\text{m}^2$) do que no grupo Senil ($1,997 \mu\text{m}^2$) ($P > 0,05$).

Em ambos os grupos não houve diferença estatisticamente significativa entre as três regiões analisadas ($p > 0,05$).

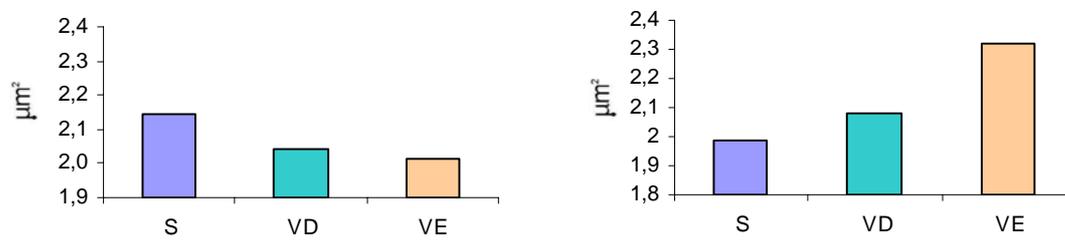


Figura 09 – Área da secção transversa unitária do núcleo do coração humano. A – Grupo adulto;

B – Grupo senil.

6 DISCUSSÃO

O conhecimento do processo de envelhecimento do coração é importante para a melhor compreensão dos processos patológicos que se instalam mais comumente no indivíduo senil. Contudo uma das maiores dificuldades encontradas no estudo dos efeitos do envelhecimento sobre o sistema cardiovascular é a de se isolar e se identificar os efeitos do processo normal ou fisiológico de envelhecimento sobre àqueles relacionados com a presença de estados patológicos específicos associados. Na espécie humana é comum a ocorrência de aterosclerose, diabetes e doenças cardíacas isquêmicas e é sabido que a severidade dessas condições patológicas aumenta com a idade (OLIVETTI et al., 1991). Além disso, outras dificuldades são relatadas quando se deseja realizar uma investigação apenas do processo fisiológico de envelhecimento, tais como o estilo de vida de cada indivíduo, (nível de atividade física e estresse, hábitos alimentares, ingestão de álcool e tabagismo). Todos esses fatores podem contribuir para desencadear alterações na função cardiovascular no decorrer do envelhecimento do indivíduo, embora sua específica contribuição seja muito difícil de quantificar (SAFAR, 1990; LEWS e MARON, 1992).

No presente estudo, semelhantemente ao protocolo adotado na literatura em trabalhos em humanos (KITZMAN et al, 1990, OLIVETTI et al., 1991; CHIDA et al., 1994; OLIVETTI et al., 1996) foram utilizados apenas corações provenientes de necrópsia de indivíduos não portadores de cardiopatias, a fim de diminuir a possibilidade de eventual presença de condições causadoras de hipertrofia miocárdica.

A Estereologia permite-nos determinar a tridimensionalidade de um órgão, tecido, célula, etc, através de cortes histológicos com imagens bidimensionais. Em Esteriologia o primeiro mandamento é trabalhar com poucos indivíduos, poucos campos microscópicos analisados, gastar pouco (poucas lâminas histológicas) mas sem perder a acurácia dos resultados. Segundo Mandarim-de-Lacerda (2000) para se usar o índice de significância de 0,05, o número mínimo de

indivíduos num determinado estudo para se obter resultados exploráveis estatisticamente será de 05 indivíduos. Em nosso estudo obedecemos esse critério e utilizamos uma amostra de cinco indivíduos por grupo.

Quando comparados os valores da área da secção transversa unitária do miócito nos grupos adulto e senil observamos que no grupo senil as áreas da secção transversa do miócito nas regiões septal e ventricular direita foram menores do que no grupo adulto, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significativa. Entretanto, a região ventricular esquerda do grupo senil apresentou valor ligeiramente maior do que aquele encontrado no grupo adulto. ENGELMANN et al. (1987) em um estudo experimental com ratos normotensos com idades de 1, 6, 12, 18 e 24 meses, analisou a área da secção do miócito do corações desses animais e demonstraram haver um aumento significativo da área da secção do miócito nos animais com 12 e 18 meses de idade e uma diminuição significativa da área da secção do miócito nos animais com idade entre 18 e 24 meses. Entretanto, esses autores, não especificaram as regiões cardíacas utilizadas como amostra para esse estudo. Quando analisado os resultados dentro de cada grupo observou-se que o aumento da área da secção transversa do miócito na região ventricular esquerda foi estatisticamente significativa quando comparado aos valores obtidos nas regiões septal e ventricular direita do grupo senil. BURNS et al. (1990) também observaram uma hipertrofia relativa dos miócitos mais acentuada na senilidade.

Estudos também demonstraram, em corações humanos, que a área da miocélula próxima às região endocárdica se apresentava maior do que àquelas próximas às regiões epicárdicas (BRANDI e MCGREGOR, 1969; GERDES et al., 1979), embora HATT et al. (1979) só tenham observado esse comportamento em corações humanos hipertróficos. Em nosso trabalho não foi realizado um estudo relativo a área da miocélula com relação a sua posição nas diferentes camadas do coração.

Os miócitos do grupo senil, nas regiões septal e ventricular direita, apresentaram valores médios do comprimento do perímetro unitário menores do que nas regiões semelhantes do grupo adulto, porém, na região ventricular esquerda o valor médio do comprimento do perímetro unitário do miócito foi maior no grupo senil. Quando analisado os resultados dentro de cada grupo observou-se que no grupo senil o valor médio do comprimento do perímetro unitário do miócito na região ventricular esquerda foi estatisticamente significante quando comparado aos valores obtidos nas regiões septal e ventricular direita. O comprimento do miócito é uma dimensão difícil de se obter na miocélula, particularmente no miocárdio adulto, devido a dificuldade de se obter verdadeiros cortes longitudinais da célula (CANALE et al, 1986), fato este que pode justificar a escassez de dados na literatura sobre o comprimento do perímetro unitário do miócito seja em trabalhos experimentais ou em humanos.

Obtivemos valores médios do volume unitário dos miócitos maiores no grupo senil do que no grupo adulto, porém, essa diferença não se mostrou estatisticamente significante. Quando analisado os valores das três regiões desse mesmo grupo encontrou-se um volume unitário do miócito maior no ventrículo esquerdo do que nas regiões septal e ventricular direita. No grupo adulto não houve diferença significante entre as três regiões estudadas. ÁGUILA et al (1998) analisando amostras das regiões septal e ventricular esquerda do miocárdio de ratos com idade de 3 e 15 meses observaram que o volume dos miócitos diminuiu de 76,7% no grupo de animais mais jovens para 72,2% nos animais de 15 meses de idade.

Segundo POMERANCE (1975), ANVERSA et al. (1986), KITZMAN e EDWARDS (1990), ocorre no miocárdio humano, durante o envelhecimento, uma diminuição no número de miocélulas seguido de um aumento no tamanho das mesmas. Com relação à densidade volumétrica dos miócitos também observamos uma diminuição da mesma no grupo senil, embora estatisticamente não significativa. Em estudo experimental em corações de ratos com idade de 3 e

15 meses, ÁGUILA et al. (1998) também observaram uma diminuição significativa da densidade volumétrica dos miócitos nos animais com idade de 15 meses, animais considerados nessa faixa etária como idosos. Entretanto, ENGELMANN et al. (1987) demonstraram haver um aumento do volume percentual do ventrículo esquerdo ocupado por miócitos em ratos normotensos com idade de 12 a 18 meses. Quando analisado apenas o grupo senil, observamos que o valor percentual foi significativamente maior no ventrículo esquerdo quando comparado com a região ventricular direita e septal. Não foram encontrados na literatura, entretanto, dados a cerca da densidade volumétrica dos miócitos nas diferentes regiões ventriculares e na parede septal.

Com relação ao número de miócito por unidade de volume observamos um aumento no grupo senil. Da mesma forma, experimentalmente em ratos, ÁGUILA et al. (1998) também observaram um aumento de 5,42 para $13,26 \times 10^3 \text{ mm}^3$.

A densidade volumétrica nuclear foi maior nas três regiões do coração do grupo senil, entretanto não apresentou diferença estatisticamente significante. Não foram encontrados na literatura, entretanto, dados a cerca da densidade volumétrica nuclear durante o envelhecimento.

Nossos dados demonstraram um aumento do número de núcleos por milímetro cúbico nas regiões ventriculares direita e esquerda e septal do grupo senil, embora essa diferença não tenha sido estatisticamente significante. Esses resultados são semelhantes com os descritos por OLIVETTI et al. (1991).que demonstraram um aumento no volume do miócito por núcleo em ambos os ventrículos.

Não foram encontrados, na literatura consultada, dados acerca dos valores do volume unitário médio do núcleo. Nossos resultados demonstraram que os valores do volume unitário médio do núcleo foram maiores no grupo adulto nas três regiões estudadas (ventriculares direita e esquerda e septal).

Os valores da área da secção transversa unitária do núcleo foram maiores nas três regiões ventriculares direita e esquerda no grupo senil. Entretanto, a região septal apresentou um valor maior no grupo adulto. Não foram encontrados na literatura, entretanto, dados a cerca da área da secção transversa unitária do núcleo nas diferentes regiões ventriculares (direita e esquerda) e na parede septal.

Está bem estabelecido que, em ambos humanos e animais, a proliferação das miocélulas ocorre de maneira diminuída após o nascimento e que o crescimento do coração, durante as fases pós-natal e antes que a maturidade sexual seja alcançada, é controlada por hipertrofia das miocélulas e hiperplasia das células endotéliais, capilares e fibroblastos (RAKUSAN, 1984; ZAK, 1984).

Observa-se, entretanto, que a diminuição da massa cardíaca que é decorrente de uma contínua perda de miócito nas regiões ventriculares ocorre como um aspecto funcional da idade. Em contraste, o volume celular da miocélula por núcleo aumenta progressivamente compensando a perda funcional do músculo. Além disso, essas alterações quantitativas na miocélula são mais acentuadas no ventrículo esquerdo do que no direito. Todos esses fenômenos celulares culminando lugar a alterações externas na espessura da parede de ambos os ventrículos (KITZMAN et al., 1988; OLIVETTI et al., 1991; CHIDA et al., 1994).

As alterações na estrutura ventricular parecem acarretar hipertrofia das miocélulas, como é observado na hipertensão ou doença vascular, enquanto que a hiperplasia ou “pseudohipertrofia” resulta da re-ocupação de áreas de miocélulas por tecido não contrátil como é observado na doença cardíaca isquêmica (UNVERFERTH et al., 1983; MESSERLI, 1984). A hipertrofia miocárdica por sua vez é a tentativa de adaptação do coração à sobrecarga de trabalho, evoluindo para a falência cardíaca quando o processo de adaptação é esgotado (MANDARIM-DE-LACERDA, 1995).

O processo de envelhecimento normal está associado a uma variedade de mudanças. Vários estudos já demonstraram que o envelhecimento estava associado com o aumento da espessura da parede ventricular esquerda e da massa cardíaca. Entretanto, essas mudanças são graduais e relativamente moderadas, e, segundo LEWIS E MARON (1992) as medições absolutas da espessura da parede cardíaca em indivíduos idosos raramente excedem os valores aceitos geralmente como normais. Entretanto, essas mudanças, as quais usualmente discretas, podem diminuir a capacidade do coração senil em se adaptar ao estresse imposto a partir da instalação de alguma doença cardiovascular (KITZMAN e EDWARDS, 1990). Em nosso estudo encontramos diferenças quando comparamos os grupos adulto e senil, porém, essas diferenças não chegaram a ser estatisticamente significantes.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no estudo realizado em corações humanos de indivíduos adultos e senis podemos concluir que:

- Ocorrem modificações nas dimensões da miocélula do coração humano no decorrer do envelhecimento do indivíduo, entretanto, essas diferenças são sutis e parece significar a adaptação do tecido às mudanças funcionais que se instalam no decorrer da vida;
- Na fase senil observa-se um aumento da área da secção transversa unitária do miócito, do comprimento do perímetro unitário do miócito e do volume unitário do miócito mais acentuada na parede do ventrículo esquerdo;
- O aumento da área da secção transversa unitária do miócito, do comprimento do perímetro unitário do miócito e do volume unitário do miócito nos leva a concluir que durante o envelhecimento ocorre perda de miocélulas com provável hipertrofia das células remanescentes.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. ; APFEL, M. I. R. Estereologia do miocárdio de ratos jovens e idosos. **Arq. Bras. Cardiol.**, 70(2): 105-109, 1998.

ANGELAKOS, E. T. et al. Myocardial fiber size and capillary-fiber ratio in the right left ventricles of the rat. **Anatomical Record**, 148:671-676, 1964.

ANVERSA, P.; RICCI, R.; OLIVETTI, G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. **J. Amer. Coll. Cardiol.**, 7: 1140-1149, 1986.

ANVERSA, P. et al. Myocyte cell loss and myocyte hypertrophy in the aging rat heart. **J. Am. Coll. Cardiol.**,8: 1441-8, 1986.

ASHLEY, L. M., A determination of the diameter of ventricular myocardial fibers in man and other mammals. **Am. J. Anat.** 77:325-363, 1945.

BAI, S. et al. Influence of age, growth, and sex on cardiac myocyte size and number rats. **Anat. Rec.**, 226: 207-212, 1990.

BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J.M.P; GOTLIEB, S.L.D. **Biostatística**. São Paulo, EPU, 1980.

BISHOP, S. ;DRUMMOND, J.L. Surface morphology and cell size measurement of isolated rat cardiac myocytes. **J. Mol. Cel. Cardiol.**, 11: 423-433, 1979.

BRANDI, G.; McGREGOR, Intramural pressure in the left ventricle of the dog. **Cardiovasc. Res.** 3:472-475, 1969.

BURNS, T.R.; KLIMA, M.; TEASDALE, T.A .; KASPER, K. Morphometry of the aging heart. **Mod. Pathol.**, 3(3): 336-42, 1990.

CAMILLERI, J. P. Approche structurale du vieillissement vasculaire. **Presse Med.**, 21(26): 1184-7, 1992.

CANALE, E. D. et al. **Cardiac Muscle. – Morphometry of Cardiac Muscle.**Springer- Verlag ed, p.52-59, 1986.

CHIDA, K. et al. A morphological study of the normally aging heart. **Cardiovasc. Pathol.**, 3: 1-7, 1994.

CHIZZOLA, A .et al. Premesse metodologiche allo studio citometrico del miocardio. **Rev. Anat. Patol.**, 31: 345-367, 1967.

DI SOMMA, S. et al. Changes in myocardial cytoskeletal intermediate filaments and myocyte contractile dysfunction in dilated cardiomyopathy: na in vivo study in humans. **Heart**, 84(6): 659-667, 2000.

ENGELMAN, G.L; VITULL, J.C; GERRITY, R.G. Morphometric analysis of cardiac hypertrophy during development, maturation and senescence in spontaneously hypertensive rats. **Cir. Res.**, 60: 483-494, 1987.

GERDES, A. M.; CALLAS, G.; KASTEN, F. H. Differences in regional capillary distribution and myocytes sizes in normal and hypertrophic rat hearts. **Am. J. Anat.**, 156:523-532, 1979.

GERDES, A. M.; KASTEN, F. H., Morphometric study of endomyocardium and epimyocardium of the left ventricle in adult dogs. **Am. J. Anat.**, 159:389-394, 1980.

HARRISON, R. R. et al., Congestive heart failure. **Arch. Int. Med.**, 49:151-164, 1932.

HATT, P. Y.; RAKUSAN, K.; GASTINEAU, P.; LAPLACE, M., Morphometry and of heart hypertrophy induced by chronic volume overload (aorto-caval fistula in the rat). **J. Mol Cell Cardiol.**, 11: 989-998, 1979.

HENRY, W. L.; GARDIM, J.M.; WARE, J.H. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old age. **Circulation**, 62: 1054-61, 1980.

HOSHINO, J.; FUJIWARA, H.; KAWAI, C.; HAMASHIMA, Y., Myocardial fiber diameter and regional distribution in the ventricular wall of normal adult hearts, hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy. **Circulation**, 67(5):1109-16, 1983.

KEIBEL, F.; MALL, F. P. **Manual of human embryology**. Vol. 2 J. B. Lippincott Co. Philadelphia pp. 567-568, 1912.

KITZMAN, D.W. et al. Age-related changes in normal human hearts during the first 10 decades of life. Part II (maturity): a quantitative anatomic study of 765 specimens from subjects 20 to 99 years old. **Mayo Clinic Proceedings**, 63: 137-146, 1988.

KITZMAN, D.W.; EDWARDS, W.D. Age-related changes in the anatomy of the normal human heart. **J. Gerontol.**, 45(2): M33-39, 1990.

KORECKY, B.; RAKUSAN, K. Normal and hypertrophic growth of the rat heart: Changes in cell dimensions and number. **Am J. Physiol.**, 3(2):H123-H128, 1978.

LEWIS, J. F.; MARON, B. J. Cardiovascular consequences of the aging process. **Cardiovasc Clin.**, 22(2): 25-34, 1992.

LOUD, A.V; BARANY, W.C; PACK, B.A. Quantitative evaluation of cytoplasmic structures in electronmicrographs. **Lab. Invest.**, 14(6): 258-270, 1965.

LOUD, A.V; BEGHI, C; OLIVETTI, G; ANVERSA, P. Morphometry of right and left ventricular myocardium after strenuous exercise in preconditioned rats. **Lab. Invest.**, 51: 104-11, 1984.

MANDARIM-DE-LACERDA, A .C. Morfometria estereológica do miocárdio no coelho (*oryctolagus cuniculus*). Estudo comparativo entre a *crista terminalis* e os septos interatrial e interventricular. **Rev. Bras. Cien.Morfol.**, 4(1):8-12, 1987.

MANDARIM-DE-LACERDA, C.A.; SAMPAIO, F. J. B. Quantitative study of the heart in staged human embryos in stage 17. **Okajimas Folia Anat. Jpn**, 64(5): 253-258, 1987.

MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. - Fisiologia e Fisiopatologia: Estereologia do rim: determinação do Vv, Nv e volume médio do glomérulo.. **J. Bras.** 22(2): 103-9, 2000.

MESSERLI, F. H. Cardiovascular adaptation in elderly hypertensive patients. Abstract. **J. Amer. Col. Cardiol.**, 3: 518, 1984.

OLIVETTI, G. MELISSARI M.; CAPASSO, J. M.; ANVERSA, P. Cardiomyopathy of the aging human heart. **Circ. Res**, 68(6): 1560-1568, 1991.

OLIVETTI, G. et al. Aging, cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart. **J. Mol. Cell Cardiol.**, 28: 1463-1477, 1996.

OBERPRILLER, J. O ; OBERPRILLER, J. C.; AAFEDT, B.C. Changes in binucleation and cellular dimensions of rat left atrial myocytes after induced left ventricular infarction. **Amer. J. Anat.**, 179: 285-290, 1987.

PATTEN, B.M. Changes in circulation following birth. **Am. Heart, J.**, 6: 192-205, 1930.

PEIREIRA, L.M.M.; VIANNA, G.M.M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A .Morfologia e estereologia do miocárdio em ratos hipertensos. Correlação com o tempo de inibição da síntese do óxido nítrico. **Arq. Bras. Cardiol.**, 70(6): 397-402, 1998.

POMERANCE, A . **Aging and degenerative changes**. In: Pomerance A. Davies MJ eds. The pathology of the heart. London Blackwell Scientific Publications, p. 49-70, 1975.

RAKUSAN, K; MONAVEC, J; HATT, P.Y. Regional capillary supply in the normal and hypertrophied rat heart. **Microvasc. Res.**, 20:319-326,1980.

SAFAR, M. Ageing and its effects on the cardiovascular system. **Drugs**, 39, suppl 1: 1-8, 1990.

TRUEX, R. C. Myocardial cell diameters in primate hearts. **Amer. J. Anat.**, 135: 269-280, 1972.

UNVERFERTH, D. V. et al. Human myocardial histologic characteristics in congestive heart failure. **Circul.**, 68: 1194-1200, 1983.

WEIBEL, E.R.; KISTLER, G.S.; SCHERLE, W.F. Pratical stereological methods for morphometric cytology. **J. Cell Biol.**, 30: 23-38, 1966.

WEIBEL E.R. Stereological methods: Practical methods for biological morphometry, v.1, London: Academic Press, 1979. p.415.

ANEXOS

TÉCNICAS HISTOCITOMÉTRICAS (FÓRMULAS FINAIS)

a) Área de secção transversa unitária da miocélula

$$(4) a_o \text{ mioc} = A_o \text{ mioc} / N_{\text{mioc}}$$

b) Comprimento unitário do perímetro da miocélula

$$(7) l_o \text{ mioc} = L_o \text{ mioc} / N_{\text{mioc}}$$

c) Volume unitário da miocélula

$$(10) v_o \text{ mioc} = (h_{\text{mioc}} * a_o \text{ mioc}) * f_s^{-3} \text{ ou } v_o \text{ mioc} = (h_{\text{mioc}} * a_o \text{ mioc}) * (l_s/l_o)^{-3}$$

d) Volume percentual de miocélula (densidade volumetrica)

$$(11) V_{\text{vmioc}} = P_{\text{mioc}} / P_t$$

e) Número de miocélulas por unidade de volume

$$(12) N_{\text{mm}^3 \text{ mioc}} = 10^9 / 96.04 * N_{\text{mioc}} / h_{\text{mioc}} * (l_s/l_o)^3 / (l_o/l_c)$$

i) Fração de volume nuclear

$$(16) V_{\text{vnu}} = P_{\text{nu}} / \{P_t * 1 + 1.23[t / (h_{\text{nu}} * l_o/l_c)]\}$$

j) Número de núcleos por mm^3

$$(18) N_{mm}^3 \nu = 10^9 / (96.04 * t) * N_{nu} / [h_{nu} * (l_0/l_c) + t] * fs^3$$

k) Volume unitário médio do núcleo

$$(19) v_{nu} = (10^9 * V_{vnu}) / N_{mm}^3 \nu$$

l) Área de secção unitária média do núcleo

$$(20) a_{nu} = 0.9604 * (P_{nu}/N_{nu}) * \{ [h_{nu} * (l_0/l_c) * t] / [h_{nu} * (l_0/l_c) * 1 + (1.23 * t)] \}$$

Descrição das Fórmulas

O comprimento da miocélula (hm_{ioc} = distância inter-nuclear) foi medido diretamente no microscópio com uma ocular 10X + 100X (objetiva de imersão), sendo que a direção do maior eixo da miocélula era paralelo ao fio da navalha ou seja, perpendicular a direção do corte (Chizzola et al, 1967). Nestas condições não foi necessário a correção para a compressão, apenas para a retração. Os fatores de compressão e retração foram considerados para cada bloco de tecido, tendo em vista as variações de um para o outro.

A área total das secções transversas das miocélulas foi estimada em cortes perpendiculares ao maior eixo da miocélula. O valor destas áreas (A_{mioc}), é dado pela relação entre o número de pontos que caem nas estruturas em tela (P_{mioc}) e, o número total de pontos do sistema-teste (P_t).

$$(1) A_{mioc} = P_{mioc}/P_t$$

No nosso caso, a área das secções transversas das miocélulas na área-teste é dada em μm^2 : $A_{mioc} = (P_{mioc}/P_t) * A_t$, onde (A_t) é a área total do sistema-teste em $\mu m^2 = 96,04$ e (P_t) = 100, logo:

$$(2) A_{cmioc} = 0,9604 * P_{mioc}, \text{ aplicando o fator de Compressão na fórmula 2 teremos:}$$

$$(3) A_{o\ mioc} = 0.9604 * P_{mioc} * (l_o/l_c)$$

O número de secções transversas de miocélulas na área-teste (n_{mioc}), foi contada; a área de secção transversa unitária em μm^2 será, então:

(4) $a_{o\ mioc} = A_{o\ mioc}/N_{mioc}$; este procedimento permite estimar o valor unitário médio da área de secção transversa da miocélula, onde (N_{mioc}) é o número de miocélulas contadas nos campos correspondentes. A contagem das miocélulas foi feita em cada campo microscópico separadamente levando em conta as “linhas proibidas”(Weibel, 1978).

Para determinar a medida do perímetro das secções transversas, usamos a fórmula baseada no teorema de Buffon (Weibel e Elias, 1967):

(5) $L = n * (PI/2) * D$,sendo (n) o número de intersecções das linhas-teste com os contornos das transecções e (D) é a distância entre retas paralelas do sistema-teste.

Tomando como base a fórmula 5, o comprimento (L_{mioc}), do perímetro das secções transversas de miocélulas na área-teste é:

(6) $L_{mioc} = I_{mioc} * (PI/2) * D$, onde (I_{mioc}) corresponde ao número de intersecções de miocélulas na área-teste. Utilizando o Fator de Compressão corrigimos a fórmula 6 para:

$$(6a) \quad L_{o\ mioc} = I_{mioc} * (PI/2) * D * (l_o/l_c)$$

Sendo (N_{mioc}) o número de secções transversas de miocélulas na área-teste, o comprimento unitário do perímetro da miocélula em μm resulta em:

$$(7) \quad l_{o\ mioc} = L_{o\ mioc}/N_{mioc}$$

A medida da superfície celular lateral unitária ($c_{o\ mioc}$) pode ser dada pelo produto do perímetro unitário das secções transversas de miocélulas ($l_{o\ mioc}$), pelo comprimento unitário celular médio (h_{mioc}) obtido pelas distâncias inter-nucleares.

$c_{o\ mioc} = h_{mioc} * l_{o\ mioc}$, para o (h_{mioc}) como já sabemos, não há necessidade para

correção da compressão, tendo em vista que esta medida foi obtida seguindo a direção do corte paralelo ao fio da navalha, contudo não se encontra “desretraída”, portanto, considerando para o estado retraído temos:

$hmioc^{(retr.)} = hmoc^{(desretr.)} * ls/ló$, logo: $hmioc^{(desretr.)} = hmioc^{(retr.)} * ló/ls$, pelo mesmo raciocínio temos: $lo\ mioc^{(desretr.)} = lo\ mioc^{(retr.)} * ló/ls$, donde:

$$(8) \ c_o\ mioc = hmioc^{(retr.)} * lo^{mioc(retr.)} * (ló/ls)^2$$

Analogamente, o volume unitário ($vmioc$) é dado pelo produto da área de secção transversa ($aomioc$), pelo comprimento da miocélula:

(9) $vmioc = hmioc * aomioc$, este volume foi obtido no tecido retraído; para ter o volume (vo) estimado em suas dimensões correspondentes aos procedimentos prévios à fixação e inclusão (no material a fresco), utilizamos a fórmula: $vo = vs * fs^{-3}$, onde o (vo) é o volume original antes do pós-processamento e, (vs) é o volume após processado, sendo $fs^{-3} = (ls/ló)^{-3}$, portanto corrigindo a fórmula 9, temos:

$$(10) \ v_o\ mioc = (hmioc_{(retr.)} * a_o\ mioc) * fs^{-3} \quad \text{ou} \quad v_o\ mioc = (hmioc^{(retr.)} * a_o\ mioc) * (ls/ló)^{-3}$$

O volume percentual da miocélula (densidade volumétrica) é dada pela fórmula:

$Vvi = Pi/Pt$ (Weibel,1966), que aplicado ao nosso sistema-teste temos:

(11) $Vvmioc = Pmioc/Pt$, onde ($Pmioc$) é o número de pontos que caem nas estruturas e, (Pt) é o número total de pontos do sistema-teste.

O número de miocélulas por unidade de volume ($Nmm3mioc$) é calculado pelo volume unitário da miocélula($vomioc$) e o volume percentual ($Vvmioc$) ocupado pela miocélula do tecido, resultando:

$$Nmm3mioc = (10^9 * Vvmioc) / v_o mioc = (10^9 * Pmioc/Pt) / [(hmioc^{(retr.)} * a_o\ mioc) * fs^{-3}] = \\ = (10^9 * Pmioc/Pt) / \{ [0.9604 * Pmioc * (lo/lc)] / Nmioc \} * (ls/ló)^3, \text{ portanto temos:}$$

$$(12) N_{mm^3 \text{mioc}} = 10^9 / 96.04 * N_{\text{mioc}} / h_{\text{mioc}} * (l_s / l_0)^3 / (l_0 / l_c)$$

Quanto ao número de núcleos das miocélulas estimamos o volume percentual (fração de volume), volume absoluto médio, área de secção transversa média unitária, número de núcleos por mm³ e o comprimento do núcleo (hnu) medido pela média do diâmetro maior pelo menor $(d1 * d2) / 2$.

Enquanto que a influência de espessura do corte, sobre as medidas efetuadas nas miocélulas era insignificante, no caso dos núcleos foram necessárias correções.

Para o volume percentual, podemos obter com um procedimento análogo ao aplicado as miocélulas, tendo em conta que é necessário fazer-se a correção do “Efeito Holmes” (Weibel e Elias, 1967), por meio da equação:

(13) $V_{vo} = (1/Ko) * (Po/Pt)$, onde (V_{vo}) é o volume percentual corrigido, (Po) é o número de pontos sobre as estruturas, (Pt) é o número total de pontos do sistema-teste e (Ko) é o coeficiente de correção do efeito Holmes. Este coeficiente está ligado à dimensão característica da estrutura (h), com a forma e com a espessura do corte (t). Para as formações esféricas, Holmes (1927), Hennig (1957), Weibel e Elias (1967) propuseram a seguinte equação:

$$(14) Ko = 1 + 3t / 2h ; \text{ por outro lado, para formações cilíndricas ou prismáticas temos:}$$

$$(18) Ko = 1 + t / h.$$

Uma vez que o núcleo miocárdico tem forma aproximada intermédia entre essas formações, temos que: (19) $1 + 3t / 2h \quad K_{nu} \quad 1 + t / h$.

Na prática pode-se determinar o volume percentual do núcleo, adotando sempre o mesmo valor do coeficiente (x), resultante da média de alguns casos medidos experimentalmente, tomando como base a fórmula:

(15) $x = [hnu * (P''nu - P'nu)] / (t'' * P'nu - t' * P''nu)$, onde (t') e (t'') são as espessuras dos cortes histológicos, (hnu) é o comprimento do núcleo, ($P'nu$) e ($P''nu$) são os

pontos que caem nos núcleos, respectivamente nos cortes (t') e (t'') (Chizzola et al, 1967). No que se refere ao núcleo em tela: $x = 1.23$ e $K_{nu} = 1 + 1.23 * t / h_{nu}$. Portanto podemos calcular a fração do volume nuclear (V_{vnu}), com base na relação:

$$(16) \quad V_{vnu} = P_{nu} / \{P_t * 1 + 1.23[t/(h_{nu} * l_0/l_c)]\}, \quad \text{ou volume percentual}$$

multiplicando este valor por 100.

O número de núcleos por unidade de volume pode ser calculado pela fórmula de Abercrombie (1946):

(17) $N_v = (n_v * t) / (h + t)$, onde (N_v) e (n_v) são respectivamente o número real e o número de estruturas contidas em um corte histológico de volume (V); (t) e (h) são a espessura do corte e o comprimento, respectivamente. Portanto aplicando a fórmula 22 ao nosso sistema-teste, o número de núcleos por milímetro cúbico (N_{mm^3nu}), é dado pela relação:

(18) $N_{mm^3nu} = 10^9 / (96.04 * t) * N_{nu} / [h_{nu} * (l_0/l_c) + t] * f_s^3$, onde (N_{nu}) é o número de secções de núcleos na área-teste.

O volume unitário médio do núcleo pode ser calculado pela relação do volume percentual (V_{vnu}) e o número de núcleos por unidade de volume (N_{mm^3nu}), portanto (v_{nu}) é expresso em μm^3 :

$$(19) \quad v_{nu} = (10^9 * V_{vnu}) / N_{mm^3nu}$$

A área de secção unitária média do núcleo, requer secções histológicas extremamente finas, para se obter uma medição precisa. Para corrigir isto, utilizamos a fórmula:

$$(20) \quad a_{nu} = 0.9604 * (P_{nu}/N_{nu}) * \{[h_{nu} * (l_0/l_c) * t] / [h_{nu} * (l_0/l_c) * 1 + (1.23 * t)]\},$$

onde aparece o fator de correção do “efeito Holmes”, que resulta da determinação não diretamente, mais tomando como base, todos procedimentos referidos por outras medidas nucleares.

MEDIA E DESVIO PADRAO DO ARQUIVO ADULTO

	comprimento		diâmetro do núcleo		média	miocelula - secção transversal			núcleo - secção transversal	
	miocelula	maior	menor			ponto	secção	intersecção	ponto	secção
a1s	72,976	10,370	4,608	7,489	44,200	22,633	82,600	2,667	4,400	
	5,482	0,553	0,327	0,440	4,078	3,728	7,965	1,374	1,474	
a1vd	70,580	10,486	4,956	7,721	40,000	25,767	91,367	3,600	6,133	
	5,939	0,960	0,632	0,796	3,847	3,041	7,718	1,497	1,962	
a1ve	75,101	10,399	4,758	7,579	43,867	23,533	83,133	2,800	4,567	
	4,768	0,642	0,296	0,469	4,958	3,423	10,748	1,249	1,499	
a4s	72,766	10,447	4,715	7,581	43,467	30,667	95,133	4,233	6,033	
	3,515	0,801	0,694	0,747	3,674	3,527	5,722	1,794	2,076	
a4vd	71,869	10,805	4,843	7,824	40,633	27,967	86,833	4,100	5,600	
	3,760	0,888	0,702	0,795	3,528	2,773	7,922	1,709	1,831	
a4ve	73,098	10,989	4,969	7,979	43,133	27,867	89,533	3,433	5,833	
	6,453	0,976	0,659	0,818	4,455	2,802	8,409	1,856	2,177	
a5s	70,942	11,168	4,876	8,022	41,067	27,500	88,533	3,833	5,133	
	6,189	0,809	0,631	0,720	2,778	2,047	5,335	1,949	1,795	
a5vd	72,560	10,703	5,070	7,887	38,933	26,933	84,667	2,867	4,433	
	5,248	0,985	0,553	0,769	2,828	1,911	6,013	1,074	1,357	
a5ve	74,795	11,234	4,680	7,957	41,200	28,067	84,900	3,067	4,800	
	2,928	0,752	0,871	0,811	2,937	2,337	5,275	1,436	1,424	
a7s	74,252	10,251	4,456	7,354	39,967	28,200	83,267	2,567	4,000	
	3,233	1,077	0,487	0,782	2,157	1,448	6,973	1,165	1,390	
a7vd	75,830	10,459	4,863	7,661	43,267	29,300	87,333	2,533	3,900	
	5,481	0,876	0,757	0,817	2,532	2,667	8,019	1,252	1,296	
a7ve	72,976	10,542	4,809	7,675	45,900	31,800	95,167	3,138	4,800	
	3,396	1,346	0,777	1,062	3,670	3,210	9,531	1,217	1,215	
a8s	71,636	9,757	4,379	7,068	39,133	26,733	73,967	2,600	3,867	
	3,935	0,935	0,638	0,787	1,889	1,856	4,484	1,133	1,358	
a8vd	70,502	9,935	4,478	7,207	42,500	28,833	85,700	2,333	3,600	
	10,533	1,015	0,736	0,876	3,309	2,437	8,301	1,028	1,192	
a8ve	69,610	9,966	4,897	7,432	43,933	27,833	86,100	3,467	4,700	
	5,089	0,510	0,613	0,562	3,016	1,683	6,661	1,479	1,088	

MEDIA E DESVIO PADRAO DO ARQUIVO SENIL

	comprimento		diâmetro do núcleo		média	miocelula - secção transversal			núcleo - secção transversal	
	miocelula	maior	menor	ponto		secção	intersecção	ponto	secção	
s2s	80,166	11,842	4,896	8,369	40,300	27,000	89,533	3,633	6,300	
	6,197	1,069	0,565	0,817	3,861	2,573	9,772	1,732	1,985	
s2vd	83,216	11,849	5,280	8,565	34,900	25,300	85,067	3,300	5,000	
	8,338	1,109	0,715	0,912	3,936	2,795	8,683	1,215	1,528	
s2ve	80,460	11,851	5,689	8,770	41,033	23,800	89,800	4,367	6,067	
	5,470	0,940	0,722	0,831	3,275	1,690	8,147	1,671	1,856	
s6s	81,744	12,031	6,064	9,047	39,933	26,800	75,667	2,900	4,467	
	6,636	0,865	0,962	0,913	2,258	1,540	4,196	1,213	1,383	
s6vd	79,143	11,747	5,069	8,408	41,667	27,667	82,000	2,733	4,233	
	4,290	1,378	0,785	1,082	2,695	2,397	5,369	1,484	1,591	
s6ve	84,111	12,386	4,981	8,684	41,200	27,167	85,267	3,000	5,000	
	4,752	0,825	0,725	0,775	1,972	2,102	6,622	1,365	1,486	
s9s	76,859	11,874	6,226	9,050	39,800	26,700	78,767	2,833	4,333	
	7,924	1,301	0,939	1,120	2,325	1,950	8,016	1,392	1,422	
s9vd	82,003	11,513	6,266	8,890	40,800	29,100	83,100	2,200	4,000	
	9,710	0,842	0,783	0,813	2,315	1,777	6,134	0,945	1,033	
s9ve	84,791	11,706	5,737	8,722	41,800	27,467	86,300	2,833	4,467	
	5,830	0,596	0,504	0,550	3,377	2,980	8,734	1,464	1,167	
s14s	81,425	11,809	5,648	8,729	40,133	28,800	84,633	2,933	4,900	
	6,896	0,857	0,585	0,721	1,727	2,548	10,323	0,964	1,700	
s14vd	83,955	12,153	6,436	9,295	38,967	27,500	84,300	2,967	4,400	
	4,340	1,719	0,910	1,315	2,639	2,277	4,398	1,354	1,381	
s14ve	85,437	12,888	6,429	9,659	41,933	27,500	87,633	3,400	4,900	
	5,555	1,589	0,928	1,258	2,966	1,821	4,111	1,200	1,300	
s15s	80,684	11,855	5,752	8,803	40,133	28,667	81,833	2,767	4,933	
	4,112	1,387	0,768	1,078	2,473	3,059	8,610	1,202	1,340	
s15vd	81,204	12,200	6,354	9,277	38,467	26,733	81,033	3,167	4,900	
	5,351	1,897	0,894	1,395	2,918	2,462	6,600	1,529	1,375	
s15ve	83,796	12,319	6,013	9,166	40,733	27,967	85,133	4,367	6,233	
	3,388	0,906	0,752	0,829	2,954	3,535	8,040	1,622	1,647	

	A mioc	a mioc	L mioc	l mioc	c mioc	v mioc	Vv mioc	Nmm^3mioc	Vvnu	Nmm^3nu	vnu	anu
septo												
sa01	48,692	2,151	145,852	6,444	772,958	74,504	0,442	1532491,723	0,026	248358,794	106,457	1,878
sa04	48,797	1,591	171,184	5,582	542,869	74,939	0,435	2840090,977	0,042	455971,211	92,075	2,206
sa05	49,301	1,793	170,358	6,195	439,476	127,182	0,411	4036222,266	0,038	555815,020	68,464	2,479
sa07	49,309	1,749	164,661	5,839	621,834	75,586	0,400	2302237,783	0,025	261630,396	97,342	2,076
sa08	45,821	1,714	138,819	5,193	469,623	86,560	0,391	2739287,612	0,026	323632,929	79,656	2,087
media												
dp	1,460	0,210	14,885	0,494	133,907	22,604	0,022	912065,771	0,008	132857,549	14,939	0,220
ventriculo D												
vda01	45,352	1,760	166,043	6,444	629,512	76,292	0,400	2334442,934	0,036	432448,249	82,578	1,869
vda04	42,881	1,533	146,881	5,252	422,674	92,996	0,406	3419324,861	0,041	561833,263	72,354	2,270
vda05	38,868	1,443	135,479	5,030	584,826	51,627	0,389	1905548,292	0,028	267166,268	106,342	1,961
vda07	55,666	1,900	180,098	6,147	924,624	51,563	0,433	1439956,787	0,025	148949,696	168,865	2,177
vda08	44,434	1,541	143,614	4,981	474,799	69,106	0,425	2708535,702	0,023	287008,139	80,541	1,925
media												
dp	6,232	0,188	18,213	0,678	195,791	17,554	0,018	757841,200	0,007	159975,340	39,390	0,174
ventriculo E												
vea01	42,677	1,813	129,636	5,509	679,980	64,630	0,439	1548357,745	0,028	274973,819	100,858	1,801
vea04	46,929	1,684	156,138	5,603	624,252	65,421	0,431	2109514,104	0,034	357721,669	95,201	1,867
vea05	43,476	1,549	143,601	5,116	483,124	81,678	0,412	2754470,175	0,030	398309,103	76,348	1,996
vea07	45,324	1,425	150,624	4,737	648,635	40,462	0,459	1765084,405	0,031	233267,434	133,274	1,947
vea08	57,821	2,077	181,630	6,526	530,897	114,450	0,439	3295085,089	0,034	398874,497	86,286	2,464
media												
dp	6,138	0,252	19,151	0,669	83,016	27,290	0,017	721798,449	0,003	75048,026	21,596	0,262

	A mioc	a mioc	L mioc	I mioc	c mioc	v mioc	Vv mioc	Nmm ³ mioc	Vvnu	Nmm ³ nu	vnu	anu
septo												
ss02	41,810	1,549	148,886	5,514	577,386	83,163	0,403	2349328,524	0,036	486957,814	74,009	1,830
ss06	39,630	1,479	120,362	4,491	424,467	97,229	0,399	2745853,572	0,029	406215,312	70,832	2,091
ss09	41,739	1,563	132,401	4,959	422,306	103,013	0,398	3101252,160	0,028	405956,305	69,277	2,157
ss14	47,795	1,660	161,551	5,609	528,093	108,691	0,401	2962304,081	0,029	406559,363	71,662	2,051
ss15	43,616	1,521	142,548	4,973	542,471	78,082	0,401	2353050,154	0,027	341156,913	80,500	1,856
media	42,918	1,554	141,150	5,109	498,944	94,036	0,401	2702357,698	0,030	409369,141	73,256	1,997
dp	3,070	0,067	15,706	0,458	71,270	13,022	0,002	344683,247	0,003	51726,200	4,396	0,146
ventriculo D												
vds02	33,929	1,341	132,557	5,239	640,587	62,664	0,349	1777563,478	0,033	332131,903	98,519	2,054
vds06	43,433	1,570	137,005	4,952	494,781	87,588	0,417	2566021,958	0,027	342394,514	79,190	2,057
vds09	46,099	1,584	150,497	5,172	424,097	129,906	0,408	3694971,532	0,022	421762,680	51,797	1,858
vds14	42,770	1,555	148,308	5,393	584,672	88,981	0,390	2324254,697	0,029	313044,839	94,114	2,293
vds15	40,002	1,496	135,070	5,052	567,863	74,622	0,385	2105145,410	0,031	325469,509	96,586	2,147
media	41,247	1,509	140,687	5,162	542,400	88,752	0,390	2493591,415	0,029	346960,689	84,041	2,082
dp	4,630	0,100	8,148	0,170	84,171	25,374	0,026	731577,337	0,004	43151,583	19,569	0,158
ventriculo E												
ves02	53,317	2,240	187,026	7,858	747,014	140,357	0,410	2398326,242	0,043	458886,757	94,570	2,557
ves06	43,965	1,618	145,842	5,368	557,458	99,231	0,412	2451662,339	0,030	404222,890	73,653	1,959
ves09	47,488	1,729	157,150	5,721	515,604	133,797	0,418	3078346,792	0,028	433563,329	64,886	2,131
ves14	50,341	1,831	168,626	6,132	646,776	114,015	0,419	2443217,219	0,034	342994,341	98,525	2,482
ves15	49,292	1,763	165,126	5,904	554,030	124,638	0,407	2932664,755	0,043	520182,865	83,412	2,463
media	48,881	1,836	164,754	6,197	604,176	122,408	0,413	2660843,469	0,036	431970,036	83,009	2,318
dp	3,467	0,239	15,220	0,970	93,219	16,313	0,005	319464,028	0,007	65565,101	14,058	0,259

