

Morfometria do Miocárdio Humano em Indivíduos Senis

Morphometry of Human Myocardium in Senile Individuals

José Antonio Cardoso, Ana Elisa Toscano, Tetsuo Tashiro, Cláudio Antonio Ferraz de Carvalho, Sílvia Regina Arruda de Moraes

Universidade Federal de Pernambuco e Instituto de Ciências Biomédicas - USP - Recife, PE – São Paulo, SP

OBJETIVO

Realizar uma avaliação quantitativa nas células do miocárdio humano de indivíduos senis, nas regiões ventriculares direita, esquerda e septal.

MÉTODOS

Foram utilizados cinco corações de cadáveres de indivíduos sem enfermidades cardíacas, de ambos os sexos, com idade entre 67 e 87 anos. Foram avaliados os seguintes parâmetros: área da secção transversa unitária do miócito (a_0 mioc); comprimento do perímetro unitário do miócito (l_0 mioc); volume unitário do miócito (v_0 mioc); densidade volumétrica dos miócitos (V_v mioc); número de miócitos por unidade de volume ($N_{mm} \text{ } ^3\text{mio}$). Na análise estatística utilizou-se o teste “t” de Student.

RESULTADOS

A análise das diferenças ($p < 0,05$) entre as regiões ventriculares direita (VD), esquerda (VE) e septal (S) do coração humano revelou que os valores da a_0 mioc mostraram-se menores no VD ($1,51 \pm 0,10 \mu\text{m}^2$) e no S ($1,55 \pm 0,07 \mu\text{m}^2$) em relação ao VE ($1,84 \pm 0,24 \mu\text{m}^2$). Os valores do l_0 mioc também se apresentaram menores no S ($5,11 \pm 0,46 \mu\text{m}$) em relação VE ($6,2 \pm 0,97 \mu\text{m}$). Do mesmo modo, o v_0 mioc e a V_v mioc apresentaram valores menores no VD ($88,75 \pm 25,37 \mu\text{m}^3$; $0,39 \pm 0,03\%$) em relação ao VE ($122,41 \pm 16,31 \mu\text{m}^3$; $0,41 \pm 0,01\%$).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que podem ocorrer modificações nas dimensões da miocélula da parede ventricular esquerda durante a fase senescente, entretanto, essas diferenças são sutis e parecem significar a adaptação do tecido às mudanças funcionais que se instalam no decorrer da vida.

PALAVRAS-CHAVE

Miócitos cardíacos, envelhecimento, miocardio/citologia.

OBJECTIVE

To carry out a quantitative assessment in human myocardium cells of senile individuals, in right, left and septal ventricular regions.

METHODS

Five hearts from corpses of individuals without heart diseases, of both sexes, with age between 67 and 87 years old were used. The following parameters were assessed: myocyte unit cross section area (myoc. a_0); myocyte unit perimeter length (myoc. l_0); myocyte unit volume (myoc. v_0); myocyte volumetric density (myoc. V_v); number of myocytes per volume unit ($N_{mm} \text{ } ^3\text{myoc.}$). The t-test of Student was used in statistic analysis.

RESULTS

The analysis of differences ($p < 0.05$) among right (RV), left (LV) and septal (S) ventricular regions of human heart showed that myoc. a_0 values were lower in RV ($1.51 \pm 0.10 \mu\text{m}^2$) and in S ($1.55 \pm 0.07 \mu\text{m}^2$) in relation to LV ($1.84 \pm 0.24 \mu\text{m}^2$). Values of myoc. l_0 were also shown lower in S ($5.11 \pm 0.46 \mu\text{m}$) comparing to LV ($6.2 \pm 0.97 \mu\text{m}$). Likewise, myoc. v_0 and myoc. V_v showed lower values in RV ($88.75 \pm 25.37 \mu\text{m}^3$; $0.39 \pm 0.03\%$) in relation to LV ($122.41 \pm 16.31 \mu\text{m}^3$; $0.41 \pm 0.01\%$).

CONCLUSION

Results obtained show that there may be changes in dimensions of left ventricular wall myocyte cell during senescent stage. However, those differences are subtle and seem to mean the adjustment of tissue to functional changes that install along life.

KEY WORDS

Myocytes, cardiac, aging, myocardium/cytology.

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 aqueles relacionados com a presença de estados patológicos específicos associados¹. 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^{2,3}.

O estudo dos aspectos pertinentes a morfometria e estereologia do miocárdio humano é importante para a compreensão dos mecanismos compensatórios observados nessa fase da vida. Entretanto, poucos são os dados na literatura que tratam dos aspectos morfométricos do coração durante a fase senescente, embora este músculo seja largamente estudado, sob o ponto de vista qualitativo nos mamíferos, particularmente, no homem, em diversos processos patológicos⁴⁻¹².

O presente trabalho tem por objetivo comparar as diferenças quantitativas nas células miocárdicas humanas das regiões ventriculares direita e esquerda e da parede septal em indivíduos senis, a fim de se obter subsídios que possam fornecer uma melhor compreensão dos processos patológicos tão freqüentes na fase senescente do indivíduo.

MÉTODOS

Foram estudados os corações de cinco cadáveres de indivíduos, sem enfermidades cardíacas, de ambos os sexos, com idades variando de 67 a 87 anos, provenientes do Departamento de Anatomia da Universidade de São Paulo.

Os corações foram cateterizados através da artéria coronária esquerda, lavados com solução salina a 9% e perfundidos com 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 coronariano. Posteriormente, os corações foram imersos no mesmo fixador durante 48 horas. Fragmentos menores do miocárdio das paredes ventriculares direita (VD) e esquerda (VE), ao nível da face esternocostal, e da parede muscular do septo interventricular (S) foram coletados e colocados na solução fixadora paraformaldeído de 9%, por cinco dias. Em seguida, foram submetidos ao processo de desidratação lenta, em solução de metilbenzoato e pela mistura de benzol-parafina em proporções crescentes

após a desidratação, e, finalmente, incluídos em parafina. Após a inclusão, cortes histológicos com espessura de 6 μm 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. Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos, escolhidos aleatoriamente.

Para a análise histocitométrica^{13,14}, utilizou-se uma ocular com um sistema-teste de 100 pontos¹⁵ em microscópio óptico, com aumento final de 1.000X. Foram analisados os seguintes parâmetros: área da secção transversa unitária do miócito (a_0 mioc); comprimento do perímetro unitário do miócito (l_0 mioc); volume unitário do miócito (v_0 mioc); densidade volumétrica dos miócitos (V_v mioc); número de miócitos por unidade de volume ($N_{\text{mm}} \wedge^3 \text{mio}$).

A análise estatística foi realizada, comparativamente, entre as três regiões do miocárdio (VE, VD e parede septal). Para a comparação de pares de médias, foi empregado o teste "t" de Student. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A análise histocitométrica das miocélulas nas três regiões do miocárdio humano de indivíduos senis demonstrou que a área da secção transversa unitária do miócito apresentou-se menor ($p < 0,05$) no VD ($1,51 \pm 0,10 \mu\text{m}^2$) e no S ($1,55 \pm 0,07 \mu\text{m}^2$) quando comparada ao VE ($1,84 \pm 0,24 \mu\text{m}^2$). O comprimento do perímetro unitário do miócito, no mesmo grupo, também se mostrou menor ($p < 0,05$) no S ($5,11 \pm 0,46 \mu\text{m}$) em relação VE ($6,2 \pm 0,97 \mu\text{m}$). Do mesmo modo, o volume unitário do miócito e a densidade volumétrica dos miócitos apresentaram valores menores ($p < 0,05$) no VD ($88,75 \pm 25,37$; $0,39 \pm 0,03 \mu\text{m}^3$) em relação ao VE ($122,41 \pm 16,31 \mu\text{m}^3$; $0,41 \pm 0,01\%$) (tab.1).

DISCUSSÃO

As alterações estruturais observadas no miocárdio humano, em decorrência do processo de envelhecimento, não estão totalmente elucidadas. Sabe-se que na fase de senescência ocorre uma redução no número dos cardiomiócitos, acompanhada de uma hipertrofia dos mesmos^{16,17}, proporcionando uma queda da reserva funcional do coração, que pode favorecer a disfunção ventricular e a falência cardíaca nesta fase da vida^{17,18}. O conhecimento das alterações histocitométricas dos cardiomiócitos nas diferentes regiões do coração senil é importante para a compreensão das mudanças que ocorrem no coração nesta fase da vida. Com relação à área da secção transversa do miócito, estudo experimental com ratos normotensos¹⁹ demonstrou haver uma diminuição significativa da área da secção do miócito nos animais

Tabela 1 – Análise morfométrica dos miócitos em indivíduos senis

		Parâmetros				
		a_{mioc} (μm^2)	l_{mioc} (μm)	v_{mioc} (μm^3)	V_{mioc} (%)	N_{mioc} (mioc/mm^3)
Senil (n=5)	VD	1,51 \pm 0,10*	5,16 \pm 0,17	88,75 \pm 25,37*	0,39 \pm 0,03*	2.493.591,4 \pm 731.577,34
	VE	1,84 \pm 0,24	6,2 \pm 0,97	122,41 \pm 16,31	0,41 \pm 0,01	2.660.843,3 \pm 319.464,03
	S	1,55 \pm 0,07*	5,11 \pm 0,46*	94,04 \pm 13,02	0,40 \pm 0,01	2.702.357,7 \pm 34.468,25

a_{mioc}- área da secção transversa unitária do miócito; *l_{mioc}*- comprimento do perímetro unitário do miócito; *v_{mioc}*- volume unitário do miócito; *V_{mioc}*- densidade volumétrica dos miócitos; *N_{mioc}* - número de miócitos por unidade de volume. VD- região ventricular direita; VE- região ventricular esquerda; S- região septal. Os valores estão apresentados como média \pm DP. * $p < 0,05$ (teste "t" de Student).

com idade entre 18 e 24 meses, entretanto, esses autores não especificaram as regiões cardíacas utilizadas como amostra para esse estudo. Outros autores demonstraram, em corações humanos, que a área da miocélula próxima à região endocárdica se apresentava maior que na área próxima as regiões epicárdicas^{6,20}. No presente estudo, não foi realizada uma pesquisa relativa à área da miocélula com relação a sua posição nas diferentes camadas cardíacas e, sim, tomando como referência as regiões do coração, nas quais foi observada uma diminuição da área da secção transversa dos miócitos apenas nas regiões ventricular direita e septal.

Os miócitos dos indivíduos senis apresentaram uma diminuição no comprimento do perímetro unitário na região septal em relação à região ventricular esquerda. O comprimento do miócito é uma dimensão difícil de obter na miocélula, particularmente no miocárdio adulto, devido à dificuldade na obtenção de cortes longitudinais da célula²¹, 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.

Quando analisados os valores das três regiões do coração, encontrou-se uma diminuição no volume unitário do miócito no ventrículo direito em relação ao ventrículo esquerdo e uma diminuição da densidade volumétrica dos miócitos no ventrículo direito quando comparado à região ventricular esquerda. Não foram encontrados na literatura, entretanto, dados acerca desses parâmetros histocitométricos nas diferentes regiões ventriculares e na parede septal, na fase senil.

Na análise do número de miócitos por unidade de volume não houve diferença entre os grupos. Entretanto,

autores observaram que a diminuição da massa cardíaca, decorrente de uma contínua perda de miócitos nas regiões ventriculares, ocorreria como um aspecto funcional da idade e daria lugar a alterações externas na espessura da parede de ambos os ventrículos^{1,22,23}. Apesar de não ter quantificado, nesse estudo, o número de miocélulas em cada região, os valores da maioria dos parâmetros histocitométricos, observados no ventrículo esquerdo comparados às outras duas regiões estudadas, podem sugerir um mecanismo compensatório da perda celular.

As alterações na estrutura ventricular parecem acarretar hipertrofia das miocélulas, como é observado na hipertensão ou doença vascular, enquanto que a hiperplasia ou "pseudo-hipertrofia" resulta da reocupação de áreas de miocélulas por tecido não contrátil como é observado na doença cardíaca isquêmica^{24,25}. 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 esgotado²⁶.

O processo de envelhecimento normal estaria, assim, associado a uma série de mudanças. Entretanto, essas mudanças seriam graduais e relativamente moderadas, podendo diminuir a capacidade do coração senil em se adaptar ao estresse imposto a partir da instalação de alguma doença cardiovascular²⁷. Ocorrem modificações nas dimensões da miocélula da parede ventricular esquerda durante a fase senescente do indivíduo. Isto pode estar relacionado à redução do número dessas células e a provável hipertrofia das células remanescentes, entretanto, essas diferenças são sutis e parecem significar a adaptação do tecido às mudanças funcionais que se instalam no decorrer da vida.

REFERÊNCIAS

- Olivetti G, Melissari M, Capasso JM, Anversa P. Cardiomyopathy of the aging human heart. *Circ Res* 1991; 68: 1560-8.
- Safar M. Ageing and its effects on the cardiovascular system. *Drugs* 1990; 39 (Suppl 1): 1-8.
- Lewis JF, Maron BJ. Cardiovascular consequences of the aging process. *Cardiovasc Clin* 1992; 22: 25-34.
- Truex RC. Myocardial cell diameters in primate hearts. *Am J Anat* 1972; 135: 269-80.
- Korecky B, Rakusan K. Normal and hypertrophic growth of the rat heart: changes in cell dimensions and number. *Am J Physiol* 1978; 3: H123-H128.
- Gerdes AM, Kasten FH. Morphometric study in endomyocardium and epimyocardium of the left ventricle in adult dogs. *Am J Anat* 1980; 159: 389-94.

7. 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* 1983; 67: 1109-16.
8. Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analysis of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: a review. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 1140-9.
9. Oberpriller JO, Oberpriller JC, Aafedt BC. Changes in binucleation and cellular dimensions of rat left atrial myocytes after induced left ventricular infarction. *Am J Anat* 1987; 179: 285-90.
10. Olivetti G, Cigola E, Maestri R, Corradi D, Lagrasta C, Gambert SR 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* 1996; 28: 1463-77.
11. Pereira LMM, Vianna GMM, Mandarim-de-Lacerda CA. Morfologia e estereologia do miocárdio em ratos hipertensos. Correlação com o tempo de inibição da síntese do óxido nítrico. *Arq Bras Cardiol* 1998; 70: 397-402.
12. Di Somma S, Marotta M, Salvatore G, Cudemo G, Cuda G, De Vivo et al. Changes in myocardial cytoskeletal intermediate filaments and myocyte contractile dysfunction in dilated cardiomyopathy: an in vivo study in humans. *Heart* 2000; 84: 659-67.
13. Chizzola A, Astorri E, Bini L, Visioli O, Anversa P, Dal Orso et al. Premesse metodologiche allo studio citometrico del miocardio. *Rev Anat Patol Oncol* 1967; 31: 345-6.
14. Mandarim-de-Lacerda CA, Sampaio FJB. Quantitative study of the heart in staged human embryos in stage 17. *Okajimas Folia Anat Jpn* 1987; 64: 253-8.
15. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF. Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol* 1966; 30: 23-38.
16. Kajstura J, Cheng W, Sarangarajan R, Li P, Li B, Nitahara JA et al. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. *Am J Physiol* 1996; 271(3 Pt 2): H1215-28.
17. Águila MB, Mandarim-de-Lacerda CA, Apfel MIR. Estereologia do miocárdio de ratos jovens e idosos. *Arq Bras Cardiol* 1998; 70: 105-9.
18. Wei JY, Gersh BJ. Heart disease in the elderly. *Curr Probl Cardiol* 1987; 12: 1-65.
19. Engelman GL, Vitull JC, Gerrity RG. Morphometric analysis of cardiac hypertrophy during development, maturation and senescence in spontaneously hypertensive rats. *Cir Res* 1987; 60: 483-94.
20. Brandi G, McGregor Intramural pressure in the left ventricle of the dog. *Cardiovasc Res* 1969; 3: 472-5.
21. Canale ED, Campbell GR, Smolich JJ et al. Cardiac muscle: morphometry of cardiac muscle. Berlin: Springer-Verlag 1986; 52-9.
22. Kitzman DW, Scholz DG, Hagen PT, Ilstrup DM, Edwards WD. 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 Clin Proc* 1988; 63: 137-46.
23. Chida K, Ohkawa S, Watanabe C, Shimada H, Ohtsubo K, Sugiura M. A morphological study of the normally aging heart. *Cardiovasc Pathol* 1994; 3: 1-7.
24. Unverferth DV, Fetters JK, Unverferth BJ, Leier CV, Magorien RD, Am AR et al. Human myocardial histologic characteristics in congestive heart failure. *Circulation* 1983; 68: 1194-200.
25. Messerli FH. Cardiovascular adaptation in elderly hypertensive patients [abstract]. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 518.
26. Mandarim-de-Lacerda CA. Aspectos morfológicos da remodelação ventricular esquerda na cardiomiopatia hipertensiva. *Arq Bras Cardiol* 1995; 65: 523-7.
27. Kitzman DW, Edwards WD. Age-related changes in the anatomy of the normal human heart. *J Gerontol* 1990; 45: 33-9.