

DESENVOLVIMENTO CARDÍACO HUMANO: AUMENTO VOLUMÉTRICO TOTAL DO CORAÇÃO, DO MIOCÁRDIO VENTRICULAR E DOS COXINS ENDOCÁRDICOS DURANTE O PERÍODO EMBRIONÁRIO

CARLOS ALBERTO MANDARIM-DE-LACERDA
Rio de Janeiro, RJ

Objetivo: Comparar o crescimento volumétrico total do coração (C), do miocárdio ventricular (MV) e dos coxins endocárdicos (CE) entre si e com o crescimento do embrião.

Casuística e Métodos: Coleção de embriões humanos seccionados em série e corados (27 embriões) no período pós-somítico. Os volumes de C, MV e CE foram determinados morfometricamente e correlacionados estatisticamente ao comprimento vertex-coccyx (V-C) dos embriões pela equação alométrica $Y = a x^b$.

Resultados: O crescimento cardíaco e de seus componentes MV e CE apresentou correlações estatisticamente significativas ($p < 0,01$), mas alometricamente negativas, em relação ao crescimento de V-C. Isto indica que o coração apresenta, mais intensamente modificações na forma que no tamanho. Entretanto, em relação ao coração, MV é a estrutura que apresenta maior aumento relativo no segundo mês gestacional. Comparativamente, CE decresce nesse período e termina com menos de 3% do volume final do coração.

Conclusão: Os CE não tem a importância anteriormente atribuída no desenvolvimento das valvas e dos septos cardíacos, funcionando, mais provavelmente, como elemento plástico-modelador do que na gênese de estruturas cardíacas. Pelo contrário, alterações no crescimento do MV devem interferir profundamente no desenvolvimento cardíaco.

Palavras-chave: desenvolvimento cardíaco, morfometria cardíaca, coxins endocárdicos.

HUMAN CARDIAC DEVELOPMENT: VOLUMETRIC INCREASE OF THE WHOLE HEART, VENTRICULAR MYOCARDIUM AND ENDOCARDIAL CUSHIONS DURING EMBRYONIC PERIOD PROPER

Purpose: To compare the volumetric growth of the whole heart (WH), ventricular myocardium (VM), and endocardial cushions (EC) among each other and in relation to the growth of the embryo.

Patients and Methods: Collection of human embryos serially sectioned and stained (27 embryos) in post-somitic period. The volumes of WH, VM and EC were morphometrically determined and statistically correlated to the embryo's crown-rump length (C-R) by using the allometric equation $Y = a x^b$.

Results: The cardiac growth, and the growth of the VM and EC, presented significant ($p < 0.01$) but allometrically negative correlations in relation to C-R length. It indicates that cardiac changes in shape are more pronounced than in size. However, relative to the heart itself VM is the component that presents greater volumetric increase during the second month of gestation. EC decreases and ends the embryonic period proper with less of 3% of the cardiac volume.

Conclusion: Our quantitative results agree with more recent morphological studies which consider EC with small significance in valves and septa development, probably functioning more as a plastic component than in genesis of cardiac structures. On the contrary some lack in growth of the VM should disturb deeply cardiac development.

Key words: cardiac development, cardiac morphometry, endocardial cushions.

Arq Bras Cardiol 55/5: 273-277—Novembro 1990

Universidade Federal do Rio de Janeiro. Pesquisa realizada com o apoio do CNPq (Proc 30.09.04/87.8), CAPES (Proc 10160/88.10) e FAPERJ (Proc E-29/170.834/89).

Correspondência: Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda—Depto de Anatomia—UFRI—Av. Prof. Manuel de Abreu, s/n° — 20550 — Rio de Janeiro—RJ.

As diferentes estruturas cardíacas apresentam crescimento diferenciado durante a morfogênese. Sugere-se que as forças hemodinâmicas provocadas pelo sangue circulante sejam fator importante na modelagem da forma definitiva do coração^{1,2}.

No passado foram determinados os principais as-

pectos qualitativos do desenvolvimento cardíaco³⁻⁷. Entretanto, persistem controvérsias com respeito ao significado dos coxins endocárdicos e do miocárdio ventricular no desenvolvimento das valvas atrioventriculares e na formação do septo interventricular^{8,21}. Para elucidação destes fatos necessita-se de mais investigação quantitativa que análise a interdependência entre o tamanho e a forma das estruturas cardíacas durante o processo de morfogênese do coração.

Estudos quantitativos do desenvolvimento cardíaco são escassos na literatura^{2,21}. O crescimento do coração como um todo foi previamente estudado por nós em embriões e em fetos humanos²²⁻²⁵. No presente trabalho pretendemos determinar os crescimentos individuais dos coxins endocárdicos e do miocárdio ventricular no embrião, comparando-os entre si e em relação ao coração inteiro.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Estudamos 27 embriões humanos da coleção do “Laboratoire d’Anatomie” (U. F. R. Biomédicale des Saints-Pères, Université René Descartes Paris V). Estes encontravam-se seccionados em série e corados por métodos rotineiros. Foram estadiados por nós no período pós-somítico, entre os estádios 15 e 23 (classificação da Instituição Carnegie de Washington)²⁶. As idades dos embriões foram calculadas segundo Livier e Pineau²⁷. Outras informações sobre esta coleção está na tabela I.

Um a cada cinco cortes histológicos do grupo contendo tecido cardíaco foi projetado sobre um sistema-teste (“princípio de Cavalieri”)²⁸. Usando planimetria por contagem de pontos, calculamos as áreas do coração inteiro, do miocárdio ventricular e dos coxins endocárdicos²⁹. Os padrões para a delimitação destas regiões estão indicados na figura 1, e consistem de: a) os coxins endocárdicos são matriz acelular infiltrada por células de origem endocárdica¹⁵; b) o miocárdio ventricular, incluindo as paredes dos ventrículos e o septo interventricular, foi quantificado excluindo-se as cavidades entre as trabéculas carnosas; c) o mesocárdio foi considerado o limite dorsal do coração. Todas as medidas foram tomadas pelo mesmo observador.

O volume (V) destas estruturas foi calculado somando-se todas as áreas (A) e multiplicando o resultado pela espessura considerada dos cortes³⁰. Entretanto, tendo em vista a fixação por imersão dos embriões e a inclusão em parafina, valores medidos em campos microscópicos devem ser corrigidos para compensar a retração da preparação técnica²¹. No presente caso corrigimos os volumes matematicamente multiplicando-os por um fator de retração linear (Fr) e por um fator de compressão (Fc)²⁹ que foram anteriormente determinados para estes embriões:

$$Fr = 0,74 \text{ e } Fc = 0,90^{25};$$

$$V = e \sum_{i=1}^n A \cdot Fr^3 \cdot Fc^{-1}$$

TABELA I—Amostra de embriões humanos (da Universidade René Descartes Paris V) com o número de código e detalhes da preparação técnica.

Nº	Comprimento V-C (mm)	Estádio	Orientação dos cortes	Espessura dos cortes (micrômetro)	Coloração
2	8,0	15	transversal	S	tricrômica
198	a8,0		sagital	5	tricrômica
88	9,5	16	transversal	10	Loyez
79	10,0		transversal	5	Loyez
206	11,5	17	transversal	S	tricrômica
74	12,0		transversal	S	tricrômica
177	12,0		sagital	S	H-E
48	13,5		transversal	10	Loyez
172	14,0	18	transversal	S	tricrômica
173	14,0		sagital	S	tricrômica
102	14,0		transversal	S	H-E
184	15,0		transversal	10	tricrômica
108	15,0		sagital	10	tricrômica
68	16,0		sagital	S	Bielchowsky
106	17,0	19	transversal	10	tricrômica
106	17,0		transversal	S	H-E
PrD	17,0		transversal	10	Loyez
196	20,0	20	sagital	S	tricrômica
40	20,0		transversal	10	H-E
46	20,0		transversal	10	H-E
54	21,0		transversal	S	tricrômica
139	22,0	21	transversal	10	tricrômica
86	23,5		sagital	10	tricrômica
15	24,0	22	transversal	10	tricrômica
17	27,0		transversal	10	Bielchowsky
76	31,0	23	transversal	10	tricrômica
19	31,0		sagital	10	tricrômica

HE—hematoxilina-eosina

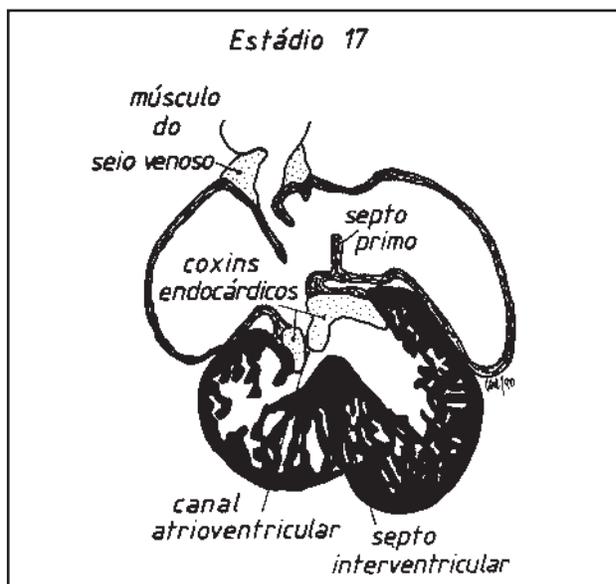


Fig. 1—Desenho esquemático de um corte frontal do coração embrionário no período pós-somítico, com a indicação do miocárdio ventricular e dos coxins endocárdicos (segundo Streeter 1948).

Os volumes das estruturas cardíacas (em mm³) foram correlacionados aos comprimentos vertex-coccyx (V-C) dos embriões (em mm) utilizando-se a equação alométrica (da parábola) $y = a x^b$ onde “y” correspondeu às medidas do coração (variável dependente), “x” representou o comprimento V-C, “a” é o coeficiente de crescimento inicial, e “b” é o coeficiente alométrico (angular)^{31,32}. Os cálculos foram realizados com um programa informático Statgraphics (STSC 1987) em computador compatível IBM PC-XT.

RESULTADOS

Os resultados estão indicados na tabela II e nas figuras 2 e 3.

TABELA II—Crescimento dos volumes cardíacos (variável Y, em mm³) em relação ao comprimento vertex-coccyx do embrião (variável X, em mm), segundo a equação alométrica $Y = a x^b$.

X	Y	a	b (EP)	r ² %
Comprimento Vertex Coccyx (mm)	Coração Inteiro	0,044	1,954 (0,182) EMR = 2,158	82,11
	Miocárdio ventricular	0,003	2,506 (0,161) EMR = 2,632	90,68
	Coxins endocárdicos	0,003	1,763 (0,181) EMR = 1,982	79,12

Estão indicados o erro padrão (entre parenteses) e o coeficiente de determinação (r²). O coeficiente alométrico b também foi determinado pelo método do eixo maior reduzido (EMR).

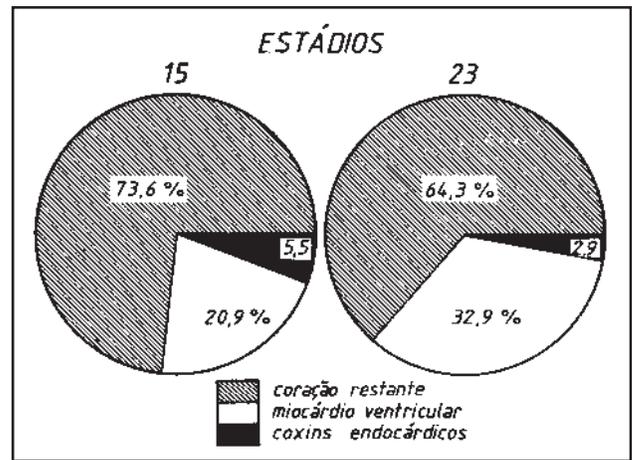


Fig. 3—Representação dos volumes relativos dos diversos componentes cardíacos nos Estádios 15 e 23 respectivamente.

O aumento progressivo dos componentes cardíacos no período embrionário pós-somático não é contínuo (fig. 2-A). A participação do miocárdio ventricular no volume cardíaco total é mais pronunciada no final do período embrionário, ao contrário do que acontece com os coxins endocárdicos (fig. 3).

Alometria só foi considerada existente quando houve significância estatística na correlação entre as duas variáveis, quantificada pelo coeficiente de determinação (r²)³³. O coeficiente alométrico foi calculado pelas técnicas dos mínimos quadrados (MQ) e do eixo maior reduzido (EMR) (tabela II). O EMR corrige os desvios causados por variáveis biométricas que geralmente contêm embutido erros de aferição³³⁻³⁵.

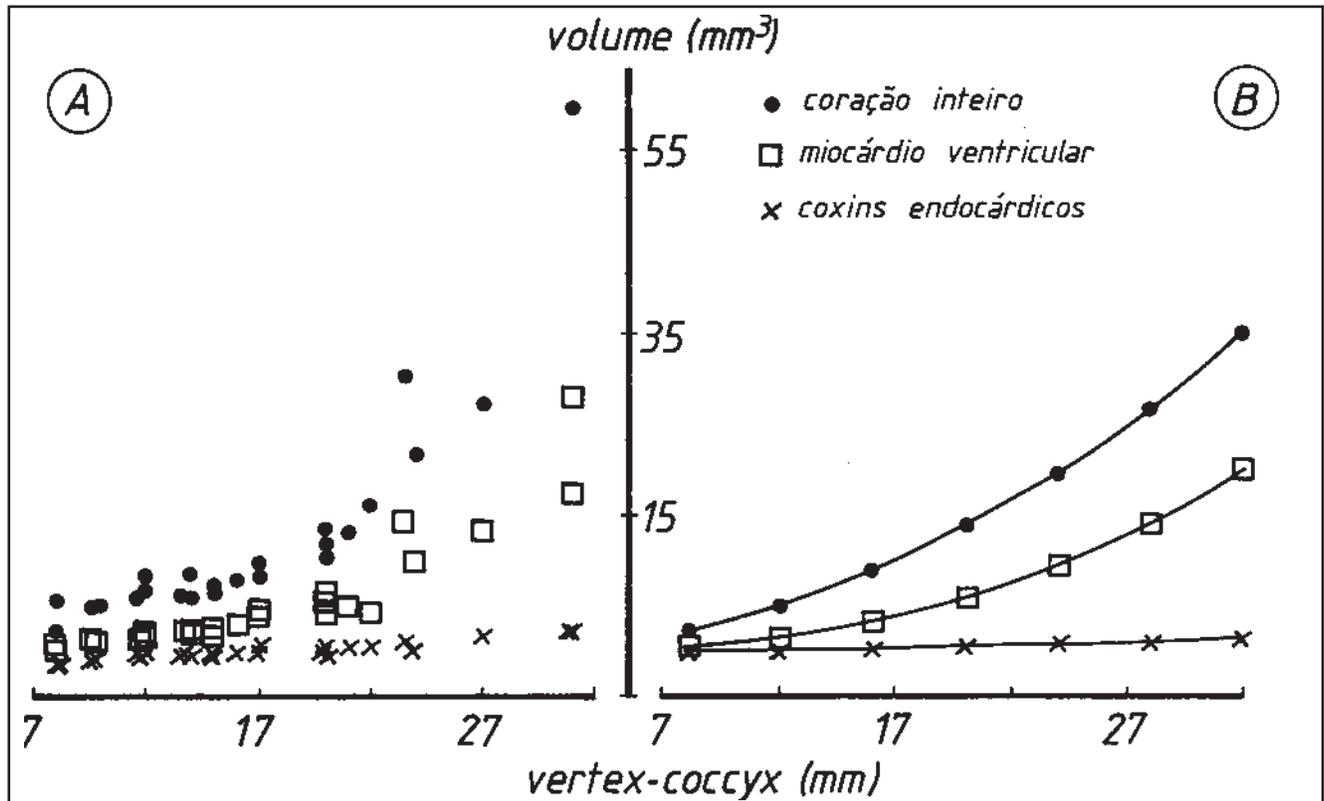


Fig. 2—Gráfico do creseimento volumétrico cardíaco em relação ao crescimento do comprimento vertex-coccyx do embrião. A—Pontos individuais dos volumes referentes a cada embrião. B—curvas de crescimento dos volumes com base nas equações indicadas na Tabela II.

Analisamos cada regressão a partir da isometria (coeficiente geométrica). Há isometria quando o coeficiente angular (coeficiente alométrico) entre as variáveis em correlação indica que a variação no eixo X é semelhante à variação do eixo Y num determinado intervalo. Assim, quando as variáveis tem a mesma magnitude, ou são medidas na mesma unidade, aceitamos a isometria quando $b = 1$. Há isometria para medidas lineares correlacionadas com volume (ou peso) quando $b = 0,3$ (sendo o volume a variável X), ou $b = 3$ (sendo o volume a variável Y)³⁶. As condições de isometria do presente estudo são $b = 3$. As curvas de crescimento das estruturas cardíacas, com base nas equações da tabela II, estão na figura 2-B.

DISCUSSÃO

Este trabalho compara o crescimento quantitativo diferenciado do miocárdio ventricular e dos coxins endocárdicos ao crescimento do coração como um todo.

É conhecido que a partir dos estádios 15 e 16 (embriões humanos de 33 a 37 dias gestacionais) os tubos cardíacos estendem-se perifericamente na forma de duas bolsas trabeculadas tendo início o desenvolvimento do septo interventricular^{26,37,40}. No estádio 17 (41 dias gestacionais) as bolsas ventriculares aumentam em tamanho e força contráctil²⁶.

O coração, que cresce rapidamente no estádio 16, progressivamente estabiliza seu crescimento de modo que no final do período embrionário fica difícil detectar as mudanças de tamanho cardíaco. Foi sugerido que a partir do estádio 18 (44 dias gestacionais) as modificações no tamanho do coração são devidas praticamente apenas ao crescimento mioblástico das regiões trabeculadas do tubo cardíaco primário². O crescimento centrífugo do miocárdio provoca dilatação dos ventrículos, com o desenvolvimento cardíaco a dilatação miocárdica aumenta e forma trabéculas. Este processo, que aparece primeiro no ventrículo esquerdo, depois estende-se ao ventrículo direito, que então apresenta crescimento rápido, desenvolvendo a porção conal^{41,42}. No final do período embrionário as trabéculas tornam-se mais compactas formando uma masse miocárdica ventricular sólida⁴³.

Nossos resultados apontam que no estádio 23 (57 dias gestacionais) o miocárdio ventricular correspondeu a pouco mais de 30% do volume cardíaco total (fig. 3). No estádio 19 esta relação foi 50%, a média entre os estádios 19 à 22 (48 a 54 dias gestacionais) foi aproximadamente 47%.

O volume ventricular relativo que observamos neste trabalho é pouco maior do que o relatado na literatura^{2,26}. Entretanto, de uma maneira ou de outra, a diminuição do crescimento relativo dos ventrículo no fim do período embrionário sugere que o crescimento do coração a partir daí seja mais uniforme, em concordância com estudos recentes¹⁵, isto é, que o coração cresce como um todo no período fetal.

Os coxins endocárdicos parece terem função importante na fusão inicial e partição interna do coração. Agiriam como uma "cola", mantendo aproximadas diferentes porções cardíacas enquanto o coração continuaria a crescer e desenvolver⁴². Foi considerado que os coxins endocárdicos (assim como as cristas do cone) teriam papel importante no modelamento e crescimento do coração a partir da quarta semana gestacional até o estádio 18². Aparecem em torno do estádio 12 e foi considerado que contribuem para a formação do septo interventricular, as porções membranáceas dos septos interventricular e interatrial, e as valvas atrioventriculares⁸⁻¹².

Todavia, estudos recenses indicam que os coxins endocárdicos tem pouca importância na formação das valvas cardíacas e do septo interventricular não são acompanhadas por crescimento correspondente dos coxins endocárdicos, que terminam ocupando uma área restrita onde será a parte membranácea do septo interventricular¹⁷.

Este trabalho mostra que os coxins endocárdicos apresentam inicialmente um volume relativo de cerca de 6% no estádio 15, e finalizam o período embrionário com cerca de 3% do total do volume cardíaco no estádio 23 (fig. 3).

Comparado ao aumento do comprimento V-C do embrião, o crescimento dos volumes dos componentes cardíacos é alométrico predomínio do crescimento corporal em relação ao crescimento cardíaco. Entretanto, comparando-se os crescimentos específicos de cada componente, o miocárdio ventricular é o que apresenta o maior coeficiente alométrico, seguindo do coração com um todo, e dos coxins endocárdicos.

Neste estudo mostra-se que o crescimento relativo do miocárdio ventricular é o mais acentuado no período pós-somítico e deve ser a maior contribuição para o aumento volumétrico do coração neste período. Patologias que interfiram no crescimento miocárdico trarão, por consequência, alterações do desenvolvimento cardíaco mais pronunciadas.

AGRADECIMENTOS

À Professora G. Hidden, Diretora do "Laboratoire d'Anatomie, UFR Biomedicale des Saints-Pères" da Universidade René Descartes (Paris V) pela possibilidade de estudar o material embrionário, e ao Professor Emérito André Delmas que tem mantido e aumentado a referida coleção de embriões humanos ao longo dos últimos 40 anos.

REFERÊNCIAS

1. De Haan RL—Morphogenesis of the vertebrate heart. In: De Haan JD, Ursprung H, eds. Organogenesis. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1965: 377.
2. Grant RP—The embryology of ventricular flow pathways in man. *Circulation*, 1962;25: 756-79.
3. His W—Anatomie menschlinder 3 Bde. Vogel, Leipzig: Vogel, 1880.

4. Langder A—Zur Entwicklungsgeschichte des Bulbus cordis bei Vögeln und Säugetieren. *Morph Jb*, 1985; 22: 99-112.
5. Greil A (1903)—Beiträge zur vergleichenden Anatomic und Entwicklungsgeschichte des Herzens und des Truncus arteriosus der Wirbeltiere. *Morph Jb*, 1903; 31: 123-310.
6. Tandler J—Die Entwicklungsgeschichte de Herzens. In: Keibel F, Mall FP, eds. *Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen*. Hizzel, Leipzig, 1911:517.
7. Mall FP (1912)—On the development of the human heart. *Am J Anat*, 1912;13: 249-98.
8. Odgers PNB (1938)—The development of the pars membranacea septi in the human heart. *J Anat*, 1938; 72: 247-59.
9. Odgers PNB—The development of the atrioventricular valves in man. *J Anat*, 1939; 73: 643-57.
10. Kramer TC—The partitioning of the truncus and conus and the formation of the membranous portion of the interventricular septum in the human heart. *Am J Anat*, 1942 71: 343-70.
11. Licata RH—The human embryonic heart in the ninth week. *Am J Anat*, 1954; 94: 73-126.
12. Van Mierop LHS, Alley RD, Kausel WH, Stranahan A—The anatomy and embryology of endocardial cushion defects. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1962; 43: 71-83.
13. Wenink ACG—La formation du septum membranaceum dans le coeur humain. *Bull Ass Anat*, 1974; 58: 1127-32.
14. Wenink ACG—Embryology of the ventricular septum. Separate origin of its componentes. *Virchows Arch [Pathol Anat]*, 1981; 390: 71-9.
15. McBride R, Moore GW, Hutchins GM—Development of the out-flow tract and closure of the interventricular septum in the normal human heart. *Am J Anat*, 1981; 160: 309-31.
16. Wenink ACG, de Groot AG—Left and right ventricular trabecular patterns: consequence of ventricular septation and valve development. *Br Heart J*. 1982; 48: 462-8.
17. Wenink ACG, de Groot AG—The role of atrioventricular cushions in the septation of the heart. *Int J Cardiol*, 1985; 8: 25-44.
18. van Gils FAW—The fibrous skeleton in the human heart: embryological and pathological considerations. *Virchows Arch [Pathol Anat]*, 1981; 393: 61-73.
19. Conte G, Grieco M—Closure of the interventricular foramen and morphogenesis of the membranous septum and ventricular septal defects in the human heart. *Anat Anz*, 1984; 155: 39-55.
20. Pexieder T, Janecsek P—Organogenesis of the human embryonic and early fetal heart as studied by microdissection and SEM. In: Nora JJ, Takso A, eds. *Congenital Heart Diseases: causes and processes*. New York: Futura, 1984:401.
21. Pexieder T, Christen Y, Viullemin M, Patterson DF—Comparative morphometric analysis of cardiac organogenesis in chick, mouse, and dog embryos. In: Nora JJ, Takao A, eds. *Congenital Heart Diseases: cause and process*. New York: Futura, 1984: 423.
22. Mandarim-de-Lacerda CA—Croissance du coeur chez le foetus brésilien. *Anat Anz*, 1990; 170: 15-20.
23. Mandarim-de-Lacerda CA, Sampaio FJB—Quantitative study of the heart in staged human embryos at stage 17. *Okajimas F Anat Jpn*, 1987; 64: 253-8.
24. Mandarim-de-Lacerda CA, Sampaio FJB—Cardiac growth in staged human fetuses: an allometric approach. *Morph Jb*, 1988; 134: 345-9.
25. Mandarim-de-Lacerda CA, Passos MARF, Sampaio FJB—Étude quantitative du coeur chez deux embryons humaine jumeaux de 14 mm VC (stade 18). *Acta Anat*, 1987;130: 224-7.
26. O'Rahilly R, Müller F—Development stages in human embryos. Washington: Carnegie (Pu. 637),1987.
27. Olivier G, Pineau H—Horizons de Streeter et âge embryonnaire. *C R Ass Anat*, 1962; 47: 573-6.
28. Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L et al—Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathol Microbiol Immun Scand*, 1988; 96: 379-94.
29. Weibel ER—Stereological methods. Practical methods for biological morphometry. London: Academic Press, 1979.
30. Elias H, Hyde DM—A guide to practical stereology. Basel: Karger, 1983.
31. White JF, Gould SJ—Interpretation of the coefficient in the allometric equation. *Am Nat*, 1985; 99: 5-18.
32. Huxley JS, Teissier G—Terminology of relative growth. *Nature (London)*, 1936; 137: 780-1.
33. Sokal RR, Rohlf RJ—Biometry.—The principles and practice of statistics in biological research. New York: Freeman, 1981.
34. Kermac KA, Haldane JBS—Organic correlation and allometry. *Biometrika*, 1950; 37: 30-41.
35. Jolicoeur P—Linear regressions in fishery research: some comments. *J Fish Res Board Can*, 1975; 32: 69-79.
36. Gould SJ—Allometry and size in ontogeny and phylogeny *Biol Rev*, 1966;41: 587-640.
37. Streeter GL—Development horizons in human embryos. Description of age group XIII, embryo about 4 or 5 millimeters long, and age group XIV, period of indentation of the lens vesicle. *Contr Embryol Carnegie Inst*, 1945; 31: 27-63.
38. Streeter GL—Development horizons in human embryos. Description of age groups XV, XVI, XVII and XVIII, being the third issue of a survey of the Carnegie collection. *Contr Embryol Carnegie Inst*, 1948; 32: 133-203.
39. Streeter GL—Development horizons in human embryos. Description of age groups XIX, XX, XXI, XXII and XXIII, being the fifth issue of a survey of the Carnegie collection (prepared for publication by Heuser CH and Corner GW). *Contr Embryol Carnegie Inst*, 1951; 34:165-96.
40. Boyd JD—Development of the heart. In: American Physiological Soc. (ed) *Handbook of Physiology—Circulation III*. Washington: Am Physiol Soc, 1965:2511.
41. Okamoto N—Congenital anomalies of the heart. Embryologic, morphologic and experimental teratology. Tokyo: Igaku-Shoin, 1980.
42. Van Mierop LHS, Kutsche LM (1982)—Embryology of the heart. In: Hurst JW, ed. *The heart, arteries and veins*. New York: McGraw-Hill, 1982:
43. Patten BM—The development of the heart. In: Gould SE, ed. *Pathology of the heart and blood vessels*. Charles Thomes, Springfield: Charles Thomes, 1968:20.
44. Mandarim-de-Lacerda CA—Atrioventricular valves development in human heart: the Paria embryological collection revisited. *Gegenbaurs morphol Jahrb*, 1989; 135: 947-55.