

ARMANDO MIGUEL JUNIOR

O PRIMÓRDIO NODAL :

Estudos histográficos e morfométricos
em embriões humanos com idade entre
35 e 50 dias.

Dissertação apresentada à
Faculdade de Ciências
Médicas da UNICAMP, para a
obtenção do Título de
Doutor em Medicina.

ORIENTADOR : PROF. DR. ANTONIO BENEDITO PRADO FORTUNA
LIVRE DOCENTE EM CARDIOLOGIA DO DEPARTA-
MENTO DE CIRURGIA DA FCM - UNICAMP.

CAMPINAS, 1988.



1150011446



FCM
T/UNICAMP G194c

PRIMÓRDIO NODAL - RESUMO

O primórdio nodal é a estrutura embrionária inicial do nó AV compacto. Caracteriza-se citograficamente por apresentar células com lisites imprecisos, citoplasma vermelho brilhante, vacuolizado e núcleos maiores quando comparados com os núcleos das células precursoras das musculares contráteis.

O estudo através da cariometria mostrou que, a diferença entre os núcleos das células do primórdio nodal e as precursoras das musculares contráteis, só foi estatisticamente significativa nos estádios 16 e 20 de O'RAHILLY (1971).

Histograficamente o primórdio nodal nos embriões dos estádios 15 e 16 de O'RAHILLY apresenta-se como uma faixa recobrendo a região superior da porção muscular posterior do septo interventricular e nos embriões do estádio 20 de O'RAHILLY assume posição semelhante à do nó AV compacto definitivo. Estes nossos achados estão de acordo com os de ANDERSON et alii (1976), mas divergem dos de TRUEX et alii (1967, 1978) que localizou as células precursoras do nó AV compacto na parede dorsal do átrio primitivo.

NODAL PRIMORDIUM - SUMMARY

The nodal primordium is the early structure of the compact AV node. It differs from the other parts of the myocardium to exhibit large cells of bright red cytoplasm and 'smooth' homogeneous appearance.

Through cariometric study a significative larger nuclei has been found when compared with the other cells of myocardium in the human embryos of the 16 and 20, O'RAHILLY stages.

In the human embryos of the stages 15 and 16, the nodal primordium recovers the astride posterior muscular ventricular septum in development, and in embryos of the stage 20 it is located in similar position of the definitive AV node. This study is according to ANDERSON et alii's finding (1976), but differs from TRUEX et alii's finding (1967, 1978) who had located cells of the nodal primordium in dorsal walls of the primitive atrium.

Pelos caminhos do ideal humano despontam as ervas daninhas da maledicência e da zombaria, crescem os espinhos do descrédito e do cansaço, amontoam-se as pedras do desânimo e a angústia dos infindáveis momentos de ausência.

Somente o amor puro nos leva a prosseguir.

— Obrigado, Lucia !

Para meus pais,
Aparecida, Armando,
esposa e filhos,
Lucia, Thomas, Noemi e Priscila,
que se lembrarão.

*" Sou feliz por ser
livre e poder dizer o que penso daquela
gente. Grande gente, em verdade. Boa e
grande gente."*

RODRIGUES DE ABREU, 1922

Minhas singelas homenagens a todos os pensadores
como os inseridos nesta tese, e em especial aos meus amigos
o Filósofo Professor CARLOS LOPES DE MATTOS e VIRGINIA
MATTOS

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial aos professores.

ATANASE BILLIS

ELIANE MARIA INGRID AMSTALDEN

OSMAR JOSÉ BENEDITO HADLER D'LUCCA

NORAIR SALVIANO DOS REIS

WALTER AUGUST HADLER

as técnicas do laboratório de histologia da UNICAMP

ABGAIL VICENTE

MARIA APARECIDA MORAES MOREIRA

e a bibliotecária

ANA GAGLIARDI

SUMARIO

I.	INTRODUÇÃO	03
I.1.	Dificuldades no estudo das estruturas embrionárias	09
I.1.1.	Dificuldades Gerais	09
I.1.2.	Dificuldades Específicas	09
I.2.	Cuidados iniciais e seleção do material estudado	10
I.3.	Estadiamento dos embriões	12
I.4.	Objetivos do trabalho	14
II.	REVISÃO DA LITERATURA	15
II.1.	Teorias sobre a embriogênese da área juncional AV	15
II.1.1.	Teorias miogênicas	15
II.1.2.	Teoria do "sinus venosus"	16
II.1.3.	Teoria da dupla origem	17
II.1.4.	Teoria dos anéis especializados	17
II.2.	Teorias sobre a embriogênese do nó AV compacto	21
III.	MATERIAL E MÉTODOS	27
III.1.	Crítérios adotados para definir a região a ser estudada	29
III.2.	Carionometria	29
III.3.	Análise estatística	30
III.3.1.	Teste da mediana	30
III.3.2.	Teste da mediana extensiva a mais de duas amostras	31

IV	RESULTADOS	32
IV.1.	Características histográficas do primórdio nodal no estágio 15.	32
IV.2.	Características histográficas do primórdio nodal no estágio 16.	45
IV.3.	Características histográficas do primórdio nodal no estágio 20.	49
IV.4.	Resultados das medidas cariométricas	60
IV.4.1.	Análise comparativa dos dois grupos celulares no mesmo embrião humano	60
IV.4.2.	Análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos embriões humanos estudados	62
IV.4.3.	Análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados	64
V.	DISCUSSÃO	66
V.1.	Análise histográfica : Localização do primórdio nodal	66
V.2.	Análise estatística do estudo cariométrico	71
V.2.1.	Análise estatística entre os dois grupos celulares no mesmo embrião humano	72
V.2.2.	Análise estatística entre os volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal nos cinco embriões	74
V.2.3.	Análise estatística entre os volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração nos cinco embriões	75

VI.	CONCLUSAO	76
VII.	RESUMO	77
VIII.	SUMMARY	78
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	79
X.	APENDICE A Tabelas com os valores dos volumes nucleares das células do primórdio nodal e das precursoras das musculares contráteis.	86
XI.	APENDICE B Gráficos das várias comparações realizadas entre os valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal e das precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões hu- manos estudados.	89

SUMARIO DAS FIGURAS

FIGURA 01a,b	Esquemas tridimensionais das área juncional AV segundo vários autores . .	04
FIGURA 02a,b	Esquema tridimensional das quatro zonas da área juncional AV segundo ANDERSON et alii (1975)	06
FIGURA 03a.	Anéis de tecido especializado em embrião humano com 20 dias de vida . .	19
FIGURA 03b.	Anéis de tecido especializado após torção cardíaca em embrião humano com 30 dias de vida	19
FIGURA 04.	Anéis especializados AV e VB em embriões humanos com 35 dias de vida .	24
FIGURA 05.	Esquema representativo dos locais embrionários do nó AV compacto	26
FIGURA 06a,b	Esquema dos aspectos externos do coração embrionário com 28 e 35 dias de vida, visão perfil direito	33

FIGURA 07.	Esquema em corte frontal do coração embrionário com aproximadamente 35 dias de vida	34
FIGURA 08.	Embrião nº 1 corte histográfico sagital - região dos futuros átrio e ventrículo direito	37
FIGURA 09.	Embrião nº 1 corte histográfico sagital - região dos coxins atrioventriculares	38
FIGURA 10.	Embrião nº 1 corte histográfico sagital - região do canal AV e foramen interventricular primário	39
FIGURA 11.	Embrião nº 1 corte histográfico sagital - região dos futuros átrio e ventrículo esquerdo	40
FIGURA 12.	Esquema do sistema venoso no embrião humano com 35 dias de vida	41
FIGURA 13.	Esquema tridimensional do coração embrionário elaborado a partir dos achados histográficos do embrião nº 1	43
FIGURA 14.	Primórdio nodal - pormenor histográfico	44
FIGURA 15.	Embrião nº 2 corte histográfico sagital - região do septo interventricular	46
FIGURA 16.	Esquema tridimensional do coração embrionário elaborado a partir dos achados histográficos do embrião nº 2 - primórdio nodal	47
FIGURA 17.	Esquema tridimensional do coração embrionário em visão frontal - região do primórdio nodal	48
FIGURA 18.	Embrião nº 3 corte histográfico frontal região do átrio primitivo	51
FIGURA 19.	Embrião nº 3 corte histográfico frontal região do septo interventricular	52
FIGURA 20.	Embrião nº 3 corte histográfico frontal região do primórdio nodal	53
FIGURA 21.	Embrião nº 4 corte histográfico sagital região do septo truncal	54

FIGURA 22.	Embrião nº 4 corte histográfico sagital região do primórdio nodal	55
FIGURA 23.	Embrião nº 5 corte histográfico horizon- tal - região do primórdio nodal	57
FIGURA 24.	Embrião nº 5 corte histográfico horizon- tal - pormenor da figura 23	58
FIGURA 25.	Representação esquemática das relações estruturais do primórdio nodal no embrião do estágio 20 de O'RAHILLY . . .	59

SUMARIO DOS QUADROS

QUADRO I.	Sinonímia da área juncional AV segundo ANDERSON et alii (1975) e a correspon- dência nos demais autores	07
QUADRO II.	Quadro sinóptico dos estudos realiza- dos pelos vários autores citados na literatura	11
QUADRO III.	Sinopse dos estádios embrionários segundo critérios de O'RAHILLY (1971) .	13
QUADRO IV.	Teorias sobre a embriogênese da área juncional AV	21
QUADRO V.	Teorias sobre a embriogênese do nó AV compacto	25

SUMARIO DAS TABELAS

TABELA I.	Sinopse do material estudado	27
TABELA II.	Número de cortes utilizados e número de série das lâminas dos embriões que foram empregadas para a medida do volume nuclear	28
TABELA III.	Número de núcleos medidos nos vários embriões com a finalidade de efetuar a comparação entre o volume nuclear das células do primórdio nodal e das células precursoras do músculo cardíaco	28

TABELA IV.	Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células do primórdio nodal e das células precursoras das musculares contráteis do coração	61
TABELA V.	Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos cinco embriões estudados	63
TABELA VI.	Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões estudados	65
TABELA VII.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células do primórdio nodal no embrião com 7.5 mmCR	86
TABELA VIII.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 7.5 mmCR	86
TABELA IX.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células do primórdio nodal no embrião com 11.0 mmCR	86
TABELA X.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 11.0 mmCR	87
TABELA XI.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células do primórdio nodal no embrião com 19.0 mmCR	87
TABELA XII.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 19.0 mmCR	87
TABELA XIII.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células do primórdio nodal no embrião com 20.0 mmCR	87
TABELA XIV.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 20.0 mmCR	88
TABELA XV.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células do primórdio nodal no embrião com 22.0 mmCR	88
TABELA XVI.	Valor dos volumes nucleares (um3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 22.0 mmCR	88

SUMARIO DOS GRAFICOS

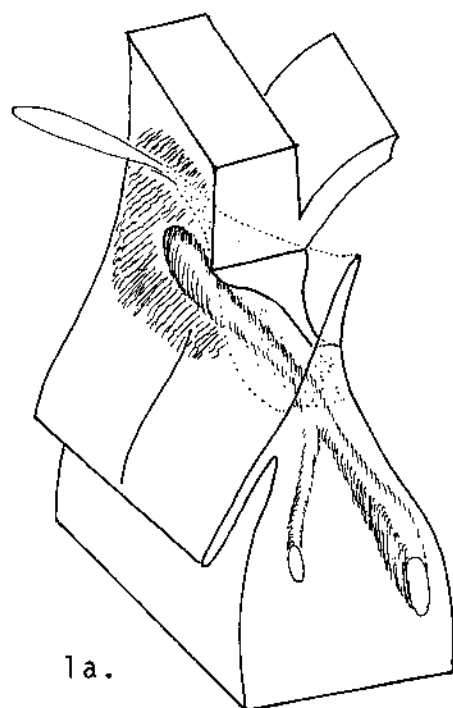
GRAFICO Nº 1	Comparação dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal (NOAV) e das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis . .	62
GRAFICO Nº 2	Comparação dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos cinco embriões humanos estudados (v. tabela V)	89
GRAFICO Nº 3	Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 1 (v. tabela VI)	90
GRAFICO Nº 4	Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 2 (v. tabela VI)	91
GRAFICO Nº 5	Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 3 (v. tabela VI)	92
GRAFICO Nº 6	Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 4 (v. tabela VI)	93
GRAFICO Nº 7	Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 5 (v. tabela VI)	94

I. INTRODUÇÃO

Durante o desenvolvimento embrionário, o sistema cardiocirculatório é um dos primeiros a se tornar atuante, encaminhando nutrientes para todo o corpo (SAUAIA, 1970). Neste particular, apresenta grande interesse a formação do sistema gerador e condutor dos impulsos elétricos e, como parte deste, o nó atrioventricular (nó AV).

As alterações embrionárias do nó AV compacto são consideradas como capazes de determinar a morte de recém-natos e lactentes (ANDERSON et alii, 1974, 1977; DAWES, 1968; HUNTINGFORD, 1960; JAMES, 1968), e como causas de bloqueio AV congênito (JAMES et alii, 1976; BHARATI & LEV, 1978). Isto chamou a nossa atenção para o estudo da embriogênese do nó AV compacto, que nas fases iniciais da evolução embrionária foi denominado primórdio nodal por ANDERSON et alii (1976).

No coração do adulto, a área ocupada pelo nó AV é ampla, levando vários autores a defini-la de forma diferente como ilustram as figuras 1a, 1b, 2a, 2b e o quadro I. Por apresentar uma definição mais ampla, baseada na morfologia e na arquitetura celular do sistema de condução, nós utilizamos a classificação de ANDERSON et alii (1975) para situarmos o ponto de referência neste estudo.

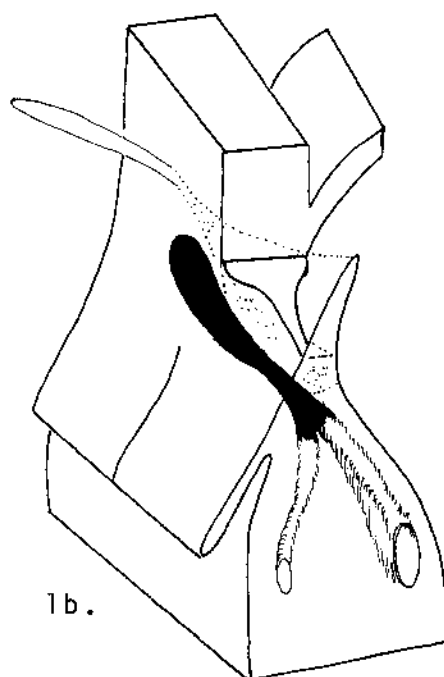


REGIÃO INTERMEDIÁRIA
(TAWARA, 1905)

NODAIS PROXIMAIS
(LEV, 1968)

INSERÇÃO NODAL
(TRUEX & SMITHE, 1976)

ZONA TRANSICIONAL
(ANDERSON et alii,
1975)



ÁREA INTERTEXTIL
(LEV, 1968)

FIGURAS 1a e 1b. ESQUEMA TRIDIMENSIONAL MOSTRANDO AS ÁREAS DA REGIÃO DO NÓ AV DEFINIDAS POR TAWARA (1905), LEV (1968), TRUEX & SMITHE (1976) e ANDERSON et alii (1975).

ANDERSON et alii (1975) distinguíram quatro zonas na área juncional atrioventricular, como ilustra a figura 2.:

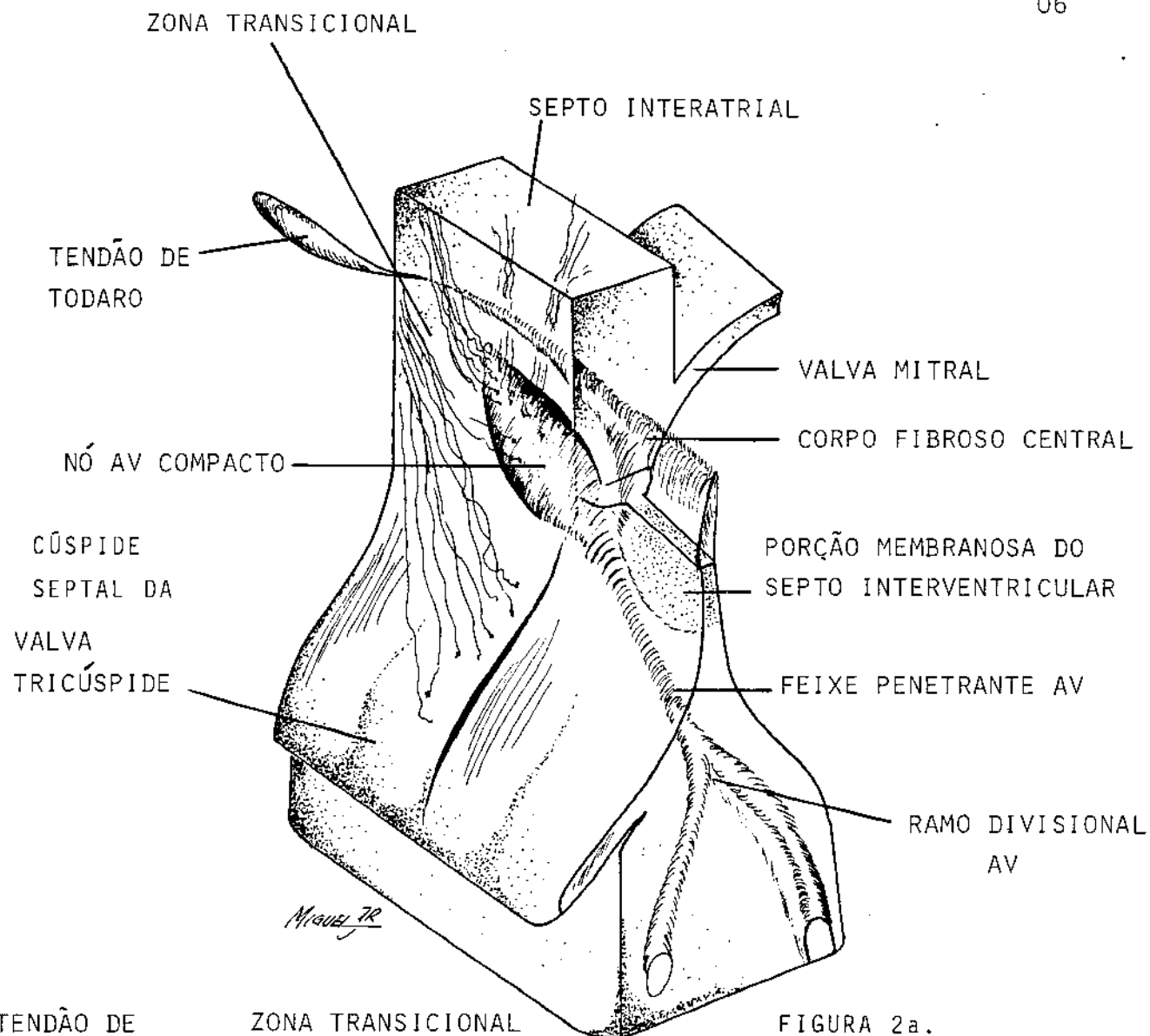
01. Zona transicional
02. Zona do nó AV compacto
03. Zona do feixe penetrante atrioventricular
04. Zona do ramo divisional atrioventricular

Destas formações destacamos o nó AV compacto, situado no vértice superior do "triângulo de KOCH", este último formado pelo seio coronário, por parte do anel fibroso da valva tricúspide onde se insere sua cúspide septal e pelo "tendão de TODARO" (ANDERSON et alii, 1975; BECKER & ANDERSON, 1976 (fig. 02a,b)).

O nó AV compacto exibe uma estrutura histográfica peculiar, o que levou TAWARA (1905) a chamá-lo de "Knotenpunkten" (ponto nodal) pelo entrelaçamento de suas pequenas células. Esta região foi ainda designada como "área reconstruída" (TRUEX & SMITHE, 1967), e "área intertextil" (LEV, 1968).

As células especializadas do nó AV são histograficamente distintas e, de acordo com sua localização, dividem-se em porção superficial e profunda, sendo esta última composta pelos segmentos intermediário e inferior (GERLIS et alii, 1975).

A porção profunda do nó AV é formada por células pequenas orientadas paralelamente ao anel fibroso da valva tricúspide e a porção superficial é formada por múltiplas



Modificado de JAMES(1974)

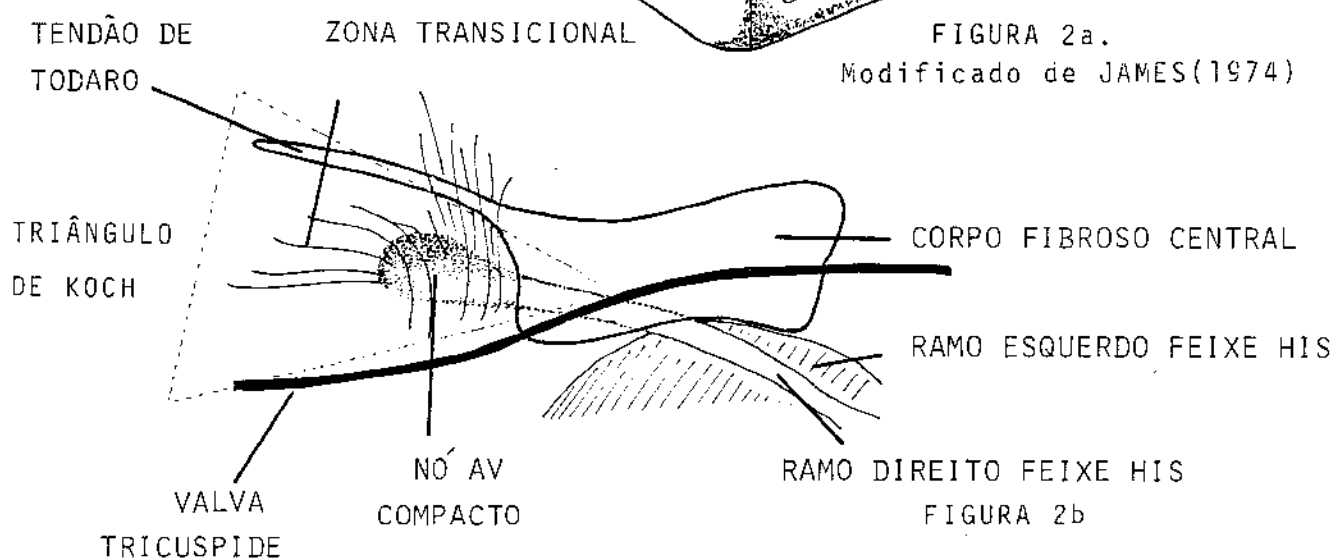


FIG. 2a. ESQUEMA TRIDIMENSIONAL DAS ÁREAS JUNCIONAIS AV. O esquema mostra a área juncional AV com suas quatro zonas e as relações topográficas segundo ANDERSON et alii (1975). FIG. 2b. Corte sagital do esquema 2a.

pequenas células dispostas em feixes (ANDERSON et alii, 1975).

ANDERSON et alii,1975		GERLIS, 1975		TRUEX & SMITHE,1976		
ZONA TRANSICIONAL				INSERÇÃO NODAL		
N6 AV C O M P A C T O	PORÇÃO SUPERFI- CIAL		PORÇÃO SUPERFICIAL		AREA R E C O N S T R U Í D A	PORÇÃO SUPERFICIAL
	P P O R O Ç F A U O N D A	DIREI- TA ESQUER DA	P P O R O Ç F A U O N D D	INTER- MEDIA- RIA INFE- RIOR		PROÇÃO PROFUNDA
F E I X E AV	FEIXE PENETRANTE					
	RAMO DIVISIONAL					

QUADRO I. SINONÍMIA DA ÁREA JUNCIONAL AV SEGUNDO ANDERSON ET ALII, 1975 E A CORRESPONDÊNCIA NOS DEMAIS AUTORES.

Desde o início deste século, ficaram bem estabelecidos os aspectos histográficos do primórdio nodal.

TANDLER (1912) descreveu as células do primórdio nodal num embrião de 20 milímetros de comprimento crâneo-caudal como tendo limites imprecisos, núcleos grandes hipercorados e citoplasma fracamente corados pela eosina. MALL (1912), WALL (1947), LICATA (1954) e, recentemente WENINK (1976), ampliaram esta descrição afirmando que os núcleos além de mais corados são maiores que os das demais células precursoras das musculares cardíacas. O citoplasma toma a cor vermelho brilhante, pela eosina, com aspecto vacuolar, possivelmente por conter menor número de miofibrilas.

Apesar destas claras definições das células componentes do primórdio nodal, sua localização inicial no coração em desenvolvimento e sua possível embriogênese ainda continuam controversas, conforme os trabalhos de ANDERSON et alii (1971) e TRUEX et alii (1967, 1978).

ANDERSON et alii (1976) afirmam que a primeira estrutura do futuro nó AV compacto, que foi por eles denominada de primórdio nodal, localiza-se na região da "porção muscular posterior do septo interventricular".

TRUEX et alii (1967, 1978) destacaram dois grupos celulares localizados na parede dorsal do átrio primitivo responsáveis pela embriogênese do nó AV compacto definitivo.

I.1. Dificuldades no estudo das estruturas embrionárias

I.1.1. Dificuldades gerais

Como as nossas instituições de pesquisas têm se ocupado pouco com a embriologia humana, encontramos dificuldades na obtenção de material em condições ideais para o estudo histográficos e histoquímico.

I.1.2. Dificuldades específicas

Vários fatores têm, sem dúvida, contribuído para o estabelecimento das diversas opiniões expressas na literatura relacionada com a embriogênese do nó e do feixe AV.

A divergência de opiniões, segundo TRUEX et alii (1978), se deve ao pequeno número de embriões examinados, às idades não seqüenciais, à variação na metodologia empregada, e à interpretação histográfica dos resultados obtidos.

Estudos efetuados nos vertebrados inferiores, tanto do ponto de vista histográfico (SHANER, 1929; VASSALS-ADAMS, 1982), quanto eletrofisiográfico (LIEBERMAN, 1970), se prestam como ponto de apoio às diversas teorias, no entanto esses resultados não podem ser extrapolados diretamente para a espécie humana (ANDERSON, 1986).

I.2. Cuidados iniciais e seleção do material estudado

Inicialmente definimos a fase embrionária que, segundo a literatura, nos permitisse a melhor visualização do primórdio nodal em formação, que ocorre entre o 30º e 50º dia da embriogênese humana.

Coletamos 11 (onze) embriões humanos e escolhemos 5 (cinco) que se encontravam em boas condições macroscópicas. Os embriões nº 1 (7.5 mmCR - comprimento crâneo-caudal em milímetros) e nº 2 (11.0 mmCR) vieram de prenhez tubária. O nº 3 (18.0 mmCR), nº 4 (20.0 mmCR) e nº 5 (22.0 mmCR) vieram de abortamento espontâneo inevitável de mães sadias sem sintomas ou sinais obstétricos precedentes, sem história de abortamento de repetição ou anomalias congênitas na família.

Os embriões macerado foram excluídos do estudo, pois supomos que o óbito tivesse ocorrido há mais de 1 dia e que o abortamento foi incompleto ou retido.

A literatura nos mostrou que os estudos da embriogênese do nó AV foram baseados em número não muito grande de embriões e alguns com idades bem diferentes (quadro II). Este fato sugeriu que, mesmo estudando-se número reduzido de embriões, desde que com idades próximas e situadas dentro de um período no qual o primórdio nodal se desenvolve, poderíamos tirar conclusões corretas.

ANO	AUTOR(ES)	EMBRIÕES OU FETOS (mmCR)	TOTAL EMBR.	TÉCNICAS UTIL.
1947	WALL	8.8; 10; 13; 18.5; 18.8; 22; 25; 40; 60; 78; 88 ----- 3 fetos com 105; 123; 150	12	HE; cortes histográficos com 10 um
1948	ROBB	12; 16; 17.5; 32	4	TRICROMIO de MASSON; MALLORY
1972	ANDERSON & TAYLOR	7; 9; 11.5; 15; 15; 20; 24; 29; 37; ----- 28; 46; 85; ----- 5 fetos com 90; 100; 110; 120 e 180	9 3	HE; TRICROMIO de MASSON - cortes histog. c/ 8um. Colinesterase em cortes histog. com 10 e 20 um
1975	GERLIS	Idem ANDERSON & TAYLOR		
1976	WENINK	6.5; 7; 14; 15; 17; 17.4 29; 50; 90	9	HE; cortes histográficos transversais c/ 10 um e cortes sagitais no emb. de 14 mmCR
1978	TRUEX et alii	6; 7; 13; 16; 18; 25; 25; 50; 100; 100 utilizaram ainda, 17 emb sem boas condições e 15 corações form	10	HE; impregnação p/ prata de HOMES; Hematoxilina-Floxina-Safranina em cortes histográficos c/ 10 um

QUADRO II. QUADRO SINÓPTICO DOS ESTUDOS REALIZADOS PELOS VÁRIOS AUTORES CITADOS NA LITERATURA. 1ª coluna ano de apresentação do trabalho; 2ª coluna nome dos autores principais; 3ª coluna tamanho dos embriões em mmCR (comprimento crânio-caudal em milímetros); 4ª coluna o total de embriões estudados; 5ª coluna técnicas utilizadas. HE - coloração pelo hemalume-eosina, um - micrômetro.

I.3. Estadiamento dos embriões

Os embriões humanos deste estudo foram classificados segundo os estádios propostos por O'RAHILLY (1971).

As estruturas embrionárias geralmente apresentam-se no embrião num determinado período de tempo (dias), sendo que neste período o embrião pode ter uma variação no seu tamanho, sem contudo significar que a estrutura embrionária está "atrazada" ou "adiantada" no seu desenvolvimento. Em vista destes fatos, foram elaboradas pelos autores algumas classificações basendo-se no tempo de aparecimento de algumas estruturas peculiares em relação ao tamanho do embrião e idade estimada a partir da concepção.

O'RAHILLY (1971) elaborou uma classificação em estádios desde a fertilização do óvulo até o coração exibir a forma estrutural no feto com aproximadamente 57 dias de vida. Dividiu esta classificação em 23 estágios e denominou cada estágio pelo algarismo arábico de 1 a 23. O quadro III resume os eventos embrionários do coração humano segundo os estádios de O'RAHILLY.

DIA	ESTADIO O'RAHILLY	mmCR	EVENTOS EMBRIONARIOS DO CORAÇÃO HUMANO		
20 --	09	1.5 a 2.5	1 a 3 somitos	S F O A M S í E T I C A	----
22 --	10	2.0 a 3.5	4 a 12 somitos		----
24 --	11	2.5 a 4.5	13 a 20 somitos		----
26 --	12	3 a 5	início canal AV		----
28 --	13	4 a 6	septum primum, coxins endocárdicos		----
32 --	14	6 a 7	Identificação do nó SA		----
33 --	15	7 a 9	Identif. do nó e feixe AV		----
36 --	16	8 a 11	Formação do <i>ostium</i> <i>secundum</i>		----
41 --	17	11 a 14	fechamento do <i>ostium</i> <i>primum</i> , canal AV dividido		----
44 --	18	13 a 17	formação do septo conal e valvas Ao e P		----
47 --	19	16 a 18	formação do tendão de TODARO		----
50 --	20	18 a 20			----

QUADRO III. SINOPSE DOS ESTADIOS EMBRIONARIOS
SEGUNDO CRITÉRIOS DE O'RAHILLY (1971)

1ª coluna DIA- refere-se ao número de dias a partir do início da concepção e serve de limite entre os estágios; 2ª coluna ESTADIO DE O'RAHILLY - os números desta coluna referem-se à designação do estágio; 3ª coluna mmCR - medida do comprimento crâneo caudal do embrião em milímetros (crown-rump); 4ª EVENTOS EMBRIONARIOS DO CORAÇÃO HUMANO - AV - atrioventricular; SA - sinoatrial; Ao - aorta; P - pulmonar.

I.4. Objetivo do trabalho

O presente trabalho tem por objetivo verificar:

A localização do primórdio nodal em embriões humanos nos estádios 15,16 e 20 de O'RAHILLY (1971).

II. REVISÃO DA LITERATURA

Apesar da existência do sistema específico do coração ter sido descrita por PURKINJE (1845) apud TITUS (1963) somente no final do século XIX é que os autores se ocuparam da embriogênese do nó AV. Estes estudos tomavam a área juncional AV como um todo, não particularizando a formação de cada uma das estruturas componentes, pois esta divisão e sistematização só foi possível a partir da metade do século atual com a compreensão da anatomia desta área. Em vista deste fato descreveremos inicialmente as teorias da formação da área juncional AV, que inclui o nó AV compacto, e posteriormente as teorias da formação do nó AV compacto, especificamente.

II.1 Teorias sobre a embriogênese da área juncional atrioventricular

II.1.1. Teorias miogênicas

Em 1893 HIS, apud ROBB (1948) se ocupou com o estudo da embriogênese do nó AV e admitiu que suas células provinham das células musculares da faixa de transição entre o átrio e o ventrículo primitivo. Esta hipótese recebeu o nome de teoria miogênica, e até 1940 foi aceita pela comunidade científica. Segundo ROBB (1948) a aceitação desta hipótese se deve às seguintes razões: "O feixe de HIS é composto de tecido não nervoso; a interrupção deste feixe

provoca bloqueio cardíaco; as pulsações cardíacas precedem o desenvolvimento de nervos dentro do coração, e finalmente, o coração continua a pulsar mesmo separado do sistema nervoso".

Os trabalhos de KEITH & FLACK (1906), e MALL (1912) apoiaram a teoria miogênica e afirmaram que o nó AV tinha origem "in situ" a partir de células do canal muscular atrioventricular. Porém TANDLER (1912), SHANER (1929) e WALL (1947), apesar de apoiarem a teoria miogênica, admitiram que o nó AV se formaria por migração ativa de células do canal muscular AV. Trabalhando com embriões de aves, LIEBERMAN (1970) chegou a esta mesma conclusão.

II.1.2. Teoria do "sinus venosus"

Estudos iniciais efetuados por PATTEN (1933,1956), em embriões de galinha, revelaram pontos excitáveis nas junções das veias cardinais direita e esquerda com o "sinus venosus", chamados cornos musculares direito e esquerdo. Estes cornos, uma vez removidos, promoviam deficiências na geração dos estímulos elétricos do coração. O ponto situado no corno muscular direito relacionava-se com o nó sinusal e o do corno muscular esquerdo com o nó AV, sugerindo, então, estas origens para estes nós.

Esta hipótese também foi sustentada por JAMES (1970), que fez interessantes reflexões sobre a origem do nó AV a partir da região "externa" do coração, ou seja, o

"primitivo" nó AV teria seu início no corno muscular esquerdo do "sinus venosus" e se incorporaria junto com o "sinus venosus" à parede atrial. Com relação à sua posição definitiva no coração, segundo ele, o nó AV poderia migrar ativamente ou, então, manter-se fixo enquanto todo o átrio se modificava. Outro ponto utilizado por este autor para definir a possível origem "externa" do nó AV foi baseada na forma em "U" que tem o vaso nutriente deste nó. O vaso apresenta esta alça por acompanhar a migração do nó para o interior do coração.

II.1.3. Teoria da dupla origem

ANDERSON & TAYLOR (1972), estudando os indícios celulares da atividade elétrica do tecido específico de condução, pela presença de acetilcolinesterase em corações de embriões humanos, concluíram que o nó AV formar-se-ia a partir de células oriundas do corno muscular esquerdo do "sinus venosus", e de células do canal muscular AV, combinando as duas teorias precedentes.

II.1.4. Teoria dos anéis especializados

A teoria atualmente aceita para explicar o desenvolvimento da área juncional AV é a de BENNINGHOFF (1923) que, estudando corações de anfíbios, encontrou quatro

anéis de tecido especializado, responsáveis pela geração e condução dos estímulos cardíacos.

ANDERSON et alii (1976) e WENINK (1976) encontram estes anéis de tecido especializado em corações humanos e confirmaram esta antiga teoria.

Com 22 dias de vida o coração embrionário, apesar de sua forma tubular, exhibe os seguintes segmentos que podem ser reconhecidos externamente: o "sinus venosus"; o átrio primitivo; o ventrículo primitivo; o "bulbus cordis", e o "truncus arteriosus". BENNINGHOFF (1923), ANDERSON et alii (1976) e WENINK (1976) demonstraram os anéis de tecido especializados separando estes segmentos que, ao exame histográfico, os anéis são compostos por células com características diferentes das encontradas nas paredes dos segmentos acima citados.

Achados concordantes foram obtidos no coração de vertebrados inferiores conforme demonstraram GOETTLER (1963) e SCHEIEBLER & DOERR (1963) apud WENINK (1976); HEINE (1972) e VASSALL-ADAMS (1982). Estes anéis foram denominados respectivamente de anel sinu-atrial (SA); anel átrio-ventricular (AV); anel ventrículo-bulbar (VB) e anel bulbo-truncal (BT), de acordo com as regiões que os mesmos separam (fig. 3a e 3b).

Um fato importante na embriogênese do nó AV é a torção cardíaca, pois, por produzir curvatura interna do tubo cardíaco, localiza os anéis AV, VB e BT em ponto próximo no cone ventricular, resultando na formação da área

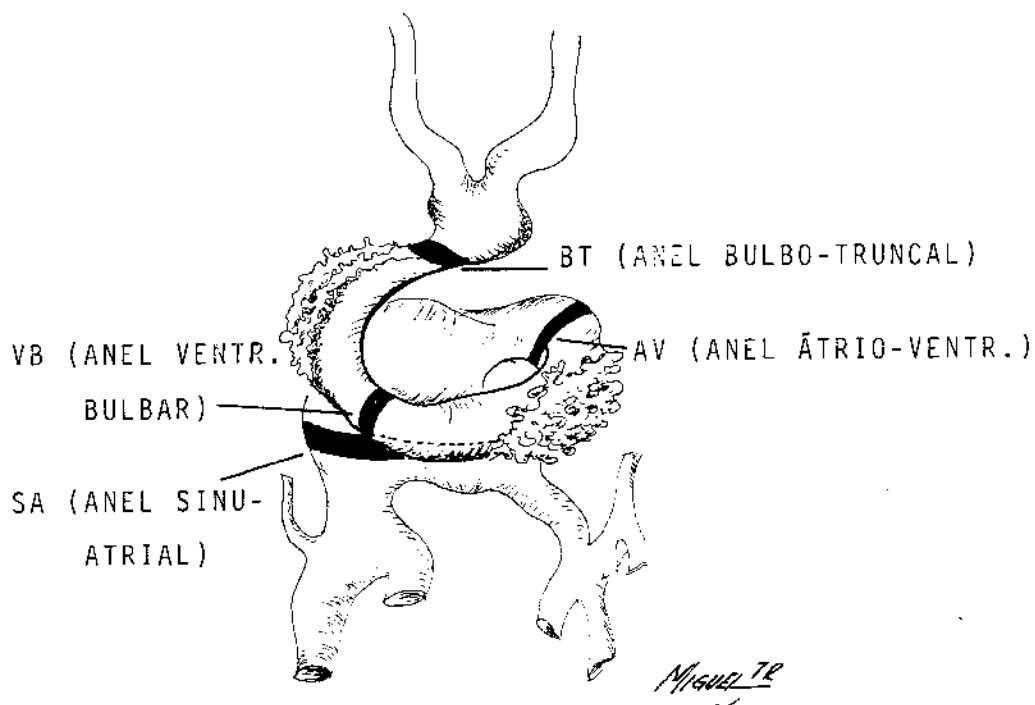


FIG. 3a ANÉIS DE TECIDO ESPECIALIZADO
EM EMBRIÃO HUMANO COM 20 DIAS

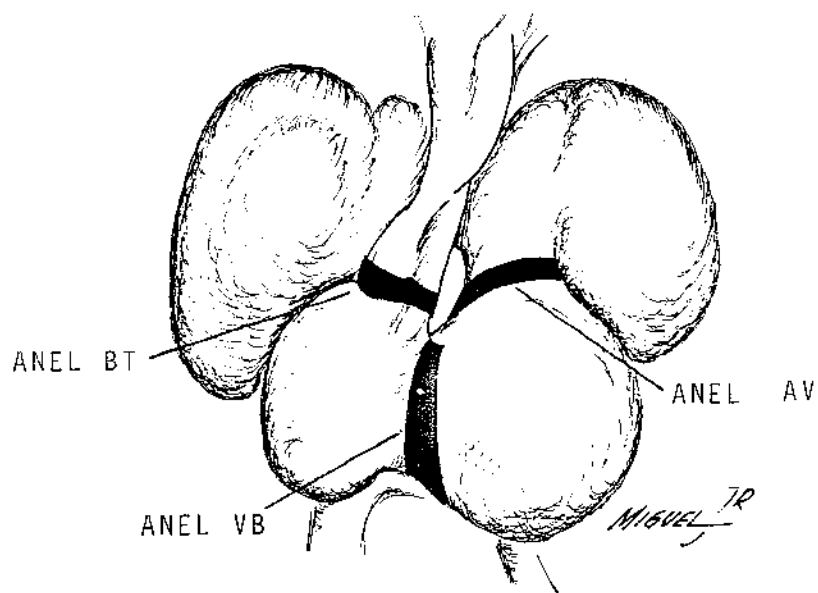


FIG. 3b. ANÉIS DE TECIDO ESPECIALIZADO
APÓS TORÇÃO CARDÍACA EM EMBRIÃO HUMANO
COM APROXIMADAMENTE 30 DIAS

Esquemas adaptados das figuras de STREETER (1948)

juncional AV (fig. 3b). Serão citadas mais adiante as teorias que propõem as contribuições de cada um dos anéis especializados na formação do nó AV compacto.

Outra estrutura significativa do sistema específico de condução é o feixe AV, tecido que une o nó AV compacto à rede de Purkinje dos ventrículos. O feixe AV é formado por um ramo que "atravessa" o esqueleto fibroso do coração, chamado ramo penetrante AV, e pelo ramo divisional AV, que fica "montado" no septo interventricular (v. quadro I, fig. 02) (ANDERSON et alii, 1975). Segundo WENINK (1976) as projeções dorsais do anel especializado AV formam o feixe penetrante AV, após se fundirem com o tecido do anel VB, o qual atapeta o endocárdio ventricular (fig. 04). A conexão entre o primórdio nodal e o feixe se faz através do desenvolvimento de células claras mesenquimais típicas do coxim endocárdico (ANDERSON et alii, 1977).

Com o término da fase de septogênese cardíaca (8ª semana), a área juncional atrioventricular se estabiliza com a localização das estruturas específicas nas posições definitivas do coração formado.

O quadro IV sumariza as teorias sobre a embriogênese da área juncional AV.

ANO	AUTOR	TEORIA
1893	HIS	MIOGENICA
1906	KEITH & FLACK	ORIGEM "IN SITU" NAS CÉLULAS DO CANAL MUSCULAR ATRIO-VENTRICULAR
1912	MALL	
1912	TANDLER	MIGRAÇÃO ATIVA DAS CÉLULAS DO CANAL MUSCULAR ATRIO-VENTRICULAR
1929	SHANER	
1947	WALL	
1970	LIEBERMAN	
1933 1956	PATTEN	CORNO MUSCULAR ESQUERDO DO <i>SINUS VENOSUS</i>
1970	JAMES	
1972	ANDERSON & TAYLOR	CORNO MUSCULAR ESQUERDO DO <i>SINUS VENOSUS</i> E CANAL MUSCULAR ATRIOVENTRICULAR
1923	BENNINGHOFF	ANÉIS DE TECIDO ESPECIALIZADO: SINO-ATRIAL (SA), ATRIOVENTRICULAR (AV), VENTRÍCULO-BULBAR (VB) E BULBO-TRUNCAL (BT)
1963	GOETTLER	
1963	SCHIEBLER & DOERR	
1972	HEINE	
1976	WENINK	
1976	ANDERSON et Alii	
1982	VASSALL-ADAMS	

QUADRO IV. TEORIAS SOBRE A EMBRIOGENESE DA
ÁREA JUNCIONAL AV

II.2. Teorias sobre a embriogênese do nó AV compacto

Com base na morfologia e na arquitetura celular, o nó AV compacto foi dividido nas porções superficial e profunda (v. pag. 7 e quadro I).

De acordo com ANDERSON & TAYLOR (1972), a porção superficial deriva do corno muscular esquerdo do "sinus venosus" e a porção profunda deriva do canal muscular AV. Porém GERLIS et alii (1975), revendo este material com o próprio ANDERSON, formularam a hipótese de que a porção superficial derivaria da região mitral da porção muscular do septo interventricular e a porção profunda derivaria da região tricúspide do canal muscular AV.

Baseando-se nesta divisão do nó AV compacto, TRUEX et alii (1967,1978) propuseram duas origens para a formação do nó AV, em sua teoria dos primórdios atriais: uma, de um pequeno grupo celular localizado na parte direita da parede dorsal do átrio primitivo (pequeno primórdio direito), que daria origem às células da porção superficial, e outra, de um grande agrupamento celular na parte esquerda da parede dorsal do átrio primitivo (grande primórdio esquerdo), que daria origem às células da porção profunda.

TRUEX et alii (1978) chamaram atenção para a união que deve ocorrer entre estes dois agrupamentos celulares, pois se isto não acontecer, aparecerão bloqueios AV completos, como nos casos ilustrados por JAMES et alii (1976), ou então, a presença de dois nós AV como nas cardiopatias congênitas observadas por BHARATI & LEV (1978).

As teorias recentes da formação do nó AV compacto relacionam sua origem com os anéis especializados no coração embrionário, em particular com o anel especializado átrio-ventricular (AV). Segundo ANDERSON et alii (1976), nos embriões com 31 dias de vida, o anel AV já é bem evidente e está em íntima relação com uma faixa de células assentadas na porção muscular posterior do septo interventricular e que comporá o primórdio nodal.

De acordo com WENINK (1976) nem todo o anel AV formaria o nó AV compacto, mas sim, suas invaginações ventral e dorsal. Este fato também é aceito por ANDERSON et alii (1976). WENINK (1976) chama atenção para o anel sinu-atrial (SA) que em sua parte localizada na parede dorsal da câmara atrial direita, também contribui para a formação do nó AV compacto.

O quadro V resume as teorias das origens da formação do nó AV compacto e figura 05 ilustra os locais de origem do primórdio nodal segundo os autores citados.

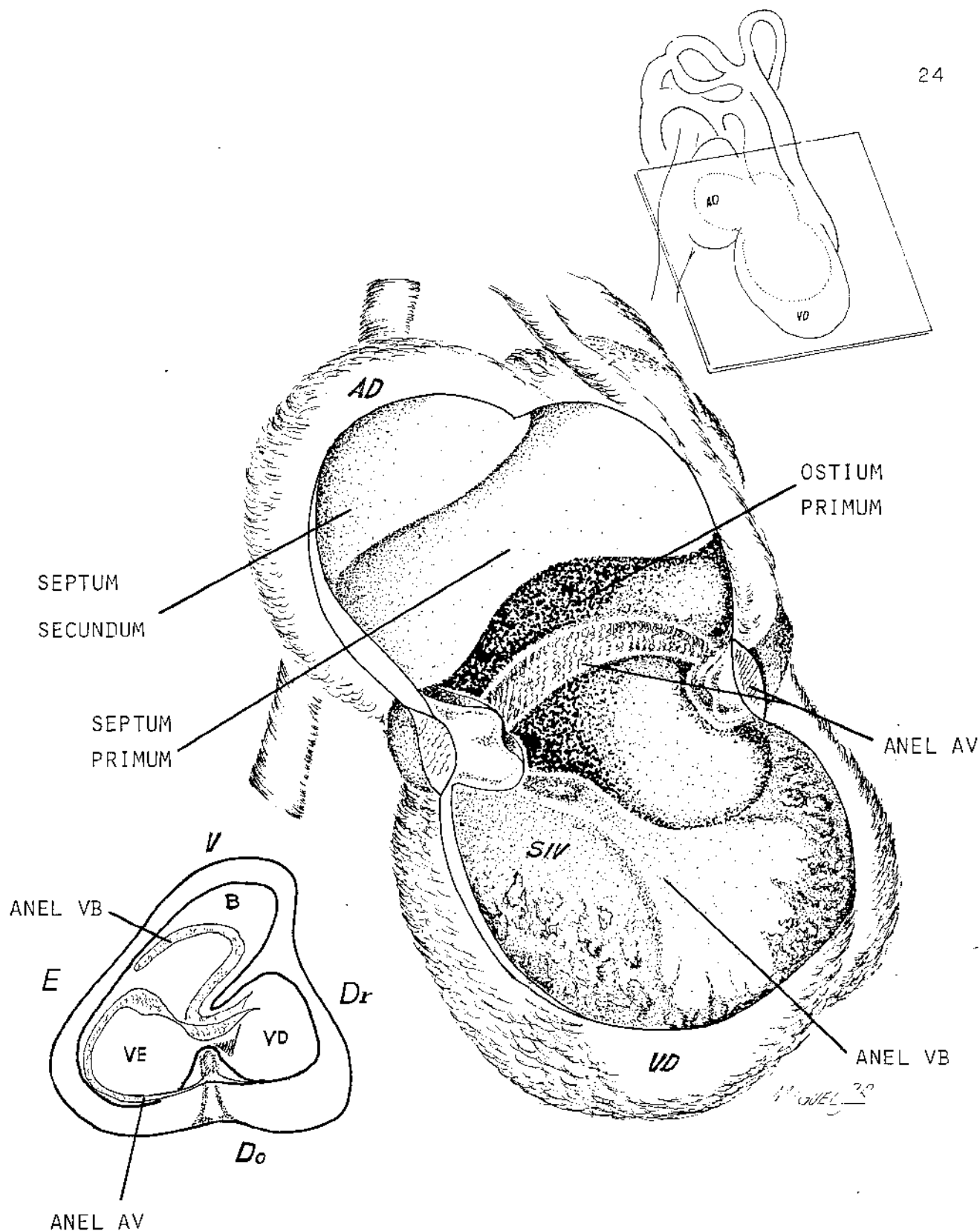


FIG. 04. ANÉIS ESPECIALIZADOS AV e VB EM EMBRIÃO HUMANO COM 35 DIAS. Visão em corte sagital pela face direita do coração embrionário mostrando o átrio direito (AD) com seus septos em formação; o ventrículo direito primitivo (VD) com a porção muscular do septo interventricular (SIV) e o anel especializado VB como um leque sobre sua superfície. O esquema no canto inferior esquerdo ilustra as posições dos anéis AV e VB no mesmo coração embrionário cortado horizontalmente. Dr - direita; E - esquerda; V ventral; Do - dorsal; B "bulbus cordis"; VE - ventrículo esquerdo primitivo; VD - ventrículo direito primitivo.

	ANDERSON & TAYLOR, 1972	GERLIS et alii, 1975	TRUEX et alii, 1978	WENINK 1976	ANDERSON et alii, 1976
P S O U R P C E A R O F I C I A L	CORNO ESQUERDO DO SINUS VENOSUS	REGIAO MITRAL DA PORCAO MUSCULAR POSTERIOR DO SEPTO INTERVEN- TRICULAR	PEQUENO PRIMORDIO DIREITO NA PAREDE DORSAL DO ATRIO PRIMITIVO	INVAGINA- COES VENTRAL E DORSAL DOS ANEIS ESPECIA- LIZADOS SA E AV	PORCAO DORSAL DO ANEL ESPECIALI- ZADO AV E PORCAO MUSCULAR POSTERIOR DO SEPTO INTERVEN- TRICULAR
P P O R R O C F A U O N D A	CANAL MUSCULAR ATRIO- VENTRICULAR	REGIAO TRICUS- PIDE DO CANAL MUSCULAR ATRIOVEN- TRICULAR	GRANDE PRIMORDIO ESQUERDO NA PAREDE DORSAL DO ATRIO PRIMITIVO		

QUADRO V. TEORIAS SOBRE A EMBRIOGENESE DO
Nó AV COMPACTO

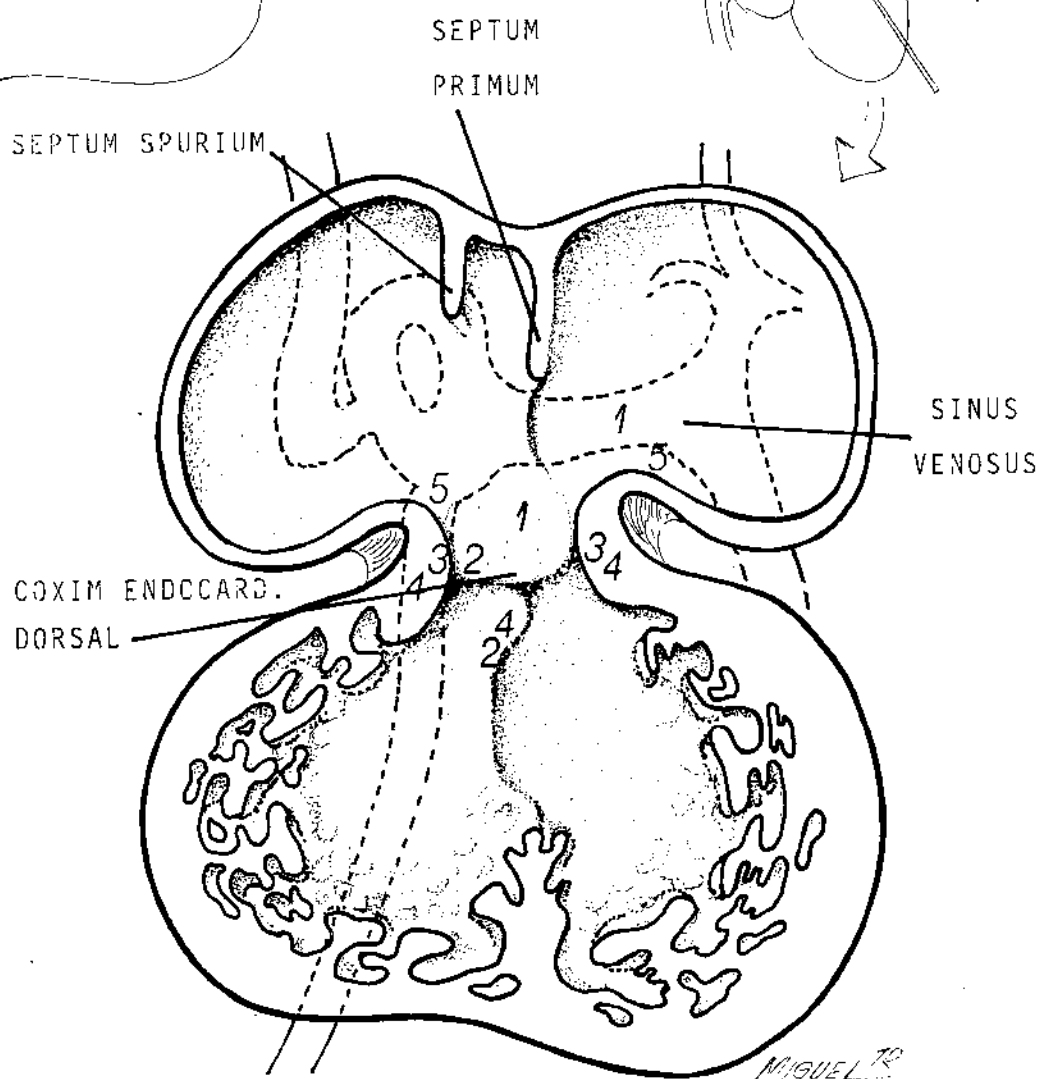


FIG. 05. Esquema representativo dos locais embriogênicos do nó AV compacto, feito com base em embriões de 8 mmCR. Os números de 1 a 5 indicam o local de origem das estruturas segundo a teoria dos autores citados no texto. 1 - ANDERSON & TAYLOR (1972); 2 - GERLIS et alii (1975); 3 - WENINK (1976); 4 - ANDERSON et alii (1976); TRUEX et alii (1978).

III. MATERIAL E METODOS

Foram estudados cinco embriões humanos no estágio 15 (embrião nº 1 com 7.5 mmCR), no estágio 16 (embrião nº 2 com 11.0 mmCR) e no estágio 20 (embrião nº 3 com 19.0 mmCR; embrião nº 4 com 20.0 mmCR; embrião nº 5 com 22.0 mmCR) de acordo com a escolha referida no item I.2 (v. pag.10). O material obtido levado para fixação num intervalo de tempo que não ultrapassou 5 minutos. A fixação foi feita em formalina a 10% por, no mínimo, 72 horas, em seguida o material foi destinado para inclusão em parafina.

Os embriões foram seccionados em série com 6 micrômetros (um) de espessura, corados pela hemalume-eosina, sendo o tempo de eosina igual a 10 minutos. Nos embriões de números 1, 2 e 3 (7.5; 11.0 e 20.0 mmCR respectivamente) o plano de corte foi o sagital; no embrião de número 3 (19.0 mmCR) o plano de corte foi o frontal e no embrião de número 5 (22mmCR) o plano de corte foi o horizontal. A tabela I refere-se ao número de ordem dos embriões; seus respectivos tamanhos no comprimento crâneo-caudal; o número do estágio de desenvolvimento segundo os critérios adotados por O'RAHILLY (1971) e os planos de cortes realizados.

NUMERO DE ORDEM	TAMANHO DO EMBRIÃO(mmCR)	ESTADIO DE O'RAHILLY	PLANO DE CORTE
1º	7.5	15	SAGITAL
2º	11.0	16	SAGITAL
3º	19.0	20	FRONTAL
4º	20.0	20	SAGITAL
5º	22.0	20	HORIZONTAL

TABELA I. SINOPSE DO MATERIAL
mmCR - comprimento crâneo-caudal em milímetros

A tabela II mostra o número de cortes estudados em cada um dos cinco embriões humanos, assim como os números de série das lâminas dos embriões que foram utilizados para as medidas nucleares.

NUMERAÇÃO DE ORDEM DO EMBRIO	TAMANHO DO EMBRIO (mmCR)	NUMERO DE CORTES UTILIZADOS	NUMERAÇÃO DAS LAMINAS UTILIZADAS P/ AS MEDIDAS NUCLEARES
1º	7.5	185	13,14 e 16
2º	11.0	93	71,74 e 75
3º	19.0	44	5 e 6
4º	20.0	110	10 e 11
5º	22.0	100	45,46 e 47

TABELA II. Número de cortes utilizados e número das lâminas dos embriões que foram empregadas para a medida do volume nuclear
mmCR - comprimento crâneo-caudal em milímetros

A tabela III indica o número de núcleos medidos com a finalidade de efetuar a comparação entre o volume nuclear das células do primórdio nodal e das células precursoras do músculo contrátil do coração.

TAMANHO DO EMBRIO (mmCR)	NUMERO DE NUCLEOS DO PRIM. NODAL	NUMERO DE NUCLOS DAS C. MUSCULARES	TOTAL
7.5	73	89	162
11.0	53	61	114
19.0	47	60	107
20.0	21	38	59
22.0	59	20	79
TOTAL	253	268	521

TABELA III. Número de núcleos medidos nos vários embriões com a finalidade de efetuar a comparação entre o volume nuclear das células do primórdio nodal e das células precursoras do músculo cardíaco.
mmCR - comprimento crâneo-caudal em milímetros

III.1. Critério adotado para definir a região a ser estudada.

O critério adotado para definir a região a ser estudada, como representante do primórdio nodal, foi estabelecido através da observação microscópica das células que apresentassem as características descritas por MALL (1912), LICATA (1954) E WALL (1947), no coração embrionário em desenvolvimento (v. pag.7).

III.2. Cariometria

Utilizamos a cariométrica com a finalidade de estimar os volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal e confrontá-los com os núcleos das células precursoras das musculares contráteis, de sua vizinhança, assim dando apoio às observações histográficas. A medida do volume nuclear foi efetuada com o auxílio da câmara clara.

Os núcleos das células a serem estudados foram visualizados com aumento de 1000 (mil) vezes e, uma vez definidos, superpostos em folha de papel sulfite com o auxílio da câmara clara e seus contornos traçados com lápis. A partir destes desenhos obtidos, procedeu-se a medida do diâmetro maior (D1) e do diâmetro menor (D2), com o auxílio de régua milimetrada.

A câmara clara foi calibrada através de uma lâmina milimetrada, a partir do que as medições obtidas foram transformadas em micrometros.

De posse dos valores dos diâmetros D1 e D2, calculou-se o volume nuclear pela fórmula do elipsóide de revolução, pois as figuras dos núcleos lembram a forma deste sólido.

A fórmula do elipsóide de revolução, segundo VALERI et alii (1967), é a seguinte:

$$V = k \times D1 \times D2 \times \sqrt{D1 \times D2}$$

onde a constante $k = 0.4523042$

Os valores assim obtidos foram analisados estatisticamente.

III.3. Análise estatística

A análise estatística foi desenvolvida com dois tipos de testes : 1º Teste da mediana para duas amostras e 2º Teste da mediana extensiva a mais de duas amostras.

III.3.1 Teste da mediana

A análise estatística para comparação entre duas amostras foi feita pelo teste das medianas (SIEGEL, 1956).

A significância das variações dos dados obtidos foi feita comparando-se o valor do X^2 obtido com o X^2 crítico a nível de 5%.

III.3.2. Teste da mediana extensiva a mais de duas amostras

A análise em conjunto dos dados obtidos da cariometria foi feita através do teste da mediana extensiva para mais de duas amostras, conforme SIEGEL (1956).

A significância das variações dos dados obtidos foi feita comparando-se o valor do X^2 obtido com o X^2 crítico a nível de 5%.

IV. RESULTADOS

IV.1 Características histográficas do primórdio nodal no estágio 15.

No embrião nº 1 (7.5 mmCR) realizamos 185 cortes seriados no sentido sagital, iniciando pelo lado direito do embrião. Todos os achados histográficos do coração embrionário, que serão mostrados nas figuras de 8 a 10, nos permitiram determinar que este embrião encontrava-se na fase intermediária do estágio 15 de O'RAHILLY (1917), com idade aproximada de 35 dias de vida.

Os diagramas das figuras 6a e 6b ilustram os aspectos externos do coração no embrião com 28 dias (estádio 13 de O'RAHILLY), vistos pelo perfil direito e as suas evoluções até o embrião correspondente ao de 35 dias (estádio 15 de O'RAHILLY) semelhante ao estudado por nós. Na figura 7 os aspectos internos do embrião com 35 dias são ilustrados em visão frontal. Estes diagramas se prestarão para a compreensão das posições das estruturas mostradas nos cortes histográficos.

As figuras dos nºs 8 ao nº 11 ilustram aspectos das estruturas embrionárias encontradas no embrião nº 1 com os cortes seguindo do lado direito para o lado esquerdo do embrião, e que servem para o entendimento da localização do primórdio nodal mostrada na figura nº 14.

O diagrama ao lado das figuras indicam o sentido e a posição do corte no coração embrionário visto em posição frontal.



FIG. 6a,b. esquemas dos aspectos externos do coração embrionário com 28 e 35 dias de vida, visão do perfil direito. 1º, 2º e 3º - 3 pares de arcos aórticos; SV - sinus venosus; A - átrio primitivo; V - ventrículo primitivo; B - bulbus cordis.

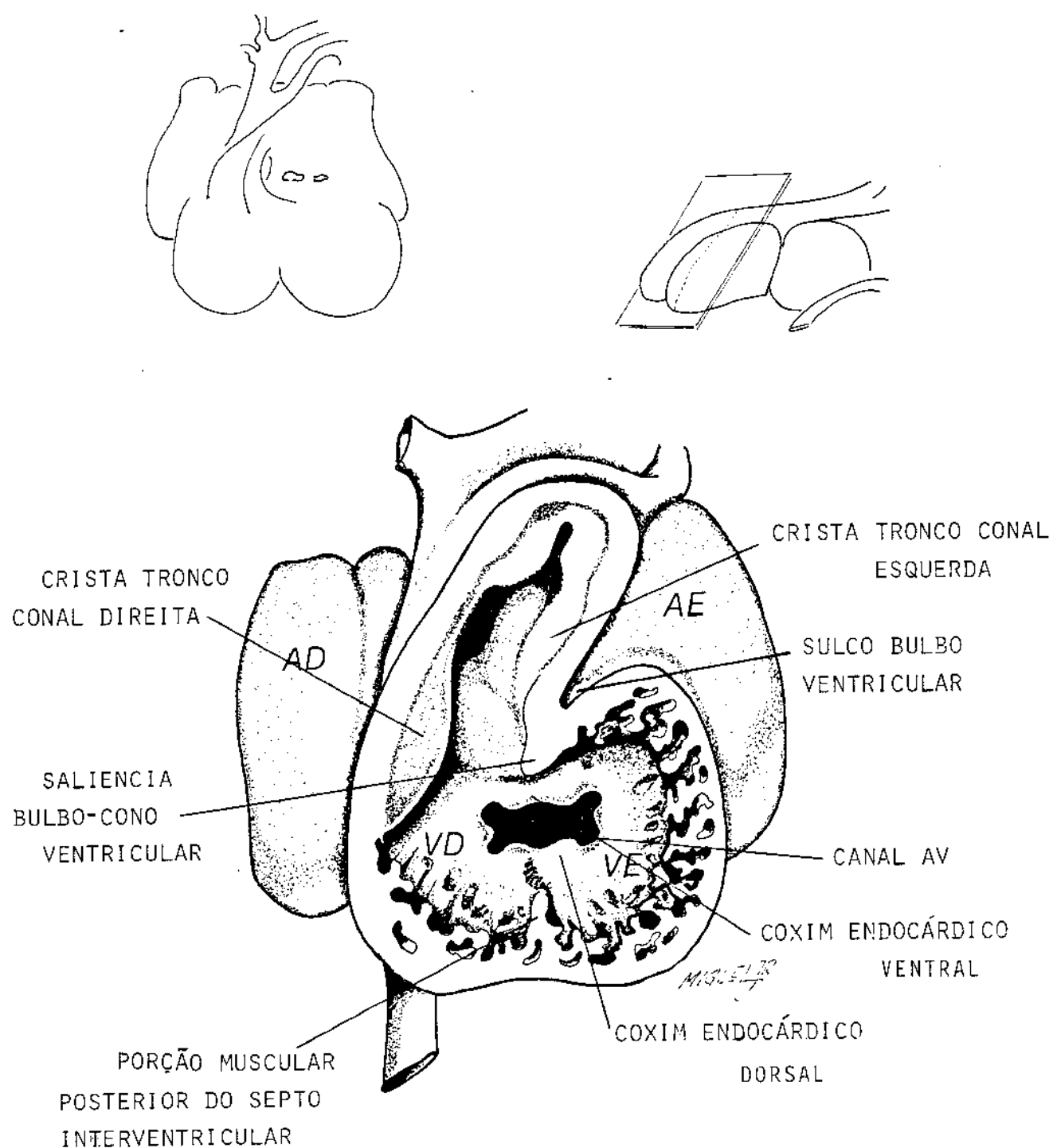


FIG. 07. esquema em corte frontal do coração embrionário com aproximadamente 35 dias ilustrando estruturas importantes na localização do primórdio nodal.

A figura 8 ilustra o coração embrionário cortado no sentido sagital em sua porção mais próxima da parede direita do embrião. A cavidade cardíaca é limitada pelo saco pericárdico em formação. Na região dorsal observa-se o volumoso átrio primitivo com suas paredes finas, recebendo o aporte sangüíneo através do "sinus venosus", que é uma estrutura com o aspecto de uma ferradura para a qual convergem os três sistemas sangüíneos do embrião. Neste corte vemos a chegada ao "sinus venosus" da veia vitelina direita, e a veia cardianal direita. A veia umbilical direita não aparece nesta foto.

Na seqüência a figura 9 ilustra o corte sagital região medial do embrião onde o coração apresenta-se como um tubo único com o átrio primitivo (futuro átrio direito), o ventrículo primitivo (parte do futuro ventrículo direito), o "bulbus cordis" e o "truncus arteriosus". O átrio primitivo se comunica com o ventrículo primitivo através do canal muscular atrioventricular, onde se evidenciam os coxins endocárdicos dorsal e ventral, proeminências de um tecido mesenquimal a partir do endocárdio em direção à luz e que formarão as valvas atrioventriculares.

Na cavidade ventricular primitiva existe a proeminência do tecido da parede muscular em direção a luz, tanto em sua parte dorsal como ventral, constituindo as porções musculares posterior e anterior do septo

interventricular, dando início à separação das cavidades ventriculares e limitando o foramen interventricular primário.

Na região do "truncus arteriosus" vemos a linha correspondente ao septo truncal, dividindo-o e separando deste modo os canais aórtico e pulmonar.

Na figura 10 além das estruturas referidas anteriormente, notamos o septo interventricular com suas porções anterior e posterior, e sobre esta última, como que "atapetando-a", um tecido composto por células de limites imprecisos, mais eosinófilas, com núcleo volumoso, hipercoreado e maiores que os das células miocárdicas vizinhas. Este tecido será mostrado em pormenor nas figuras e representa o primórdio nodal. Nesta figura 10 vemos o corno esquerdo do "sinus venosus" situado na parte inferior e externamente ao átrio primitivo. O diagrama da figura 12 ilustra em visão posterior as estruturas do "sinus venosus" e serve para nossa orientação em relação aos cortes histográficos apresentados.

A figura 11 mostra o coração embrionário com o corte sagital passando próximo à parede esquerda, onde vemos os futuros átrio e ventrículo esquerdo.

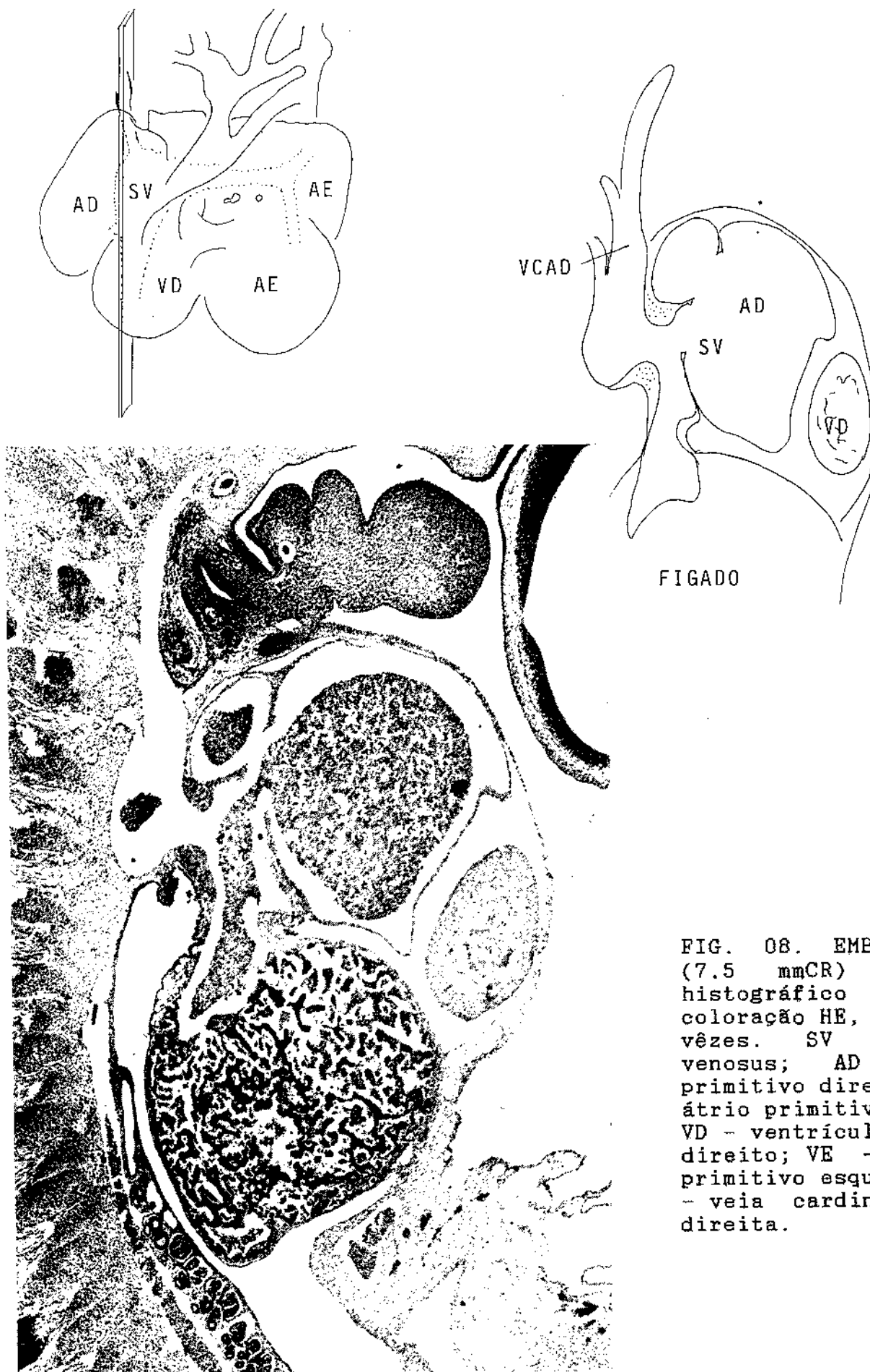


FIG. 08. EMBRIÃO Nº 1
(7.5 mmCR) - corte
histográfico sagital,
coloração HE, aumento 60
vêzes. SV - sinus
venosus; AD - átrio
primitivo direito; AE -
átrio primitivo esquerdo;
VD - ventrículo primitivo
direito; VE - ventrículo
primitivo esquerdo; VCAD
- veia cardinal anterior
direita.

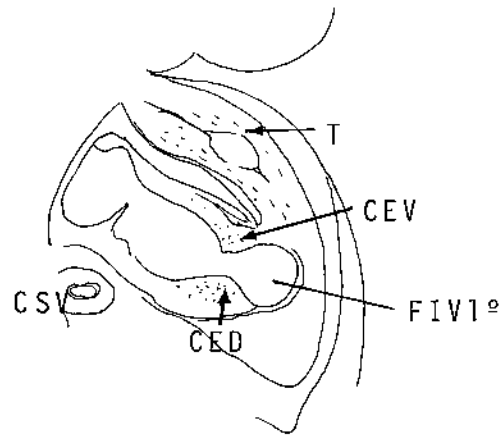
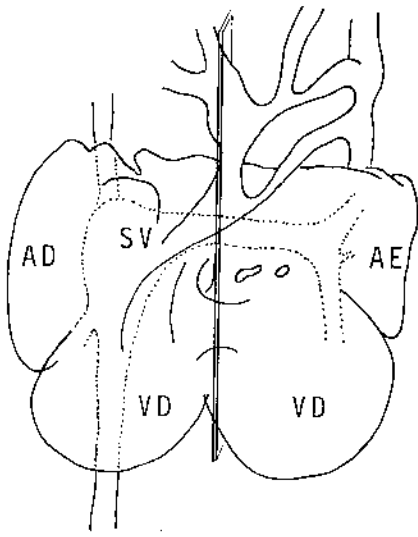


FIG. 09. EMBRIO No 1 (7.5 mmCR). Corte histográfico sagital, coloração HE; aumento 80 vezes. SV - sinus venosus; AD - átrio primitivo direito; AE - átrio primitivo esquerdo; VD - ventrículo primitivo direito; VE - ventrículo primitivo esquerdo; T - truncus arteriosus; CED - coxim endocárdico dorsal; CEV - coxim endocárdico ventral; FIV1º - foramen interventricular primário; CSV corno esquerdo do sinus venosus.

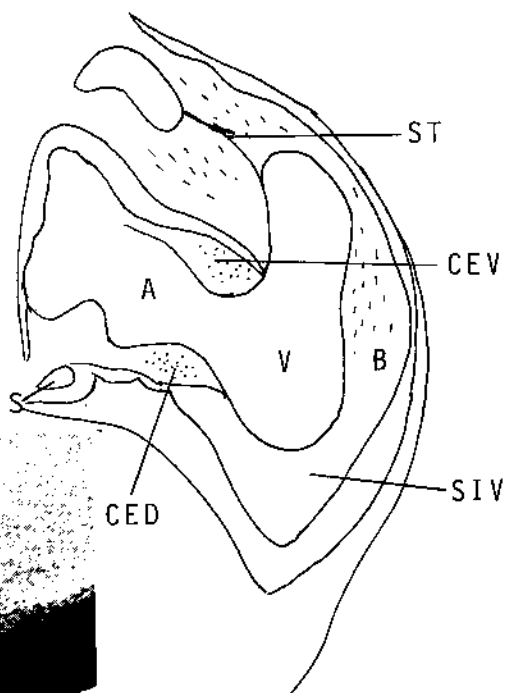
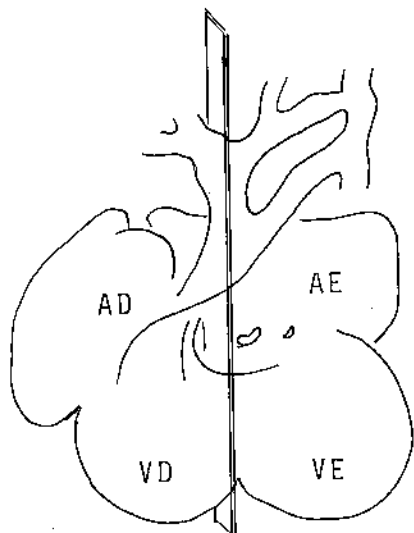


FIG. 10. EMBRIÃO Nº 1. (7.5 mmCR). Corte histográfico sagital; coloração HE; aumento 80 vezes. CEV - coxim endocárdico ventral; CED - coxim endocárdico dorsal; ST - septo truncal; A - átrio primitivo; V - ventrículo primitivo; SIV - septo interventricular.

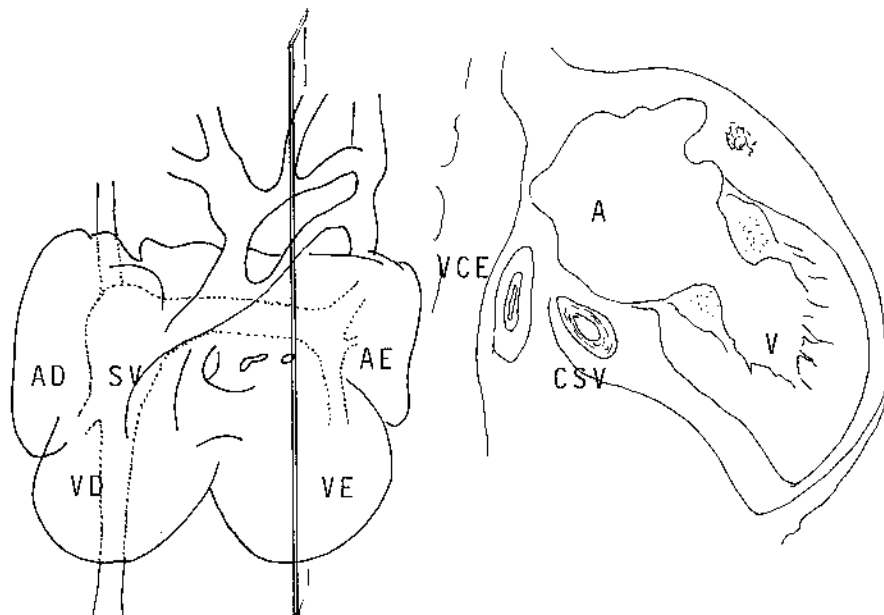


FIG. 11. EMBRIO Nº 1. (7.5 mmCR). Corte histográfico sagital, coloração HE, aumento 80 vezes. A - átrio primitivo; V - ventrículo primitivo; VCE - veia cardial anterior esquerda; CSV - corno esquerdo do "sinus venosus".

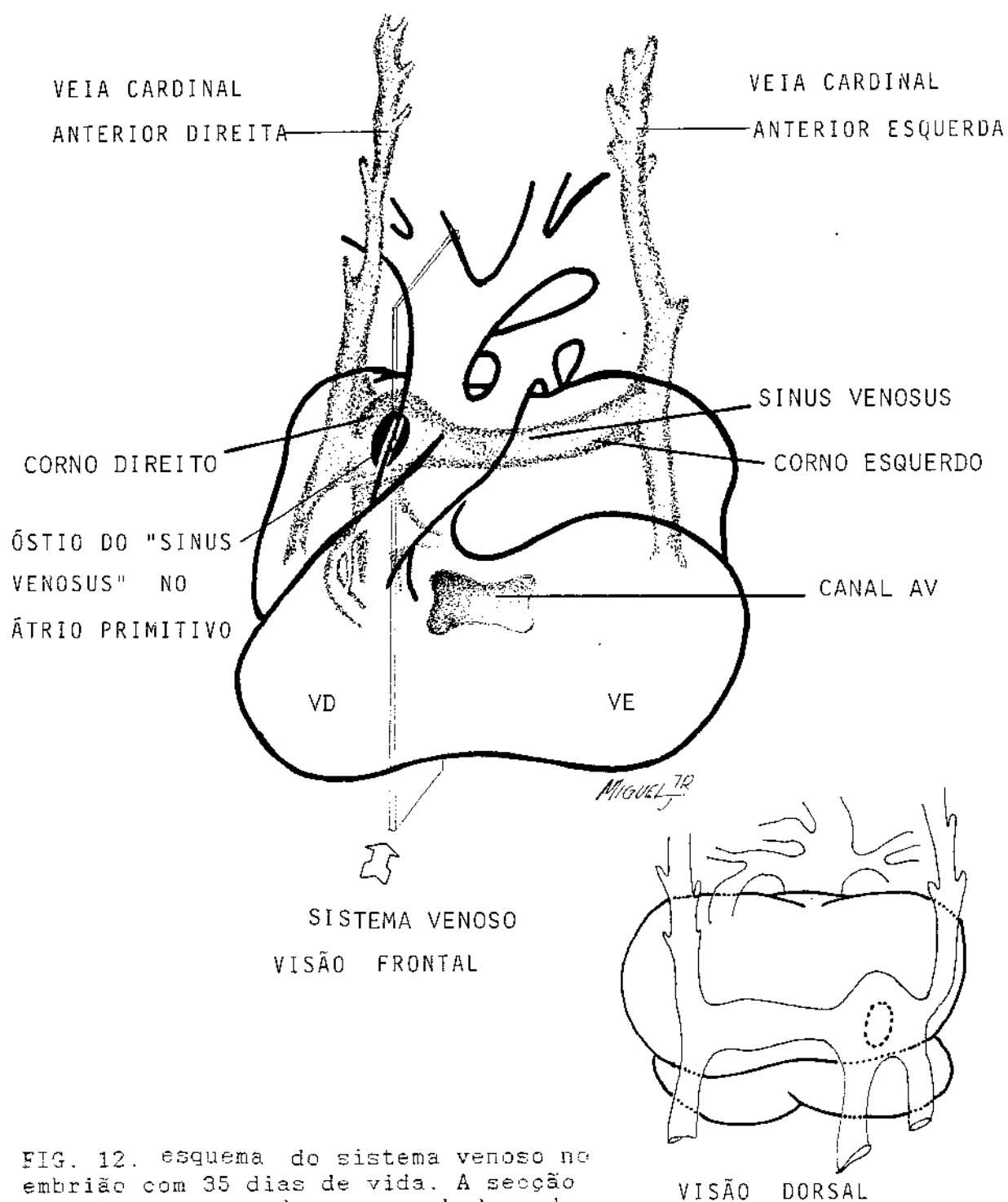


FIG. 12. esquema do sistema venoso no embrião com 35 dias de vida. A secção (seta) corresponde aos achados da histografia da figura 08.

Numa concepção tridimensional destes achados elaboramos o diagrama da figura 13.

Nas lâminas referentes a região do septo muscular interventricular notamos a existência de uma faixa de células com características peculiares, como citamos na figura 10, semelhante às descritas na literatura para o tecido formador do nó AV (primórdio nodal), situadas no topo do septo muscular em formação, indo desde a região do canal muscular AV até a parte inferior do "bulbus cordis". Estas células por serem semelhantes às caracterizadas para o primórdio nodal podem ser assim definidas (figura 14).

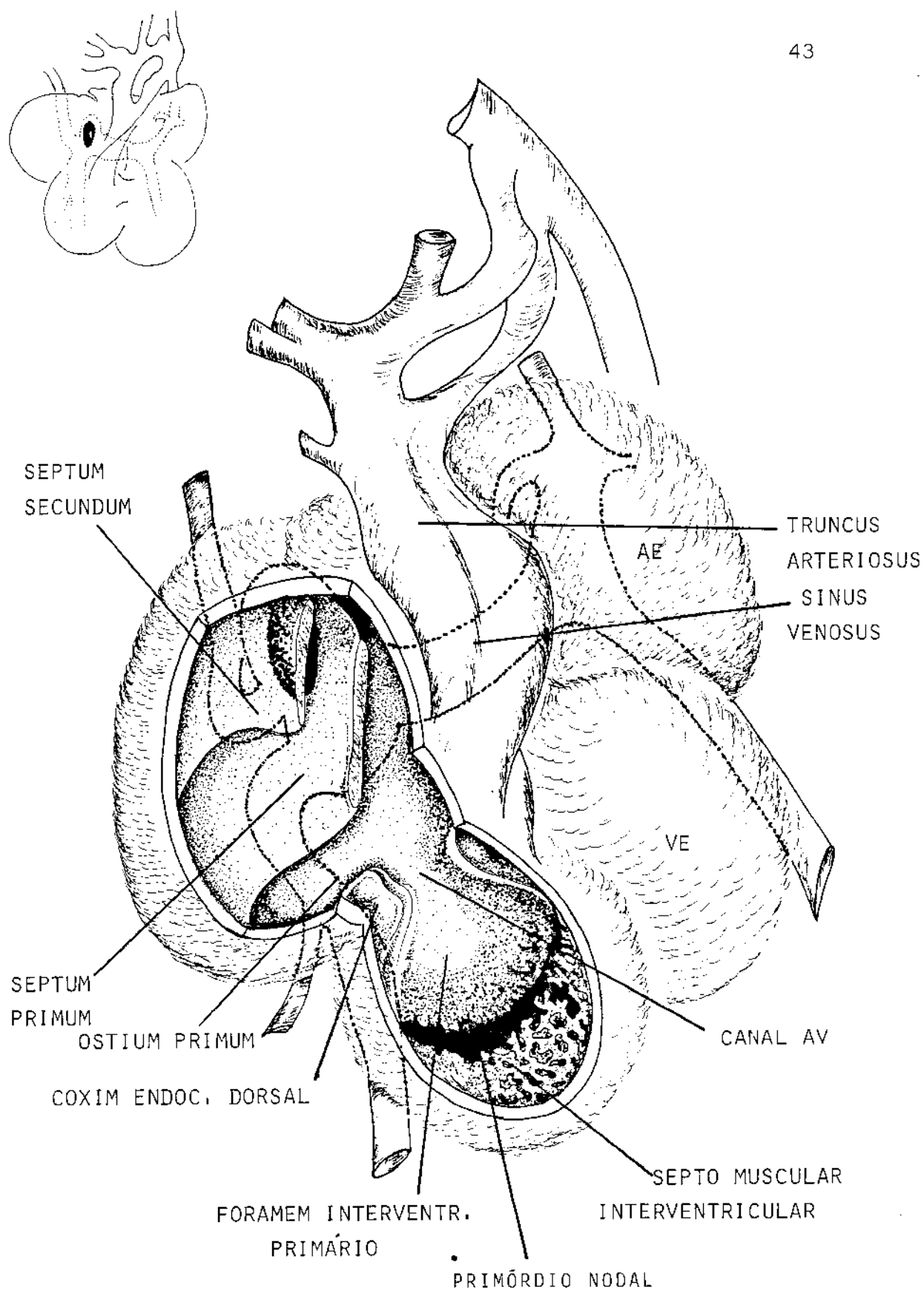


FIG. 13. esquema tridimensional elaborado a partir dos achados histográficos do coração do embrião nº 1. Os aspectos internos são vistos através da secção feita na face direita do coração.

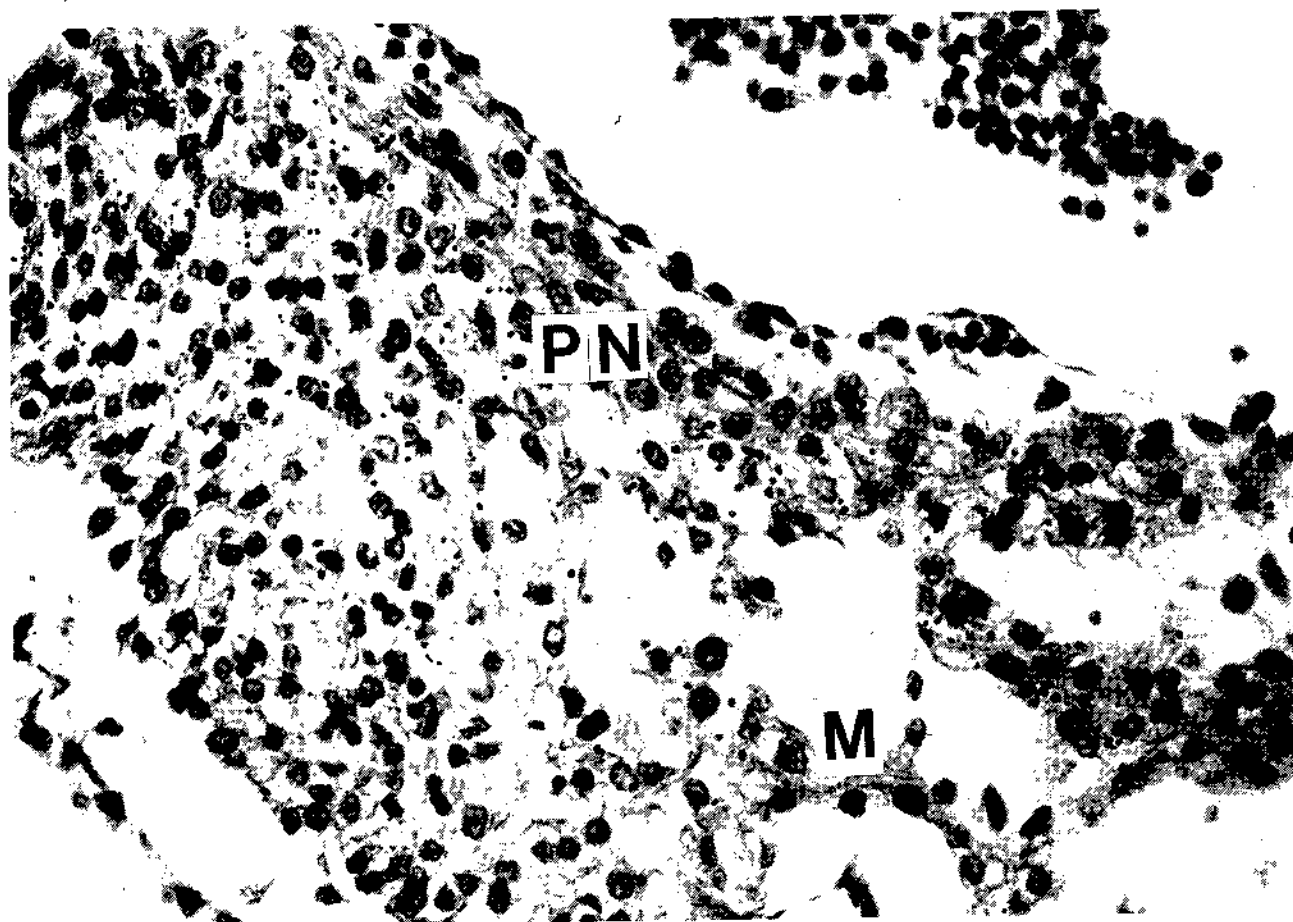
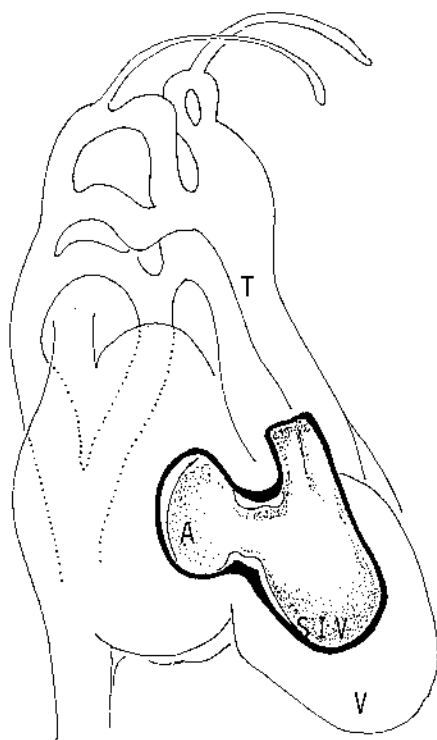


FIG. 14. PRIMÓRDIO NODAL . A figura superior representa o septo interventricular muscular posterior corado pelo HE com aumento de 40 vêzes e a figura inferior a área delimitada pelo retângulo com aumento de 300 vêzes. PN - células do primórdio nodal; M - células precursoras das musculares contráteis.

IV.2. Características histográficas do primórdio nodal no estágio 16 (Embrião nº 2).

A análise histográfica dos cortes realizados no embrião humano nº 2, com 11,0 mmCR, revela que o mesmo encontra-se na fase final do estágio 16, mostrando que as estruturas do coração embrionário estão mais evoluídas que as do embrião nº 1 com 7,5 mmCR, como podemos ver nos coxins endocárdicos da figura 15.

A embriogênese do septo interventricular se faz às custas da porção muscular posterior e, à semelhança do que ocorre com os achados do embrião nº 1, aqui também as células com as características das do primórdio nodal encontram-se na região superior desta porção do septo interventricular em formação (fig. 15).

As figuras 16 e 17 ilustram a região do primórdio nodal e foram elaboradas a partir dos achados histográficos do embrião nº 2.

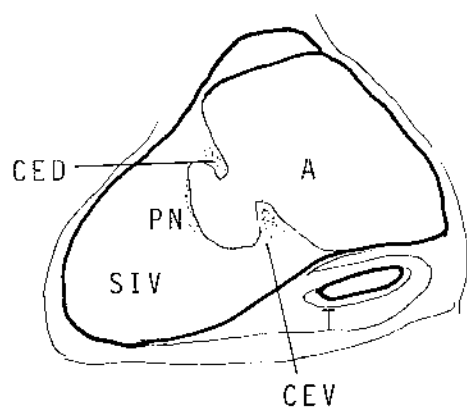
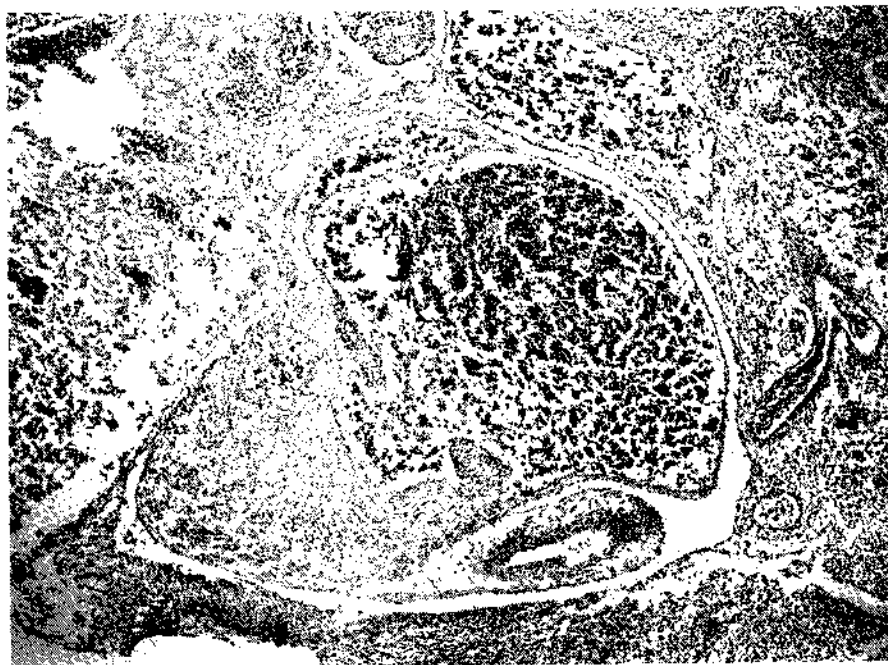
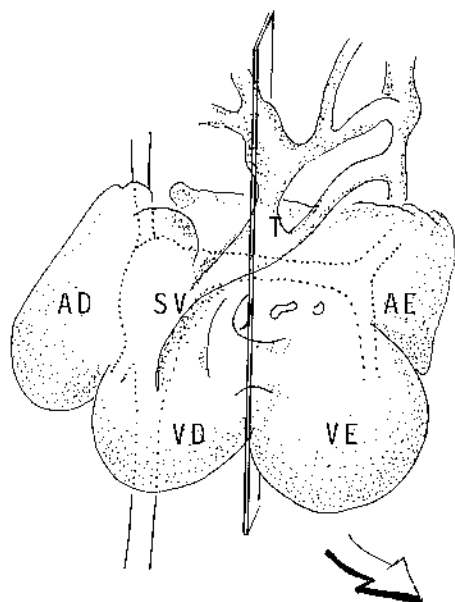


FIG. 15. EMBRIÃO Nº 2 (11.0 mmCR). corte histográfico sagital, coloração HE, aumento 40 vezes. A - átrio primitivo; CED - coxim endocárdico dorsal; CEV - coxim endocárdico ventral; SIV - porção muscular do septo interventricular; T - truncus arteriosus; PN - primórdio nodal.

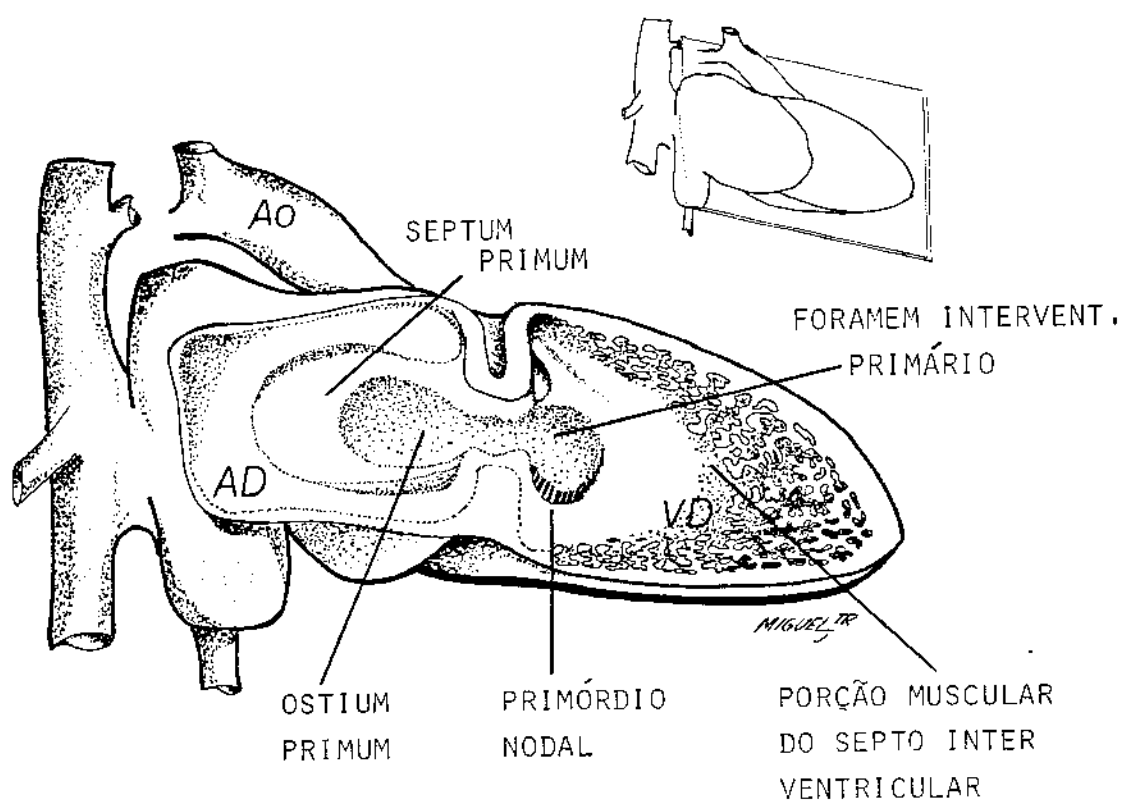


FIG. 16. ESQUEMA ILUSTRATIVO DO PRIMÓRDIO NODAL EM EMBRIO DO ESTADIO 16 DE O'RAHILLY. O esquema representa o coração em corte no plano sagital com as estruturas próximas ao primórdio nodal. Adaptado de Mall, 1912.

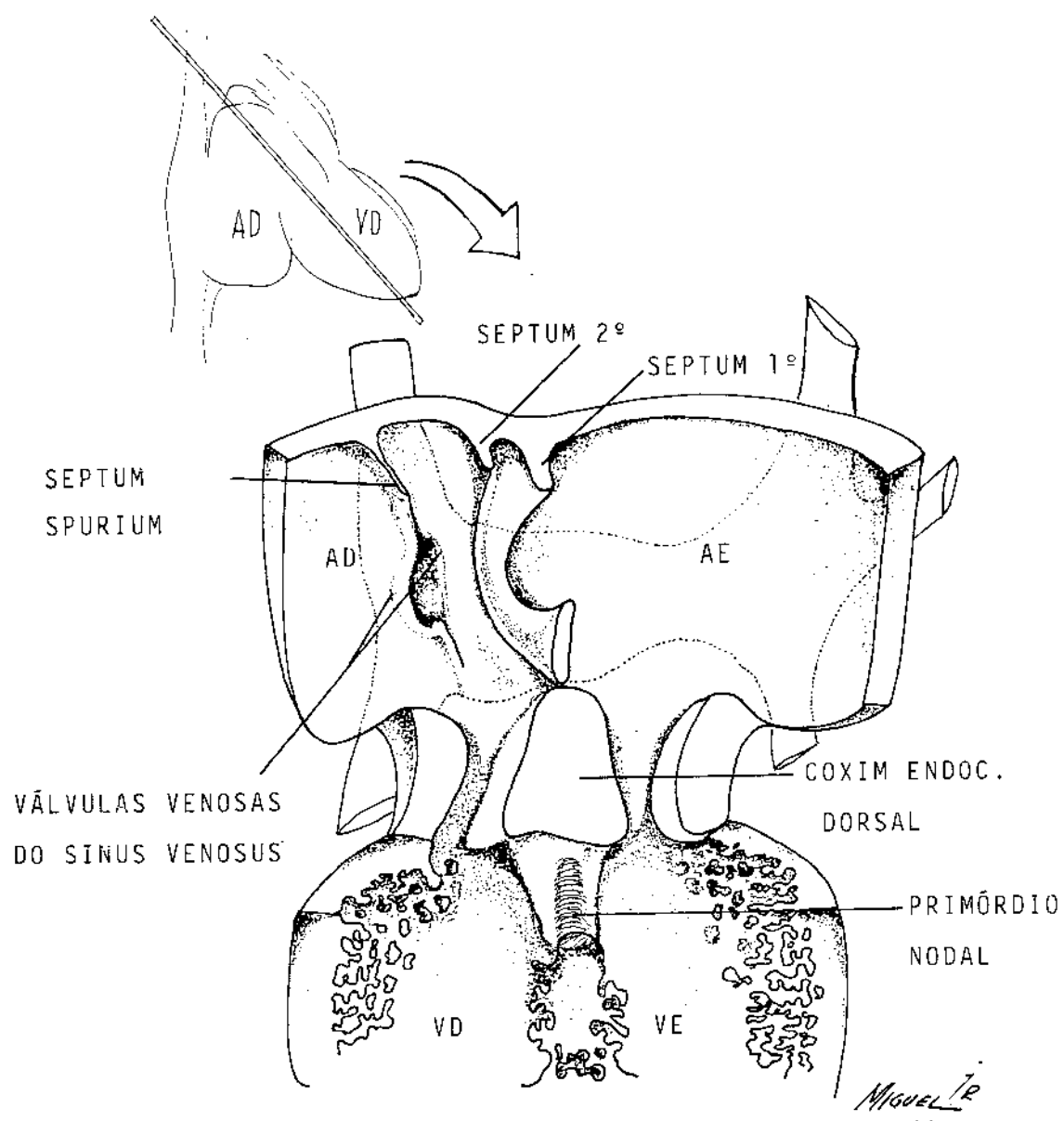


FIG. 17 Esquema tridimensional do coração embrionário no estágio 16 de O'RAHILLY mostrando a região do primórdio nodal. AD - átrio direito; AE - átrio esquerdo; VD - ventrículo direito; VE - ventrículo esquerdo. Esquema modificado de PATTEN, 1960.

IV.3. Características histográficas do primórdio nodal no estágio 20.

Os embriões de nº 3 (19.0 mmCR), nº 4 (20.0 mmCR) e nº 5 (22.0 mmCR) encontram-se no mesmo estágio evolutivo de O'RAHILLY(1971), com aproximadamente 50 dias de vida. Os cortes histográficos mostraram que o coração tem cerca de 2 milímetros de comprimento baso-apical, encontrado-se nas fases finais da septogênese.

Embrião nº 3 (19.0 mmCR)

O embrião nº 3 foi estudado em cortes seriados frontais. O esquema na região superior da figura ilustra a posição do corte.

Na região do átrio primitivo ocorre o aparecimento do "septum secundum" que se projeta ventralmente a partir da parede dorsal do átrio entre a valva venosa e o "septum primum" (fig. 17 e 18).

Na região do ventrículo primitivo vemos que o septo interventricular está com sua porção muscular formada, o que resulta no deslocamento do foramen interventricular terciário para uma posição mais dorsal no coração, entre o ventrículo direito e o vestíbulo aórtico. Nesta ocasião inicia-se a formação da porção membranosa do septo interventricular.

Na porção basal do septo interventricular formado visualiza-se a estrutura correspondente ao primórdio nodal

com as células características que descrevemos no embrião nº 1, porém o arranjo celular não é mais em faixa e sim com a forma que lembra o nó AV compacto definitivo (figs. 19 e 20).

Embrião nº 4 (20.0 mmCR)

O embrião nº 4 foi estudado em cortes seriados sagitais. Neste sentido de cortes evidencia-se, além das estruturas citadas anteriormente no embrião nº 3, a região correspondente ao "truncus arteriosus" com seu septo formado, resultando na sua divisão e conseqüente formação dos canais aórtico e pulmonar (fig. 21).

O primórdio nodal também neste caso localiza-se na região basal do septo muscular interventricular, junto aos coxins endocárdicos (fig. 22).

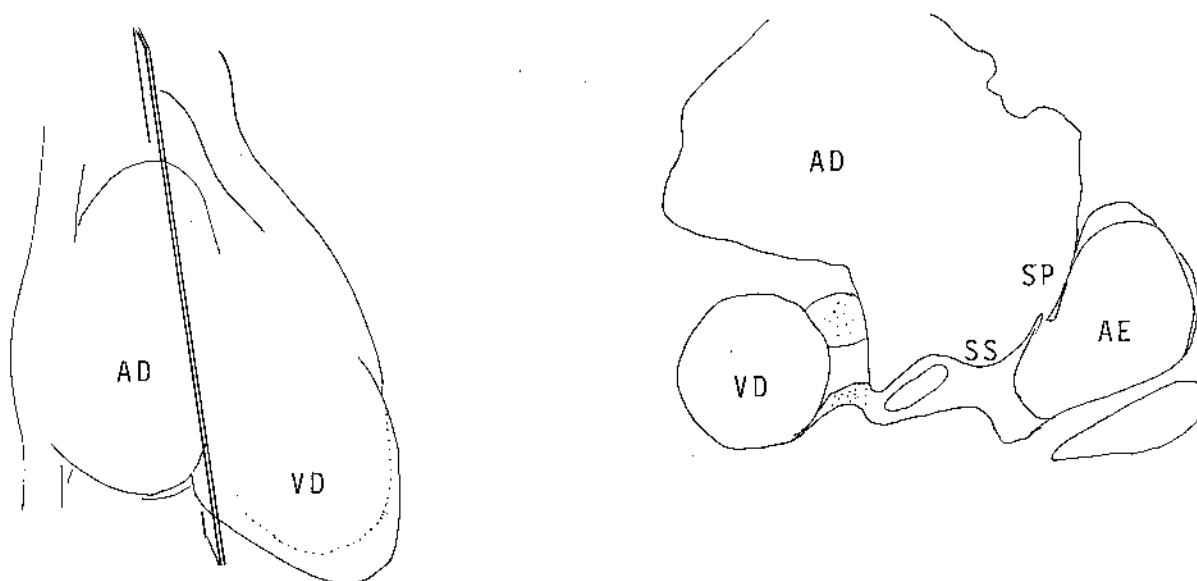
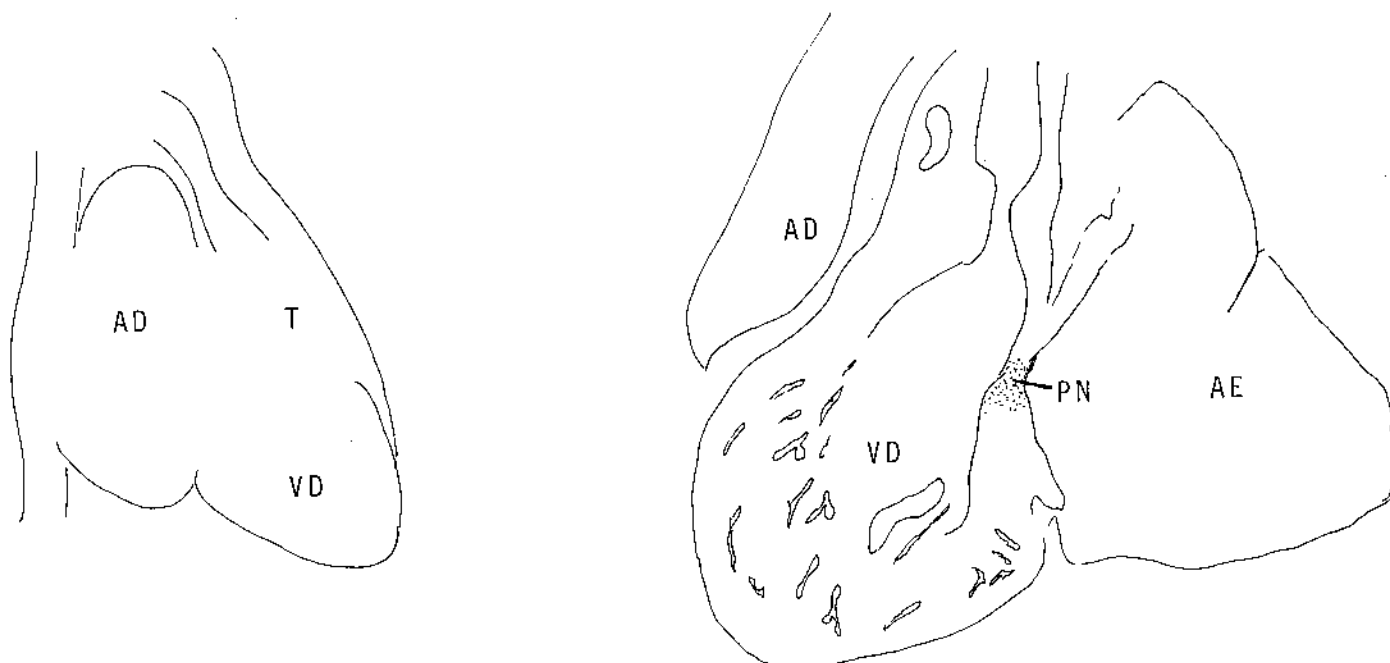


FIG. 18. EMBRIO Nº 3 (19.0 mmCR) corte histográfico frontal, coloração HE, aumento 80 vezes. SP - septum primum; SS - septum secundum; AD - átrio direito; AE - átrio esquerdo; VD - ventrículo direito.

FIG. 19. EMBRIO Nº 3 (19.0 mmCR) corte histográfico frontal, coloração HE, aumento 80 vezes. PN - primórdium nodal (seta); AD - átrio direito; AE - átrio esquerdo; VD - ventrículo direito; T - truncus arteriosus.



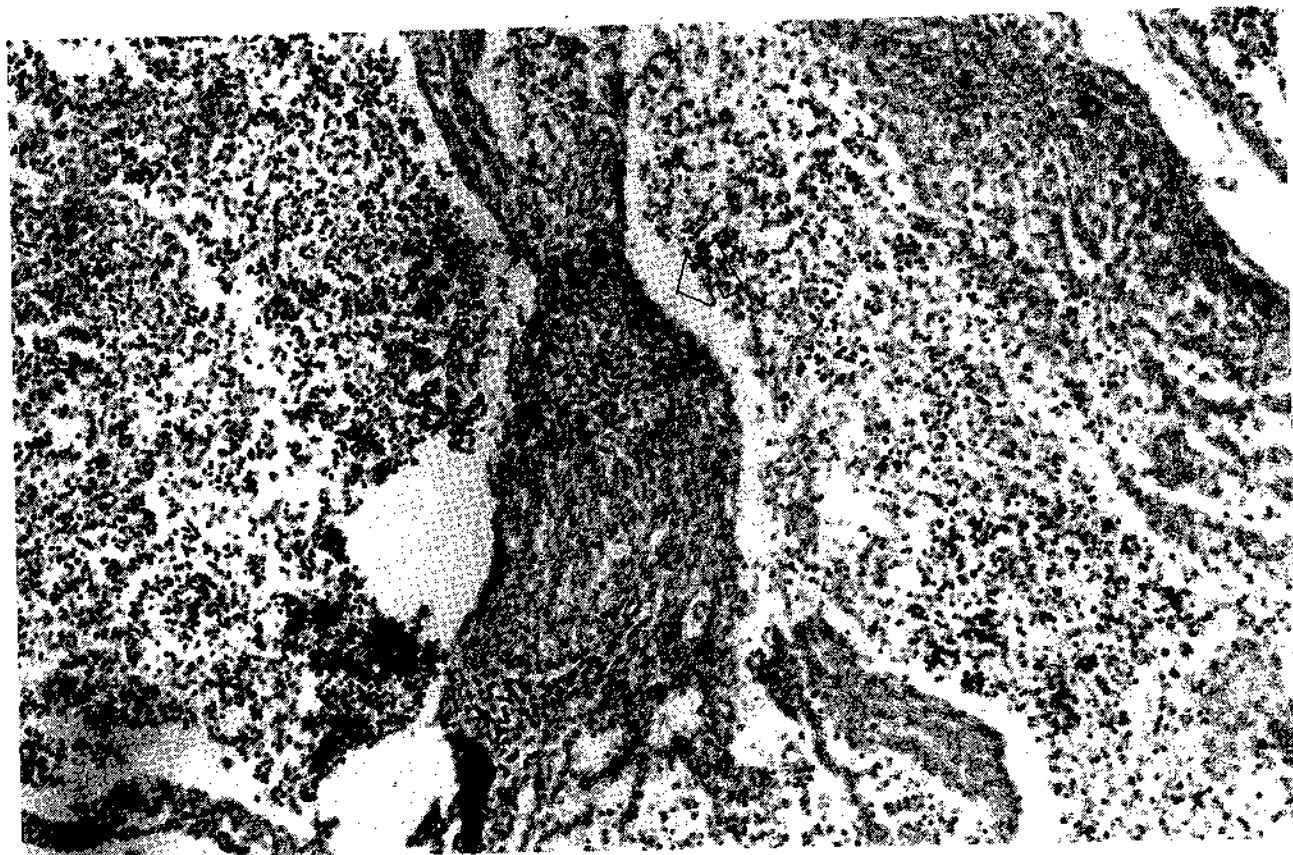


FIG. 20. EMBRIO Nº 3 (19.0 mmCR). por menor do corte histográfico da figura 19, correspondente a área limitada pelo retângulo, aumento de 300 vezes. A seta aponta o primórdio nodal.

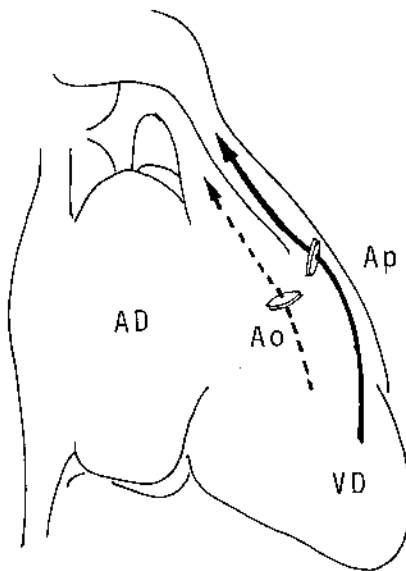
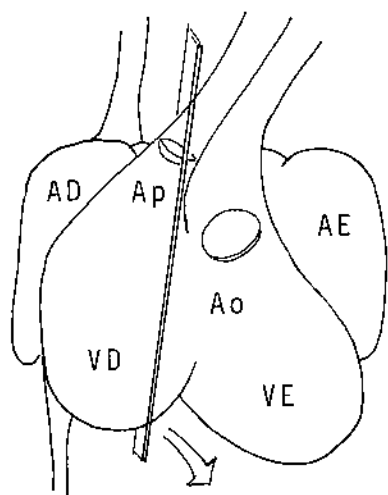


FIG. 21. EMBRIO Nº 4 (20 mmCR). Corte histográfico sagital, coloração HE, aumento 80 vezes. ST - septum truncal (seta); A - átrio primitivo; VD - ventrículo primitivo direito; Ao - canal aórtico; Ap - canal pulmonar.

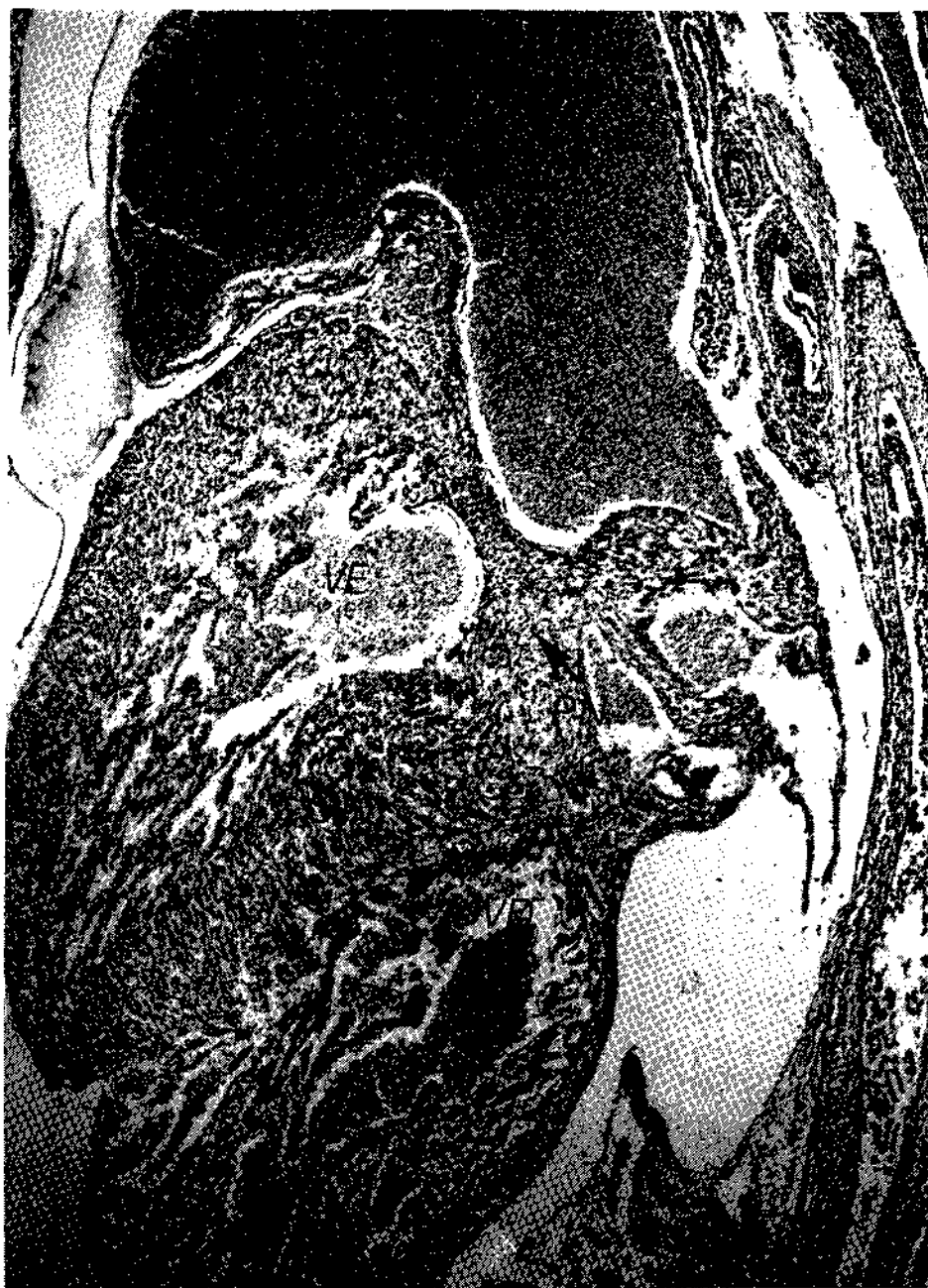
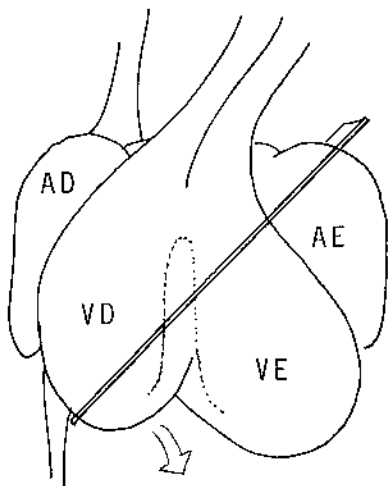


FIG. 22. EMBRIO Nº 4 (20.0 mmCR). Corte histográfico sagital, coloração HE, aumento 80 vezes. A - átrio primitivo VD - ventrículo direito; VE - ventrículo esquerdo; SIV - septo interventricular; PN - primórdio nodal (seta).

Embrião nº 5 (22.0 mmCR)

O embrião nº 5 foi cortado no sentido horizontal, mas como ocorreu pequena rotação no sentido anti-horário da ponta do coração embrionário, tem-se a impressão que o corte ficou obliquado, como ilustra o esquema na região superior da figura. Por causa deste fato observamos que o ventrículo primitivo direito ocupa área maior que o esquerdo na fotografia.

Com a porção muscular do septo interventricular formada ocorre separação mais eficaz das cavidades ventriculares. No topo deste septo muscular vê-se agrupamento celular em forma de um "capuz" com as características das células semelhantes às descritas para o primórdio nodal. Parte deste agrupamento desce ao lado das paredes do septo interventricular, como ilustram as figuras 23 e 24.

Os achados dos três corações embrionários do estágio 20 de O'RAHILLY (1971) nos permitiu elaborar o diagrama da figura 25, ilustrando a situação topográfica e as relações espaciais do primórdio nodal neste estágio.

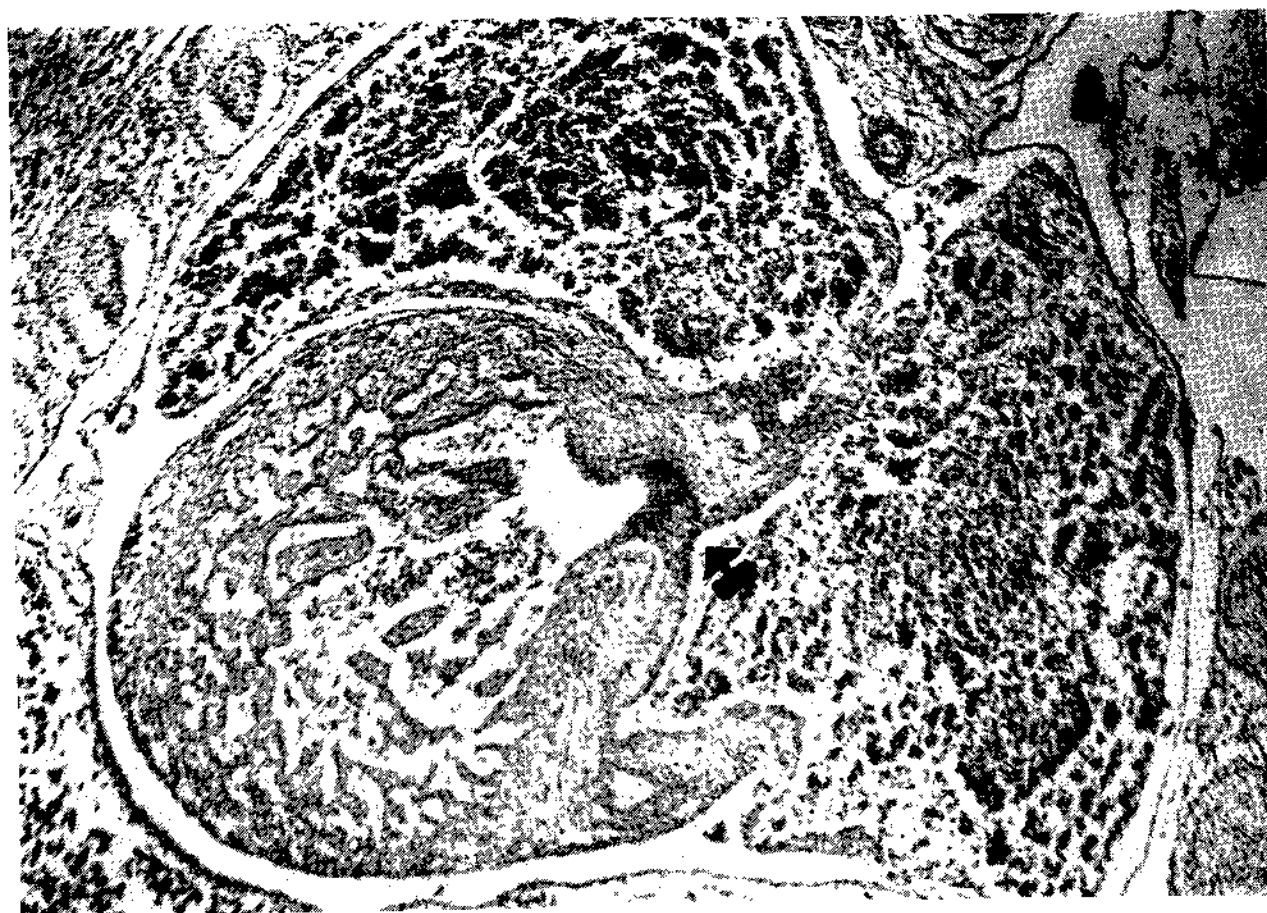
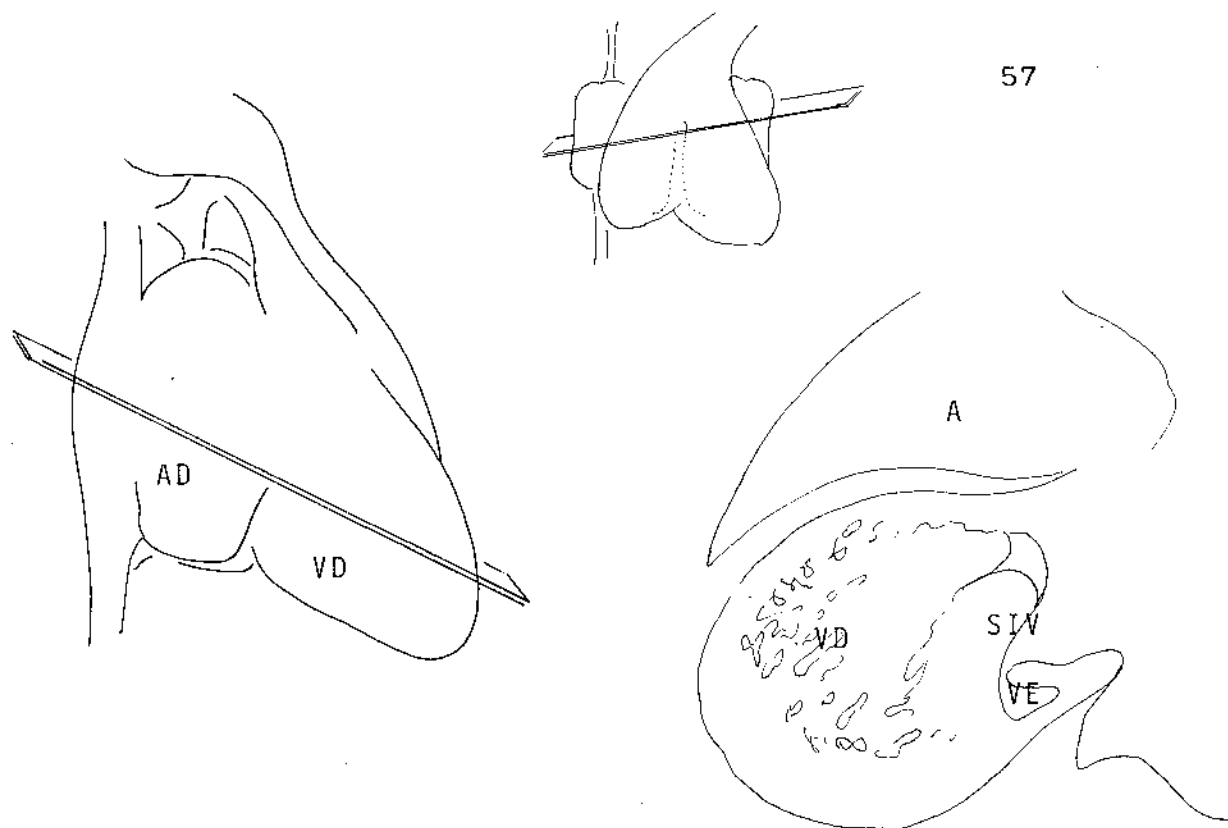


FIG. 23. EMBRIO Nº 5 (22.0 mmCR). Corte histográfico horizontal, coloração HE, aumento 40 vezes. VD - ventrículo direito; A - átrio primitivo; SIV - septo interventricular; PN - primórdio nodal.

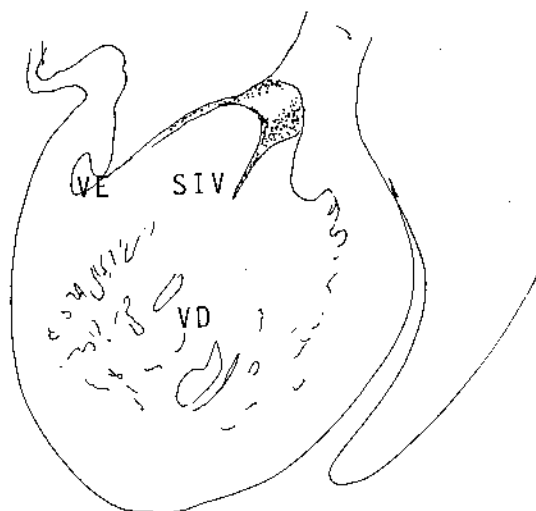


FIG. 24. EMBRIO Nº 5 (22.0 mmCR). Por menor da região do primórdio nodal (seta), aumento de 300 vêzes, visto na figura 23.

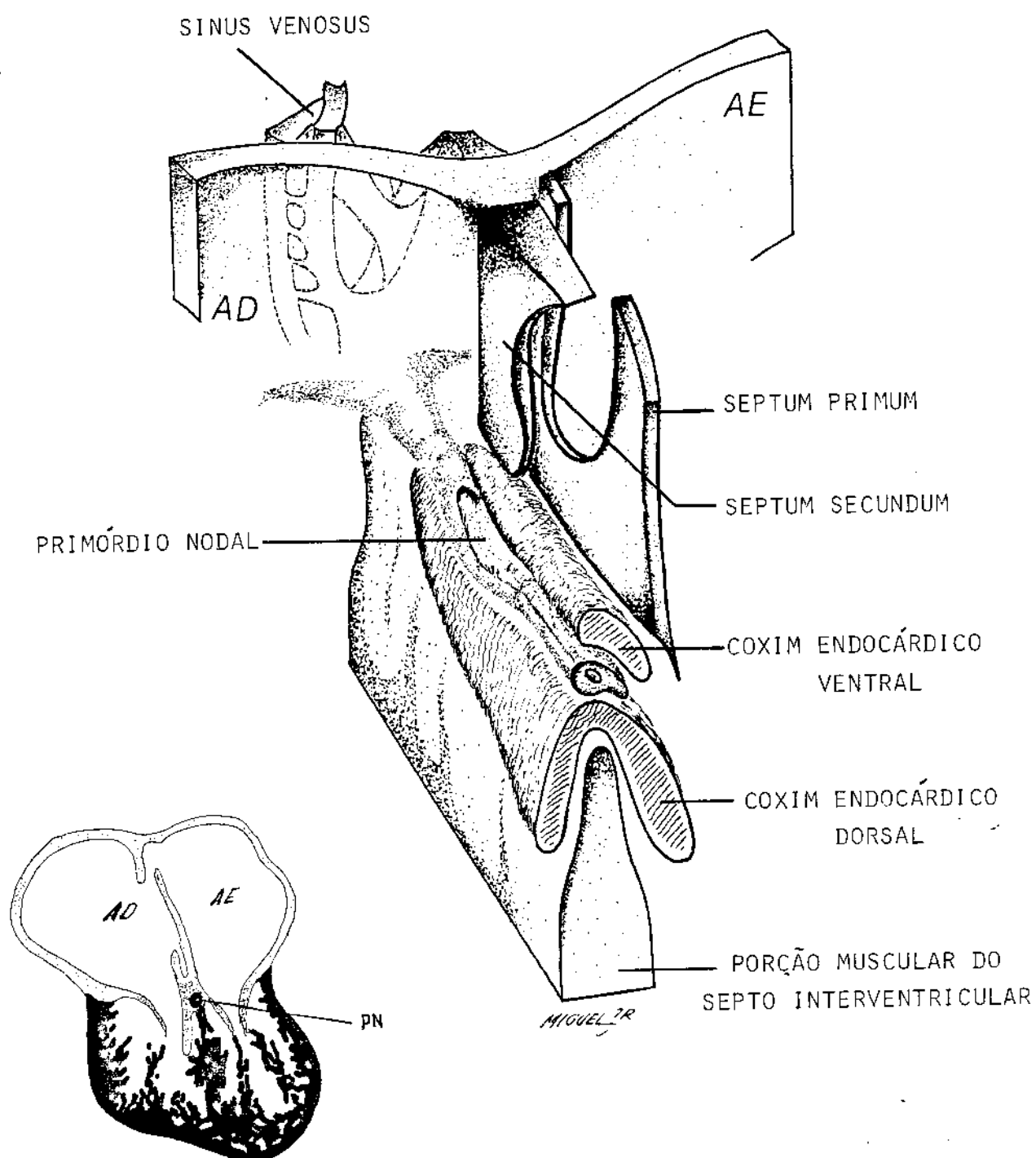


FIG.25 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS RELAÇÕES ESTRUTURAIS DO PRIMÓRDIO NODAL NUM EMBRIÃO DO ESTADIO 20 DE O'RAHILLY (1971)

IV.4. Resultado das medidas cariométricas

Após a determinação histográfica da área do coração embrionário correspondente ao primórdio nodal, com o auxílio da câmara clara, efetuamos a medição dos volumes nucleares das células encontradas, assim como a medição dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis adjacentes.

Como mostra a tabela III, realizamos as medidas em 521 núcleos, nos dois tipos celulares dos cinco embriões estudados.

Nos resultados referentes a cariometria designaremos os embriões pelos seus tamanhos em mmCR (milímetros de comprimento crânio caudal) com a intenção de demonstrar melhor as variações encontradas entre eles.

IV.4.1. Análise comparativa dos dois grupos celulares no mesmo embrião humano

A análise dos valores do volume nuclear obtido permitiu compor a tabela V.

Na primeira coluna estão referidos os embriões por ordem de tamanho em milímetros; na segunda coluna, os respectivos valores da mediana dos volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal; na terceira coluna, os respectivos valores da mediana dos volumes nucleares das células precursoras das musculares cardíacas; na quarta coluna, os valores do X^2 resultado da comparação entre os

volumes nucleares destes dois tipos celulares e, finalmente, na quinta coluna, as significâncias dos mesmos.

NUMERO DE ORDEM DO EMBRIAO	TAMANHO DO EMBRIAO (mmCR)	PN (um3)	MUSCULO (um3)	X ²	SIGN.
1º	7.5	54.9	43.5	3.69	NS
2º	11.0	61.8	34.5	5.67	S
3º	19.0	57.9	27.4	9.28	S
4º	20.0	43.5	22.4	12.72	S
5º	22.0	38.3	19.9	4.10	S

TABELA IV. Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células do primórdio nodal (PN) e das células precursoras das musculares contráteis do coração (MUSCULO); S - significante; NS - não significante; mmCR - comprimento crâneo-caudal em milímetros; um3 - micrômetros cúbicos; $p < 0.05$

Os valores das medianas dos volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal e das células precursoras das musculares cardíacas nos permitiram elaborar o gráfico nº 1 referente às duas populações celulares dos cinco embriões humanos estudados.

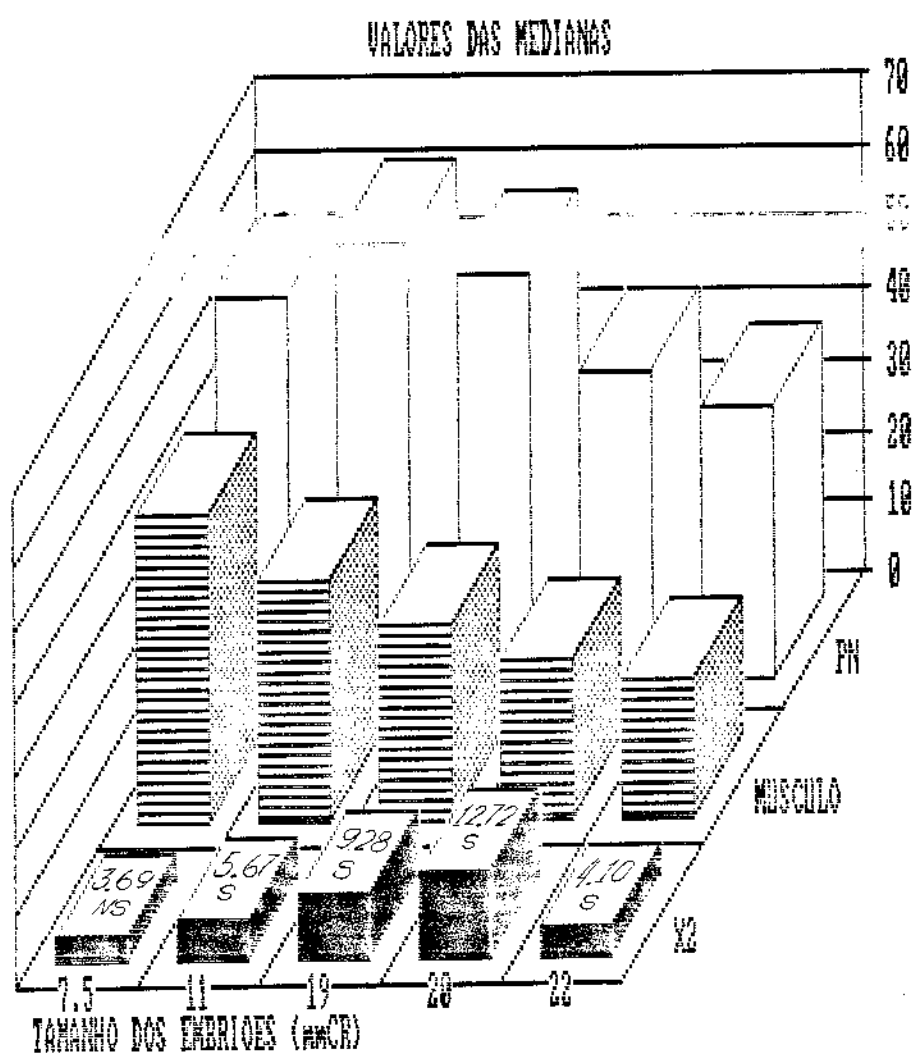


GRAFICO Nº 1. Comparação dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal (PN) e dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração (MUSCULO). χ^2 - qui quadrado; NS - não significativo; S - significativo; um3 - micrometro cúbico; mmCR - comprimento crânio-caudal em milímetros.

IV.4.2. Análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos embriões humanos estudados.

A análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos cinco embriões humanos foi realizada através do teste da mediana extensiva a mais de duas amostras, no intuito de se verificar possíveis variações, significantes, entre as medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos embriões dos vários estágios.

A tabela V mostra os resultados destas análises comparativas entre as medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal, em conjunto e aos pares nos cinco embriões humanos. Na análise comparativa foi utilizado o valor de X^2 corrigido pela fórmula de YATES (SIEGEL, 1956) resultante da comparação entre os valores nucleares destas células e a significância dos mesmos.

EMBRIÃO (mmCR)	X^2 c	SIGN.
7.5 X 11.0	0.42	NS
11.0 X 19.0	0.15	NS
19.0 X 20.0	18.1	S
20.0 X 22.0	1.03	NS
EM CONJUNTO	30.03	S

TABELA V. Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células do primórdio nodal nos cinco embriões humanos estudados; S - significativa; NS - não signif. $P < 0.05$

O gráfico nº 2 do apêndice B ilustra os valores das comparações realizadas entre as medianas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal dos cinco embriões humanos estudados e citados na tabela V.

IV.4.3. Análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados

A análise comparativa dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões humanos foi através do teste da mediana extensiva a mais de duas amostras, no intuito de se verificar possíveis variações, significantes, entre as medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração dos cinco embriões.

A tabela VI mostra os resultados desta análise comparativa entre as medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração, em conjunto e aos pares nos cinco embriões humanos. Na análise comparativa foi utilizado o valor do χ^2 corrigido pela fórmula de YATES (SIEGEL, 1956), resultante da comparação entre os volumes nucleares destas células e a significância dos mesmos.

EMBRIÃO (mmCR)	χ^2_c	SIGN.
7.5 X 11.0	1.61	NS
7.5 X 19.0	8.33	S
7.5 X 20.0	15.80	S
7.5 X 22.0	9.20	S
11.0 X 19.0	1.30	NS
11.0 X 20.0	4.32	S
11.0 X 22.0	5.00	S
19.0 X 20.0	0.45	NS
19.0 X 22.0	0.71	NS
20.0 X 22.0	0.27	NS
EM CONJUNTO	39.60	S

TABELA VI. Comparação dos valores da mediana dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados. $P \ll .05$
S - significante; NS - não significante

Os gráficos de nº 3 a 7 do apêndice B, ilustram os valores das comparações realizadas entre as medianas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados e citados na tabela VI.

V. DISCUSSÃO

V.1 Análise histográfica: localização do primórdio nodal

Desde o início do século, com os trabalhos clássicos em embriologia de TANDLER (1912) e MALL (1912), as células precursoras do tecido de condução do coração foram descritas como tendo limites celulares pouco precisos, citoplasma eosinófilo e vacuolizado, sendo uma característica marcante o núcleo bem evidente e maior que o das células precursoras do tecido muscular contrátil.

Partindo destas observações procuramos localizar nos 5 embriões estudados, células cardíacas com estas características.

Nos embriões dos estádios 15 e 16 de O'RAHILLY (1971) localizamos o agrupamento destas células, em forma de faixa, na região da porção muscular posterior do septo interventricular, indo do coxim endocárdico dorsal à parte inferior do "bulbus cordis" como mostram as figuras 10 e 14, nos levando a definir esta região como correspondente à do primórdio nodal. Este nosso achado é semelhante ao descrito e ilustrado por MALL (1912), e ANDERSON et alii (1976) em embriões humanos com idades semelhantes. ANDERSON et alii (1976), também definem esta localização em forma de faixa para o primórdio nodal.

Nestes embriões não encontramos nenhuma população celular distinta junto das paredes atriais, como foi demonstrado por TRUEX et alii (1967, 1978).

Ao nosso ver, essa diferença nos achados poderia ter ocorrido, porque TRUEX et alii empregaram nos seus embriões os cortes histográficos no sentido frontal ao passo que nós, seguindo os outros autores, neste embrião nº 1 empregamos o corte histográfico no sentido sagital. Assim, os agrupamentos vistos por TRUEX et alii poderiam ser partes dos anéis especializados cortados transversalmente, e nos nossos, os anéis cortados longitudinalmente. Ou então, de fato, estes agrupamentos celulares descritos por TRUEX et alii constituem outros pontos embriogênicos do nó AV.

Como podemos observar no diagrama da figura 5 as localizações propostas para a origem do nó AV compacto, segundo os autores que se ocuparam deste estudo, fica numa região restrita da parede dorsal do coração embrionário, junto ao canal muscular AV. A figura 10 referente ao corte sagital na região medial do embrião nº 1 mostra de maneira objetiva quão próximas estão as estruturas que supostamente dão origem ao nó AV compacto e as relações de proximidades existentes entre elas, ou seja, da parede dorsal do átrio primitivo, com o canal muscular AV, com o "corno" esquerdo do "sinus venosus" e destes com a porção muscular posterior do septo interventricular.

O encontro de células com as características descritas para o primórdio nodal na parede dorsal do coração, formada pelo atrio e pelo canal AV, levou à TAWARA (1906), MALL (1912), HEINE (1972) e TRUEX et alii (1978) a supor que o início da formação do nó AV ocorresse a partir

de células oriundas desta região, ficando, entretanto, difícil afirmar qual a contribuição dada por uma ou outra estrutura, pois o limite correspondente ao final da parede atrial e início da parede do canal atrioventricular é pouco preciso nos embriões nas fases iniciais.

ANDERSON et alii (1976) e WENINK (1976) admitem, a partir da forma em feixe do primórdio nodal, assentado sobre a região superior da porção muscular do septo interventricular, que o mesmo origina-se de parte dos anéis especializados, em particular do anel especializado átrio-ventricular, hipótese da qual nós compartilhamos.

MALL (1912) apesar de descrever e ilustrar com desenhos as células com as características das do primórdio nodal, na mesma localização encontrada por nós, admite que a origem do nó AV se dê a partir de células localizadas no canal muscular AV.

Com a evolução embriogênica, podemos verificar que os embriões do estágio 20 (19.0; 20.0 e 22.0 mmCR) mostram o primórdio nodal localizado na parte basal da porção muscular do septo interventricular, como que cavalgando-o (figs. 19, 22 e 23). Neste estágio, o primórdio nodal assume característica morfológica semelhante a do nó AV compacto, mas ainda não podemos denominá-lo como tal, pois para a formação definitiva, como conhecemos no adulto, é necessário o término da septogênese cardíaca que ocorre na 8ª semana de vida, e a aposição destas estruturas septais formadas a este primórdio nodal.

Entendemos como primórdio nodal a estrutura do coração embrionário que dá origem ao nó AV, e que tem características citológicas semelhantes às deste. Como vimos nas fases iniciais da embriogênese, o arranjo histológico não se assemelha ao nó AV, pois se dispõe em faixa sobre o septo muscular interventricular em formação. Somente a partir do estágio 20 é que notamos a semelhança entre a estrutura componente do primórdio nodal e a estrutura do nó AV compacto do coração adulto, sugerindo nos para esta última forma o nome de nó AV primitivo.

Os estudos histográficos e cariométricos mostram em todos os estágios as células do primórdio nodal com núcleos centrais de forma ovóide ou rombóide, significativamente maiores que os núcleos das células precursoras das musculares contráteis, mesmo nos estágios mais avançados quando as células tendem a se estabilizar como podemos verificar no gráficos de barras nº 1.

Este aspecto de núcleo volumoso, que constitui uma característica marcante das células do primórdio nodal como afirmaram TANDLER (1912) e MALL (1912) sempre nos chamou a atenção, sobretudo em relação à sua importância no funcionamento do nó AV.

JAMES & SHERF (1974), estudando no microscópio eletrônico as células componentes do nó AV humano formado chamou atenção para um grupo de células com características morfológicas semelhantes às "células P" do nó sinusal, ou seja citoplasma claro, com poucas miofibrilas, volumoso

núcleo central de forma ovóide, que também poderiam ser chamadas de "células P" e que teriam a mesma função de gerar estímulos elétricos.

Segundo JAMES & SHERF (1974) as células P receberam este nome pela aparência "pálida" ao exame no microscópio óptico e eletrônico lembrando em muitos aspectos as células miocárdicas primitivas (embrionárias).

Confrontando os nossos achados das células do primórdio nodal com os relatados por JAMES & SHERF (1974) para a célula P ficamos com a impressão que as células do primórdio nodal evoluiriam para as células P do nó AV definitivo e que de alguma forma, o núcleo volumoso estaria envolvido na função de geração dos estímulos elétricos cardíacos, mesmo na fase embrionária.

V.2. Análise estatística do estudo cariométrico

Uma das dificuldades encontrada na interpretação dos achados histográficos do primórdio nodal reside na caracterização objetiva de grupos celulares pouco diferenciados, que evoluirão para estruturas definitivas. No intuito de definirmos melhor estas células, utilizamos a câmara clara e a análise estatística dos achados obtidos.

Na análise estatística utilizamos dois testes: o da mediana para duas amostras e o da mediana extensivo a mais de duas amostras. Utilizou-se a mediana dos dados obtidos, em virtude de não se ter certeza se o que estava sendo medido era uma calota do núcleo ou se o corte histográfico havia passado pela região equatorial do núcleo; desta forma, sendo a mediana menos sensível a dados aberrantes que a média aritmética, torna-se ela a mais indicada. Outro fato levado em consideração na escolha destes testes foi o número relativamente pequeno de núcleos estudados e a grande variabilidade de tamanho que os mesmos apresentavam.

A variabilidade encontrada no tamanho dos núcleos visualizados pode ser causada pelo sentido do corte histográfico como referi acima, ou pela atividade celular, a qual, quando mais intensa se expressa por núcleos grandes.

A significância dos valores de X^2 obtido nos testes foi a nível de $p \ll 0.05$, tendo o X^2 crítico um grau de liberdade no caso das comparações entre duas amostras e quatro graus de liberdade no caso das comparações em conjunto.

V.2.1. Análise estatística entre os dois grupos celulares no mesmo embrião humano

A análise comparativa entre os dois tipos celulares, ou seja, das células precursoras das musculares contráteis do coração e das componentes do primórdio nodal, foi efetuada dentro do estudo do mesmo embrião, uma vez que a finalidade do teste era verificar dentro de dois grupos celulares bem definidos histograficamente, possíveis diferenças significantes entre os volumes nucleares das células de cada grupo.

A análise estatística revelou que a mediana dos volumes nucleares das células do primórdio nodal, em todas as idades, foi sempre maior que a mediana dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração como demonstramos na tabela IV e no gráfico nº 1.

Quando observamos histograficamente o embrião de número 1 com 7.5 mmCR (estádio 15 de O'RAHILLY, 1971) vemos uma diferença nos volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal em relação aos núcleos das células precursoras das musculares contráteis do coração, como

mostra a figura 14, porém estatisticamente esta diferença não é significativa ($X^2 = 3.69$), como mostra a tabela IV.

Apesar de observarmos microscopicamente uma diferença entre o tamanho dos núcleos das células do primórdio nodal e o tamanho das células precursoras das musculares cardíacas neste embrião número 1, e não se ter uma correspondência estatística pode ser devido a dois motivos: primeiro, pelo pequeno número de núcleos encontrados para o estudo, 73 de células do primórdio nodal e 89 de células musculares contráteis; e segundo, pelo estágio "imaturo" em que todas as células deste embrião se encontram, devido a sua grande atividade mitótica.

Ao colocarmos os valores das medianas dos volumes nucleares obtidos nos dois grupos celulares dos cinco embriões estudados no eixo dos "y" de um gráfico cartesiano e confrontá-los com as idades, em mmCR, colocadas no eixo dos "x" (gráfico nº 1), observamos a tendência das células a apresentarem uma diminuição dos valores das medianas dos volumes nucleares com o aumento do tamanho do embrião.

Na análise das barras referentes aos valores das medianas obtidas dos volumes nucleares das células do primórdio nodal, observamos que a mediana no embrião com 11.0 mmCR é maior que no embrião de 7.5 mmCR, porém a análise estatística mostra que esta diferença não é significativa dado que o X^2 é igual a 0.42 (tabela V), mas este fato pode ter ocorrido porque o número de núcleos analisados foi pequeno (73 núcleos no primórdio nodal do

embrião de 7.5 mmCR e 53 núcleos no primórdio nodal do embrião de 11 mmCR).

Na análise das barras referentes aos valores das medianas obtidas dos volumes nucleares das células precursoras das musculares cardíacas contráteis, observamos que com o aumento do tamanho dos embriões ocorre uma diminuição proporcional dos valores das medianas até atingir o ponto de "estabilização" celular (gráfico nº 1).

V.2.2. Análise estatística entre os volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal nos cinco embriões

A tabela V mostra os resultados das análises comparativas das medianas dos volumes nucleares das células componentes do primórdio nodal nos cinco embriões humanos estudados.

O estudo em conjunto destas medianas mostrou haver diferença significativa entre os grupos ($X^2=30.03$), mas comparando-se grupos subseqüentes de embriões, do tamanho 7.5 até 19.0 mmCR não houve diferença (tabela V), o mesmo ocorrendo entre os embriões de 20.0 e 22.0 mmCR. A única variação significativa ocorreu entre os embriões de 19.0 e 20.0 mmCR ($X^2=18.1$). Este resultado sugere haver uma diferença maior nas células do primórdio nodal deste dois embriões, a partir dos quais as células aparentam estar suficientemente diferenciadas.

V.2.3. Análise estatística entre os volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração nos cinco embriões

A tabela VI resultou da comparação entre os valores dos volumes nucleares das células precursoras das musculares contráteis do coração. A análise estatística em conjunto destes grupos celulares mostra que existe uma diferença significativa entre eles ($X^2=39.6$), mas quando a análise é feita comparando-se estádios subsequentes, as diferenças não são significativas.

Estes resultados mostram que a diferenciação entre as células musculares contráteis é lenta e contínua, não existindo uma diferenciação abrupta entre os estádios 16 e 20 de O'RAHILLY como ocorreu nas células componentes do primórdio nodal. O aspecto do gráfico nº 1 já chama atenção para este fato.

VI. CONCLUSÃO

O estudo de 5 (cinco) embriões humanos nos estádios 15, 16 e 20 de O'RAHILLY (1971), fixados em formalina 10%, e corados pela hemalume-eosina permite concluir que o primórdio nodal se localiza na região superior da porção muscular posterior do septo interventricular nos embriões dos estádios 15 e 16, e na região basal do septo interventricular muscular no estágio 20.

VII. RESUMO

O primórdio nodal é a estrutura embrionária inicial do nó AV compacto. Caracteriza-se citograficamente por apresentar células com limites imprecisos, citoplasma vermelho brilhante, vacuolizado e núcleos maiores quando comparamos com os núcleos das células precursoras das musculares contráteis.

O estudo através da cariometria mostrou que, a diferença entre os núcleos das células do primórdio nodal e das precursoras das musculares contráteis, só foi estatisticamente significativa nos estádios 16 e 20 de O'RAHILLY (1971).

Histograficamente o primórdio nodal nos embriões dos estádios 15 e 16 de O'RAHILLY apresenta-se como uma faixa recobrimdo a região superior da porção muscular posterior do septo interventricular e nos embriões do estágio 20 de O'RAHILLY assume posição semelhante à do nó AV compacto definitivo. Estes nossos achados estão de acordo com os de ANDERSON et alii (1976), mas divergem dos de TRUEX et alii (1967,1978) que localizou as células precursoras do nó AV compacto na parede dorsal do átrio primitivo.

VIII. SUMMARY

The nodal primordium is the early structure of the compact AV node. It differs from the other parts of the myocardium to exhibit large cells of bright red cytoplasm and 'smooth' homogeneous appearance.

Through cariometric study a significative larger nuclei has been found when compared with the other cells of myocardium in the human embryos of the 16 and 20, O'RAHILLY stages.

In the human embryos of the stages 15 and 16, the nodal primordium recovers the astride posterior muscular ventricular septum in development, and in embryos of the stage 20 it is located in similar position of the definitive AV node. This study is according to ANDERSON et alii's finding (1976), but differs from TRUES et alii's finding (1967, 1978) who had located cells of the nodal primordium in dorsal walls of the primitive atrium.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANDERSON, R.H. & TAYLOR, I.M. Development of atrioventricular specialized tissue in human heart. *Br. Heart J.*, 34:1205-14, 1972.

_____; BOUTON, J.; BURROW, C.T. & SMITH, A. Sudden death in infancy; a study of cardiac specialized tissue. *Br. Med. J.*, 2:135-9, 1974.

_____; BECKER, A.E.; BRECHENMACHER, C.; DAVIES, M.J. & ROSSI, L. The human atrioventricular junctional area; a morphological study of the A-V node and bundle. *Eur. J. Cardiol.*, 3:11-25, 1975.

_____; BECKER, A.E.; WENINK, A.C. & JANSE, M.J. The development of the cardiac specialized tissue. In: WELLENS, H.J.J.; LIE, K.I. & JANSE, M.J., (Eds) *The conduction system of the heart: structure, function and clinical implications*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1976. p.3.

_____; WENINK, A.C.G.; LOSEKOOT, T.G. & BECKER, A.E. Congenitally complete heart block, developmental aspects. *Circulation*, 56: 90-101, 1977.

_____. Comunicação pessoal durante o Curso de Anatomia Patológica das Cardiopatias Congênitas. Porto Alegre, Brasil, 1986.

- BECKER, A.E. & ANDERSON, R.H. Morphology of the human atrioventricular junctional area. In: WELLENS, H.J.J.; LIE, K.I. & JANSE, M.J. (Eds) The conduction system of the heart: structure, function and clinical implications. Philadelphia, Lea & Febiger, 1976. p.263.
- BENNINGHOFF, A. Über die beziehungen des reitzleitungssystems und der papillarmuskeln zu der konturfasern des herzhalses. *Anat. Anz.*, 57:185-208, 1923.
- BHARATI, S. & LEV, M. The course of the conduction system in dextrocardia. *Circulation*, 57:163-71, 1978.
- DAWES, G.S. Sudden death in babies, physiology of the fetus and newborn. *Am. J. Cardiol.*, 22:469-74, 1968.
- GERLIS, L.M.; ANDERSON, R.H. & BECKER, A.E. Complete heart block as a consequence of atrio-nodal discontinuity. *Br. Heart J.*, 34:345-56, 1975.
- GOERTTLER, K.L. Entwicklungsgeschichte des herzens. In: BARGAMANN. & DOERR, W., (Eds) Das herz des menschen. Stuttgart, Verlag, 1963. apud WENINK, A.C.G. Development of the human cardiac conducting system. *J. Anat.*, 121:617-31, 1976.

HEINE, H. Zur stammes- und entwicklungsgeschichte des reithleitungssystems in sauggetierherzen. *Z. Anat. Entwickl.* 137:86-105, 1972.

HIS, W. Jr. Die thatigkeit des embryonalen herzens und dessen bedeutung beim erwachsenen. *Arb. Med. Klin.*, 14-9, 1893. apud ROBB, J. S.; KAYLOR, C. T. & TURMAN, W. G. A study of the specialized heart tissue at various stages of development of the human fetal heart. *Am. J. Med.* 5:324-36, 1948.

HUNTINGFORD, P. J. The aetiology and significance of congenital heart block. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.* 67:259-64, 1960.

JAMES, T. N. Sudden death in babies, new observations in the heart. *Am. J. Cardiol.*, 22:479-506, 1968.

_____ Cardiac conduction system, fetal and postnatal development. *Am. J. Cardiol.* 25:213-26, 1970.

_____ Anatomy of the conduction system of the heart. In: Hurst, J. W. (Ed) *The heart-arteries and veins*. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha Ltd., 1974. p. 52.

_____ & SHERF, L. Ultrastructure of the myocardium. In: Hurst, J. W. (Ed) *The heart-arteries and veins*. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha Ltd., 1974. p. 63.

_____; SPENCER, M.S. & KLOPPER, J.C. The subitaneis mortibus, XXI. Adult onset syncope, with comments on the nature of congenital heart block and the morphogenesis of the human atrioventricular septal junction. *Circulation* 54:1001-9, 1976.

KEITH, A. & FLACK, M.W. The auriculo-ventricular bundle on the human heart. *Lancet*, 2:359-64, 1906.

LEV, M. The conduction system in congenital heart disease. *Am. J. Cardiol.*, 21:619-27, 1968.

LICATA, R.H. The human embryonic heart in the ninth week. *Am. J. Anat.*, 94:73-125, 1954.

LIEBERMAN, M. Physiologic development of impulse conduction in embryonic cardiac tissue. *Am. J. Cardiol.*, 25:279-84, 1970.

MALL, F.P. On the development of the human heart. *Am. J. Anat.* 3:249-98, 1912.

O'RAHILLY, R. The timing and sequence of events in human cardiogenesis. *Acta Anat.*, 79:70-5, 1971.

PATTEN, B.M. & KRAMER, T.C. The initiation of contraction in the embryonic chick heart. *Am. J. Anat.*, 53:349-75, 1933.

_____ The development of the sino-ventricular conduction system. *Univ. Mich. Med. Bull.*, 22:1-21, 1956.

_____ The development of the heart. In: Gould, S.E. (Ed) *Pathology of the heart*. Springfield, Charles C. Thomas Pub., 1960.p.24.

PURKINJE, J.E. Microscopisch-neurologische beobachtungen. *Arch. F. Anat. Physiol. u. Wiss. Med.* 12:281-95, 1845. apud TITUS, J.L.; DAUGHERTY, E.W. & EDWARDS, J.D. Anatomy of the normal atrioventricular conduction system. *Am. J. Anat.* , 113:407-15, 1963.

ROBB, J.S.; KAYLOR, C.T. & TURMAN, W.G. A study of the specialized heart tissue at various stages of development of the human fetal heart. *Am. J. Med.*, 5:324-36, 1948.

SAUAIA, N. *Embriologia do coração e grandes vasos*. São Paulo, Nacional, 1970.

SCHIEBLER, T. & DOERR, W. Die entwicklung des reitleitungs-systems. In: BARGMANN & DOERR, W. (Eds) *Das herz des menschen*. Stuttgart, Verlag, 1963.p.169-81. apud WENINK, A.C.G. Development of the human cardiac conducting system. *J. Anat.*, 121:617-31, 1976.

SHANER, R.F. The development of the atrio ventricular node, bundle of HIS, and sinuatrial node in the calf, with a description of a third embryonic node like structure. *Anat. Rec.*, 44:85-9, 1929.

SIEGEL, S. Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences. New York, Graw-Hill Co., 1956.

STREETER, G.L. Development horizons in human embryos: description of age group XV, XVI, XVII, and XVIII, being the third issue of a survey of the Carnegie Collection. *Contr. Emb. Carneg. Inst. (Wash.)* 32:135-204, 1948.

TANDLER, J. Die entwicklungsgeschichter des herzens. In: KEIBEL, F. & MALL, F.P. (Eds) Manual of human embryology. Philadelphia, Lipincott, 1912.

TAWARA, S. Die topografie und histologie der brückenfasern. Ein beitrag zur lehre von der bedeutung der Purkinjeschen fäden. *Zentralbl.f. Physiol.*, 19:70-6, 1905.

TITUS, J.L.; DAUGHERTY, E.W. & EDWARDS, J.D. Anatomy of the normal atrioventricular conduction system. *Am. J. Anat.*, 113: 407-15, 1963.

TRUEX, R.C. & SMITHE, M.Q. Reconstruction of the human atrioventricular node. *Anat. Rec.*, 158:11-20, 1967.

_____; MARINO, T.A. & MARINO, D.R. Observations on the development of the human atrioventricular node and bundle. *Anat. Rec.*, 192:337-50, 1978.

VALERI, V.; CRUZ, A.R.; BRANDAO, J.H.S. & LISON, L.A. Relationship between cell nuclear volume and deoxyribonucleic acid of cell of normal epithelium, of carcinoma "in situ" and of invasive carcinoma of uterine cervix. *Acta Cyto.*, 116:488-96, 1967.

VASSALS-ADAMS, P.R. The development of the atrioventricular bundle and its branches in the avian heart. *J. Anat.*, 134:169-83, 1982.

WALLS, E.W. The development of the specialized conducting tissue of the human heart. *J. Anat.*, 81:93-116, 1947.

WENINK, A.C.G. Development of the human cardiac conducting system. *J. Anat.*, 121:817-31, 1976.

APENDICE A

TABELA VII. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células do primórdio nodal no embrião com 7.5 mmCR.

11.6	23.7	23.7	26.2	26.2	28.2	28.9	30.3	33.1	34.5
38.1	38.1	38.1	38.1	38.9	40.4	41.2	43.5	43.5	43.5
43.5	46.7	46.7	46.7	46.7	46.7	46.7	48.2	49.0	49.0
53.2	53.2	53.2	53.2	53.2	54.9	54.9	54.9	55.6	55.6
56.6	56.6	56.6	56.6	60.0	60.0	60.0	60.7	63.5	67.1
67.1	74.7	74.4	74.4	75.3	79.9	81.9	83.8	83.8	85.7
85.7	88.7	93.7	96.6	103.9	108.0	110.2	110.2	119.8	119.8
123.1	131.9	136.5							

Total de núcleos = 73. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA VIII. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células precursoras da musculares contráteis no embrião com 7.5 mmCR.

14.3	14.3	15.3	16.5	18.8	19.9	19.9	19.9	22.4	23.0
23.7	23.7	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	29.6	30.3
30.3	30.3	33.1	33.1	34.5	34.5	36.7	38.1	38.1	38.1
38.9	40.4	40.4	40.4	40.4	40.4	40.4	41.2	41.2	41.2
41.2	43.5	43.5	43.5	43.5	44.3	46.7	46.7	46.7	46.7
48.2	49.0	49.0	49.0	54.8	54.9	54.9	54.9	56.6	56.6
56.6	58.2	60.0	60.8	60.8	65.3	65.3	67.1	67.1	67.1
68.8	71.5	71.5	71.5	71.5	74.3	74.3	74.3	75.3	81.9
83.8	85.7	85.7	88.7	88.7	97.6	110.2	114.4	131.9	

Total de núcleos = 89. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA IX. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células do primórdio nodal no embrião com 11.0 mmCR.

17.0	17.0	22.3	22.3	22.3	26.2	26.2	26.2	28.4	28.9
38.1	38.1	38.1	38.9	40.4	43.5	43.5	43.5	48.2	53.2
54.9	54.9	55.7	60.0	60.7	60.7	61.8	63.5	63.5	71.5
71.5	71.5	71.5	74.5	74.5	79.9	79.9	85.7	88.9	88.9
88.9	93.7	103.9	107.0	108.0	114.4	114.4	119.7	125.3	131.9
131.9	136.5	136.5							

Total de núcleos = 53. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA X. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células precursoras das musculares contrateis no embrião com 11.0 mmCR.

7.9	8.3	9.3	11.6	12.1	12.1	14.3	14.3	14.3	14.3
17.0	17.0	17.0	17.0	17.0	13.8	18.8	19.4	19.9	19.9
22.4	22.4	22.4	23.0	23.0	26.2	26.2	26.2	26.2	26.5
34.5	34.5	38.1	40.4	40.4	40.4	41.2	41.2	41.2	43.5
46.7	48.2	48.2	48.2	49.0	49.0	53.2	53.2	53.6	53.6
53.6	55.0	55.7	55.7	60.0	60.0	60.0	63.4	79.9	79.9
85.7									

Total de núcleos = 61. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA XI. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células do primórdio nodal no embrião com 19 mmCR.

12.2	19.5	20.0	23.7	26.2	28.2	30.3	33.1	34.5	38.0
38.9	40.4	40.4	41.2	41.2	43.5	49.0	53.2	53.2	53.2
53.2	53.2	55.6	57.9	60.0	60.0	60.0	60.0	60.0	60.7
60.7	63.5	63.5	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	67.1	75.3
97.6	110.2	110.2	110.2	125.3	136.5	150.4			

Total de núcleos = 47. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA XII. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células precursoras das musculares contrateis no embrião com 19.0 mmCR.

3.6	7.0	7.0	11.6	11.6	12.1	14.3	14.3	14.3	17.0
17.0	17.0	17.0	18.8	18.8	18.8	19.4	19.4	20.0	21.2
22.4	22.4	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2	26.2
28.3	30.3	30.3	30.3	33.1	33.1	33.1	33.1	33.1	33.1
38.1	38.1	38.9	38.9	38.9	40.4	40.4	40.4	43.5	46.7
48.2	53.2	53.2	53.2	53.2	55.7	58.2	60.0	63.4	86.8

Total de núcleos = 60. A mediana apresenta-se entre os valores de 26.2 e 28.3; ou seja o valor de **27.4**.

TABELA XIII. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células do primórdio nodal no embrião com 20.0 mmCR.

12.2	13.4	20.0	20.0	23.0	23.6	30.3	33.1	40.4	43.5
43.5	46.7	63.5	67.1	74.3	80.0	97.6	97.6	124.3	136.5
138.9									

Total de núcleos = 21. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA XIV. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 20 mmCR.

3.3	5.1	5.1	7.0	7.9	7.9	9.3	9.3	10.2	12.1
14.3	15.3	15.3	15.3	18.8	19.9	19.9	19.9	24.8	28.3
28.3	28.9	33.1	34.5	36.7	38.1	40.4	46.7	46.7	48.2
53.2	60.0	63.4	67.1	74.3	80.0	97.8	119.7		

Total de núcleos = 38. A mediana é um valor situado entre os valores 19.9 e 24.8, ou seja, 22.4.

TABELA XV. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células do primórdio nodal no embrião com 22.0 mmCR.

8.3	8.3	9.3	10.2	12.1	14.3	17.0	18.8	18.8	19.9
19.9	22.3	22.3	23.0	23.0	23.0	23.6	26.2	26.2	26.2
26.2	26.2	26.2	28.2	33.1	33.1	34.5	34.5	34.5	38.3
38.9	40.4	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	44.2	46.7	48.2
48.2	49.0	53.2	53.2	53.2	54.9	58.2	60.0	60.0	67.1
71.5	73.3	79.9	85.7	86.8	93.7	97.8	316.5	148.1	

Total de núcleos = 59. A mediana apresenta-se em negrito.

TABELA XVI. Valor dos volumes nucleares (μm^3) das células precursoras das musculares contráteis no embrião com 22.0 mmCR.

9.3	11.6	12.2	14.3	14.3	14.3	16.5	17.0	18.8	19.9
19.9	19.9	22.4	26.2	26.5	29.7	34.5	43.5	43.5	54.9

Total de núcleos = 60. A mediana é um valor situado entre os valores 19.9 e 19.9, ou seja, o mesmo valor de 19.9.

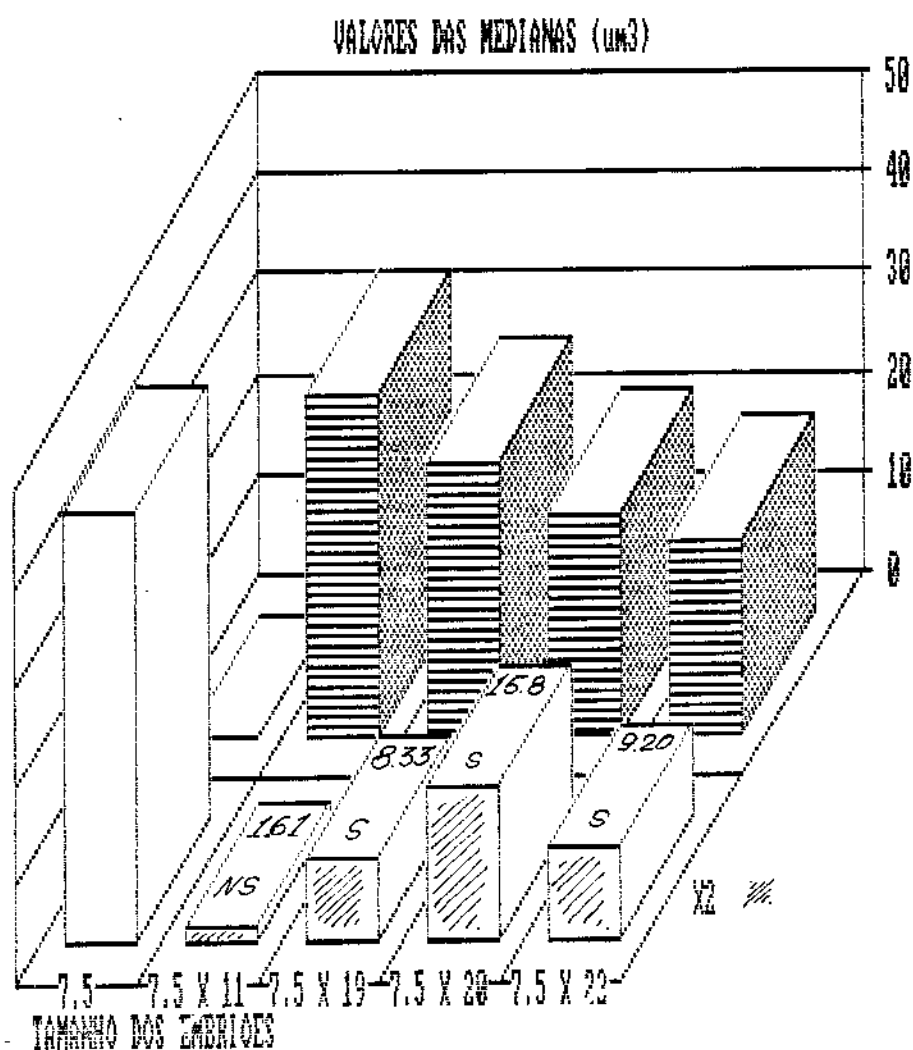


GRAFICO Nº 3. Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 1 (7.5 mmCR). Barra lisa - embrião de referência (7.5 mmCR); barra hachuradas - embriões usados na comparação. Eixo das ordenadas - valores das medianas em um³; eixo das abscissas - tamanhos dos embriões em mmCR; NS - não significante; S - significante; X² - qui quadrado; p < 0.05; v. tabela VI.

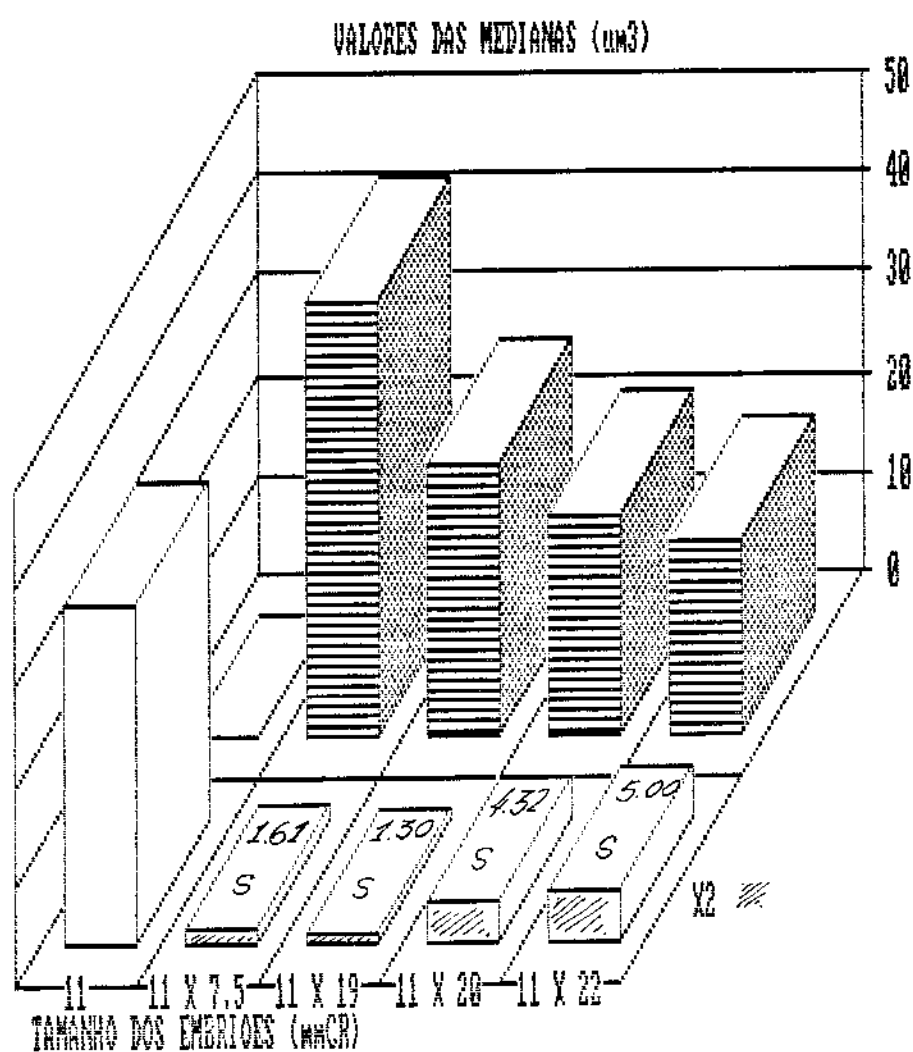


GRAFICO Nº 4. Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 2 (11 mmCR). Barra lisa - embrião de referência (11 mmCR); barras hachuradas - embriões usados na comparação. Eixo das ordenadas - valores das medianas em um³; eixo das abscissas - tamanho dos embriões em mmCR; NS - não significativo; S - significativo; X² - qui quadrado; $p \leq 0.05$; v. tabela VI.

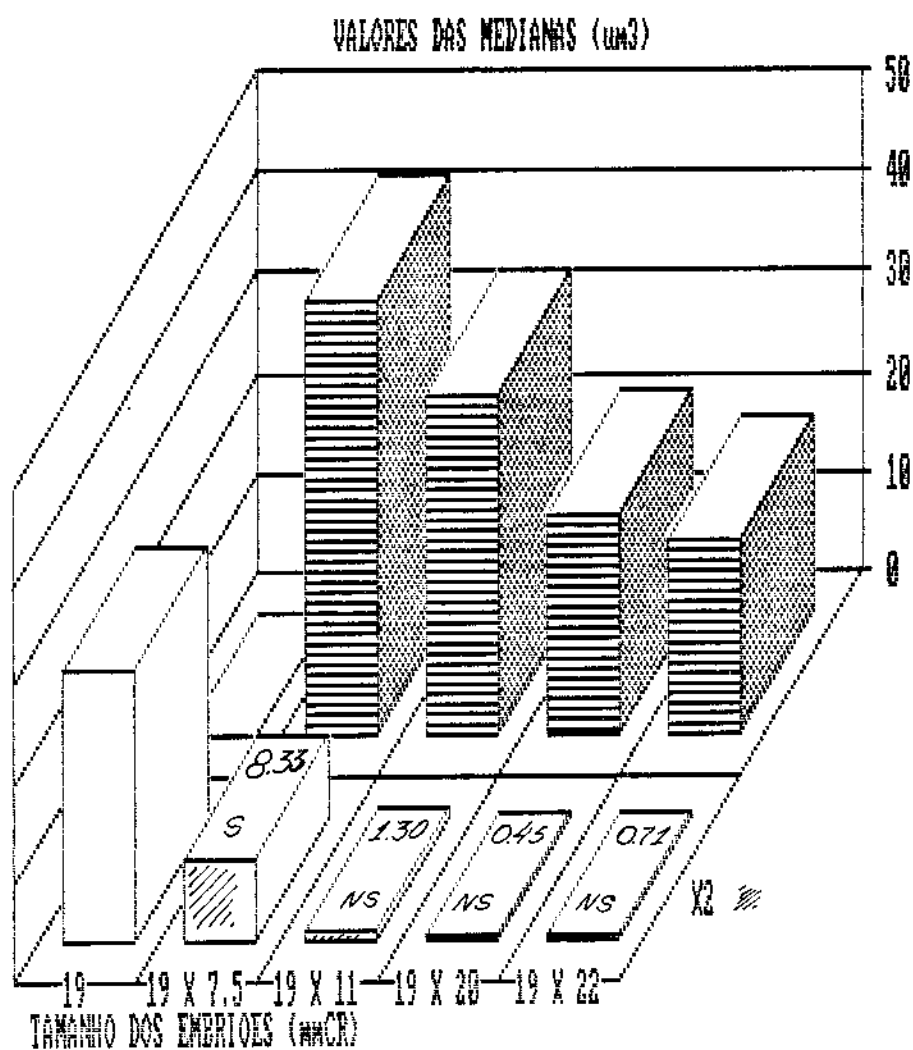


GRAFICO Nº 5. Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 3 (19 mmCR). Barra lisa - embrião de referência (19 mmCR); barras hachuradas - embriões usados na comparação. Eixo das ordenadas - valores das medianas em um³; eixo das abscissas - tamanho dos embriões em mmCR; NS - não significativo; S - significativo; X² - qui quadrado; p < 0.05; v. tabela VI.

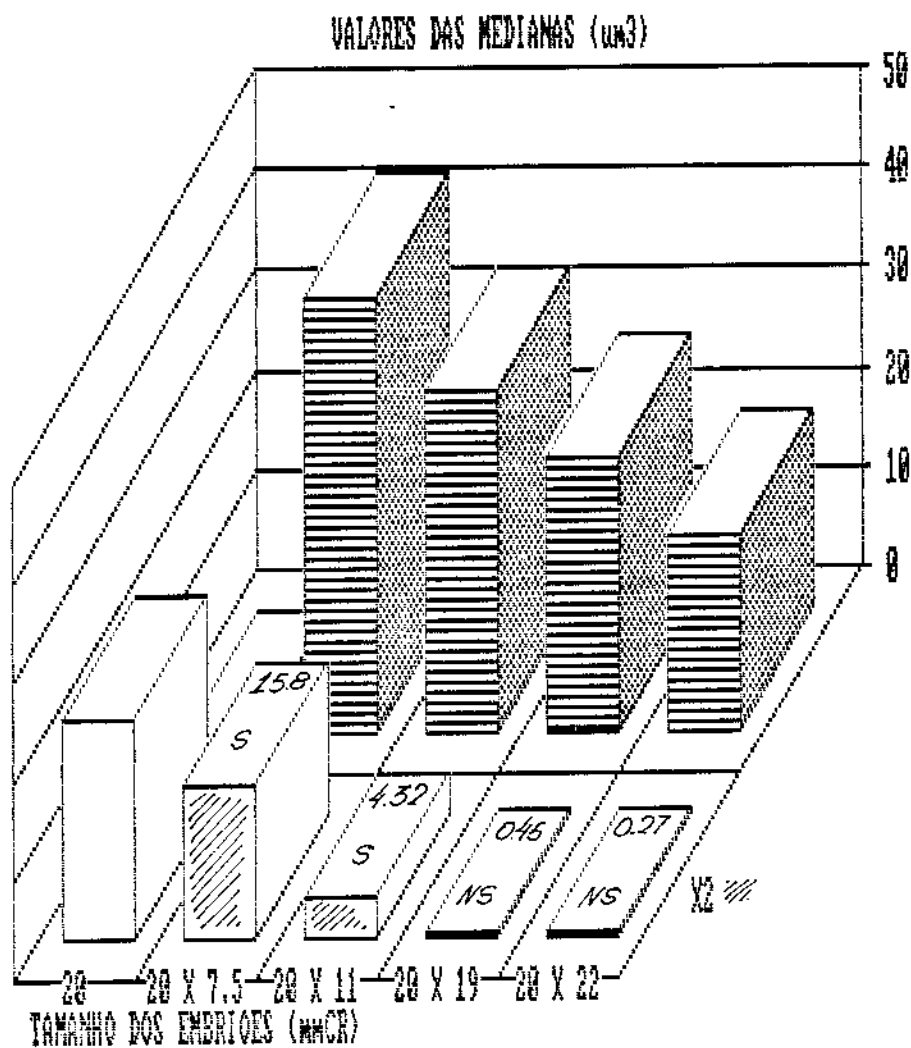


GRAFICO Nº 6. Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 4 (20 mmCR). Barra lisa - embrião de referência (20 mmCR); barras hachuradas - embriões usados na comparação. Eixo das ordenadas - valores das medianas em um³; eixo das abscissas - tamanho dos embriões em mmCR; NS - não significativo; S - significativo; X² - qui quadrado; p < 0.05; v. tabela VI.

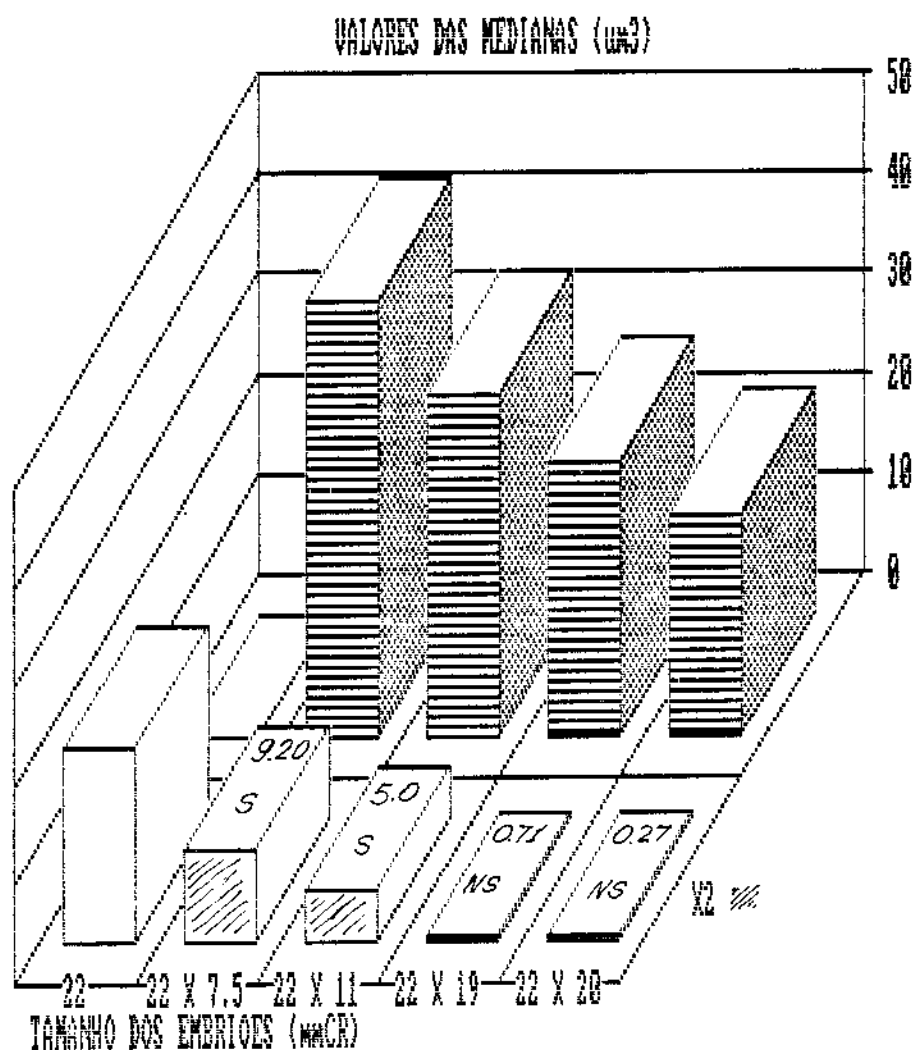


GRAFICO Nº 7. Comparação aos pares dos valores das medianas dos volumes nucleares das células precursoras das células musculares contráteis nos cinco embriões humanos estudados, tendo como referência o embrião nº 5 (22 mmCR). Barra lisa - embrião de referência (22 mmCR); barras hachuradas - embriões usados na comparação. Eixo das ordenadas - valores das medianas em μm^3 ; eixo das abscissas - tamanho dos embriões em mmCR; NS - não significativo; S - significativo; X^2 - qui quadrado; $p \ll 0.05$; v. tabela VI.