

## IMPORTANCIA DEL SEPTUM INTERVENTRICULAR PRIMITIVO Y TRABECULAS VENTRICULARES EN LA MORFOGENESIS DEL TABIQUE INTERVENTRICULAR.

Estudio anatómico y marcaje en vivo.

Contreras RA; Sánchez GC, García RH y Cimarosti L. Depto de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez # 162, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc. CP 06720. México, D. F. México. FAX: 55-88-90-05.

El tabique interventricular (TI-V) es un elemento importante en la separación de los torrentes venoso y arterial, su desarrollo anómalo o ausencia produce cardiopatías congénitas graves. No obstante para conocer el origen de estas enfermedades es necesario primero tener una información precisa sobre el desarrollo normal de dicho tabique. El microscopio óptico ha sido una herramienta indispensable en la investigación de la embriología cardiaca, así los primeros estudios sobre el desarrollo del TI-V se realizaron en embriones humanos, a través de reconstrucciones tridimensionales de cortes histológicos seriados de corazones en distintas edades. De esta manera se propuso que el desarrollo del TI-V se debía a la coalescencia de las bolsas trabeculadas de los ventrículos. No obstante la implementación de técnicas de marcaje en vivo selectivo en el embrión de pollo, permitieron un nuevo abordaje de la cardiogénesis. El uso de timidina tritiada y microscopia convencional permitieron descubrir que la adhesividad de las trabéculas ventriculares es indispensable para la formación del TI-V. En contraste mediante el marcaje in vivo con gelatina y tinta china se concluyó que únicamente el septum interventricular primitivo (SI-VP) constituye el tabique ventricular maduro. Empleando esta metodología también se señaló que el tabique durante su desarrollo crece en el sentido caudo-cefálico. A pesar de esta información no existen estudios complementarios que permitan descartar o afirmar esta propuesta; por esta razón el objetivo de este trabajo fue investigar cuál es la participación del SI-VP y las trabéculas ventriculares en la morfogénesis del TI-V, con este propósito se realizaron estudios morfológicos con el MEB y marcaje in vivo en el corazón de embriones de pollo. Se usaron huevos fértiles de gallina *Gallus domesticus* que se incubaron a 38°C y 86% de humedad para obtener embriones de los estadios deseados, cuya edad se calculó con base en la clasificación de Hamburger y Hamilton. Para analizar los cambios morfológicos del SI-VP y las trabéculas de las paredes libres ventriculares, se obtuvieron embriones de los estadios 18HH, 24HH, 28HH y 36HH que se fijaron en glutaraldehído 2.5% en PBS y se hicieron disecciones del corazón en tres planos diferentes (fontal, sagital derecho o sagital izquierdo). Las muestras fueron deshidratadas en una serie gradual de etanol (30% a 100%) y desecadas por punto crítico, usando CO<sub>2</sub> líquido como intermediario; después se recubrieron con una fina capa de oro de 35nm de espesor y se observaron con un microscopio electrónico de barrido, Jeol JSM 5300. Se seleccionaron 3 corazones de cada disección y se fotografiaron siempre a la misma amplificación (150X). Para determinar la participación de las trabéculas de las paredes libres ventriculares y el primer esbozo del SI-VP en el desarrollo normal del tabique, se marcaron en vivo, selectivamente, dichas estructuras en el corazón de embriones de pollo del estadio 18HH, y se rastrearon los cambios hasta el estadio 36HH. La marca central (*a*) se colocó en el primer esbozo del SI-VP que se distingue, en esta etapa, por el surco interventricular: Una de las marcas laterales se colocó en las trabéculas de la pared libre del ventrículo derecho (marca *b*) y la otra en las trabéculas de la pared libre del ventrículo izquierdo (marca *c*). Las dos últimas eran de un color distinto a la marca central. Los embriones fueron reincubados para continuar el desarrollo, sacrificándolos en tres grupos de 25 especímenes cada uno: **GI.** Sts. 18 a 24, **GII.** Sts. 18 a 28, **GIII.** Sts. 18 a 36. Los corazones se observaron con un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi 2000-C, manteniendo siempre la misma amplificación. Con la ayuda de una reglilla micrométrica, colocada en el ocular del microscopio, se midió la distancia entre las marcas y su dispersión en los 25 corazones de cada grupo al inicio (en vivo *in ovo*) y al final del experimento (corazones fijados y transparentados con aceite de cedro). Al mismo tiempo se tomaron fotografías de los corazones. Se calculó el promedio de los valores y se realizó una gráfica en el plano geométrico. En cuanto a

los resultados de MEB, en el St 18HH se encontró la presencia de una serie de protuberancias en la parte interna de las cavidades ventriculares denominados trabéculas entre las que se encontraba el primer esbozo del SI-VP ubicado sobre el surco interventricular. En el estadio 24, ambos componentes embrionarios estaban formando una unidad que correspondía al septum interventricular primitivo (SI-VP) que se mantenía alineado con los cojines del canal atrioventricular y a pesar de que aún se observan laminas trabeculares en proceso de integración, el conjunto de septo-trabéculas tienen la forma de un triángulo equilátero, con una zona cefálica lisa y otra zona caudal trabeculada. En el St 28 el SI-VP tenía la forma de un triángulo isósceles, su región cefálica era compacta, sin embargo la región caudal consistía de trabéculas aún más ramificadas y alargadas. En esta etapa existía una comunicación al nivel de las regiones trabeculadas y los tractos de salida de los ventrículos. En el St 36 el foramen interventricular se había cerrado, el TI-V tenía la forma de un triángulo escaleno y tenía una apariencia relativamente compacta. Los tercios basal, medio y apical estaban bien definidos. Respecto al marcaje, se encontró que en todos los grupos las tres marcas se distribuían a lo largo del tabique desde el tercio medio hasta el ápice, manteniéndose paralelas, nunca se mezclaron, sin embargo la marca central *a* siempre iniciaba en una posición más caudal respecto a las laterales. El promedio del diámetro de la comunicación interventricular entre los Sts 18HH a 28HH no varió. En el **GI** el promedio de la distancia entre los puntos *a-b*, *a-c* y *b-c* disminuyó. Estas distancias en el **GII** decrecieron en menor cantidad y en el **GIII** aumentaron. La dispersión de las marcas, en **GI** y **GII** fue mayor en *a*, seguida de *b* y finalmente *c*. Por el contrario en **GIII** la marca *c* fue la que más se dispersó, seguida de *a* y *b*. Estos resultados muestran que en el desarrollo de los tercios medio y apical del TI-V participan tanto el SI-VP como las trabéculas de las paredes ventriculares, este proceso no se debe a la coalescencia de las bolsas trabeculadas de los ventrículos, ni al crecimiento caudo-cefálico de SI-VP. Las trabéculas inicialmente más cercanas al SI-VP se adosan primero y en conjunto forman el tercio medio que es liso. Por otro lado las trabéculas al ramificarse profusamente y alargarse determinan las características del tercio apical. Además mediante la proyección en el plano geométrico se demostró que el TI-V durante su desarrollo crece en el sentido céfalo caudal y proponemos un nuevo modelo sobre la morfogénesis de esta región del TI-V que es útil para evaluar los conocimientos al respecto en el humano.