

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE MIOCARDIALIZACIÓN EN EL ESTRATO VENTRICULAR DEL CUERNO DERECHO DEL COJIN ENDOCARDICO ATRIOVENTRICULAR INFERIOR

M. en C. Laura Villavicencio Guzmán¹,

Dra. Concepción Sánchez Gómez¹, T. L. Stephany Alejandra Rodríguez Leviz², Dr. Pedro Valencia Mayoral², Dr. Stanislaw Bladimir Sadowinski Pine².

1. Laboratorio de Investigación en Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental 2. Depto. Patología. Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez #162. México D. F. Tel. 52289917 Ext. 1527. lauravillagu@yahoo.com

Introducción. Los cojines endocárdicos atrioventriculares (AV) son los primordios de las valvas AV y sus cuerdas tendinosas [1]. Estos cojines endocárdicos están constituidos por abundante tejido de mesénquima entre una capa de endocardio y el miocardio del canal AV. Se sabe que los cojines endocárdicos AV se forma a partir de un complejo proceso de transformación endotelio-mesénquima, sin embargo existe una gran controversia referente al origen y la contribución del miocardio embebido en la matriz extracelular de estos cojines. Aunado a lo anterior, se han reportado la existencia de células mesenquimales con la capacidad de transformarse en miocardio durante la formación de las estructuras septales [2]. En estudios previos señalamos que el mesénquima del cuerno derecho del cojín endocárdico inferior (CDCEI), se reorganiza en dos estratos, uno que da hacia la cavidad del atrio derecho, al que denominamos estrato atrial, y uno que da hacia la cavidad del ventrículo derecho, que denominamos estrato ventricular. Más tarde notamos en este último estrato un proceso de miocardialización.

Objetivo. Caracterizar mediante histología clásica, inmunohistoquímica y microscopía electrónica de transmisión, el proceso de miocardialización que se lleva a cabo en el estrato ventricular del CDCEI.

Método. Se emplearon embriones de *Gallus domesticus* Hi Line, obtenidos por la incubación de huevo fértil a 37°C y 85% de humedad. La edad se calculó con base en la clasificación de Hamburger y Hamilton [3]. Se estudió el CDCEI de embriones de estadios 28 a 36HH, periodo comprendido desde el inicio hasta el término del proceso de miocardialización del estrato ventricular del CDCEI. Histología. Los corazones una vez fijados con Bouin e incluidos en paraplasto, se tiñeron con la técnica tricrómica de Masson. Inmunohistoquímica, las muestras se fijaron en formol en PBS 4%, se emplearon dos anticuerpos primarios, Nkx2.5 y MEF2C, ambos específicos de diferenciación miocárdica. El primero se reveló con peroxidasa y el segundo con fosfatasa alcalina. Ultraestructura. Los corazones se procesaron por la técnica convencional para microscopía electrónica de transmisión, fijando con Karnovsky, se obtuvieron cortes ultrafinos de 70nm y se tomaron las micrografías para su análisis. En este caso, se estudió exclusivamente el estrato ventricular del CDCEI, dividiéndolo en dos campos: a. Mesénquima limítrofe con la región de miocardialización. b. Miocardio submesenquimal.

Resultados. La histología y la inmunohistoquímica permitieron observar inicialmente tejido de mesénquima constituyendo ambos estratos del CDCEI (28HH). A partir del estadio 30HH se observa tanto en preparaciones histológicas como por Inmunohistoquímica la presencia de miocardiocitos en la región caudal del estrato ventricular. Conforme avanza el desarrollo (estadios 30-36 HH), la señal de los miocardiocitos se distribuye en sentido caudocefálico. Al final (36HH), los miocardiocitos se encontraron distribuidos casi exclusivamente en el estrato ventricular del CDCEI, siendo más abundantes en la porción dorsal, región de unión al tabique interventricular, algunos miocardiocitos se observaron embebidos en la matriz extracelular del área en cuestión, siempre en la vecindad del macizo celular que iba poblando gradualmente al estrato ventricular. En ningún caso se encontraron miocardiocitos embebidos en el estrato atrial. El estudio ultraestructural permitió reconocer en

la región caudal del estrato ventricular del CDCEI (**28HH**), una gran cantidad de células de mesénquima libres de formas irregulares y alargadas con apéndices migratorios, embebidas en abundante matriz extracelular. Estas células se caracterizaron por tener núcleos grandes y alargados con nucléolos muy evidentes., presentan retículo endoplásmico liso y moderada cantidad de mitocondrias, en algunas de estas células se llega a observar el aparato de Golgi y retículo endoplásmico rugoso en la periferia de la envoltura nuclear externa. También se observaron escasos miocardiocitos aislados o en pequeños grupos, entremezclados con el tejido de mesénquima. Estos miocardiocitos tenían forma irregular, con tendencia a ser elongados, presentaban apéndices migratorios tipo filopodios y pseudopodios, citoplasma con gránulos de glucógeno y pequeños y escasos haces de miofibrillas poco organizadas. **Estadio 29HH.** a. Mesénquima adyacente al miocardio. Interesantemente, en este campo microscópico estaban presentes tanto células mesenquimales como células con características de miocardiocitos, en mayor densidad que en el estadio previo. Las células mesenquimales estaban unidas entre sí por desmosomas, presentaban retículo endoplásmico rugoso (RER) muy abundante. Algunas células de mesénquima se observaron en contacto con miocardiocitos, en este caso contenían retículo endoplásmico liso (REL) con cisternas dilatadas. Los miocardiocitos tenían diferentes grados de diferenciación, se encontraban embebidos en la matriz extracelular, emitiendo apéndices migratorios tipo filopodio y pseudopodio, con abundantes y grandes mitocondrias de formas esféricas y alargadas. Algunos presentaron miofibrillas poco organizadas y otros pequeños haces de miofibrillas en que se evidenciaron las bandas Z. b. Miocardio submesenquimal. Es un tejido poco compacto, con grandes y abundantes espacios intercelulares. Consta exclusivamente de células musculares que se caracterizan por presentar gran cantidad de glucógeno y abundantes mitocondrias de formas alargada. Presentan miofibrillas mejor organizadas, que los miocardiocitos encontrados en el campo del mesénquima, se reconocen las bandas Z. Los nucléolos de estas células son transcripcionalmente activos. **Estadio 30-36HH.** En general la diferencia más evidente respecto a la etapa anterior fue un aumento en la población de células en ambos campos microscópicos, siendo el campo submesenquimal el tejido mejor organizado. En ambos campos observados, la población celular que más aumento fue la de miocardiocitos, encontrándose siempre diversos grados de diferenciación. Los miocardiocitos más cercanos al tabique fueron siempre los más diferenciados, éstos fueron constituyendo un tejido cada vez más compacto con múltiples áreas de contacto intercelular. Con grandes haces de miofibrillas orientadas en un mismo plano y múltiples bandas Z. Los haces de miofibrillas fueron ocupando un mayor volumen citoplasmático y los organelos en el 36HH aún se encuentran distribuidos en todo el citoplasma de manera regular.

Conclusiones. El proceso de miocardialización del cuerno derecho del cojín endocárdico inferior se realiza por la ingesión progresiva de miocardiocitos procedentes del tabique interventricular. 2. Al inicio de este proceso, los miocardiocitos tienen un fenotipo migratorio que les confiere la capacidad de ir invadiendo el mesénquima del CDCEI. El proceso de miocardialización aquí descrito no niega la participación de algún otro tipo de linaje celular.

Referencias

- [1] De Lange FJ, Moorman AFM, Anderson RH, Manner J, Soufan AT, de Vries CG de V, Schneider MD, Webb S, van den Hoff MJB, Chistoffels VM, *Cir.Res*, 95(2004); 6:645-654.
- [2] Van den Hoff MJB, Kruithof BPT, Moorman AFM. *BioEssays*, 26(2004) 248-261.
- [3] Hamburger B, Hamilton. *J. Morphol*, 88(1951)49-92.