

## *Los segmentos cardíacos primitivos, su implicación en la cardiogénesis normal aplicada a la cardiología pediátrica*

Marcela Salazar García,\* Concepción Sánchez Gómez,\* Alejandra Contreras Ramos,\*  
Blanca A Carrillo Ávalos,\* Ma Cristina Revilla Monsalve,\*\* Miguel Ángel Palomino Garibay\*\*

### Resumen

El gran desarrollo de la imagenología diagnóstica en la cardiología pediátrica ha exigido un conocimiento preciso de la anatomía alterada de los corazones con cardiopatía congénita. De esta manera, la información sobre la embriología cardíaca, en los aspectos morfológicos y moleculares constituye un fundamento para comprender la anatomía de los corazones malformados. Con base en estos hechos, en este trabajo se revisa la cardiogénesis normal, integrando los nuevos hallazgos logrados experimentalmente en el embrión de pollo con los conocimientos clásicos descriptivos en humanos. Se especifica la edad en que surgen los primordios que forman las cavidades definitivas, sus cambios de posición y relaciones entre sí, desde que aparecen hasta que se inicia la tabicación cardíaca. También se hace una correlación entre la embriología normal del corazón y los posibles mecanismos que producen las cardiopatías congénitas, así como la participación de genes específicos. Esta información además de facilitar el diagnóstico de las cardiopatías congénitas ayuda en la discusión de su posible embriogénesis, así como los genes que la regulan, conocimiento indispensable en la planeación de estrategias para evitar estas enfermedades.

### Summary

INVOLVEMENT OF THE PRIMITIVE CARDIAC SEGMENTS IN THE NORMAL CARDIOGENESIS. ITS IMPORTANCE IN THE PEDIATRIC CARDIOLOGY

The ample development of diagnostic echocardiography in pediatric cardiology has demanded precise knowledge of the abnormal anatomy of hearts that present congenital cardiac diseases. As a result, the information on morphologic and molecular aspects of cardiac embryogenesis has become fundamental to understand the anomalous anatomy of the malformed hearts. Based on these facts, in this paper we reviewed normal cardiogenesis, integrating the new information obtained experimentally in the chick embryo and from classic descriptive knowledge in humans. The age at which each cardiac segment appears is specified. At the same time, the changes in shape, relationships and position of these cardiac segments are detailed. Some implications of this process in the production of congenital cardiac defects and the importance of some specific genes are also discussed. This information is useful in the diagnosis of congenital cardiac diseases, as well as in discussing their embryogenesis. It is also beneficial in studying the possible mechanisms and genes implicated in normal morphogenesis of cardiac chambers, septa and valves. All this knowledge is important to plan strategies to avoid the production of this type of congenital pathologies. (Arch Cardiol Mex 2006; 76: S4, 46-57)

**Palabras clave:** Cardiogénesis normal. Segmentos cardíacos primitivos. Cardiopatías congénitas.

**Key words:** Normal cardiogenesis. Primitive cardiac segments. Congenital cardiac diseases.



\* Departamento de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

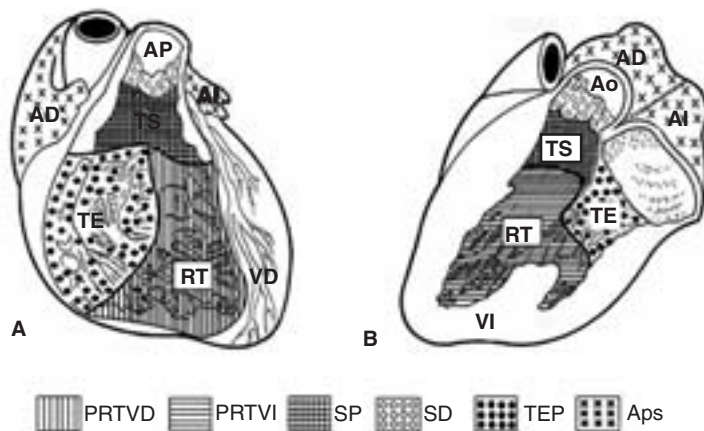
\*\* Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia: Dra. en C. Concepción Sánchez Gómez. Departamento de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez Núm. 162, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc. 06720, México, D. F. México. Teléfono: 55-88-90-05, 52-28-99-17 exts. 1527,1539. E-mail: csgomez\_2000@yahoo.com, csanchez@himfg.com.mx,

## Introducción

La ecocardiografía en sus distintas variedades y aplicaciones ha determinado un progreso importante de la cardiología pediátrica que involucra el diagnóstico de las cardiopatías congénitas en edades cada vez más tempranas, incluso en etapa fetal, así como el control de tratamientos intervencionistas pre y postnatales. Por su parte, la biología molecular ha proporcionado nueva información básica que es útil para investigar la etiología de las cardiopatías congénitas, tanto en humanos como en modelos biológicos. De esta manera, la información sobre la anatomía patológica de las cardiopatías congénitas, así como de la embriogénesis normal del corazón, en los aspectos morfológicos y moleculares resultan fundamentales en la interpretación de las imágenes ecocardiográficas, la valoración de los resultados de los tratamientos mediante métodos intervencionistas y los estudios sobre la etiología de estas enfermedades. Respecto a la información sobre el desarrollo normal del corazón, en los últimos años se ha modificado el concepto preformista con el que se había abordado el proceso. En este ámbito, además se ha descubierto la contribución de poblaciones celulares clásicamente no consideradas cardio-

génicas como células de la cresta neural, esenciales para la separación de los conductos pulmonar y aórtico, y células del cuerpo proepicárdico, implicadas en el desarrollo de los vasos coronarios. Por otro lado, en los corazones con cardiopatías congénitas se ha encontrado que no siempre concuerdan la ubicación de las cavidades, sus relaciones y conexiones. De esta manera, para facilitar el análisis anatómico y el diagnóstico de las cardiopatías congénitas, se ha establecido que las cavidades deben designarse por sus características morfológicas, independientemente de sus relaciones espaciales.<sup>1-6</sup> El corazón se ha dividido en tres segmentos: auricular, ventricular y arterial; también se ha señalado que los ventrículos constan de tres regiones anatómicas bien definidas:<sup>7</sup> 1. Cámara de entrada, 2. Región trabeculada y 3. Cámara de salida, cada una con un origen embrionario distinto<sup>8</sup> (Fig. 1). Por su parte, la información sobre el desarrollo normal del corazón humano es cuestionable porque generalmente se basa en el análisis de productos de abortos espontáneos que pueden no ser normales. No obstante, lo más importante es que en mamíferos no es posible estudiar el proceso de manera dinámica en el mismo individuo, como se ha logrado en el pollo, marcando *in vivo* selectivamente estructuras específicas del corazón embrionario y rastreándolas hasta su expresión anatómica definitiva.<sup>8</sup> Con base en todos estos hechos, en este estudio se hizo una revisión sobre los trabajos que han documentado el desarrollo normal cardíaco, integrando los hallazgos obtenidos en el embrión de pollo, recientemente validados en un modelo mamífero como la rata,<sup>9</sup> con los conocimientos al respecto en humanos. Se especifica la edad en que surgen los diferentes primordios que forman las cavidades definitivas y sus cambios hasta que comienza el desarrollo de los tabiques que las separan, correlacionando el proceso con el origen de algunas cardiopatías congénitas. También se señala la participación de genes específicos en diferentes aspectos de la cardiogénesis. Los eventos se describieron con base en la cronología del desarrollo humano propuesta por Streeter,<sup>10</sup> quien divide la embriogénesis en Horizontes o estadios, indicando los días de gestación. Finalmente, aunque la cardiogénesis es un proceso secuencial, progresivo, ininterrumpido e irreversible, fue dividida en dos fases para su estudio: premorfo-genética y morfo-genética.



**Fig. 1.** Esquemas del corazón adulto. **A, B.** Disecciones del ventrículo derecho y de las cavidades izquierdas respectivamente, mostrando las tres regiones anatómicas de los ventrículos y su constitución embriológica: tracto de entrada (TE), región trabeculada (RT) y tracto de salida (TS). AD = Atrio derecho; AI = Atrio izquierdo; Ao = Aorta; AP = Arteria pulmonar; APs = Atrios primitivos; PRTVD = Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente derecho; PRTVI = Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente izquierdo; SD = Segmento distal del tracto de salida embrionario; SP = Segmento proximal del tracto de salida embrionario; TEP = Tracto de entrada primitivo; VD = Ventrículo derecho; VI = Ventrículo izquierdo.

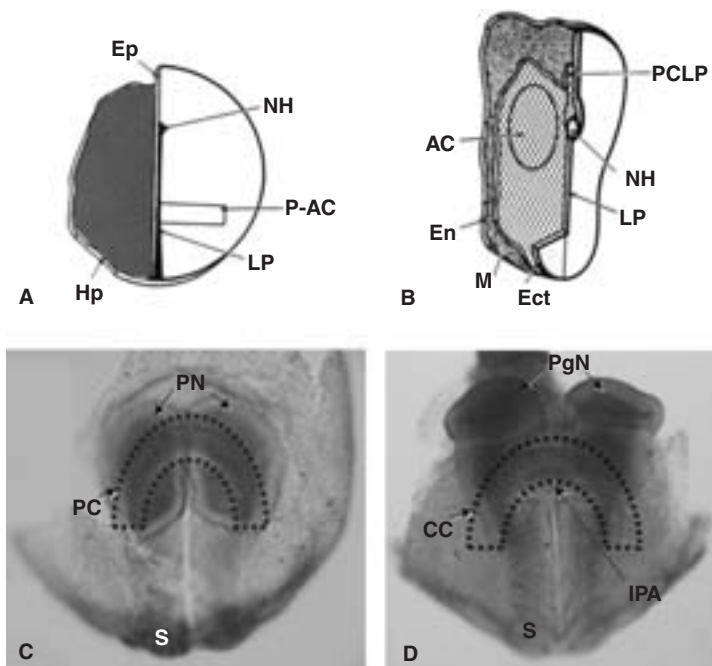
## I. Fase premorfogenética de la cardiogénesis

El sistema circulatorio es indispensable para sustentar la embriogénesis pues provee de nutrientes y oxígeno al organismo en desarrollo. De igual manera, está implicado en la eliminación de desechos y sustancias tóxicas. Estos hechos determinan que el corazón sea el único órgano que inicia su función en una etapa muy temprana de su morfogénesis, la cual se lleva a cabo en un período relativamente breve, que en humanos ocurre entre la tercera y sexta semanas de la gestación.

En la fase premorfogenética no existe una estructura anatómica que identifique al corazón, sólo están presentes células que paulatinamente son determinadas para transformarse en miocardio. La etapa más temprana en que se han detectado células con esta característica es en la blástula del pollo, similar al embrión humano de  $7 \pm 1$  día de gestación. En esta etapa se han descrito dos preáreas cardiogénicas, ubicadas en el epi-

blasto, a cada lado de la mitad posterior de la línea primitiva<sup>11</sup> (Fig. 2A), cuyas células apenas han iniciado la especificación para transformarse en miocardio.<sup>12</sup>

Durante la gastrulación, las células precardiácas migran a través de la línea primitiva hasta establecerse en el mesodermo y forman las áreas cardiogénicas ( $15 \pm 1$  día). Son dos grupos celulares de forma oval que se encuentran uno a cada lado de la línea primitiva, a la altura del Nodo de Hensen (Fig. 2B). En este caso, las células ya están especificadas y determinadas para formar miocardio y endocardio, incluso cultivadas *in vitro*.<sup>13</sup> A continuación, en la etapa de gástrula tardía ( $18 \pm 1$  día), las células cardiogénicas migran en sentido cefalomedial y dan origen a la placa cardiogénica que tiene la forma de herradura, ubicada en el extremo cefálico de la placa neural,<sup>14</sup> que inmediatamente empieza a desplazarse en sentido caudal (Fig. 2C). Después ( $19 \pm 1$  día), el ectodermo y endodermo de la región cefálica del embrión, comienzan a doblarse y forman el pliegue cefálico que consta de la placa neural y el intestino portal anterior. Al mismo tiempo, el mesodermo se separa en dos capas, la somatopleura que permanece en contacto con el ectodermo y la esplancopleura que se asocia al endodermo. En esta última capa se encuentran las células cardiogénicas, formando una creciente que mantiene la apariencia de herradura<sup>15</sup> (Fig. 2D) y consta de un plexo de filamentos endoteliales, rodeados por una delgada capa de miocardio. Ambos tipos celulares son derivados del mesodermo precardiáco.<sup>16</sup> Estos cambios dan como resultado que el intestino anterior adquiera su pared ventral y la creciente cardiogénica, que originalmente tenía una posición cefálica, se coloque en posición ventral respecto al intestino (Compare D con C en la Fig. 2). Simultáneamente, las células de la creciente cardiogénica comienzan a expresar genes característicos de miocardio como los *Nkx 2.5* y *GATA4*.<sup>17</sup> Respecto a la especificación del mesodermo en tejido cardiogénico, se sabe que depende de proteínas secretadas por el endodermo subyacente,<sup>18</sup> tales como *cerberus*, la proteína morfogenética ósea (*BMP*) y el factor de crecimiento fibroblástico 8 (*FGF-8*).<sup>19</sup> Estas proteínas regulan selectivamente algunas células del mesodermo para que inicien la síntesis del factor de transcripción *Nkx 2.5*, considerado el gen maestro de la cardiogénesis,<sup>20,21</sup> debido a que su actividad en el mesodermo precardiáco y estructuras en



**Fig. 2.** Fase premorfogenética de la cardiogénesis. **A.** Esquema de un embrión en etapa de blástula compuesto por dos capas blastodérmicas: epiblasto (Ep) e hipoblasto (Hp); están presentes las pre-áreas cardiogénicas (P-AC). **B.** Esquema de un embrión en etapa de gástrula, formado por tres capas celulares: ectodermo (Ect), mesodermo (M) y endodermo (En); existen las áreas cardiogénicas (AC). **C, D.** Fotografías de embriones de rata teñidos con rojo de rutenio para hacer evidente la placa cardiogénica (PC) y la creciente cardiogénica (CC) respectivamente. LP = Línea primitiva; NH = Nodo de Hensen; PCLP = Prolongación cefálica de la línea primitiva; PgN = Pliegue neural; PN = Placa neural; S = Somitas, IPA = Intestino portal anterior.

las que se transforma es fundamental para la expresión de *MEF2* y *GATA4*, que a su vez participan en el control de la transcripción de proteínas contráctiles propias del músculo cardíaco.<sup>22</sup> En el Horizonte IX ( $21 \pm 1$  día), el plexo mioendocárdico de la creciente cardiogénica se transforma en dos primordios cardíacos primitivos, cada uno constituido por un tubo de endocardio cubierto por miocardio, aún no existe epicardio. Inmediatamente (Horizonte X,  $22 \pm 1$  día), los primordios se desplazan en dirección ventromedial, se fusionan y constituyen el tubo cardíaco primitivo o tubo cardíaco recto (*Fig. 3A*), iniciando así la fase morfogénica de la cardiogénesis.

Es posible identificar la creciente cardiogénica mediante la inmunolocalización del RNAm para *Nkx2.5*, troponina C o la cadena pesada de miosina cardíaca, sin embargo no se han reconocido genes específicos de alguna región o cavidad del corazón definitivo. Así mismo, aunque en los embriones muy jóvenes ya existe el RNAm de las proteínas contráctiles del miocardio, se traduce cuando se forma el tubo cardíaco recto. Esto indica que la fusión de los primordios cardíacos inicia una segunda ronda de eventos de histodiferenciación.<sup>23</sup>

## II. Fase morfogénica de la cardiogénesis

Esta fase se divide en tres períodos: A. Corazón en tubo recto, B. Proceso de torsión y rotación del tubo cardíaco, C. Inicio de la tabicación del corazón.

**A. Corazón en tubo recto.** Clásicamente se ha señalado, con base en la embriología descriptiva, que en el corazón en tubo recto existen todas las cavidades que dan origen al órgano definitivo. Así Davis<sup>24</sup> describió que el corazón en esta etapa estaba constituido por las siguientes cuatro **cavidades cardíacas primitivas** y señaló sus destinos correspondientes: 1. Bulbo aórtico = arterias pulmonar y aorta, 2. Bulbus cordis = ventrículo derecho, 3. Ventrículo primitivo = ventrículo izquierdo, 4. Atrios primitivos derecho e izquierdo = atrios definitivos. Más tarde Kramer<sup>25</sup> mencionó que el bulbus cordis constaba de dos primordios, el del ventrículo derecho y el de los tractos de salida ventriculares al que denominó cono. Sin embargo, mediante marcaje *in vivo* en el embrión del pollo, se encontró que el corazón se forma por la integración progresiva de seis segmentos cardíacos primitivos, que aparecen

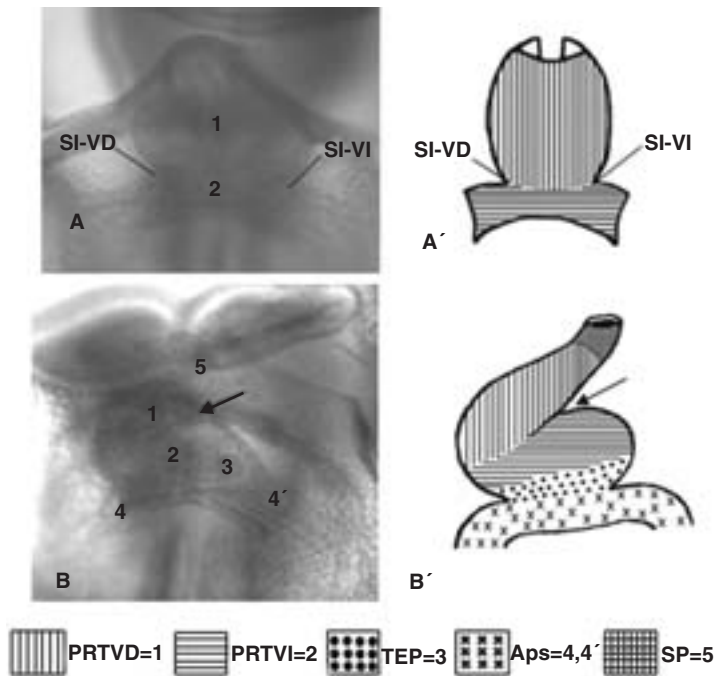
gradualmente y que cada uno de ellos origina una región anatómica específica de una cavidad cardíaca definitiva<sup>8,26</sup> y no a una cavidad completa como siempre se había especulado. Esta información cambió el concepto preformista con el que se había investigado el desarrollo embrionario de este órgano. En relación al cono y el bulbo aórtico, también llamado tronco arterioso, con base en los hallazgos recientes sobre su destino que niegan que el tronco arterioso origine la región proximal (tronco) de la arteria pulmonar y la aorta, se ha decidido denominarlos segmentos proximal (cono) y distal (tronco arterioso) del tracto de salida embrionario.<sup>27</sup> Por otro lado, el hecho de que las tres regiones de los ventrículos (cámara de entrada, región trabeculada y cámara de salida) tengan características anatómicas bien definidas<sup>7</sup> y se originen de un primordio propio, demuestra que los ventrículos son unidades funcionales anatómicas pero no embriológicas<sup>8,26</sup> (*Fig. 1*).

Respecto a las características del corazón en tubo recto, se manifiesta en el plano frontal, tiene la forma de un canal abierto dorsalmente, su pared dorsal es la pared ventral del intestino anterior y consta exclusivamente de dos segmentos (*Fig. 3A,A'*). El segmento cefálico corresponde al primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente derecho y el caudal es el primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente izquierdo<sup>26,28</sup> (Compare *Figs. 1, 3A,A'*). Ambos segmentos están separados por dos surcos relativamente profundos, denominados interventriculares derecho e izquierdo (*Fig. 3A,A'*).

**B. Proceso de torsión y rotación del tubo cardíaco.** Los segmentos cardíacos primitivos inicialmente están en serie y siguen una dirección caudo-cefálica, sin embargo como consecuencia del proceso de torsión y rotación del tubo cardíaco, poco a poco cambian de posición, hasta adquirir la polaridad derecha-izquierda característica del órgano definitivo. Este proceso sucede en tres etapas: Asa en C, Asa en S y Asa avanzada.<sup>28,29</sup>

*I. Asa en C.* Esta etapa ocurre en el Horizonte XI ( $23 \pm 1$  día). El corazón que al principio era un canal se vuelve un tubo. Al mismo tiempo, aumenta de tamaño por la incorporación de células en sus extremos caudal y cefálico. Se mantiene en el plano frontal, pero comienza a torcerse hacia la derecha, siendo ésta la primera manifestación de la asimetría del organismo. Así el cora-





**Fig. 3.** Fotografías de embriones de rata en la etapa de corazón en tubo recto y asa en C y esquemas correspondientes. **A, A'**. Tubo cardíaco recto, vista frontal. Note que sólo están presentes dos primordios. **B, B'**. Asa en C vista frontal. Ya existen cinco primordios. APs= Atrios primitivos. PRTVD= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente derecho; PRTVI= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente izquierdo; SI-VD= Surco interventricular derecho; SI-VI= Surco interventricular izquierdo; SP= Segmento proximal del tracto de salida embrionario; TEP= Tracto de entrada primitivo. La flecha indica el surco profundo de la curvatura menor del asa que separa las regiones trabeculadas de los ventrículos.

zón adquiere la forma de un asa con un borde derecho convexo (curvatura mayor) y un borde izquierdo cóncavo (curvatura menor) (*Fig. 3B, B'*). Simultáneamente, aparecen tres nuevos segmentos,<sup>30-33</sup> dando como resultado un corazón constituido por cinco segmentos cardíacos primitivos,<sup>28</sup> que en sentido caudo-cefálico son: los atrios primitivos derecho e izquierdo; el tracto de entrada primitivo (región caudal de la rama caudal del asa); el primordio de la región trabeculada del ventrículo izquierdo (región cefálica de la rama caudal del asa); el primordio de la región trabeculada del ventrículo derecho (rama cefálica del asa) y el primordio de los tractos de salida (segmento proximal del tracto de salida embrionario, clásicamente llamado cono). Este último segmento aún no está completo, apenas comenzó a formarse<sup>33</sup> (Compare en *Fig. 3 A, A'* con *B, B'*).

El surco que separa los primordios de las regiones trabeculadas es muy profundo y en una eta-

pa más tardía participa en la formación del pliegue ventrículo-infundibular (espolón cono-ventricular). Dicha estructura habitualmente se ha denominado surco interventricular izquierdo, por considerarlo equivalente al surco interventricular izquierdo del corazón en tubo recto. Sin embargo esta idea es errónea, porque se descubrió que en realidad se forma por la fusión de ambos surcos interventriculares del corazón en tubo recto.<sup>34</sup>

**2. Asa en S.** El embrión empieza a flexionarse a nivel craneal y cervical, afectando la torsión y rotación del corazón (Horizonte XI,  $23 \pm 1$  día). Simultáneamente, el asa cardíaca se coloca en el plano sagital y toma la forma de S. La curvatura mayor se vuelve ventral y la menor dorsal,<sup>28,29</sup> también aparece el seno venoso<sup>35</sup> (*Fig. 4*). En este caso, los primordios de las regiones trabeculadas ventriculares permanecen uno cefálico y otro caudal (*Fig. 4A, A'*), pero el tracto de entrada y los atrios primitivos se vuelven ligeramente dorso-cefálicos (*Fig. 4B, B'*). Respecto al segmento proximal del tracto de salida, prácticamente se ha completado y se mantiene en continuidad con la región trabeculada del ventrículo derecho en desarrollo (*Fig. 4A, A'*). También surge el órgano proepicárdico, que es un conjunto de células mesoteliales ubicadas sobre la superficie derecha del seno venoso (*Fig. 4A, B*), las cuales al migrar van cubriendo el miocardio de todo el corazón y más tarde se transforman en el epicardio.<sup>36,37</sup> Algunas células penetran en las paredes ventriculares y el tabique interventricular en desarrollo y participan en la morfogénesis de las arterias y venas coronarias.<sup>37,38</sup>

**3. Asa avanzada.** En esta etapa (Horizonte XII,  $24 \pm 1$  día), los segmentos cardíacos primitivos ya ocupan la posición espacial y relaciones de vecindad que tienen en el corazón maduro.<sup>28,29</sup> Termina de aparecer el segmento proximal del tracto de salida embrionario y empieza a formarse su segmento distal.<sup>33,39</sup> La curvatura menor del asa prácticamente desapareció y comienza a notarse el pliegue ventrículo infundibular o espolón conoventricular (*Fig. 5A, A'*). La curvatura mayor cambia de posición y constituye el ápice ventricular. Por su parte, los atrios y el tracto de entrada primitivos (aún no septados) toman una posición dorso-cefálica o postero-superior (*Fig. 5B, B'*), mientras que el primordio de la región trabeculada del ventrículo derecho y el segmento proximal del tracto de salida em-

brionario se ubican en posición ventro-derecha. Ambos segmentos del tracto de salida embrionario carecen de crestas en su interior y forman un solo conducto que permanece conectado con la región trabeculada del ventrículo derecho en desarrollo<sup>27,39</sup> (Fig. 5A,A').

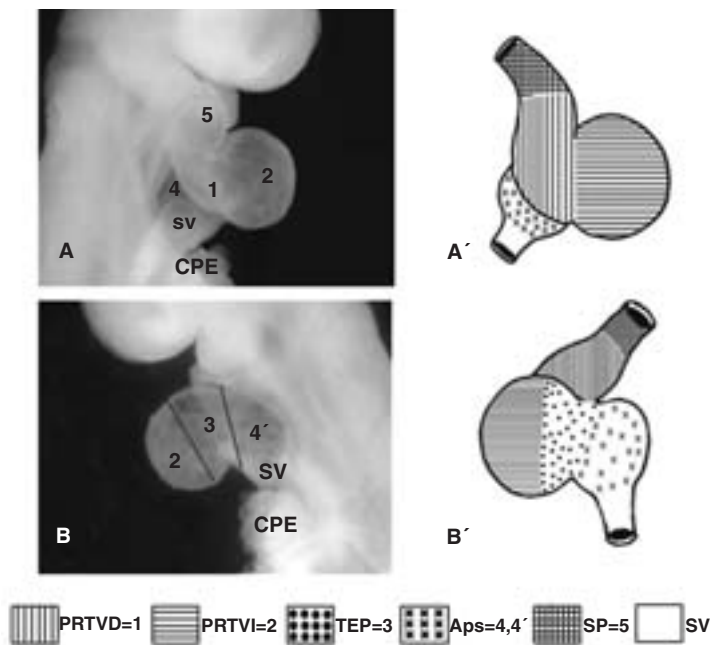
Estudios experimentales en aves han demostrado que los segmentos que se integran en el extremo caudal del corazón embrionario provienen del mesodermo esplácnico, caudal al corazón en tubo recto,<sup>31,32</sup> mientras que las células que forman los segmentos cefálicos (segmentos proximal y distal del tracto de salida embrionario), vienen del segundo campo cardiogénico, constituido por mesénquima presente en el piso de la faringe.<sup>40,41</sup>

También se ha encontrado que el segmento distal del tracto de salida embrionario (mal denominado tronco arterioso o bulbo aórtico) solamente origina el anillo de inserción y válvulas arteriales, mientras que la región proximal o tronco de las grandes arterias, se forma del saco aórtico.<sup>27</sup> Por otro lado, aún se desconocen los mecanismos responsables de que el tubo cardíaco se cur-

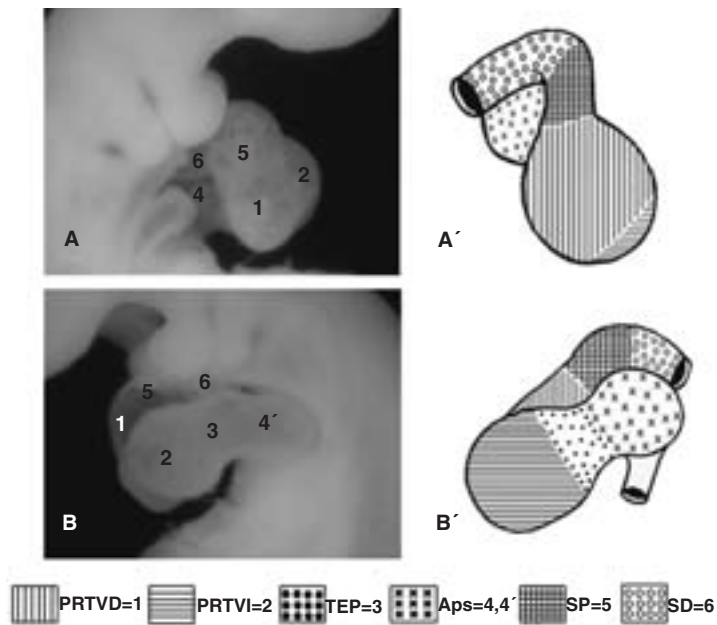
ve hacia la derecha, no obstante existen evidencias de la implicación de una serie de genes que se expresan desde etapas muy tempranas de la embriogénesis. Se ha señalado que el eje derecho-izquierdo comienza a establecerse inmediatamente después de la fertilización, mediante el factor de crecimiento *Vg1* que activa al gen *Nodal* sólo en el lado izquierdo del cigoto.<sup>42</sup> Más tarde, la proteína *Nkx2.5* regula la presencia del factor de transcripción *Hand1*, exclusivamente en el futuro ventrículo izquierdo y *Hand2* en el derecho.<sup>43,44</sup> Por su parte *Nkx2.5* y *MEF2* actúan para que se transcriba el gen *Xin* (corazón), cuya proteína media cambios del citoesqueleto, esenciales para la torsión del tubo cardíaco.<sup>45</sup> Otra proteína crítica en este proceso es el factor de transcripción *Pitx2*, presente en forma activa en el lado izquierdo de mesodermo lateral y el lado izquierdo del tubo cardíaco recto, que controla la expresión temporal de proteínas de matriz extracelular como la flectina.<sup>46,47</sup> Aunque la presencia de la proteína activa del gen *Sonic hedgehog* (*Shh*) en el Nodo de Hensen es indispensable para inducir la expresión del gen *Nodal* en el lado izquierdo del embrión joven, aún se desconoce la vía de regulación.

En el ámbito de la cardiología pediátrica, es importante enfatizar que la torsión del tubo cardíaco no especifica el situs visceroatrial (*situs solitus* o *situs inversus*), sólo determina la posición de los ventrículos en el órgano definitivo. Si la torsión sucede hacia la derecha (Asa en D), el ventrículo anatómicamente derecho se situará a la derecha y el anatómicamente izquierdo a la izquierda. Por el contrario, si el tubo cardíaco se tuerce hacia la izquierda (Asa en L), entonces el ventrículo anatómicamente derecho se situará a la izquierda y el anatómicamente izquierdo a la derecha. Respecto al situs visceroatrial, se define en base a las características anatómicas de cada uno de los atrios y de su ubicación en el espacio. De esta manera, el tipo de asa junto con el situs visceroatrial determinan las concordancias o discordancias atrioventriculares.<sup>35,48</sup>

La heterotaxia visceral es uno de los desórdenes congénitos más complejos. Construye un síndrome que se caracteriza por una alteración severa del patrón de asimetría derecha-izquierda y de la relación espacial de los órganos. Los pacientes con este síndrome tienen un situs simétrico que se manifiesta como dextroisomerismo levoisomerismo y se determina por la morfología externa e interna de las orejuelas de los atrios.



**Fig. 4.** Fotografías de embriones de rata y esquemas del corazón en etapa de asa en S. **A, A'**. Vista derecha. Note que los ventrículos en desarrollo aún se encuentran en serie. **B, B'**. Vista izquierda. Observe que los atrios comienzan a tener una posición dorso-cefálica y ya está presente el seno venoso (SV). También se hace evidente el cuerpo proepicárdico (CPE). APs= Atrios primitivos. PRTVD= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente derecho; PRTVI= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente izquierdo; SP= Segmento proximal del tracto de salida embrionario; TEP= Tracto de entrada primitivo.



**Fig. 5.** Fotografías de embriones de rata y esquemas del corazón en la etapa de asa avanzada mostrando que ya apareció el segmento distal del tracto de salida embrionario (SD) y los ventrículos en desarrollo ya están ubicados uno a la derecha y otro a la izquierda. **A, A'**. Vista derecha. Note que tanto el segmento proximal (SP) como el distal (SD) del tracto de salida embrionario permanecen conectados con la región trabeculada del ventrículo derecho. **B, B'**. Vista izquierda. Observe que los atrios ya tienen una posición dorso-cefálica. APs= Atrios primitivos. PRTVD= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente derecho; PRTVI= Primordio de la región trabeculada del ventrículo anatómicamente izquierdo; TEP= Tracto de entrada primitivo.

El diagnóstico de cualquiera de estos dos tipos de situs simétrico es sugerente de cardiopatías congénitas múltiples y severas. Se piensa que estos defectos son el resultado de una falla en el establecimiento de la asimetría derecha-izquierda durante el desarrollo embrionario. Los estudios en modelos animales han mostrado la implicación de más de ochenta genes en este proceso, aunque es posible que algunos de ellos no tengan una función directa en el proceso en humanos. Sin embargo en los pacientes con heterotaxia sólo se han identificado pocos de esos genes mutados.<sup>49</sup> Entre los que se han mencionado están *ZIC3*,<sup>50</sup> *LEFTYA*,<sup>51</sup> *CRYPTIC*,<sup>52</sup> *ACVR2B*,<sup>53</sup> *CRELD1*,<sup>54</sup> y *NKX2.5*.<sup>55</sup> Una vez establecidas las conexiones concordantes o discordantes, según el sentido en que haya ocurrido la torsión del asa cardíaca –hacia la derecha o a la izquierda– en ocasiones la masa ventricular puede a su vez experimentar una rotación que cambia la posición de los ventrículos, provocando que las conexiones atrioventriculares queden cruzadas. Esto origina la cardiopatía congé-

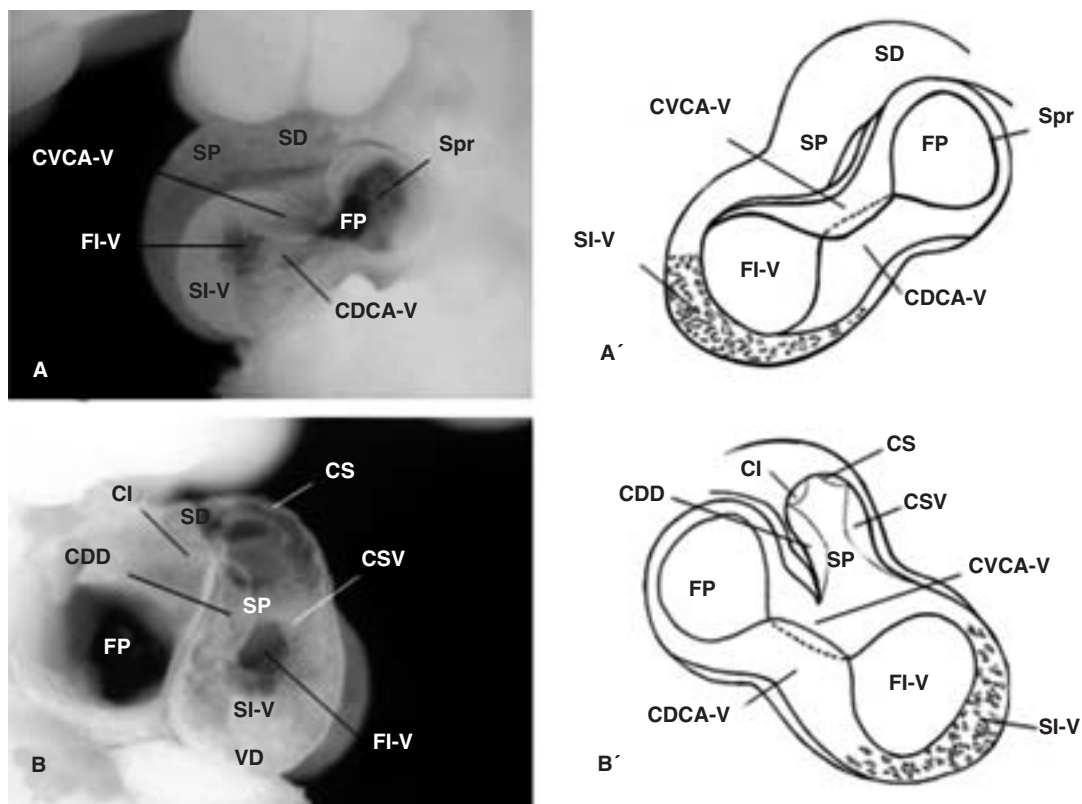
nita denominada *criss cross*.<sup>56</sup> Esta rotación anormal puede ser en sentido horario cuando la conexión atrioventricular que previamente se ha establecido es concordante o en sentido antihorario cuando el tipo de conexión atrioventricular es discordante. Esto crea una paradoja entre conexión y relación, en la primera situación la conexión atrioventricular es concordante, mientras que la relación atrioventricular es discordante. En la segunda, la conexión atrioventricular es discordante mientras que la relación es concordante. En ambas el tabique interventricular es horizontal por lo que el ventrículo derecho es superior y el izquierdo es inferior. En cuanto a las conexiones ventriculoarteriales pueden ser concordantes, doble salida del ventrículo derecho o discordantes.<sup>57</sup>

**C. Inicio de la tabicación del corazón.** Comienza en el Horizonte XIV ( $29 \pm 1$  día), una vez que la región ventricular se ha colocado en posición caudal y la atrial es dorso-cefálica. Al mismo tiempo, las cavidades en desarrollo adquieren la simetría derecha-izquierda que les corresponde (Fig. 6). Casi inmediatamente, aparece un tabique con forma de antifaz (Fig. 6A,A'), llamado *septum cardíaco primitivo* y constituido por tres elementos: 1. *Septum primum*, separa los atrios, 2. Cojines ventral (superior) y dorsal (inferior) del canal atrioventricular y 3. *Septum interventricular primitivo*, divide la región trabeculada de los ventrículos.<sup>32,58</sup> También existen dos orificios, el foramen primum en la región atrial y el foramen interventricular en la región ventricular (Fig. 6). Se ha señalado, tanto en aves como en mamíferos, que los tres elementos desde que aparecen se encuentran en el mismo plano, alineados entre sí y sin un límite de demarcación que los separe. Esto determina que los cojines dorsal y ventral del canal atrioventricular dividan parcialmente el tracto de entrada primitivo (orificio atrioventricular común) en un orificio derecho, sumamente estrecho, que comunica la aurícula derecha embrionaria con su ventrículo correspondiente (Fig. 6B) y otro izquierdo más amplio, que mantiene la comunicación de la aurícula y ventrículo izquierdos<sup>32,58</sup> (Fig. 6A,A'). Estos hallazgos niegan el concepto de que los cojines ventral y dorsal del canal atrioventricular estén desplazados a la izquierda cuando aparecen y que por consiguiente, para que el ventrículo derecho adquiera su tracto de entrada, el septum interventricular primitivo debe alinearse con los cojines y el orificio atrioventricular ensanchar-

se, como ha sido propuesto por algunos autores basados en estudios del embrión humano.<sup>59,60</sup> En el caso del tracto de salida, en esta etapa (Horizonte XIV,  $29 \pm 1$  día) tanto el segmento proximal como el distal aún forman un conducto continuo que emerge exclusivamente del ventrículo derecho en desarrollo. Sin embargo, ya contienen en su interior crestas endocárdicas. En el segmento proximal son una dextro-dorsal y otra sinistro-ventral, mientras que en el segmento distal son una superior y otra inferior (*Fig. 6B,B'*). Las crestas del segmento proximal, aunque no están fusionadas comienzan a separarlo en dos conductos: anterolateral y posteromedial. El primero dará origen al infundíbulo del ventrículo derecho y el segundo se piensa que participa en el desarrollo del vestíbulo del ventrículo izquierdo.<sup>33</sup> Por su parte, en el segmento distal las crestas se están transformando en las válvulas arteriales que todavía están pobremente

desarrolladas.<sup>27</sup> Así mismo, el saco aórtico que origina las regiones proximales de las grandes arterias, no se ha proyectado a la cavidad pericárdica ni se ha separado en dos conductos.<sup>27</sup> De esta manera, a pesar de que el ventrículo derecho ya adquirió su cámara de entrada y comenzó la tabicación del corazón que dará como resultado un órgano tetracameral, el ventrículo izquierdo todavía carece de cámara de salida (Compare A,A' con B,B' en *Fig. 6*).

Respecto a la morfogénesis del segmento proximal de cada una de las grandes arterias (tronco de la arteria pulmonar y tronco de la aorta), como ya se mencionó, se forma a partir del saco aórtico,<sup>61</sup> que es un ensanchamiento que se produce en el sitio donde surgen los arcos aórticos y se proyecta a la cavidad pericárdica en el Horizonte XV ( $31 \pm 1$  día), cuando el proceso de septación del corazón ha avanzado considerablemente.<sup>27</sup> El saco aórtico por su extremo ce-



**Fig. 6.** Disecciones del corazón de rata y esquemas del inicio de la tabicación. **A, A'**. Vista izquierda. Observe el *septum cardíaco primitivo* que tiene la forma de un antifaz y está constituido por el Septum primum (SPr), el Septum inter-ventriculare primitivo (SI-V) y los cojines dorsal (CDCA-V) y ventral (CVCA-V) del canal atrioventricular. También presenta dos orificios, el foramen primum (FP) y el foramen interventriculare (FI-V). **B, B'**. Vista derecha. Los segmentos proximal (SP) y distal (SD) del tracto de salida embrionario forman un conducto continuo que emerge exclusivamente del ventrículo (VD). En el segmento proximal existen dos crestas: una es dextro-dorsal (CDD) y otra sinistro-ventral (CSV). En el segmento distal las crestas son una superior (CS) y otra inferior (CI).



fálico está en continuidad con los arcos aórticos, mientras que en su extremo caudal se conecta con el segmento distal del tracto de salida embrionario, el cual da origen a las válvulas arteriales.<sup>27</sup> Al inicio el saco aórtico es un conducto común, sin embargo una vez proyectado a la cavidad pericárdica, (aproximadamente el día 32), es dividido por el septum aórtico-pulmonar en dos conductos (pulmonar y aórtico). Dicho septum está constituido por células de la cresta neural cardíaca, ubicadas entre el cuarto y sexto arcos branquiales.<sup>61,62</sup> Este hecho explica la relación que existe entre las cardiopatías tronco-conales y las anomalías faciales típicas de síndromes como Cardiovelofacial y Di George. Así mismo, es importante señalar que el resultado de la ausencia de este septum es la cardiopatía denominada tronco común, en cuyo caso tampoco se desarrolla el tabique de los tractos de salida.<sup>48</sup>

Una de las cualidades más relevantes de la morfogénesis normal de los tractos de salida ventriculares es que el segmento proximal del tracto de salida embrionario, desde que aparece permanece conectado exclusivamente con el ventrículo derecho en desarrollo. Esta condición se mantiene después de que el segmento queda dividido en dos conductos (anterolateral y posteromedial). Estos hechos determinan que en el corazón definitivo el infundíbulo anterior, que en condiciones normales da origen al infundíbulo de la pulmonar, casi siempre emerge del ventrículo anatómicamente derecho. Otra peculiaridad de este proceso es que el ventrículo izquierdo adquiere su tracto de salida de manera gradual, desarrollo que concluye en una etapa muy avanzada de la cardiogénesis, poco antes de que se cierre la comunicación interventricular y se establezca el corazón tetracameral. La consecuencia es que existe un espectro en las malformaciones de los tractos de salida ventriculares (clásicamente denominadas cardiopatías tronco-conales). Por un lado están las patologías en las que ambos tractos de salida emergen totalmente del ventrículo anatómicamente derecho (dobles vías de salida). En el otro lado se encuentran las patologías en las que el ventrículo anatómicamente derecho retiene su propio tracto de salida y el otro cabalga en diferentes grados un defecto interventricular.<sup>48</sup> Si el tronco de la arteria pulmonar surge exclusivamente del ventrículo derecho y la aorta cabalga la comunica-

ción interventricular y además existe estenosis infundibular y valvular de la pulmonar, se trata de la Tetralogía de Fallot. No obstante, si la aorta nace del ventrículo anatómicamente derecho y el tronco de la arteria pulmonar cabalga sobre la comunicación interventricular, la patología corresponde al Taussig-Bing, que es una forma de doble salida del ventrículo derecho.

Con base en lo antedicho se puede concluir que la información sobre la constitución anatómica y embriológica de los ventrículos y la edad en que aparecen los primordios que los forman, es útil tanto en el diagnóstico de las cardiopatías congénitas como para discutir su embriogénesis. En el primer caso, debido a que está implícita la existencia de malformaciones propias de cada región ventricular (tracto de entrada, región trabeculada y tracto de salida), se proporcionan bases embriológicas sólidas para el análisis segmentario de los corazones portadores de alguna patología congénita. En el segundo caso, se puede especular sobre la etapa y el sitio en que actuó un factor teratogénico. Si lo hace selectivamente sobre un solo primordio y/o su duración es relativamente breve, se producirá una cardiopatía congénita simple, en la que está implicada sólo una región ventricular. Sin embargo, si el teratógeno tiene un efecto más generalizado, actuando simultáneamente sobre dos o más primordios y/o tiene una mayor duración, se producen las cardiopatías complejas, en las que pueden estar dañadas dos o las tres regiones que forman los ventrículos.

Así mismo, estos nuevos conocimientos son provechosos para la investigación sobre los procesos básicos del desarrollo que participan en la morfogénesis de las diferentes cámaras, tabiques y sistemas valvulares del corazón y los genes que los regulan. Dicha información es indispensable para en el futuro planear estrategias que prevengan la producción de los defectos congénitos del corazón y en la elección de terapias génicas que los corrijan.

**Agradecimientos:** El material fotográfico de embriones de mamífero es parte del trabajo de la Tesis de Maestría en Ciencias Morfológicas realizada por la QFB Marcela Salazar García en la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, México D.F. Agradecemos la colaboración del Técnico de Laboratorio Oswaldo Aguirre Luna y el Técnico en Fotografía Mario Jáuregui Castro.

## Referencias

1. LEV M: *Pathological diagnosis of positional variations in cardiac chambers in congenital heart disease*. Lab Invest 1954; 3: 71-78.
2. VAN PRAAGH R: *The segmental approach to diagnosis in congenital heart disease*. En: Bergsma D, ed. Birth Defects: original article series. Vol. 8. Baltimore: Williams & Wilkins, 1972: 4-23.
3. SHINEBOURNE EA, MACARTNEY FJ, ANDERSON RH: *Sequential chamber localization. Logical approach to diagnosis in congenital heart disease*. Br Heart J 1976; 38: 327-340.
4. DE LA CRUZ MV, BERRAZUETA JR, ARTEAGA M, ATTIE F, SONI J: *Rules for diagnosis of atrioventricular discordances and spatial identification of ventricles*. Br Heart J 1976; 38: 341-354.
5. ANDERSON RH, YEN H SIEW: *Sequential segmental analysis-description and categorization for the millennium*. Cardiol Young 1997; 7: 98-116.
6. ATTIE F: *Anatomía de las cardiopatías congénitas*. Arch Cardiol Méx 2004; 74: supl. 1: S13-S17.
7. GOOR DA, LILLEHEI CW: *Congenital malformations of the heart. The Anatomy of the heart*. En: Embryology, anatomy and operative considerations. New York. Grune and Stratton. 1975: 1-37.
8. DE LA CRUZ MV, MARKWALD R EDS: *Living morphogenesis of the heart*. Boston, Basel, Berlin. Birkhäuser; 1998.
9. SÁNCHEZ GC, SALAZAR GM, REVILLA MMC, PALOMINO GMA, ARTEAGA M, GARCÍA-PELÁEZ I: *Análisis comparativo de la cardiogénesis en aves y mamíferos. Estudio anatómico y cronológico*. En: Memorias Reunión Anual de Investigación 2005. Hospital Infantil de México Federico Gómez. México, DF, 14 y 15 de abril del 2005.
10. STREETER GL: *Development horizon in human embryos. Description of age group XI, 13 to 20 somites and age group XII, 21 to 29 somites*. Carnegie Contrib Embryol 1942; 30: 211-230.
11. ROSENQUIST GC, DE HAAN RL: *Migration of precardiac cells in the chick embryo: a radioautographic study*. Contrib Embryol 1966; 38: 111-121.
12. MONTGOMERI MO, LITVIN J, GONZÁLEZ-SÁNCHEZ A, BADER D: *Staging of commitment and differentiation of avian cardiac myocytes*. Dev Biol 1994; 164: 63-71.
13. RAWLES ME: *The heart forming areas of the early chick blastoderm*. Physiol Zool 1943; 16: 22-24.
14. DEHAAN RL: *Organization of the cardiogenic plate in the early chick embryo*. Acta Embryol Morphol Exp 1963; 6: 26-38.
15. STALBERG H, DE HAAN RL: *The precardiac areas and formation of the tubular heart in the chick embryo*. Dev Biol 1969; 19: 128-159.
16. LINASH KK, LASH JW: *Early heart development: dynamics of endocardial cell sorting suggest a common origin with cardiomyocytes*. Dev Dyn 1993; 195: 62-69.
17. LAVERRIERE AC, MACNIELL C, MUELLER C, POELMANN RE, BURCH JBE, EVANS T: *GATA4/5/6, a subfamily of three transcriptional factors transcribed in developing heart and gut*. J Biol Chem 1994; 269: 23177-23184.
18. VOKES SA, KRIEG PA: *Endoderm is required for vascular endothelial tube formation, but not for angioblast specification*. Development 2002; 129: 775-785.
19. ALSAN BH, SCHULTHEISS TM: *Regulation of avian cardiogenesis by FCF8 signaling*. Development 2002; 129: 1935-1943.
20. SRIVASTAVA D, OLSON N: *A genetic blueprint for cardiac development*. Nature 2000; 407: 221-232.
21. LINTS TJ, PARSON LM, HARTLEY L, LYONS I, HARVEY RP: *Nkx2.5: a novel murine homeobox gene expressed in early heart progenitor cells and their myogenic descendent*. Development 1993; 119: 419-431.
22. ERHMAN IA, YUTZEY KE: *Lack of regulation in the heart forming region of avian embryos*. Dev Biol 1999; 207: 163-175.
23. COLAS JF, LAWSON A, SCHOENWOLF GC: *Evidence that translation of smooth muscle alpha-actin mRNA is delayed in the chick promyocardium until fusion of the bilateral heart-forming regions*. Dev Dynam 2000; 218: 316-330.
24. DAVIS CL: *DEVELOPMENT OF THE HUMAN HEART FROM ITS FIRST APPEARANCE TO THE STAGE FOUND IN EMBRYOS OF TWENTY PAIRED SOMITES*. Contrib Embryol 1927; 19: 245-284.
25. KRAMER TC: *The partitioning of the truncus and conus and the formation of the interventricular septum in the human heart*. Am J Anat 1942; 71: 343-370.
26. DE LA CRUZ MV, SÁNCHEZ-GÓMEZ C, PALOMINO MA: *The primitive cardiac regions in the straight tube heart (stage 9-) and their anatomical expressions in the mature heart: an experimental study in the chick embryo*. J Anat 1989; 165: 121-131.
27. SÁNCHEZ-GÓMEZ C, PLIEGO PL, CONTRERAS RA, MUNGUÍA RMA, SALAZAR GARCÍA M, GARCÍA RHL, GONZÁLEZ JMA: *Histological study of the proximal and distal segments of the embryonic outflow tract and great arteries*. Anat Rec Part A 2005; 283A: 2002-211.
28. DE LA CRUZ MV: *Torsion and looping of the cardiac tube and primitive cardiac segments. Anatomical manifestations*. En: De la Cruz MV, Markwald R. Living morphogenesis of the heart. Boston, Basel, Berlin. Birkhäuser. 1998: 99-120.
29. MANNER J: *Cardiac looping in the chick embryo: A morphological review with special reference to terminological and biomechanical aspects of the looping process*. Anat Rec 2000; 259: 248-62.
30. CASTRO-QUEZADA A, NADAL GINARD B, DE LA CRUZ MV: *Experimental study of the formation of the*

- bulbo-ventricular loop in the chick.* J Embryol Exp Morphol 1972; 27: 623-637.
31. DE LA CRUZ MV, SÁNCHEZ-GÓMEZ C, CAYRÉ R: *The developmental components of the ventricles: their significance in congenital cardiac malformations.* Cardiol Young 1991; 1: 123-128
  32. DE LA CRUZ MV: *Embryological development of the ventricular inlets. Septation and atrio-ventricular valve apparatus.* En: De la Cruz MV, Markwald R. Living Morphogenesis of the Heart. Boston, Basel, Berlin. Birkhäuser. 1998: 131-155.
  33. DE LA CRUZ MV, SÁNCHEZ GÓMEZ C, ARTEAGA M, ARGÜELLO C: *Experimental study of the development of the truncus and the conus in the chick embryo.* J Anat 1977; 123: 661-686.
  34. DE LA CRUZ MV, SÁNCHEZ GÓMEZ C: *Straight tube heart. Primitive cardiac cavities vs primitive cardiac segments.* En. De la Cruz MV, Markwald R. Living morphogenesis of the heart Boston. Basel. Berlin. Birkhäuser 1998: 85-98.
  35. ANSELMINI G, DE LA CRUZ MV: *Embryological development of the atria. Septation and viscerocardial situs.* En: De la Cruz MV, Markwald R. Living morphogenesis of the heart. Boston, Basel, Berlin. Birkhäuser. 1998: 169-186.
  36. HIRUMA T, HIRAKOW R: *Epicardial formation in embryonic chick heart: Computer-aided reconstruction, scanning and transmission electron microscopic studies.* Am J Anat 1988; 184: 129-138.
  37. MÄNNER J, PÉREZ-PONARES JM, MACÍAS D, MUÑOZ-CHAPULI: *The origin, formation and developmental significance of the epicardium: A review.* Cell Tiss Org 2001; 169: 89-103.
  38. MIKAWA T, GOURDIER RG: *Pericardial mesoderm generates a population of coronary smooth muscle cells migrating into the heart along with ingrowth of the epicardial organ.* Dev Biol 1996; 173: 221-232.
  39. GARCÍA-PELÁEZ I, ARTEAGA M: *Experimental study of the development of the truncus arteriosus of the chick embryo heart.* Anat Rec 1993; 237: 378-384.
  40. WALDO KL, KUMISKI DH, WALLIS KT, STADT HA, HUTSON MR, PLATT DH, KIRBY ML: *Conotruncal myocardium arises from a secondary heart field.* Development 2001; 128: 3179-3188.
  41. MJAATVEDT CH, NAKAOKA T, MORENO-RODRÍGUEZ R, NORRIS RA, KERN MJ, EISENBERG CA, ET AL: *The outflow of the heart is recruited from a novel heart-forming field.* Dev Biol 2001; 238: 97-109.
  42. NONAKA S, SHIRATORI H, SAJJOH Y: *Determination of left right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow.* Nature 2002; 418: 96-99.
  43. SRIVASTAVA D, CSERJESI P, OLSON N: *A subclass of bHLH proteins required for cardiac morphogenesis.* Science 1995; 270: 1995-1999.
  44. BIBEN C, HARVEY RP: *Homeodomain factor Nkx2.5 controls left right asymmetric expression of bHLH gene eHand during murine heart development.* Genes Dev 1997; 11: 1357-1369.
  45. WANG DZ, REITER RS, LI-CHUN JL, WANG Q, WILLIAMS HS, KROB LS, ET AL: *Requirement of a novel gene Xin in cardiac morphogenesis.* Development 1999; 126: 1281-1294.
  46. TZUDA T, PHILIP M, ZILE MH, LINASK KK: *Left right asymmetric localization of flectin in the extracellular matrix during heart looping.* Dev Biol 1996; 173: 39-50.
  47. LINASK KK, YU X, CHEN Y, HAN D: *Directionality of heart looping: Effects of Pitx2c misexpression on flectin asymmetry and midline structures.* Dev Biol 2002; 246: 407-417.
  48. DE LA CRUZ MV, MARKWALD, KRUG R, RUMENOFF L, SÁNCHEZ-GÓMEZ C, SADOWINSKI S: *Living Morphogenesis of the ventricles and their regional congenital pathology.* Cardiol Young 2001; 11: 588-600.
  49. ZHU L, BELMONT JW, WARE SM: *Genetics of human heterotaxias.* Eur J Hum Genet 2006; 14: 17-25.
  50. GEBBIA M, FERRERO GB, PILIA G, BASSI MT, AYL-SWORTH A, PENMAN-SPLITT M, ET AL: *X linked situs abnormalities result from mutations in ZIC3.* Nat Genet 1997; 17: 305-308.
  51. KOSAKI K, BASSI M, KOSAKI R, LEWIN M, BELMONT J, SCHAUER G, CASEY B: *Characterization and mutation analysis of human LEFTY A and LEFTY B, homologues of murine genes implicated in left-right axis development.* Am J Hum Genet 1999; 64: 712-721.
  52. BAMFORD RN, ROESSLER E, BURDINE RD, SAPLAKOGLU U, DE LA CRUZ J, SPLITT M, GOODSHIP JA, ET AL: *Loss-of-function mutations in the EGF-CFC gene CFC1 are associated with human left-right laterality defects.* Nat Genet 2000; 26: 365-369.
  53. KOSAKI R, GEBBIA M, KOSAKI K, LEWIN M, BOWERS P, TOWBIN JA, CASEY B: *Left-right axis malformations associated with mutations in ACVR2B, the gene for human activin receptor type IIB.* Am J Med Genet 1999; 82: 70-76.
  54. ROBINSON SW, MORRIS CD, GOLDMUNTZ E, RELLER MD, JONES MA, STEINER RD, ET AL: *Missense mutations in CRELD1 are associated with cardiac atrioventricular septal defects.* Am J Hum Genet 2003; 72: 1047-1052.
  55. WATANABE Y, BENSON DW, YANO S, AKAGI T, YOSHINO M, MURRAY JC: *Two novel frameshift mutations in NKX2.5 results in novel features including visceral inversus and sinus venosus type ASD.* J Med Genet 2002; 39: 807-811.
  56. ATTIE F, MUÑOZ-CASTELLANOS L, OVSEYEVITZ J, FLORES-DELGADO I, TESTELLI MR, BUENDIA A: *Crossed atrioventricular connections.* Am Heart J 1980; 99: 163-172.
  57. ANDERSON RH, SMITH A, WILKINSON JL: *Disharmony between atrioventricular connections and segmental combinations, unusual variants of "criss cross" hearts.* J Am Coll Cardiol 1987; 10: 1274-1277.
  58. DE LA CRUZ MV, GIMÉNEZ-RIBOTTA M, SARAVALLI O, CAYRÉ R: *The contribution of the inferior endo-*

- cardial cushion of the atrioventricular canal to cardiac septation and to the development.* Am J Anat 1983; 166: 63-72.
59. VAN MIEROP LHS, ALLEY RD, KAUSEL HW, STRANAHAN A: *The anatomy and embryology of endocardial cushion defects.* J Thorac Cardiovasc Surg 1962; 43: 71-83.
60. NETTER FH, VAN MIEROP LHS: *Embryology.* En: Netter FH, editor. CIBA Collection of Medical Illustrations. Ardsley, New Jersey: CIBA Pharmaceutical Co. 1969; 5: 119-25.
61. WALDO KL, KIRBY ML: *Cardiac neural crest contribution to the pulmonary artery and sixth aortic arch artery complex in chick embryos aged 6 to 18 days.* Anat Rec 1993; 237: 385-399.
62. KIRBY ML, WALDO KL: *Role of the neural crest in congenital heart disease.* Circulation 1990; 82: 332-340.

