

Índice de compactación cardíaca calculado en embriones humanos de los estadios 17 al 23 de Carnegie

MSc. Dra. Mirka Navas Contino¹✉, MSc. Dra. María A. Vila Bormey¹, Dr.C. Elibet Chávez González², Dra. María N. Martínez Lima¹, MSc. Dra. Belkis Alfonso Aguila¹ y Dra. Larissa Silverio Ruiz¹

¹ Departamento de Ciencias Morfológicas, Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
² Servicio de Estimulación Cardíaca y Electrofisiología, Cardiocentro Ernesto Che Guevara. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Full English text of this article is also available

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido: 4 de mayo de 2020
Aceptado: 18 de junio de 2020

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

RESUMEN

Introducción: Aún persisten controversias en los eventos de la morfogénesis cardiovascular y una ausencia, casi total, de parámetros morfométricos en las fases iniciales de su desarrollo.

Objetivos: Determinar la razón miocardio no compactado/miocardio compactado (NC/C) en ambos ventrículos y la evolución cronológica de esta razón en el período estudiado.

Método: Se realizó un estudio descriptivo, transversal, con 18 embriones humanos pertenecientes a la Embrioteca de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (Cuba) clasificados entre los estadios 17 y 23 de Carnegie. Se determinó el índice NC/C, el cual no es más que el cálculo matemático de la razón entre las porciones no compactada y compactada por espécimen y por estadios.

Resultados: Los resultados de la aplicación de este índice en el ventrículo derecho de los embriones son: 7,17; 4,26; 3,12; 2,79; 2,36; 2,84 y 2,10 en los estadios de Carnegie 17, 18, 19, 20, 21, 22 y 23, respectivamente. En estos mismos especímenes se obtuvo como resultado en el ventrículo izquierdo: 5,0; 3,80; 2,68; 2,18; 2,50; 2,01 y 1,56, igualmente organizado por estadios.

Conclusiones: Los índices NC/C obtenidos sustentan cuantitativamente que la compactación del miocardio ventricular avanza en los estadios evaluados; sus valores, mayores en el vértice, denotan que es posible que aún no haya concluido en esta zona.

Palabras clave: Embrión humano, Desarrollo embrionario y fetal, Compactación miocárdica, Morfometría, Índice de compactación

Cardiac compaction index calculated in human embryos of Carnegie stages 17-23

ABSTRACT

Introduction: Controversies still persist regarding the events of cardiovascular morphogenesis and an almost total absence of morphometric parameters in the initial phases of its development.

Objectives: To determine the non-compacted to compacted (NC/C) myocardium ratio in both ventricles and the chronological progression of this ratio in the period studied.

Method: A descriptive, cross-sectional study was carried out with 18 human embryos belonging to the Embryoteca of the Universidad de Ciencias Médicas de

✉ M Navas Contino
Universidad de Ciencias Médicas
Carretera Acueducto y Circunvalación. Santa Clara 50200.
Villa Clara, Cuba.
Correo electrónico:
revista.corsalud@gmail.com

Contribución de los autores

MNC y MAVB: Concepción y diseño de la investigación, recolección y análisis del dato primario, y confección del informe final.

ECG: Concepción y diseño de la investigación, revisión del informe final.

MNML, BAA y LSR: Búsqueda de información, recolección y análisis de dato primario.

Todos los autores revisaron críticamente el manuscrito y aprobaron el informe final.

Villa Clara (Cuba) classified between Carnegie stages 17 and 23. The NC/C ratio –which is simply the mathematical calculation of the ratio between the non-compacted and compacted portions per specimen and per stage– was determined.

Results: The application of this ratio in the right ventricle of the embryos obtained the following results: 7.17; 4.26; 3.12; 2.79; 2.36; 2.84 and 2.10 in Carnegie's stages 17, 18, 19, 20, 21, 22 and 23, respectively. In these same specimens, the left ventricle yielded the following results: 5.0; 3.80; 2.68; 2.18; 2.50; 2.01 and 1.56, also organized by stages.

Conclusions: NC/C ratios obtained quantitatively support a progression of the ventricular myocardial compaction in the evaluated stages; their higher values at the apex denote that it may still be incomplete in this zone.

Keywords: Human embryo, Embryonic and fetal development, Myocardial compaction, Morphometry, Compaction index

INTRODUCCIÓN

El corazón es la estructura anatómica cuyo estudio ha suscitado más interés en el campo de las ciencias médicas desde los albores de la humanidad, y si bien el estudio de su anatomía y desarrollo ha sido realizado por numerosos autores, aún persisten controversias en los eventos de su morfogénesis y una ausencia, casi total, de parámetros morfométricos en las fases iniciales de su desarrollo^{1,2}.

Luego de producirse el repliegue (*looping*) del tubo primitivo, al final de la cuarta semana de gestación, emergen las primeras trabeculaciones, comenzando por las capas internas del miocardio en el sector de su curvatura externa. Morfológicamente este evento involucra crecimiento diferencial, con mayor proliferación de los miocitos a lo largo de la curvatura externa con respecto a la interna^{3,4}. En las semanas siguientes se produce un crecimiento centrípeto de las trabeculaciones con un aumento de su superficie, lo que es fundamental para incrementar el área de intercambio gaseoso con la sangre dentro del tubo cardíaco y permitir un crecimiento de la masa miocárdica cuando todavía no existe un sistema de irrigación coronaria especializado⁵.

En las etapas iniciales del desarrollo embrionario el conjunto de células de la placa cardiogénica se transforma en un cúmulo de materia separada por recesos lacunares y sinusoidales, que confieren a la pared del corazón primigenio, de cinco semanas, una apariencia semejante a una esponja. Entre la quinta y la octava semana, el miocardio del embrión se engruesa y organiza a sí mismo, proceso conocido como trabeculación y compactación^{4,6}. La trabeculación hace referencia a proyecciones de tejido muscular a la luz ventricular, así la superficie interna deja de tener paredes lisas para convertirse en tra-

beculadas. A medida que aumentan las trabéculas musculares, el endocardio, originalmente simple, se introduce en los espacios que quedan entre ellas y las reviste. Las trabéculas, con una contractilidad y conducción coordinadas, estimulan el crecimiento de los ventrículos, desde el principio, sin necesidad de haberse formado la circulación coronaria^{7,8}.

La compactación hace referencia a la alineación de los miocitos desde una compresión aleatoria e imprecisa, tal como están en el miocardio inmaduro, hasta ramas de miocitos con una gran compresión y coordinación, que funcionan como una unidad en el miocardio maduro^{7,8}. El proceso de compactación permite que proliferen los tejidos de la capa externa de los ventrículos y provoca su crecimiento. La agrupación y compresión del trabeculado basal contribuye a aumentar el espesor de la capa compacta, que es más pronunciada en el ventrículo izquierdo. La proliferación de la capa miocárdica externa retiene su consolidación y puede extenderse considerablemente una vez que la circulación coronaria se establece. Los recesos lacunares o sinusoides se transforman en capilares intramiocárdicos, y la pared adquiere una mayor densidad⁹.

Este mecanismo parece también ser responsable de la formación del *septum* interventricular, el que aumenta gradualmente su espesor y asciende entre los ventrículos. Luego de completada la formación del tabique interventricular, ocurre la remodelación de los ventrículos: se comprime la capa compacta y aumenta el espesor y volumen de estos^{7,9}. Se ha establecido recientemente que la interacción entre el miocardio y endocardio, que lleva a la diferenciación de trabéculas y capas de miocardio, se controla por la vía de señalización NOTCH¹⁰. Este proceso de compactación cambia el mecanismo de nutrición celular desde la superficie endocárdica hacia un

sistema vascular especializado que proviene de los vasos epicárdicos y en su desarrollo, involucra a factores de crecimiento endotelial como neuregulinas y angiopoyetinas¹¹.

Las trabeculaciones son más gruesas en el ventrículo derecho, que conserva cierto grado de trabeculación, y son irrigadas por las coronarias, no por los sinusoides. Esta capa nunca excede la compacta en corazones normales¹². La falla en el transcurso de la compactación daría origen al ventrículo izquierdo no compactado, lo que explicaría su similitud con el corazón embrionario. El momento evolutivo en que se detiene el proceso determinará la gravedad del fenotipo resultante y el ápex es el sector más afectado por ser el último en compactarse¹³.

Este es uno de los eventos de la cardiogénesis menos referenciado, fenómeno por el cual se ultimán los detalles del miocardio ventricular y la circulación coronaria definitiva. Cuenta solo con referencias cualitativas desde 1975¹⁴, sin una descripción del proceso desde la perspectiva cuantitativa; sin embargo, su implicación patológica como ventrículo izquierdo no compactado, el cual se diagnostica mediante ecocardiografía, se hace a través de indicadores cuantitativos. Por estas razones, el objetivo de esta investigación ha sido determinar la razón miocardio no compactado/miocardio compactado (NC/C) en ambos ventrículos, y determinar la evolución cronológica de esta razón entre los estadios 17 y 23 de Carnegie.

MÉTODO

Se realizó una investigación descriptiva y transversal, en el período comprendido entre diciembre de 2016 a diciembre de 2018. Se estudiaron embriones pertenecientes a la Embrioteca de la Facultad de Medicina, en la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba.

Población

Embriones en estadios comprendidos entre las cinco y ocho semanas del desarrollo, donde está señalado que ocurre el proceso de compactación. Se procesaron mediante la técnica histológica de parafina y se clasificaron, según el sistema de estadios acorde a los criterios establecidos por el Instituto Carnegie¹⁵.

Muestra

La muestra quedó conformada por 18 embriones

correspondientes a las semanas siete y ocho del desarrollo, comprendidos entre los estadios 17 y 23 de Carnegie, en los que se garantizó una buena calidad en la imagen histológica del corazón: 9 fueron procesados en corte transversal e igual número en corte longitudinal.

Técnica

El estudio histológico secuencial plano a plano, de los cortes de las estructuras cardíacas de cada uno de los embriones se realizó mediante un microscopio óptico convencional OPTECH (aumento 4x). Del total de láminas por embrión se seleccionaron las correspondientes a cavidades ventriculares derecha e izquierda, las cuales fueron fotografiadas con una cámara Canon PowerShot G11, adaptada al ocular del microscopio óptico y, de estas, se seleccionaron las que permitieron una visualización íntegra y de mejor calidad para el estudio morfométrico.

Los datos morfométricos del corazón fueron obtenidos mediante el *software* ImageJ, diseñado originariamente por Wayne Rasband, del *National Institutes of Health* (NIH) de Estados Unidos. Se realizó la calibración del programa para obtener las medidas en micras (μm). Para ello se realizó un cambio de unidades de píxeles, que utiliza el ImageJ, a micras; y, posteriormente, a milímetros (mm).

Variables

Se analizaron 9 variables, 3 por cada una de las paredes del corazón evaluadas:

- Grosor de la pared lateral del ventrículo derecho (compacto, trabeculado y total)
- Grosor de la pared lateral del ventrículo izquierdo (compacto, trabeculado y total)
- Grosor de la pared del vértice de ventrículo izquierdo (compacto, trabeculado y total)

Las mediciones morfométricas se ejecutaron en todos los cortes del corazón donde se visualizaron las paredes ventriculares mencionadas (**Figura**). Se realizaron siete lecturas de cada variable a estudiar en cada uno de los cortes y se consideró la media aritmética de las medidas obtenidas por variable. En los estadios de Carnegie, representados por un sólo embrión, se consideraron los valores máximos de cada variable expresada en mm y en los estadios que había más de un espécimen, se consideró la media del conjunto de ellos, en mm.

Procesamiento estadístico

Se empleó el paquete estadístico SPSS para Win-

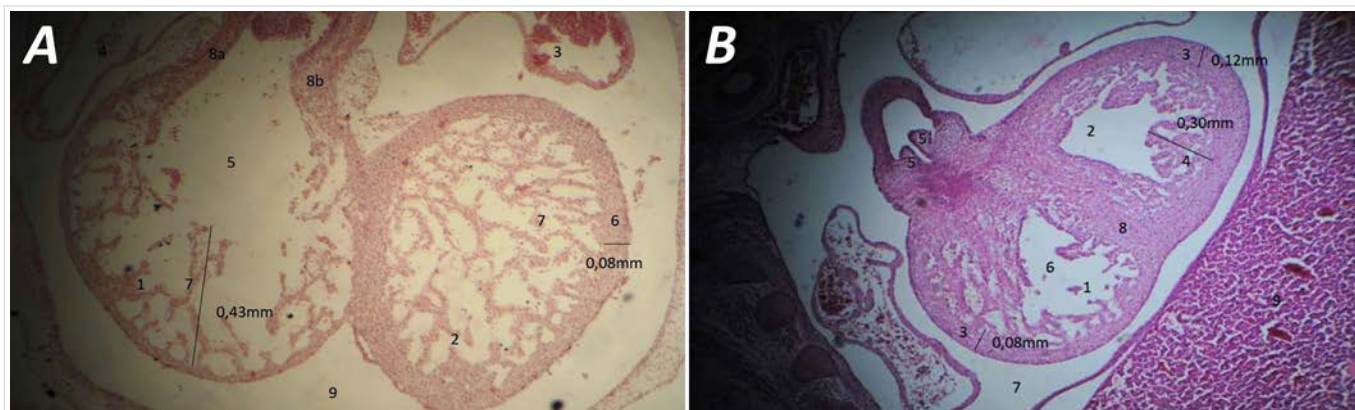


Figura. Microfotografías de cortes transversales del corazón de embriones humanos en el estadio 18 de Carnegie. **A.** Embrión M 57-16-T: 1- ventrículo derecho, 2- ventrículo izquierdo, 3- aurícula izquierda, 4- aurícula derecha, 5- cavidad ventricular derecha, 6- miocardio compacto, 7- miocardio trabeculado, 8- crestas infundibulares (a) derecha e (b) izquierda, 9- cavidad pericárdica. **B.** Embrión E-24: 1- ventrículo derecho, 2- ventrículo izquierdo, 3- miocardio compacto, 4- miocardio trabeculado, 5- esbozo de valvas semilunares aórticas, 6- cavidad ventricular derecha, 7- cavidad pericárdica, 8- septum interventricular, 9- hígado.

dows versión 20.0 y se aplicó la estadística descriptiva por espécimen, donde se asumió el valor máximo, y por estadios de Carnegie estos valores fueron promediados. Se calculó el índice NC/C, razón entre las porciones no compactada (trabeculada) y compactada, por espécimen y por estadios.

Ética

La investigación cuenta con los permisos del Comité de Ética de la Investigación de la Facultad de Medicina y de la Unidad de Investigaciones Biomédicas (UNIB) de la propia Universidad Médica de Villa Clara.

RESULTADOS

En un intento de aproximación al cálculo del índice NC/C que se realiza en el corazón adulto para detectar ventrículo izquierdo no compactado, se ejecutó

este mismo cálculo a partir de las medidas morfométricas obtenidas en los especímenes estudiados. Según la referencia del adulto, un valor mayor de 2,0 en vistas ecocardiográficas y de 2,3 en resonancia magnética, representa un miocardio ventricular no compactado^{10,18}.

Los resultados de la aplicación de este índice NC/C se muestran en la **tabla 1**, donde se aprecia que en el ventrículo derecho de estos embriones su resultado fue: 7,17; 4,26; 3,12; 2,79; 2,36; 2,84 y 2,10 según los estadios de Carnegie del 17 al 23, respectivamente, y en el ventrículo izquierdo de estos especímenes fue: 5,0; 3,80; 2,68; 2,18; 2,50; 2,01 y 1,56, organizado igualmente por estadios.

En la tabla se muestra, además, la aplicación de este índice de compactación a las variables morfométricas en el vértice cardíaco, con un resultado como sigue: 6,0 en el estadio 18; 4,80 en el estadio 19; 4,43 en el estadio 20; 3,52 en el estadio 22 y 2,96 en el estadio 23 de Carnegie.

Tabla 1. Aplicación del índice de compactación (no compacto/compacto) a las variables morfométricas estudiadas.

Índice de compactación	Estadios de Carnegie						
	E 17	E 18	E 19	E 20	E 21	E 22	E 23
Ventrículo derecho	7,17	4,26	3,12	2,79	2,36	2,84	2,10
Ventrículo izquierdo	5,0	3,80	2,68	2,18	2,50	2,01	1,56
Vértice	-	6,0	4,80	4,43	-	3,52	2,96

DISCUSIÓN

Una nueva forma de miocardiopatía es el ventrículo izquierdo no compactado, una alteración fascinante, que aunque antes se consideraba rara, actualmente es el tercer tipo de cardiopatía primaria más frecuente en edades pediátricas, con una prevalencia de 9,2% en niños. Se diagnostica con una frecuencia creciente, desde la edad fetal hasta la adultez y es más común en hombres, con una prevalencia variable entre el sexo masculino (0,015-0,25%) y el femenino (0,014-0,14%)¹⁶.

En la actualidad existen varios grupos de criterios para diagnosticar la enfermedad. Tienen, de forma general, algunos puntos en común y también diferencias relacionadas con los criterios de referencia. La ausencia de un verdadero criterio de referencia o *gold standard* (como un marcador genético confiable) hace engorrosa la distinción de cuáles son los criterios de mayor precisión diagnóstica. Algunos autores han llamado la atención sobre la pobre concordancia entre los distintos grupos de criterios y la tendencia al sobrediagnóstico de la enfermedad¹⁶.

Tres grupos de criterios son los tradicionalmente reconocidos, citados por varios autores (**Tabla 2**), según refieren Mérida Álvarez *et al.*¹⁸.

Existen diferencias entre los criterios diagnósticos enunciados y cada uno presenta sus limitaciones; sin embargo, los más ampliamente usados fueron publicados por Jenni y colaboradores (citado

por Mérida Álvarez *et al.*¹⁸) y están basados en medidas ecocardiográficas realizadas en adultos. Este criterio fue valioso para orientar el trabajo y al coincidir con las valoraciones emitidas por otros autores, se utilizó en este estudio. Se recomienda, de forma adicional, cuantificar el número de segmentos ventriculares no compactos y asignar a cada uno de ellos el respectivo valor del índice, lo cual probablemente tenga utilidad diagnóstica y pronóstica. Para ello se divide el ventrículo izquierdo en nueve segmentos; el ápex en su totalidad sería uno de ellos y las porciones medias y basales las dividen en cuatro segmentos cada uno: septal, anterior, lateral e inferior^{19,20}. En síntesis, pueden adoptarse muchos puntos de vista para el diagnóstico de la enfermedad, por lo que en esta investigación se consideró oportuno sumarse al parecer de algunos autores que expresan que para establecer el diagnóstico de miocardio no compactado deben cumplirse, de manera obligatoria, todos los criterios, con excepción de la hipoquinesia regional, pues la combinación de todos es altamente específica¹⁸⁻²⁰.

Estudios recientes han encontrado que la resonancia magnética tiene un poder superior a la ecocardiografía para definir la extensión de la alteración anatómica, por eso ha sido propuesto un nuevo criterio diagnóstico, que consiste en un cálculo del porcentaje de la masa ventricular correspondiente al estrato no compacto, si es >20% corresponde a un ventrículo izquierdo no compactado, con una sensibilidad de 78% y especificidad de 72%, pero su alto

Tabla 2. Criterios diagnósticos de ventrículo izquierdo no compactado citados por Mérida Álvarez *et al.*¹⁸.

Autores/Revista/Año	Criterio
Chin y colaboradores <i>Circulation</i> . 1990	<ul style="list-style-type: none"> • Índice $X/Y \leq 0,5$ (donde X representa el espesor del miocardio compacto y Y, el espesor de todo el miocardio desde epicardio hasta el vértice endocárdico de las trabéculas). • Incremento progresivo del espesor parietal (Y) y disminución progresiva del índice X/Y de la pared libre del ventrículo izquierdo desde los planos basales a los apicales. • Existencia de flujo entre las trabéculas, en el interior de los recesos miocárdicos o en el interior de la fina malla reticular.
Jenni y colaboradores <i>Heart</i> . 2001	<ul style="list-style-type: none"> • Índice $NC/C > 2$ (donde NC corresponde al miocardio no compactado, de mayor grosor, y C al miocardio compactado). Localización predominante en segmentos lateral medial, inferior medial y ápex.
Stöllberger y Finsterer <i>J Am Soc Echocardiogr</i> . 2004	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmación de 4 o más trabéculas en un mismo plano de imagen y que las mismas estén situadas apicalmente con relación a la inserción de los músculos papilares. • Las trabéculas deben tener la misma ecogenicidad del miocardio y su movimiento debe ser sincrónico con la pared del ventrículo.

costo hace que sea utilizada como herramienta de segunda línea, reservada para pacientes con dudas diagnósticas^{5,13,19}.

Otros autores proponen como criterio diagnóstico una relación NC/C > 2,3 en telediástole, que alcanza elevados valores de sensibilidad (86%), especificidad (99%), valores predictivos positivo (75%) y negativo (99%)^{5,8,9,21}. En un estudio realizado a 96 pacientes para detectar ventrículo izquierdo no compactado se le aplicó el índice NC/C, donde el valor medio fue de 2,46 contra 3,69 para los pacientes diagnosticados con ventrículo izquierdo no compactado y 1,54 para los normales^{5,20}.

Es relevante establecer el diagnóstico de ventrículo izquierdo no compactado porque tiene implicaciones pronósticas importantes y también requiere un manejo dirigido a complicaciones puntuales¹⁹. El ápex del ventrículo izquierdo y los segmentos medios inferiores, anteriores y laterales son los más frecuentemente involucrados. En general, existe una disminución global de la función sistólica del ventrículo izquierdo, con una fracción de eyección media entre 25-35%^{8,21}.

Según los valores reflejados al calcular el índice NC/C en el estudio de los embriones humanos, se aprecia que a medida que se avanza en el desarrollo embrionario estos valores disminuyen; o sea, en los embriones de estadios 17, 18 y 19 de Carnegie es mayor que en los que se encuentran en estadios del 20 al 23, y su valor se acerca a 2, de manera similar para ambos ventrículos.

Se observa también que en el estadio 23 de Carnegie el resultado del cálculo de este índice es ≤ 2 , lo que supone que en este estadio se ha concluido la compactación miocárdica en las paredes laterales de ambos ventrículos; no obstante, es importante señalar que los índices obtenidos en embriones pudieran no ser idénticos a aquellos obtenidos por otros autores, dado que han sido calculados en individuos adultos vivientes y a través de imágenes ecocardiográficas. A pesar de ello, es llamativa la semejanza del resultado obtenido, el que pudiera corroborarse con un estudio similar en semanas más avanzadas del desarrollo, ya en período fetal.

La aplicación de este índice en el vértice cardíaco refleja que el valor es mayor en los estadios 18 y 19 de Carnegie en relación con el 22 y el 23, cuando se acerca a 2, pero aun no llega a esta cifra en el estadio 23. Estos resultados sugieren que es probable que en la zona del ápex no haya terminado la compactación, tal y como se plantea en la literatura revisada, desde una perspectiva cualitativa, donde

se informa que el vértice es la última parte del miocardio en terminar este proceso, el cual culmina en la octava semana del desarrollo¹⁸⁻²¹.

Las series encontradas acerca de la aplicación de este índice fueron solo en adultos, no se ha descrito en embriones humanos, por lo que los resultados de este estudio pueden constituir un elemento a tener en consideración para realizar diagnósticos de esta enfermedad en etapas tempranas de la vida. Se requerirá de estudios con muestras mayores e incluir aquellas del período fetal, para determinar cuantitativamente, a través de este índice NC/C, si precisamente el proceso de compactación miocárdica en el vértice cardíaco culmina en el estadio 23 de Carnegie (semana 8 el desarrollo).

CONCLUSIONES

Los índices de miocardio no compactado/miocardio compactado obtenidos sustentan cuantitativamente que la compactación del miocardio ventricular avanza en los estadios de Carnegie evaluados, y que la presencia de mayores valores en el vértice apuntan a la posibilidad de que aún no haya concluido en esta zona en el estadio 23.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marantos Gamarra DG. Análisis descriptivo y morfométrico cardíaco en embriones humanos del estadio 16 de O'Rahilly [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid [Internet]; 2000 [citado 18 Abr 2020]. Disponible en: <http://www.ucm.es/BUCM/tesis/19972000/D/0/D0113801.pdf>
2. Sadler TW. Sistema cardiovascular. En: Langman. Embriología Médica. 13ª ed. Buenos Aires: Lippincott Williams & Wilkins; 2016. p. 175-191.
3. Paraskevas G, Koutsouflianiotis K, Iliou K. The first descriptions of various anatomical structures and embryological remnants of the heart: A systematic overview. *Int J Cardiol.* 2017;227:674-90.
4. Carlson BM. Sistema cardiovascular. En: Embriología humana y biología del desarrollo. 5ª ed. Madrid: Ediciones Harcourt; 2014. p. 397-443.
5. Arbustini E, Favalli V, Narula N, Serio A, Grasso M. Left Ventricular Noncompaction: A Distinct Genetic Cardiomyopathy? *J Am Coll Cardiol.* 2016; 68(9):949-66.
6. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Embriolo-

- gía clínica. 10ª ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
7. Gleason CA, Juul SE. Avery. Enfermedades del Recién Nacido. 10ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2019.
 8. Pellizzón OA, Gastaldi L, Bonelli JM, Catalano A, Tissera G, Watchsmuth C, *et al.* Trastornos del ritmo cardíaco en ventrículo izquierdo no compactado aislado. Breve revisión de la literatura a propósito de una casuística. *Rev Fed Arg Cardiol.* 2015;44(1):57-61.
 9. Arbustini E, Weidemann F, Hall JL. Left ventricular noncompaction: a distinct cardiomyopathy or a trait shared by different cardiac diseases? *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(17):1840-50.
 10. Luxán G, D'Amato G, de la Pompa JL. Intercellular Signaling in Cardiac Development and Disease: The NOTCH pathway. En: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H, eds. *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease: From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology.* Tokyo: Springer; 2016. p. 103-14.
 11. Núñez-Patiño R, Yepes N, Solorza-Kasperson M, Moreno F. Cardiogénesis: Bases estructurales y moleculares a partir del modelo de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus* [Internet]. 2017 [citado 18 Abr 2020];3(1):37-45. Disponible en: <https://revistas.javerianacali.edu.co/index.php/salutemscientiaspiritus/article/view/1679/pdf>
 12. Bernstein D. Desarrollo del corazón. En: Kliegman RM, Stanton B, St. Geme JW, Schor NF, eds. *Tratado de Pediatría.* 20ª ed. Barcelona: Elsevier; 2016. p. 2258-62.
 13. Towbin JA, Ballweg J, Johnson J. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy. En: Jefferies JL, Chang AC, Rossano JW, Shaddy RE, Towbin JA, eds. *Heart Failure in the Child and Young Adult: From Bench to Bedside.* London: Elsevier; 2018. p. 269-90.
 14. Brainerd Arey L. Anatomía del desarrollo. 3ª ed. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1975.
 15. Hill MA. *Embryology: Embryonic Development.* Sydney: The University of New South Wales [Internet]; 2020 [citado 22 Abr 2020]. Disponible en: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Embryonic_Development
 16. Jerez Castro AM, Echevarría Poymiró S, Guevara Mirabal G, Aleaga Castro E. Miocardiopatía por ventrículo no compactado. Acerca de evolución histórica, definiciones y generalidades del tema. *Rev Cuban Cardiol* [Internet]. 2015 [citado 27 Abr 2020];21(2):117-22. Disponible en: http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/586/pdf_11
 17. Catalán P, Salinas A, Baretino D. Ventrículo izquierdo hipertrabeculado o no compactado: ¿son necesarios nuevos criterios diagnósticos? *Rev Esp Cardiol.* 2010;63(4):472.
 18. Mérida Álvarez O, Valdés García M, Castro Arca AM, Prohías Martínez J, Sotto García Z. Dilemas actuales en el diagnóstico del ventrículo izquierdo no compacto. *Rev Fed Arg Cardiol* [Internet]. 2013 [citado 30 Abr 2020];42(4). Disponible en: https://www.fac.org.ar/archivo/1/revista/13v42n4/art_revis/revis02/alvarez.php
 19. Dorantes Sánchez M, Jerez Castro AM. Hechavarría Poymiró S. Ventrículo izquierdo no compacto: panorámica y arritmogenia. *CorSalud* [Internet]. 2018 [citado 30 Abr 2020];10(1):52-62. Disponible en: <http://www.revcorsalud.sld.cu/index.php/cors/article/view/292/626>
 20. Steffel J, Kobza R, Oechslin E, Jenni R, Duru F. Electrocardiographic characteristics at initial diagnosis in patients with isolated left ventricular noncompaction. *Am J Cardiol.* 2009;104(7):984-9.
 21. Weir-McCall JR, Yeap PM, Papagiorcopulo C, Fitzgerald K, Gandy SJ, Lambert M, *et al.* Left ventricular noncompaction: Anatomical phenotype or distinct cardiomyopathy? *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(20):2157-65.

Cardiac compaction index calculated in human embryos of Carnegie stages 17-23

Mirka Navas Contino¹  , MD, MSc; María A. Vila Bormey¹ , MD, MSc; Elibet Chávez González² , MD, PhD; María N. Martínez Lima¹ , MD; Belkis Alfonso Aguila¹ , MD, MSc; and Larissa Silverio Ruiz¹ , MD

¹ Department of Morphological Sciences, *Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara*. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

² Department of Cardiac Stimulation and Electrophysiology, *Cardiocentro Ernesto Che Guevara*. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

Este artículo también está disponible en español

ARTICLE INFORMATION

Received: May 4, 2020
Accepted: June 18, 2020

Competing interests

The authors declare no competing interests.

ABSTRACT

Introduction: Controversies still persist regarding the events of cardiovascular morphogenesis and an almost total absence of morphometric parameters in the initial phases of its development.

Objectives: To determine the non-compacted to compacted (NC/C) myocardium ratio in both ventricles and the chronological progression of this ratio in the period studied.

Method: A descriptive, cross-sectional study was carried out with 18 human embryos belonging to the Embryoteca of the Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (Cuba) classified between Carnegie stages 17 and 23. The NC/C ratio –which is simply the mathematical calculation of the ratio between the non-compacted and compacted portions per specimen and per stage– was determined.

Results: The application of this ratio in the right ventricle of the embryos obtained the following results: 7.17; 4.26; 3.12; 2.79; 2.36; 2.84 and 2.10 in Carnegie's stages 17, 18, 19, 20, 21, 22 and 23, respectively. In these same specimens, the left ventricle yielded the following results: 5.0; 3.80; 2.68; 2.18; 2.50; 2.01 and 1.56, also organized by stages.

Conclusions: NC/C ratios obtained quantitatively support a progression of the ventricular myocardial compaction in the evaluated stages; their higher values at the apex denote that it may still be incomplete in this zone.

Keywords: Human embryo, Embryonic and fetal development, Myocardial compaction, Morphometry, Compaction index

Índice de compactación cardíaca calculado en embriones humanos de los estadios 17 al 23 de Carnegie

RESUMEN

Introducción: Aún persisten controversias en los eventos de la morfogénesis cardiovascular y una ausencia, casi total, de parámetros morfométricos en las fases iniciales de su desarrollo.

Objetivos: Determinar la razón miocardio no compactado/miocardio compactado (NC/C) en ambos ventrículos y la evolución cronológica de esta razón en el período estudiado.

Método: Se realizó un estudio descriptivo, transversal, con 18 embriones huma-

✉ M Navas Contino
Universidad de Ciencias Médicas
Carretera Acueducto y Circunvalación. Santa Clara 50200.
Villa Clara, Cuba.
E-mail address:
revista.corsalud@gmail.com

Authors' contribution

MNC y MAVB: Idea and design of the research, raw data collection and analysis as well as manuscript writing and final report confection.

ECG: Idea and design of the research, final report review.

MNML, BAA y LSR: Information search, raw data collection and analysis.

All authors critically reviewed the manuscript and approved the final report.

nos pertenecientes a la Embrioteca de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (Cuba) clasificados entre los estadios 17 y 23 de Carnegie. Se determinó el índice NC/C, el cual no es más que el cálculo matemático de la razón entre las porciones no compactada y compactada por espécimen y por estadios.

Resultados: *Los resultados de la aplicación de este índice en el ventrículo derecho de los embriones son: 7,17; 4,26; 3,12; 2,79; 2,36; 2,84 y 2,10 en los estadios de Carnegie 17, 18, 19, 20, 21, 22 y 23, respectivamente. En estos mismos especímenes se obtuvo como resultado en el ventrículo izquierdo: 5,0; 3,80; 2,68; 2,18; 2,50; 2,01 y 1,56, igualmente organizado por estadios.*

Conclusiones: *Los índices NC/C obtenidos sustentan cuantitativamente que la compactación del miocardio ventricular avanza en los estadios evaluados; sus valores, mayores en el vértice, denotan que es posible que aún no haya concluido en esta zona.*

Palabras clave: *Embrión humano, Desarrollo embrionario y fetal, Compactación miocárdica, Morfometría, Índice de compactación*

INTRODUCTION

The heart is the anatomical structure whose study has aroused most interest in the field of medical sciences since the dawn of humankind and, although the study of its anatomy and development has been carried out by many authors, there is still controversy regarding the events of its morphogenesis as well as an almost total absence of morphometric parameters in the initial phases of its development^{1,2}.

After the looping of the primitive tube takes place, at the end of the fourth week of gestation, the first trabeculations emerge, starting by the inner layers of the myocardium in the sector of its outer curvature. Morphologically, this event involves differential growth, with greater proliferation of myocytes along the outer curvature with respect to the inner curvature^{3,4}. In the following weeks there is centripetal growth of the trabeculations with an increase in their surface area, which is fundamental to increase the area of gas exchange with the blood inside the cardiac tube as well as to allow a growth of the myocardial mass when there is still no specialized coronary irrigation system⁵.

In the early stages of embryonic development, the cellular pool of the cardiogenic plate becomes a matter accumulation separated by lacunar and sinusoidal recesses, which give the five-week-old primordial heart tube wall a sponge-like appearance. Between the fifth and the eighth week the embryonic myocardium thickens and organizes itself, a process known as trabeculation and compaction^{4,6}. Trabeculation refers to the projections of muscle tissue into the ventricular cavity, thus the inner surface stops having smooth walls and becomes trabeculated. As

muscle trabeculae increase, the endocardium, originally simple, is introduced into the spaces between them covering their surface. The trabeculae with coordinated contractility and conduction stimulate the ventricles growth from the beginning, without the need for the coronary circulation to have formed^{7,8}.

Compaction refers to the alignment of myocytes, from a random and imprecise compression as they are in the immature myocardium, to highly compressed and coordinated myocyte bundles that function as a unit in the mature myocardium^{7,8}. The compaction process allows the outer layer tissues of ventricles to proliferate and causes their growth. Grouping and compression of the basal trabeculae contributes to increase the thickness of the compacted layer, which is more pronounced in the left ventricle. Proliferation of the outer myocardial layer retains its consolidation and can extend considerably once the coronary circulation is established. The lacunar recesses (sinusoids) become intramyocardial capillaries, and the wall acquires a greater density⁹.

This mechanism also seems to be responsible for the formation of the interventricular septum, which gradually increases its thickness and rises between the ventricles. After the formation of the interventricular septum is completed, remodeling of the ventricles takes place: the compacted layer is compressed and the ventricles thickness and volume increases^{7,9}. It has recently been established that the interaction between the myocardium and the endocardium, which leads to the differentiation of trabeculae and myocardial layers, is controlled by the notch signaling pathway¹⁰. This compaction process shifts the mechanism of cell nutrition of the endo-

cardial surface to a specialized vascular system coming from the epicardial vessels and it involves in its development endothelial growth factors such as neuroregulins and angiopoietins¹¹.

Trabeculations are thicker in the right ventricle, which retains certain degree of trabeculation, and they are irrigated by the coronary arteries, not by the sinusoids. This layer never exceeds the compacted layer in normal hearts¹². Failure in the course of compaction would give rise to the non-compacted left ventricle, which would explain its similarity to the embryonic heart. The evolutionary moment at which the process stops will determine the severeness of the resulting phenotype and the apex is the most affected sector because it is the last one to compact¹³.

This is one of the less referenced events of cardiogenesis, a phenomenon due to which the details of the ventricular myocardium and the definitive coronary circulation are completed. It has only qualitative references since 1975¹⁴, without a description of the process from the quantitative perspective; however, its pathological implication as a non-compacted left ventricle, which is diagnosed through echocardiography, is done through quantitative indicators. For the aforementioned reasons, the aim of this research is to determine the non-compacted/ compacted (NC/C) myocardium ratio in both ventricles as well as to determine the chronological evolution of this ratio between Carnegie stages 17 and 23.

METHOD

A cross-sectional and descriptive research was carried out, in the period from December 2016 to December 2018. Embryos belonging to the Embryoteca of the Faculty of Medicine, from the *Universidad de Ciencias Médicas* of Villa Clara were studied.

Population

Embryos in stages between fifth and eighth weeks of development were included, where it is indicated that the compaction process takes place. They were processed through histological paraffin wax technique and they were classified according to the stages system corresponding to the criteria established by the Carnegie Institute¹⁵.

Sample

The sample consisted of 18 embryos corresponding to the seventh and eighth weeks of development,

between Carnegie stages 17 and 23, in which a good quality in the histological image of the heart was guaranteed: nine of them were cross-sectionally processed, and the same number of longitudinal slices was obtained.

Technique

The sequential plane-by-plane histological study of the cardiac slices of each embryo was performed using a conventional OPTECH optical microscope (4x magnification). Of the total number of slices per embryo, those corresponding to the right and left ventricular chambers were selected, which were photographed with a Canon PowerShot G11 camera, adapted to the eye piece of the optical microscope and, from these, those that allowed a complete and better quality visualization for the morphometric study were selected.

The morphometric data of the heart were obtained using the ImageJ software, originally designed by Wayne Rasband, of the National Institutes of Health (NIH) of the United States. The program was calibrated to obtain measurements in microns (μm). For this purpose, the units were changed from pixels, which ImageJ uses, to microns, and then to millimeters (mm).

Variables

Nine variables were analyzed, three for each of the assessed heart walls:

- Lateral wall thickness of the right ventricle (compacted, trabeculated and total).
- Lateral wall thickness of the left ventricle (compacted, trabeculated and total).
- Apex wall thickness of the left ventricle (compacted, trabeculated and total)

Morphometric measurements were performed in all heart slices where the aforementioned ventricular walls were visualized (**Figure**). Seven readings for each variable to be studied were taken in each of the slices and the arithmetic mean of the measurements obtained per variable was considered. In Carnegie stages, represented by only one embryo, the maximum values of each variable expressed in mm were considered and in the stages where there was more than one specimen, the mean of all of them, in mm, was considered.

Statistical processing

The statistical package for the social sciences (SPSS for Windows version 20.0) was used and the descrip-

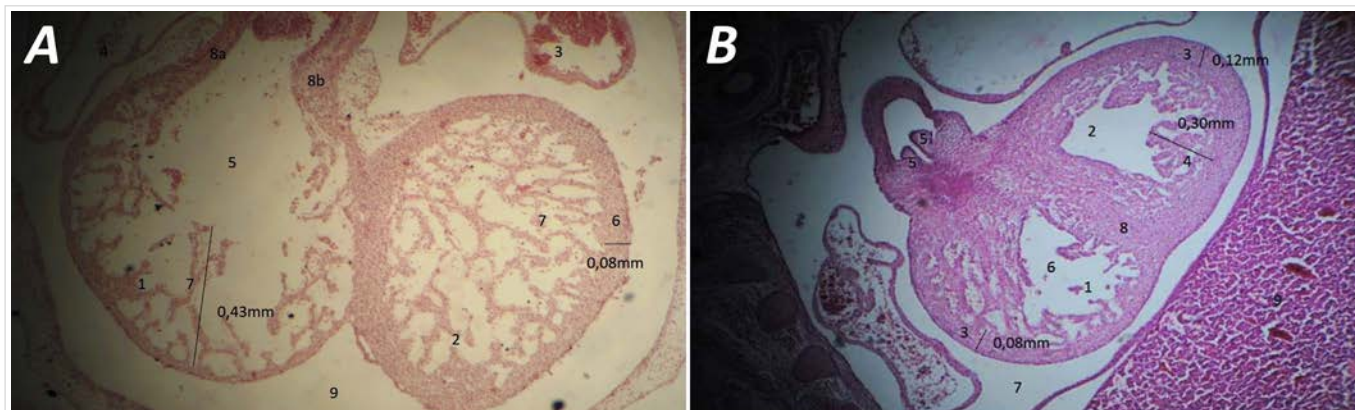


Figure. Photomicrographs of the human embryos heart slices at Carnegie stage 18. **A.** M 57-16-T Embryo: 1- right ventricle, 2- left ventricle, 3- left atrium, 4- right atrium, 5- right ventricular chamber, 6- compacted myocardium, 7- trabeculated myocardium, 8- infundibular ridges (a) right and (b) left, 9- pericardial cavity. **B.** E-24 Embryo: 1- right ventricle, 2- left ventricle, 3- compacted myocardium, 4- trabeculated myocardium, 5- outline of aortic semilunar leaflets, 6- right ventricular chamber, 7- pericardial cavity, 8- interventricular septum, 9- liver.

tive statistics per specimen was applied, where the maximum value was assumed, and these values were averaged by Carnegie stages. The NC/C index, ratio between non-compacted (trabeculated) and compacted portions, was calculated per specimen and per stage.

Ethic

The research has the permissions of the Research Ethics Committee of the Faculty of Medicine and the Biomedical Research Unit (BRU) of the *Universidad de Ciencias Médicas* of Villa Clara.

RESULTS

In an attempt to approximate the calculation of the NC/C index performed in the adult heart to detect non-compacted left ventricle, this same calculation

was performed from the morphometric measurements obtained in the studied specimens. According to the adult reference, a value greater than 2.0 in echocardiographic views and greater than 2.3 in magnetic resonance imaging represents a non-compacted ventricular myocardium^{10,18}.

The results of the application of this NC/C index are shown in **table 1**, where it can be seen that in the right ventricle of these embryos its result was: 7.17, 4.26, 3.12, 2.79, 2.36, 2.84 and 2.10 according to Carnegie stages 17 to 23, respectively, and in the left ventricle of these specimens it was: 5.0, 3.80, 2.68, 2.18, 2.50, 2.01 and 1.56, organized by stages as well.

The table also shows the application of this compaction index to the morphometric variable in the cardiac apex with the following result: 6.0 in the stage 18, 4.80 in the stage 19, 4.43 in the stage 20, 3.52 in the stage 22 and 2.96 in the stage 23 of Carnegie.

Table 1. Application of the compaction index (not compacted/compacted) to the studied morphometric variables.

Compaction index	Carnegie stages						
	S 17	S 18	S 19	S 20	S 21	S 22	S23
Right ventricle	7.17	4.26	3.12	2.79	2.36	2.84	2.10
Left ventricle	5.0	3.80	2.68	2.18	2.50	2.01	1.56
Apex	-	6.0	4.80	4.43	-	3.52	2.96

DISCUSSION

A new form of cardiomyopathy is the non-compacted left ventricle, an intriguing condition that, although previously considered rare, it is nowadays the third most frequent type of primary heart disease in the pediatric age group, with a prevalence of 9.2% in children. It is diagnosed with an increasing frequency from the fetal age to the adulthood and it is more common in males, with a variable prevalence between males (0.015-0.25%) and females (0.014-0.14%)¹⁶.

Nowadays there are several groups of criteria to diagnose the disease. Generally speaking, they have some points in common as well as some differences regarding the referral criteria. The absence of a true gold standard (such as a reliable genetic marker) makes it cumbersome to distinguish which criteria have the highest diagnostic accuracy. Some authors have drawn attention to the poor concordance between the different groups of criteria and the tendency to overdiagnose the disease¹⁶.

Three groups of criteria are traditionally recognized, quoted by several authors (**Table 2**), according to Mérida Álvarez *et al.*¹⁸.

There are differences between the listed diagnostic criteria and each of them has its limitations; however, the most widely used were published by Jenni and coworkers (quoted by Mérida Álvarez *et al.*¹⁸) and they are based on echocardiographic measurements performed in adults. This criterion

was valuable in guiding the work and, since it coincides with other authors' considerations, it was used in this study. It is also recommended to quantify the number of non-compacted ventricular segments and to assign the respective index value to each of them, which will probably have diagnostic and prognostic usefulness. For this purpose, the left ventricle is divided into nine segments; the entire apex would be one of them and the medial and basal portions are divided into four segments each: septal, anterior, lateral and inferior^{19,20}. In summary, many points of view can be adopted for the diagnosis of the disease, so in this research it was considered appropriate to join the opinion of some authors who express that, to establish the diagnosis of non-compacted myocardium, all criteria must be met, with the exception of regional hypokinesia, since the combination of all of them is highly specific¹⁸⁻²⁰.

Recent studies have found that magnetic resonance has a higher power than echocardiography when defining the extension of the anatomical disturbance, so a new diagnostic criterion has been proposed, which consists of a calculation of the ventricular mass percentage corresponding to the non-compacted layer, if it is >20% it corresponds to a non-compacted left ventricle, with a sensitivity of 78% and a specificity of 72%, but its high cost makes it used as a second-line tool, reserved for patients with diagnostic doubts^{5,13,19}.

Other authors propose as a diagnostic criterion an end-diastolic NC/C ratio > 2.3, which reaches high

Table 2. Diagnostic criteria for non-compacted left ventricle quoted by Mérida Álvarez *et al.*¹⁸.

Authors/Journal/Year	Criterion
Chin and coworkers <i>Circulation</i> . 1990	<ul style="list-style-type: none"> • X/Y index ≤ 0.5 (where X represents the thickness of the compacted myocardium and Y, the thickness of the entire myocardium from the epicardium to the endocardial apex of the trabeculae). • Progressive increase in wall thickness (Y) and progressive decrease in the X/Y ratio of the left ventricular free wall from the basal to the apical planes. • Existence of flow between the trabeculae, within the myocardial recesses or within the fine reticular meshwork.
Jenni and coworkers <i>Heart</i> . 2001	<ul style="list-style-type: none"> • NC/C index > 2 (where NC corresponds to the thicker non-compacted myocardium, and C to the compacted myocardium) Predominant location in medial lateral, inferior medial and apex segments.
Stöllberger & Finsterer <i>J Am Soc Echocardiogr</i> . 2004	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmation of four or more trabeculae in a same image plane and that they are located apically in relation to the insertion of papillary muscles. • The trabeculae must have the same echogenicity as the myocardium and their movement must be synchronic with the ventricular wall.

values of sensitivity (86%), specificity (99%), positive (75%) and negative (99%) predictive values^{5,8,9,21}. In a study performed to 96 patients to detect non-compacted left ventricle, the NC/C index was applied, where the mean value was 2.46 versus 3.69 for patients diagnosed with non-compacted left ventricle and 1.54 for normal patients^{5,20}.

It is relevant to establish the diagnosis of non-compacted left ventricle because it has important prognostic implications and it also requires a management directed to specific complications¹⁹. The apex of the left ventricle and the inferior, anterior and lateral mid segments are the most frequently involved ones. In general, there is a global decrease in left ventricular systolic function, with a mean ejection fraction between 25-35%^{8,21}.

According to the values reflected when calculating the NC/C index in the study of human embryos, it can be seen that as embryonic development progresses these values decrease; that is, in embryos of Carnegie stages 17, 18 and 19 it is greater than in those in stages from 20 to 23, and its value gets closer to two, in a similar way for both ventricles.

It is also observed that in Carnegie stage 23 the result of this index calculation is ≤ 2 , which implies that at this stage myocardial compaction in the lateral walls of both ventricles has been concluded; nevertheless, it is important to point out that the indexes obtained in embryos might not be identical to those obtained by other authors, given that they have been calculated in living adults and through echocardiographic images. In spite of this, the similarity of the obtained result is remarkable, which could be corroborated with a similar study in more advanced weeks of development, already in the fetal period.

The application of this index to the cardiac apex shows that the value is higher in Carnegie stages 18 and 19 in relation to 22 and 23, when it gets closer to two, but still does not reach this figure in stage 23. These results suggest that probably the apex area has not completed compaction, as suggested in the reviewed literature, from a qualitative perspective, where it is reported that the apex is the last part of the myocardium to complete this process, which ends in the eighth week of development^{18,21}.

The series found on the application of this index were only in adults; it has not been described in human embryos, so the results of this study may constitute an element to be taken into consideration when diagnosing this disease in early stages of life. In order to quantitatively determine, through this

NC/C index, whether the myocardial compaction process in the cardiac apex ends in the Carnegie stage 23 (eighth week of the development) further studies with larger samples will be required as well as including those of the fetal period.

CONCLUSIONS

The non-compacted/compacted myocardium indexes quantitatively obtained support that the compaction of the ventricular myocardium progresses in the evaluated Carnegie stages, and that the presence of higher values in the apex point to the possibility that it has not yet concluded in this area in stage 23.

REFERENCES

1. Marantos Gamarra DG. Análisis descriptivo y morfométrico cardíaco en embriones humanos del estadio 16 de O'Rahilly [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid [Internet]; 2000 [cited Abr 18, 2020]. Available at: <http://www.ucm.es/BUCM/tesis/19972000/D/0/D0113801.pdf>
2. Sadler TW. Sistema cardiovascular. En: Langman. Embriología Médica. 13ª ed. Buenos Aires: Lippincott Williams & Wilkins; 2016. p. 175-191.
3. Paraskevas G, Koutsouflianiotis K, Iliou K. The first descriptions of various anatomical structures and embryological remnants of the heart: A systematic overview. *Int J Cardiol.* 2017;227:674-90.
4. Carlson BM. Sistema cardiovascular. En: Embriología humana y biología del desarrollo. 5ª ed. Madrid: Ediciones Harcourt; 2014. p. 397-443.
5. Arbustini E, Favalli V, Narula N, Serio A, Grasso M. Left Ventricular Noncompaction: A Distinct Genetic Cardiomyopathy? *J Am Coll Cardiol.* 2016; 68(9):949-66.
6. Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Embriología clínica. 10ª ed. Barcelona: Elsevier; 2016.
7. Gleason CA, Juul SE. Avery. Enfermedades del Recién Nacido. 10ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2019.
8. Pellizzón OA, Gastaldi L, Bonelli JM, Catalano A, Tissera G, Watchsmuth C, et al. Trastornos del ritmo cardíaco en ventrículo izquierdo no compactado aislado. Breve revisión de la literatura a propósito de una casuística. *Rev Fed Arg Cardiol.* 2015;44(1):57-61.
9. Arbustini E, Weidemann F, Hall JL. Left ventricu-

- lar noncompaction: a distinct cardiomyopathy or a trait shared by different cardiac diseases? *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(17):1840-50.
10. Luxán G, D'Amato G, de la Pompa JL. Intercellular Signaling in Cardiac Development and Disease: The NOTCH pathway. En: Nakanishi T, Markwald RR, Baldwin HS, Keller BB, Srivastava D, Yamagishi H, eds. *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease: From Gene Function and Cellular Interaction to Morphology*. Tokyo: Springer; 2016. p. 103-14.
 11. Núñez-Patiño R, Yepes N, Solorza-Kasperson M, Moreno F. Cardiogénesis: Bases estructurales y moleculares a partir del modelo de rata Wistar. *Salutem Scientia Spiritus* [Internet]. 2017 [cited Abr 18, 2020];3(1):37-45. Available at: <https://revistas.javerianacali.edu.co/index.php/salutemscientiaspiritus/article/view/1679/pdf>
 12. Bernstein D. Desarrollo del corazón. En: Kliegman RM, Stanton B, St. Geme JW, Schor NF, eds. *Tratado de Pediatría*. 20^a ed. Barcelona: Elsevier; 2016. p. 2258-62.
 13. Towbin JA, Ballweg J, Johnson J. Left ventricular noncompaction cardiomyopathy. En: Jefferies JL, Chang AC, Rossano JW, Shaddy RE, Towbin JA, eds. *Heart Failure in the Child and Young Adult: From Bench to Bedside*. London: Elsevier; 2018. p. 269-90.
 14. Brainerd Arey L. *Anatomía del desarrollo*. 3^a ed. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1975.
 15. Hill MA. *Embryology: Embryonic Development*. Sydney: The University of New South Wales [Internet]; 2020 [cited Abr 22, 2020]. Available at: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Embryonic_Development
 16. Jerez Castro AM, Echevarría Poymiró S, Guevara Mirabal G, Aleaga Castro E. Miocardiopatía por ventrículo no compactado. Acerca de evolución histórica, definiciones y generalidades del tema. *Rev Cuban Cardiol* [Internet]. 2015 [cited Abr 27, 2020];21(2):117-22. Available at: http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/586/pdf_11
 17. Catalán P, Salinas A, Barettino D. Ventrículo izquierdo hipertrabeculado o no compactado: ¿son necesarios nuevos criterios diagnósticos? *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(4):472.
 18. Mérida Álvarez O, Valdés García M, Castro Arca AM, Prohías Martínez J, Sotto García Z. Dilemas actuales en el diagnóstico del ventrículo izquierdo no compacto. *Rev Fed Arg Cardiol* [Internet]. 2013 [cited Abr 30, 2020];42(4). Available at: https://www.fac.org.ar/archivo/1/revista/13v42n4/art_revis/revis02/alvarez.php
 19. Dorantes Sánchez M, Jerez Castro AM, Echevarría Poymiró S. Ventrículo izquierdo no compacto: panorámica y arritmogenia. *CorSalud* [Internet]. 2018 [cited Abr 30, 2020];10(1):52-62. Available at: <http://www.revcorsalud.sld.cu/index.php/cors/article/view/292/626>
 20. Steffel J, Kobza R, Oechslin E, Jenni R, Duru F. Electrocardiographic characteristics at initial diagnosis in patients with isolated left ventricular noncompaction. *Am J Cardiol*. 2009;104(7):984-9.
 21. Weir-McCall JR, Yeap PM, Papagiorcopulo C, Fitzgerald K, Gandy SJ, Lambert M, *et al*. Left ventricular noncompaction: Anatomical phenotype or distinct cardiomyopathy? *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(20):2157-65.