

Expertos Invitados

● CUANTIFICACION DE LA HEMORRAGIA FETO-MATERNA Y PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIEN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD RH (D)



Autor:

Javier Gómez-Arbonés

Columnista Experto de SIIC

Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor de Medicina, Director de la Unidad de Investigación Biomédica de Lleida. Facultad de Medicina, Universidad de Lleida

Institución:

Facultad de Medicina, Universidad de Lleida, Lleida, España

El paso transplacentario de hematíes fetales a la circulación materna puede ser causa de aloinmunización materna contra cualquier antígeno (Ag) fetal heredado del padre y ausente en los hematíes de la madre. La isoimmunización Rh(D) es aún la causa más grave de enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN); los casos de sensibilización a otros Ag eritrocitarios que requieren intervención médica antes del parto son escasísimos.

En las 2 últimas décadas ha disminuido mucho la incidencia de EHRN por isoimmunización Rh(D) gracias al uso generalizado de inmunoprofilaxis con gammaglobulina anti D. Los casos residuales se atribuyen a: no administración de gammaglobulina; administración de dosis insuficiente; inmunización anterior a las 28 semanas de edad gestacional (fecha habitual de administración de la 1ª dosis de inmunoprofilaxis); o transfusión previa a una mujer Rh(D) negativo, en edad fértil, de sangre Rh(D) positiva.¹ Las dosis recomendadas de gammaglobulina anti-D son diferentes en distintos países, y van desde 100 µg a 300 µg. En Europa, la pauta más extendida es la administración de una única dosis de 200-300 µg sin realizar cuantificación del volumen de la hemorragia feto- materna (HFM), a pesar de que se prevé que con esta pauta 0.3% de madres Rh(D) negativo se sensibilizarán al Ag D.² En algunos países, como Inglaterra, se administra una dosis de 100 µg que elimina 4 ml de hematíes fetales D positivo y se realiza sistemáticamente el test de Kleihauer para valorar la necesidad de dosis adicionales para prevenir inmunización. En España, la dosis habitual es de 300 µg, que resulta insuficiente para casos con un volumen de HFM superior a 15 ml y, por otro lado, excesiva en la mayoría de las pacientes. Esta estrategia supone un gasto innecesario de un producto escaso cuya única fuente de obtención hoy día es la inmunización de donantes Rh(D) negativo con hematíes Rh(D) positivo.

La administración de dosis ajustadas de gammaglobulina anti D se basa en la medición precisa del volumen de HFM, ya que una dosis de 100 µg de gammaglobulina anti D neutraliza 4 ml de hematíes fetales.

Tradicionalmente, se han aplicado diversas técnicas de detección de HFM de volúmenes importantes (superiores a 15 ml) basadas en la marcación del antígeno Rh(D), tales como la técnica de antiglobulina enzimática o el test de formación de rosetas. Estos procedimientos no han tenido un uso generalizado por su laboriosidad técnica.^{3,4} El test de Kleihauer, que se basa en la tinción de la hemoglobina fetal, resistente al pH ácido en contraposición con la del adulto, sigue siendo el más utilizado a pesar de sus limitaciones. Para obtener resultados fiables se precisa personal de laboratorio correctamente adiestrado y experimentado tanto en la realización de la técnica como en la interpretación de los resultados. Es una técnica difícil de estandarizar, subjetiva, poco reproducible y que proporciona resultados falsos positivos en situaciones que cursan con

aumento de hemoglobina fetal, tales como hemoglobinopatías o aumento fisiológico de Hb fetal observado en el embarazo.⁵⁻⁷ Recientemente, también se ha aplicado una técnica semicuantitativa de aglutinación en gel basada en el consumo de reactivo anti D por los hematíes fetales Rh(D) positivo. Esta técnica permite discriminar entre resultados negativos y la presencia de hematíes fetales en proporciones de 0.1%, 0.2% y =0.4%, pero debe complementarse con técnicas más precisas como la citometría de flujo para cuantificar volúmenes > 0.4% de hematíes fetales.⁸ La frecuencia esperada de hematíes fetales en la circulación materna en el embarazo no complicado es inferior al 0.1%. Para asegurar un conteo exacto a concentraciones tan bajas se precisan técnicas muy sensibles y precisas, que analicen gran número de células. La citometría de flujo es una técnica cuantitativa muy precisa por su capacidad para analizar poblaciones celulares individuales, y detecta poblaciones minoritarias en muestras heterogéneas. Se han descrito muy buenos resultados con diversas técnicas citométricas basadas en la marcación de Ag presentes en los hematíes fetales y ausentes en los hematíes de la madre: Ag D en incompatibilidad Rh(D) o en la marcación de hemoglobina fetal.⁹⁻¹³ La técnica citométrica basada en la tinción de la hemoglobina fetal es algo más laboriosa que la marcación del Ag D, ya que requiere pasos intermedios de fijación y permeabilización antes de la tinción. Permite aplicar la detección de hematíes fetales a diferentes situaciones clínicas y no condiciona su utilización a la incompatibilidad Rh(D). Tiene la ventaja adicional sobre el test de Kleihauer de no sólo detectar la presencia o ausencia de hemoglobina fetal sino cuantificar el contenido de ésta. Por tal razón, la técnica citométrica es capaz de diferenciar los hematíes fetales verdaderos de los hematíes con aumento del contenido en hemoglobina F que se observan en otras patologías como la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal o el aumento fisiológico de hemoglobina fetal en los hematíes maternos durante el embarazo. En estos procesos, en los que es menor la concentración eritrocitaria de hemoglobina fetal, la señal de fluorescencia emitida es menos intensa, quedando dicha población claramente diferenciada de la de los hematíes fetales.¹⁴⁻¹⁶ La técnica citométrica de tinción del Ag D supone una simplificación metodológica respecto a los tests tradicionales. En el método directo se utiliza un único reactivo anti D conjugado con un fluorocromo, mientras que en el indirecto se realiza una primera incubación de la muestra con reactivo anti D, seguido de la adición de un reactivo anti IgG conjugado con fluorocromo. Se puede aumentar la sensibilidad de la técnica añadiendo biotina-anti IgG humana y posteriormente estreptavidina-conjugada con un fluorocromo.¹⁷ El método directo es más sencillo, rápido y barato, si bien en los casos con antecedentes de gammaglobulina anti D, el bloqueo de Ag D por la inmunoglobulina administrada puede condicionar una señal fluorescente débil y dificultar la diferenciación de hematíes Rh(D) positivo y Rh(D) negativo.^{12,18} La tinción indirecta es más laboriosa, pero produce una señal de fluorescencia más intensa en los hematíes D positivo. La utilización de fragmentos Fab de anti IgG, en vez de la molécula completa, puede eliminar la aglutinación de hematíes D positivo observada en volúmenes importantes de HFM. Las células aglutinadas son detectadas por el citómetro como un único evento, condicionando cierta subestimación en el volumen de la HFM. Con volúmenes pequeños (< 5 ml) no se observan dichos aglutinados.¹⁸⁻²⁰ En el análisis citométrico, la población eritrocitaria a estudio es claramente identificable por la señal de dispersión de luz láser del citómetro. La interferencia en la cuantificación de la HFM por otras células (leucocitos o plaquetas) no es significativa. Por lo tanto, no es necesaria la selección positiva de los hematíes marcando Ag adicionales como glicoforina A, que encarece y hace más laboriosa la técnica. Por otro lado, la adquisición en escala logarítmica para la señal de dispersión de luz frontal (forward scatter) y lateral (side scatter) permite excluir los detritus de la ventana de adquisición de los hematíes. Se recomienda adquirir la señal de un mínimo de 50 000 hematíes para garantizar la cuantificación precisa en el rango de los volúmenes esperados.²¹ En nuestro laboratorio hemos aplicado varias técnicas citométricas para la cuantificación de la HFM.²² En cada tanda de trabajo se incluyen muestras como control negativo, y positivos en una proporción del 100%, 3% y 0.3% de hematíes fetales para ajustar los dinteles de identificación de éstos. Inicialmente, en 85 muestras aplicamos la técnica de tinción de hemoglobina fetal y en 35 de ellas con incompatibilidad Rh(D) se realizó además inmunofluorescencia indirecta para la marcación del Ag D. En 5 pacientes se detectó 0.1% de hematíes fetales (1.8 ml) y en otros 5 pacientes, 0.2% (3.6 ml), mientras que en las restantes no se detectó HFM. En las 35 muestras analizadas en paralelo, se obtuvo concordancia de los resultados de

los dos procedimientos en todas las muestras: 2 presentaron volúmenes de 0.1% de hematíes fetales, 1 paciente presentó un volumen de 0.2% y en las muestras restantes no se detectó HFM.

Posteriormente hemos aplicado la técnica de inmunofluorescencia directa de marcación del Ag D presente en los hematíes fetales D positivo y ausente en los hematíes de la madre Rh(D) negativo en muestras de puérperas con incompatibilidad Rh(D). Para ello hemos utilizado un conjugado FITC-BRAD-3.

De 274 muestras analizadas, en 255 (93%) el volumen de HFM fue muy pequeño, inferior a 4 ml; en 5 (1.8%) se detectaron volúmenes de 8 ml; y una paciente presentó un volumen de 17 ml.

Nuestros resultados concuerdan con los de otras series, que dan una frecuencia estimada de hematíes fetales en la circulación materna por debajo de 0.1% en el embarazo no complicado.

La señal fluorescente de la población minoritaria de hematíes fetales es claramente discriminadora de la población no fluorescente de hematíes del adulto; no fue necesaria la amplificación de la señal con un anticuerpo secundario, puesto que no hubo ninguna interpretación que resultara dudosa.

La técnica de inmunofluorescencia directa de tinción del Ag D es la que hemos adaptado para ser empleada de forma rutinaria por ser una técnica sencilla, precisa y rápida, que permite su aplicación para la profilaxis con dosis ajustadas de gammaglobulina anti D. En nuestra serie, la administración de una dosis de 100 µg para proteger, frente a una hemorragia feto-materna de 4 ml, habría resultado suficiente en el 97% de los casos; ello supone un ahorro importante en el consumo de gammaglobulina anti D. Solamente un caso presentó un volumen de hemorragia de 17 ml y precisó una dosis adicional de gammaglobulina anti D.

BIBLIOGRAFIA

1. Bowman J.M., Pollock J.M. Failures of intravenous Rh immune globulin prophylaxis: An analysis of the reasons for such failures. *Transfus Med Rev*, 1987; 1: 101-102
2. Committee for Proprietary Medicinal Products. Notes for guidance: core summary of product characteristics for human anti-D immunoglobulin. Brussels: Commission of European Communities, 1992(111(3463/92-EN)
3. Duguid J.K.M. and Bromilow I.M. Laboratory measurement of feto-maternal haemorrhage and its clinical relevance. *Transfusion Medicine Reviews*, 1999; 13: 43-48
4. Polesky H.F. and Sebring E.S. Evaluation of methods for detection and quantitation of foetal cells and their effect on Rh IgG usage. *Am J Clin Pathol*, 1981; 76: 525-529
5. Duguid J.K.M. et al. Kleihauer testing and Flow Cytometry. A Comparative study for Assessment of Feto-Maternal Haemorrhage. *Haematology*, 1996; 1: 79-83
6. Bayliss K.M., Kneek B.D., Johnson S.T. et al. Detecting feto-maternal haemorrhage: a comparison of five methods. *Transfusion* 1991; 31: 303-7
7. Clarke C.A., Prophylaxis of rhesus iso-immunization. *Br Med Bull*, 1968; 24: 3-9.
8. Salama A., David M., Wittman G. et al. Use of the gel agglutination technique for determination of feto-maternal haemorrhage. *Transfusion*, 1996; 38: 177-180
9. Bromilow I.M., Duguid J.K. Measurement of feto-maternal haemorrhage: a comparative study of three Kleihauer techniques and two flow cytometry methods. *Clin Lab Haematol*, 1997; 19: 137-142
10. Lloyd-Evans P, Kumpel B.M., Bromilow I. et al. Use of a directly conjugated monoclonal anti-D (BRAD-3) for quantitation of feto-maternal haemorrhage by flow cytometry. *Transfusion*, 1996; 36: 432-437
11. Davis B.H., Olsen S., Bigelow N.C., Chen J.C. Detection of foetal red cells in foeto-maternal haemorrhage using a foetal haemoglobin monoclonal antibody by flow cytometry. *Transfusion*, 1998; 38: 749-756
12. Nance S.J., Nelson J.M., Arndt P.A. et al. Quantitation of foetal-maternal haemorrhage by flow cytometry. A simple and accurate method. *Am J Clin Pathol*, 1989; 91: 288-292
13. Fong E. A., Davies J.I., Grey M.E., Reid P.J., Erber W.N. Detection of massive transplacental haemorrhage by flow cytometry. *Clin Lab Haem*, 2000; 22: 325-327
14. Nelson M., Zarkos K., Popp H. Et al. A Flow Cytometric equivalent of The Kleihauer test. *Vox Sanguinis*, 1998; 75: 234-241

15. Weaver D. L., Barthold J.C., Hamill B. et al. Hereditary persistence of foetal haemoglobin presenting as maternal-maternal haemorrhage. *Am J Pathol*, 1990; 93: 277-80
16. Campbell T. A., Ware R.E., Nason M. Detection of Hemoglobin variants in erythrocytes by Flow cytometry. *Cytometry*, 1999; 35: 242-248
17. Cupp J.E., Learn J.F., Cernichiari E. et al. Rare-event analysis methods for the detection of foetal red blood cells in maternal blood. *Cytometry*, 1984; 5: 138-144
18. Kumpel B.M. Labeling D+RBCs for flow cytometric quantification of fetomaternal hemorrhage after the RBCs have been coated with anti-D. *Transfusion*, 2001; 41: 1059-1063
19. Nelson M., Popp H., Horky K. et al. Development of a flow cytometric test for the detection of D-positive maternal cells after fetomaternal hemorrhage and a survey of the prevalence in D negative women. *Inmunohaematology*, 1994; 10: 55-59
20. Johnson P.R., Tait R.C., Austin E.B., et al. Flow cytometry in diagnosis and management of large fetomaternal haemorrhage. *J Clin Pathol*, 1995; 48: 1005-1008
21. Kumpel B.M. Analysis of factor affecting quantification of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry. *Transfusion*, 2000; 40: 1376-1383
22. Gomez-Arbones X. Pinacho A. Ortiz P. Macia J. Gallart M. Araguas C. Sanchez J.M. Teixido M. Quantification of fetomaternal haemorrhage. An analysis of two cytometric techniques and a semiquantitative gel agglutination test. *Clin Lab Haem*, 2002; 24: 47-53

ASOCIACION ENTRE TABAQUISMO PASIVO Y ASMA BRONQUIAL EN NIÑOS DE 2 A 14 AÑOS



Autor:

Olimpio Rodríguez Santos
Columnista Experto de SIIC

Especialista de I I Grado en Alergología. Investigador Agregado. Hospital Pediátrico Provincial "Eduardo Agramonte Piña", Camagüey, Cuba

Institución:

Hospital Pediátrico Provincial "Eduardo Agramonte Piña", Camagüey, Cuba

Introducción

El asma afecta a personas de todas las edades, y la causa principal es la enfermedad crónica en la infancia.¹ Se ha definido en términos fisiológicos como un estado de hiperrespuesta de las vías aéreas.² La hiperrespuesta se manifiesta como broncoconstricción después del ejercicio y la exposición natural a olores fuertes o humos irritantes tales como el dióxido de sulfuro, el humo del tabaco o el aire frío.¹

Entre los diversos factores desencadenantes o agravantes del asma, el tabaquismo ocupa un lugar preponderante. La aspiración del humo del cigarro altera los procesos de purificación pulmonar y provoca cambios de los espacios alveolares así como la destrucción de los tabiques alveolares. La transformación del epitelio mucoso (que cubre internamente los bronquios y los bronquiolos y convierte el tejido de cilindrocélular en planocelular) también contribuye a la aparición de células bronquiales atípicas, elevada secreción de flema, inflamación, hipertrofia de la musculatura lisa, estrechamiento y destrucción de las vías respiratorias menores, y alteraciones inmunológicas que reducen las funciones defensivas del organismo.³ Todas las funciones fisiológicas se encuentran significativamente disminuidas en los fumadores; su capacidad vital es de 400 a 600 ml menor que la no fumadores.

El asma bronquial aparece entre los fumadores como consecuencia de sensibilidad aumentada al tabaco, y durante ello desempeña un papel esencial el espasmo bronquial permanente, que se refuerza bajo la acción del humo.⁴ El humo puede separarse en una fase gaseosa y otra sólida o particulada.⁵ La fase particulada contiene nicotina, agua y alquitrán y la fase gaseosa, monóxido de carbono, anhídrido carbónico, óxidos de nitrógeno, amoníaco, nitrosaminas volátiles, cianuro de hidrógeno, alcoholes, aldehídos y cetonas.

La nicotina es el componente más importante por su gran cantidad de acciones farmacológicas complejas y marcada toxicidad. Una fracción significativa de nicotina inhalada es metabolizada en el pulmón. Los principales metabolitos de la nicotina son la

cotina y la nicotina-1-N-óxido, que se forman respectivamente por oxidación de I carbono alfa y por N-oxidación del anillo de pirrolidina. La excreción urinaria de cotina y la exposición al humo de tabaco ambiental se asocian con morbilidad pulmonar en niños con asma.^{6,7} Las madres que fuman durante el embarazo incrementan el riesgo de asma en sus hijos⁸ con significativo aumento de la concentración de IgE sérica en los recién nacidos.⁹ Estos niños, si siguen expuestos al humo del tabaco durante la primera infancia, manifiestan síntomas de asma en edades tempranas de la vida.

Por otro lado, la eficacia de las intervenciones para evitar el hábito de fumar durante el embarazo se evidencia en el menor riesgo de los niños de padecer la enfermedad.¹⁰ Los infantes que viven con padres fumadores presentan crisis recurrentes de asma con más frecuencia que los que conviven en un ambiente donde no se practica este hábito.¹¹⁻¹⁷ La cantidad de cigarrillos crece con el riesgo,^{18,19} y cuando los familiares dejan de fumar las crisis de los niños asmáticos que conviven en esos hogares se hacen menos severas y frecuentes.²⁰ En nuestro municipio, los niños fumadores pasivos conforman un grupo significativo. Ello provoca en la población de asmáticos elevado consumo de medicamentos y asistencia a los servicios de salud, lo cual constituye un serio problema en atención primaria. El presente trabajo tiene el objetivo de conocer la eventual asociación de este factor de riesgo con el asma bronquial.

Material y método

Se realizó un estudio de casos y controles en 200 niños asmáticos moderados y severos según consenso internacional,²¹ con edades comprendidas entre 2 y 14 años para un nivel de confianza del 95%. Eran residentes de la cabecera municipal de Camagüey y asistían regularmente a la consulta de Alergología de esta localidad. Se consideraron casos los asmáticos que en el período de un año habían tenido evolución inestable; y controles aquellos de evolución estable en el mismo período, acorde a definiciones operacionales establecidas. La muestra estuvo representada por 100 casos y 100 controles. Se administró una encuesta para la recolección de la información en ambos grupos. La cantidad de cigarrillos que se consumían diariamente en los hogares de fumadores se determinó según la escala:

- Menos de 20 cigarrillos
- De 20 a 40 cigarrillos
- Más de 40 cigarrillos

El parentesco del fumador activo con el niño asmático quedó establecido con el método siguiente:

- i. Madre fumadora
- ii. Padre fumador
- iii. Otro familiar fumador
- iv. Madre y padres fumadores
- v. Madre, padre y otros familiares fumadores

El número de ingresos hospitalarios durante el año que precedió a la ejecución del cuestionario fueron recuperados del registro de admisión y el archivo del hospital.

El consumo de broncodilatadores y esteroides se recogió de la historia clínica.

Definiciones operacionales

- **Inestables (casos)** . Asmáticos clasificados como moderados o severos que presentaron síntomas recurrentes de asma a pesar de haber cumplido con el tratamiento intercrisis
- **Estables (controles)** . Asmáticos clasificados como moderados o severos que no presentaron síntomas recurrentes de asma y cumplían el tratamiento intercrisis
- **Consumo de broncodilatadores.** Pacientes que consumían broncodilatadores de forma permanente y durante 6 o más meses en el año

- **No consumo de broncodilatadores.** Pacientes que consumían broncodilatadores de forma intermitente y durante menos de 6 meses en el año
- **Consumo de esteroides.** Pacientes que consumían corticosteroides sistémicos a diario o más frecuente de lo estipulado según consenso internacional para el tipo de asma
- **No consumo de esteroides.** Pacientes que no consumía corticosteroides sistémicos
- **Mala calidad de vida.** Todo paciente que presentaba la característica siguiente:
 - respuesta no óptima a la terapia del asma
 - dificultad para comer, dormir, caminar, hablar
 - usualmente agitado, confundido, somnoliento o con pérdida de la conciencia
 - aumento de la frecuencia respiratoria por encima de 40 por minuto
 - retracciones suprasternales torácico abdominales y movimiento paradójico por empleo de los músculos accesorios (escaleno y esternocleidomastoideo)
 - presencia de sibilancias o ausencia en paro respiratorio inminente
 - pulso por minuto mayor de 120 o bradicardia en paro respiratorio inminente
 - espiración con los labios fruncidos y aleteo nasal
 - cianosis, miosis, papiledema y alteraciones sensoriales
- **Buena calidad de vida.** Paciente activo en el ejercicio que tiene control de los síntomas, puede prevenir las exacerbaciones, no presenta reacciones adversas de los medicamentos y es capaz de dormir toda la noche

Resultados

Entre los 200 niños asmáticos había 124 del sexo masculino y 76 del femenino, de edades promedio 9.7 y 8.9 años, respectivamente. Presentaban asma moderada 154 y severa 46.

El consumo de broncodilatadores fue similar en los expuestos y en los no expuestos al humo del cigarro (razón de ventajas [RV] = 1.83; intervalo de confianza del 95% [IC 95%], 0.83-4.07). Sin embargo, el consumo de esteroides fue superior en los expuestos que en los no expuestos al factor de riesgo (RV = 9.61; IC 95%, 4.80-19.22).

La tabla 1 muestra que 72% de los niños con mala calidad de vida están expuestos al humo del tabaco ambiental, contra 12% de los que tienen buena calidad de vida (RV = 18.86; IC 95%, 8.96-39.70).

TABLA 1. Distribución de los niños asmáticos según exposición al humo del tabaco y repercusión en la calidad de vida.

Factor de riesgo	Mala calidad de vida	Buena calidad de vida
Expuestos	72	12
No expuestos	28	88

RV = 18.86
IC 95%: 8.96-39.70

Con relación a la asociación del factor de riesgo en los casos y controles, se observa en la tabla 2 que 72% de los primeros están expuestos al humo del tabaco contra 16% en los controles (RV = 13.50; IC 95%, 6.77-26.92).

TABLA 2. Distribución de los casos y controles según exposición al humo del tabaco.

Factor de riesgo	Casos	Controles
Expuestos	72	16
No expuestos	28	84

RV = 13.50
IC 95%: 6.77-26.92

La asociación entre el parentesco, cantidad de cigarrillos que se fumaban en el hogar durante el día y la exacerbación del asma bronquial en los niños se expresa en la tabla 3, donde se aprecia que cuando fumaba la madre, el padre y otro familiar el riesgo de asma era mayor (RV = 4.50; IC 95%, 2.46-8.23). También fue mayor el riesgo de exacerbación de las crisis en los niños que vivían en un hogar donde se fumaban más de 40 cigarrillos en el día (RV = 5.02; IC 95%, 2.72-9.28)

TABLA 3. Razones de ventaja de exacerbación del asma en niños de 2 a 14 años junto con su intervalo de confianza.

Factor de riesgo	Razón de ventaja	Intervalo de confianza 95%
Fuma la madre	3.50	1.95-6.29
Fuma la madre y el padre	4.27	2.34-7.78
Fuma la madre- padre y otro	4.50	2.46-8.23
Menos de 20 cigarros al día	3.19	1.78-5.69
Entre 20 y 40 cigarros al día	4.06	2.24-7.36
Más de 40 cigarros al día	5.02	2.72-9.28

Discusión

Un número cada vez mayor de infantes acude a las consultas por crisis recurrentes de asma bronquial, sin que los familiares se percatan de la relación que puede existir entre el tabaquismo del adulto y la enfermedad del niño. Justamente, la prevención de éste y otros factores de riesgo constituye la piedra angular del tratamiento de la enfermedad. Mucho se ha escrito sobre la influencia de los componentes del tabaco en los fumadores activos y en los pasivos. Chilmoney¹⁶ comunicó niveles de cotinina en orina de 5.6 ng en niños que no habían estado expuestos al humo del cigarro, y de 55.8 ng en los que habían estado expuestos.

En nuestra investigación se demuestra que los niños expuestos al humo del tabaco presentan mayor probabilidad de tener crisis de asma más graves y frecuentes que los no expuestos. Los resultados son congruentes con los obtenidos en investigaciones realizadas en la provincia Camagüey¹⁸ y con los informes de autores de otros países, que también encuentran una relación directamente proporcional entre la cantidad de cigarrillos consumidos en estos hogares y la mala calidad de vida de los pacientes.¹⁹ La relación se ha puesto de manifiesto, además, en investigaciones que muestran cómo el contacto directo de la madre y el niño hace más grave aún la relación entre el fumador pasivo niño y el fumador activo madre.²⁰ En conclusión, la cantidad de cigarrillos consumidos en el hogar y el número de fumadores que conviven con el niño demostraron guardar relación directa con el riesgo; es decir, su aumento conlleva incrementos en el riesgo para la salud del niño.

BIBLIOGRAFIA

- Behrman R.E, Kliegman R.M, Arvin A.M. Tratado de pediatría Nelson 15a edición Vol, 1. Madrid, Interamericana, 1997: 787 - 802.
- Lawlor GJ, Fischer TJ. Manual de alergia e inmunología. Diagnóstico y tratamiento 2da edición, Barcelona, Salvat, 1990: 139 - 201.
- Buttows. B. Et al: Quantitative relationships Between Cigarette Smoking and Ventilatory Funtion. Am Rev. Resp Dis 1977, 115: 195 - 205.
- Doll. R, Hill AB. Lung Cancer and other causes of death in relation to smoking: A second report on the mortality of british Doctor. Br Med. J. 1956, 2: 1071 - 81.
- Goodman G.A, Gooman LS, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica, tomado de la 6ta edición 1980. Ciudad de la Habana, Editorial Científico Técnica 1984: 554 - 57.
- Chilmoney BA. Association between exposure to environmental tobacco smoke and exacerbations of asthma in children N Engl. Med. 1993, 328 (23): 1665 - 9.
- Kuehr J, Frischer T, Karmaus W, Meinert R, Pracht, Lehnert W. Cotinine excretion as a predictor of peak flow variability. Am J respir crit care Med. 1998, 158 (1): 60 - 4.
- Hanrahan JP, Halonen M. Antenatal Interventions in childhood asthma. Evr Respir J Suppr 1998, 27: 46 - 51.
- Strchan DP, Cook DG, Health effects of passive smoking. Parental smoking and allergic sensitization in children. Thorax 1998, 53 (2): 117 - 23.

10. Peat J, Bjorksten B. Primary and secondary prevention of allergic asthma. *Eur Respir J. Suppl.* 1998, 27: 28 - 34.
11. Brigante E, Cirillo G, Aurelio G, Nocerinog; Carbone MT, de seta L. Recurrent asthmatic bronchitis in the first years of life: a 3 year followup *pediatr MedChir* 1998, 20 (3): 205 - 8.
12. Lundback B. Epidemiology of rhinitis and asthma, *clin exp allergy* 1998, 28 (suppl 2): 3 - 10.
13. Saradar Y, Sekerel BE, Kalaycio, cetinkaya F, Adalioglu G, Tuncer A, Tezcans. Prevalence of asthma symptoms in school children in Arkara, Turkey. *Respir Med* 1998, 92 (2): 203 - 7.
14. Esamaifo. Relationship between exposure to tobacco smoke and bronchial asthma in children: a review. *East Afr Med J* 1998, 75 (1): 47 - 50.
15. Knight JM, Eliopoulos C, Klein J, Greenwald M, Korens Pharmacokinetic. Predisposition to nicotine from environmental tobacco smoke: a risk factor for pediatric asthma. *J. Asthma* 1998, 35 (1): 113 - 7.
16. Gergen PJ, Fowler JA, Maurer KR, Davis WW, Overpeckmd. The burden of environmental tobacco smoke exposure on the respiratory health of children 2 months through 5 years of age in the united states: Third National Health and nutrition examination survey, 1998 to 1994. *Pediatrics* 1998, 101 (2): E 8.
17. Withers NJ, Low L, Holgate ST, Clough JB. The natural history of respiratory symptoms in a cohort of adolescents [see comments]. *Am J. Respir crit care Med.* 1998, 158 (20): 352 - 7.
18. Rodríguez SO, Ferrer RI, Quintana CE, Rodríguez GA. Influencia del tabaquismo en el asma bronquial de niños menores de 5 años. *Pediatría* 2000, 20 (4): 167 - 70.
19. Chen Y, Rennie DC, Rosman JA. Influence of environmental tobacco smoke on asthma in nonallergic and allergic children. *Epidemiology* 1996, 7 (50): 355 - 59.
20. Brand PL, Duiverman EJ. Coughing and wheezing children: improvement after parents stopsmoking. *Ned Tijdschr geneesk* 1998, 142 (15): 825 - 7.
21. National Heart, Lung and Blood Institutes, National Institutes of Health. Bethesda, Maxyland 20892, Publication No. 92 - 3091, March 1992. International consensus report on diagnosis and treatment of asthma. *Eur Respir J* 1992; 5:601 - 41.

● LIMITANDO CUIDADOS INTENSIVOS EN CRIANÇAS MUITO DOENTES SEM ESPERANÇA DE VIDA



Autor:

Paulo Roberto Antonacci Carvalho
Columnista Experto de SIIC

Pediatra Intensivista (Especialização: Terapia Intensiva
Pediátrica/Bioética) Assistente da UTI Pediátrica do Hospital de
Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Porto Alegre

Instituição:

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

Introdução

A idéia do trabalho seguiu-se a uma apresentação de estudo ocorrida nos EUA, por ocasião de encontro de terapia intensiva pediátrica no estado de Utah, em 1992, quando o Dr. JM Dean mostrou como morriam as crianças de sua UTIP naquela localidade. O estudo foi publicado no ano seguinte no *Critical Care Medicine*, sob o título «Modes of death in the pediatric intensive care unit: withdrawal and limitation of supportive care».¹ A primeira pergunta que nos intrigou foi: Como, modos de morte? Todos morrem de insuficiência de um ou vários sistemas orgânicos. Mas não era simplesmente causa de morte. Era o modo como os pacientes, pela "intervenção" ou pela "omissão" da equipe da UTI morriam ou eram deixados morrer. Para mim, era um novo enfoque da morte que ocorria na UTI. Caíam por terra conceitos mais ortodoxos aprendidos no curso médico de preservação da vida a qualquer custo.

Em 1993, quando se iniciava a publicação da Revista de Bioética, fomos convidados a escrever sobre o paciente terminal de UTI.² Buscávamos fontes de informação na literatura, sendo a maioria delas em periódicos norte-americanos. Não havia quase publicações sobre o tema no Brasil. Percebíamos que as diferenças culturais, as influências religiosas e as incertezas de ordem legal dificultavam a abordagem do

assunto sobre limitações terapêuticas no nosso meio, e possivelmente em toda a América Latina.

Mas a questão era: a dificuldade de abordagem ou de relato no enfoque da limitação terapêutica em pacientes com pouca ou nenhuma chance de sobrevivência nas UTIs ocorreria na prática do dia-a-dia das unidades no Brasil?

O desafio

Propusemos a realização de estudo retrospectivo na UTI Pediátrica onde desenvolvemos a nossa atividade docente-assistencial, no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), uma vez que entendíamos ser de boa qualidade o registro em prontuários na mesma. Pensamos fazê-lo primeiramente com o desenho retrospectivo, até porque a chance de viés de aferição com um desenho prospectivo seria muito grande.

O projeto foi enviado para o Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA com o título «Estudo retrospectivo sobre o modo de morrer de pacientes internados na UTIP do HCPA». Aquele comitê propôs a mudança para «modo de morte», sugerindo que a proposta seria mais compreensível. Respondemos, firmando posição em manter «modo de morrer», pois atenderia melhor a um dos objetivos do trabalho; que era «identificar o tipo de atendimento recebido pelos pacientes durante a morte na UTIP».

A proposta do estudo era a de revisar os prontuários de pacientes que tivessem morrido na UTIP no período de um ano, quando teríamos entre 50 e 60 pacientes. Nossa taxa de internação anual era de aproximadamente 450 pacientes e a taxa de mortalidade ficava em torno de 12%. Na realidade, em função dos óbitos ocorridos nas primeiras 24 horas de admissão e das exclusões por falta de informações, a nossa amostra ficou reduzida a 44 pacientes.

Elaboramos um instrumento de registro de dados e utilizamos uma classificação de modos de morrer que havia sido utilizada no estudo original de Vernon e cols. e de outros estudos da literatura.^{1,3-6} Então, testamos o instrumento de registro para avaliar o grau de dificuldade no levantamento dos dados necessários para a pesquisa.

Na avaliação do instrumento de registro de dados já observávamos que o registro das particularidades da morte de muitos pacientes não era claro. Tivemos que pesquisar dados de evolução, de prescrição e de registro de enfermagem, para juntos montar o cenário dos últimos dias ou horas dos pacientes que morreram na UTIP. Assim, por exemplo, na evolução de um determinado paciente estava registrado «paciente sofreu parada cardiorrespiratória na hora tal, tendo sido constatado o óbito»; na prescrição não aparecia registro de medicações usuais da ressuscitação cardiorrespiratória; no registro de enfermagem aparecia apenas o horário do óbito. A conclusão dos autores era a de que a equipe tinha uma orientação, não explícita ou registrada em prontuário, de não ressuscitação do paciente em caso de parada cardiorrespiratória.

Inclusive, os resultados preliminares do estudo foram divulgados na página eletrônica do Núcleo Interinstitucional de Bioética do HCPA (www.ufrgs.br/HCPA/gppg/bioetica.htm), no ano de 1998.⁷ Nessa publicação eletrônica, os autores discriminavam os modos de «não adoção» e de «retirada de medidas de suporte de vida» pesquisados no trabalho, ainda que não se detectasse com exatidão diferenças nessas tomadas de decisão por parte da equipe da UTIP, e o número de pacientes era reduzido para mostrar diferenças estatísticas.

Da mesma forma, os dados obtidos nos prontuários não nos permitiram tirar outras conclusões em relação à discussão e à tomada de decisão da equipe quanto à limitação terapêutica: quando ocorreu, de que forma ocorreu, quem da equipe participou, qual o conhecimento da família em relação à decisão e qual a participação da família nesse processo.

A realidade local

Os resultados dos modos de morrer obtidos no estudo, 41% dos pacientes com modos de morrer sugestivos de atitudes assistenciais limitadoras, de certa forma, surpreenderam a todos nós, porque mostravam que também no nosso meio ocorre a limitação terapêutica nas UTIs, embora isso não seja tacitamente reconhecido, pelas razões já referidas anteriormente. Começamos a nos perguntar se essa prática, apesar de ser éticamente sustentável, estaria sendo éticamente adotada. Se toda a equipe estaria participando do processo de tomada de decisão (consenso). Se a família também estaria tomando conhecimento desse processo (revelação).

Após redação do trabalho, ao qual demos o título «Identificando restrições nos cuidados intensivos em crianças sem esperança de vida», enviamos o mesmo para periódico

pediátrico conceituado no meio científico brasileiro. Após avaliação dos revisores, sem restrições, houve uma manifestação do seu conselho editorial no sentido de verificar se efetivamente os autores estariam dispostos a publicá-lo e arcar com as suas consequências, por se tratar de estudo muito polêmico. Frente a tal posicionamento, resolvemos cancelar a sua publicação e discutir mais cautelosamente as eventuais implicações de sua publicação.

Após exaustiva discussão, entendemos que a sua não divulgação apenas manteria o status de atitudes inadequadas e unilaterais em relação à prática da limitação terapêutica, que provavelmente ocorrem em muitas UTIs do nosso país.

Então, resolvemos apenas mudar o nome do estudo para «Modos de morrer na UTI Pediátrica de um hospital terciário», e optamos por publicá-lo na *Revista da Associação Médica Brasileira*, com maior abrangência no meio médico, e que avaliou o trabalho e publicou-o em tempo recorde (menos de 6 meses), sem objeções ou restrições.⁸

Mudança de atitude

Em relação à prática que o estudo revelou na nossa UTIP, fomos buscar apoio no Comitê de Bioética do HCPA, e durante mais de dois anos realizamos reuniões semanais dentro da UTIP, objetivando a discussão dos aspectos bioéticos que permeiam o atendimento dos pacientes criticamente doentes e o melhor manejo dos dilemas relacionados ao atendimento de pacientes em final de vida. Essa experiência motivou uma apresentação por ocasião do III Congresso Mundial de Terapia Intensiva Pediátrica, em Montreal (Canadá), em 2000.⁹ Percebemos um amadurecimento muito grande da equipe nos posicionamentos bioéticos com pacientes criticamente doentes. Na prática, passamos a realizar processos de tomada de decisão para limitação terapêutica com discussão em equipe e de forma consensual.

Passamos também a compartilhar com as famílias essas decisões médicas, respeitando muitas vezes a sua discordância na decisão proposta pela equipe. Da mesma forma, passamos a registrar as decisões na evolução de prontuário médico.

Tais atitudes resultaram no planejamento e realização de um segundo estudo, com o mesmo desenho do anterior, que está em andamento e que está avaliando os registros de pacientes que morreram na unidade durante o ano de 2002.

O crescimento da equipe e o nível das discussões sobre dilemas e conflitos na UTIP determinou também o interesse do Comitê de Bioética de participar mais proximamente das discussões de pacientes da UTIP. Hoje, alguns dos membros desse comitê participam dos rounds clínicos da UTIP, pelo menos uma vez na semana, resultando em contribuição mútua.

BIBLIOGRAFIA

1. Vernon DD et al. Modes of death in the pediatric intensive care unit: withdrawal and limitation of supportive care. *Crit Care Med* 1993; 21:1798-802.
2. Piva JP, Carvalho PRA. Considerações éticas nos cuidados médicos do paciente terminal. *Bioética* 1993; 1:129-38.
3. Prendergast TJ, Claessens MT, Luce JM. A national survey of end-of-life care for critically ill patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1163-7.
4. Jefferson LS, White BC, Louis PT, Brody BA, King DD, Roberts CE. Use of the natural death act in pediatric patients. *Crit Care Med* 1991; 19:901-5.
5. Koch KA, Rodeffer HD, Wears RL. Changing patterns of terminal care management in an intensive care unit. *Crit Care Med* 1994; 22:233-43.
6. Kjellstrand CM. Who should decide about your death? *JAMA* 1992; 267:103-4.
7. Goldim JR, Carvalho PRA. Os modos de morrer em Unidades de Tratamento Intensivo. Disponível em <http://www.ufrgs.br/HCPA/gppg/modo.htm>.
8. Carvalho PRA, Rocha TS, Santo AE, Lago P. Modos de morrer na UTI Pediátrica de um hospital terciário. *Rev Ass Med Brasil* 2001; 47:325-31.
9. Carvalho PRA, Trotta EA, Goldim JR. A new proposal for a bioethical approach to critically ill patients. *Pediatr Crit Care Med* 2000; 1[Suppl.]:78.

LA HETEROGENEIDAD MOLECULAR EN EL MIOCARDIO EN DESARROLLO Y SUS IMPLICACIONES EN LA FISIOPATOLOGIA CARDIACA



Autor:
Diego Franco
Columnista Experto de SIIC

Profesor Asociado en Biología Celular. Embriología Molecular, Cardiogénesis, Expresión y Regulación génica. Universidad de Jaén, Departamento de Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud

Institución:
Universidad de Jaén, Departamento de Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Jaén, España

La formación del corazón es un proceso complejo en el cual intervienen distintos tipos celulares (figura 1). En las primeras fases de desarrollo embrionario, dos regiones simétricas conspicuas del mesodermo se diferencian en tejido promiocárdico, expresando así una serie de factores de transcripción que invariablemente las convierten en miocardiocitos. Estas dos regiones promiocárdicas, denominadas crestas cardíacas, se fusionan en la línea media del embrión en desarrollo y dan lugar a un tubo cardíaco inicial, compuesto de dos capas; una capa interna de endocardio rodeada por una capa externa de miocardio. Entre estas dos capas se localiza una sustancia amorfa y acelular a modo de lámina basal denominada gelatina cardíaca.¹⁰

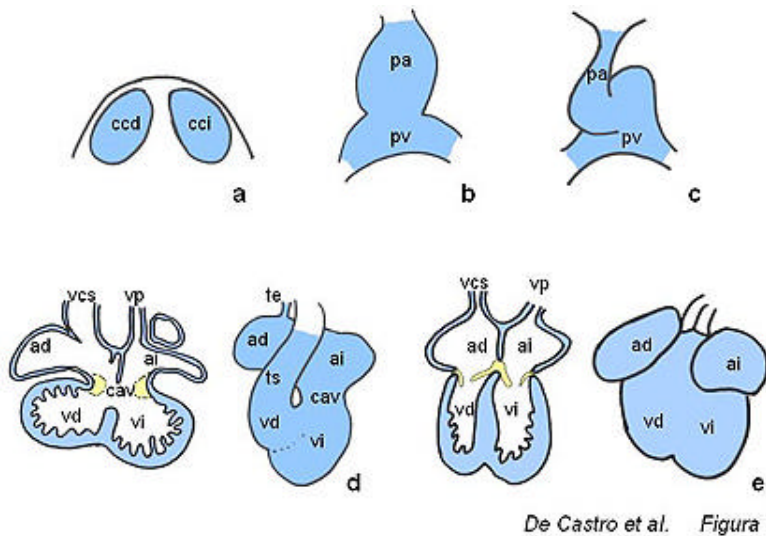
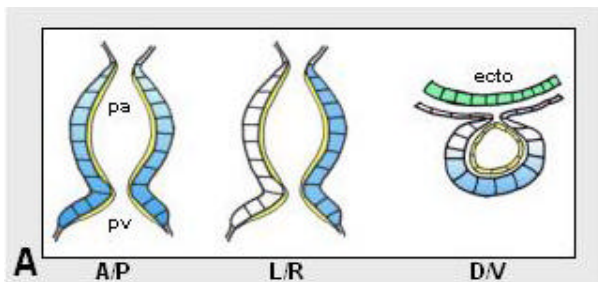


Figura 1. Esquema ilustrativo de las diferentes etapas del desarrollo cardíaco. **a**, crestas precardiáticas; **b**, tubo cardíaco inicial; **c**, asa cardíaca; **d**, corazón embrionario, en el cual se observa el inicio del proceso de septación de las cámaras atriales y ventriculares; **e**, corazón fetal, en el cual se observa que el proceso de septación se ha completado y las válvulas atrioventriculares se han desarrollado. **ad**, atrio derecho; **ai**, atrio izquierdo; **cav**, canal atrioventricular; **ccd**, cresta cardíaca derecha; **cci**, cresta cardíaca izquierda; **pa**, polo arterial; **pv**, polo venoso; **te**, tracto de entrada; **td**, tracto de salida; **vcs**, vena cava superior; **vp**, vena pulmonar; **vd**, ventrículo derecho; **vi**, ventrículo izquierdo.

Según se avanza en el desarrollo, el tubo cardíaco inicial se delamina del mesodermo dorsal y sufre invariablemente una torsión hacia la derecha. Es a partir de este estadio cuando las futuras regiones ventriculares y atriales empiezan a vislumbrarse a nivel morfológico, y como veremos más adelante también a nivel molecular. En este estadio embrionario se pueden distinguir cinco regiones claramente delimitadas: el tracto de entrada, las cámaras atriales, el canal atrioventricular, las cámaras ventriculares y el tracto de salida. Es también en este estadio cuando se empieza a observar los primeros signos de septación, dado que entre las cámaras atriales y ventriculares ya se empiezan a esbozar los futuros septos interatrial (septo interatrial primario) e interventricular (porción muscular), respectivamente. Curiosamente, existe una continuidad morfológica

entre las regiones del tracto de entrada, canal atrioventricular y tracto de salida a nivel de la curvatura interna, lo cual ha llevado a plantear la hipótesis de que la especificación molecular del miocardio atrial y ventricular acontece exclusivamente en las regiones de la curvatura externa.³ Finalmente cabe resaltar que una de las etapas decisivas durante la morfogénesis cardíaca es la formación y alineamiento de los distintos septos cardíacos, para generar así un órgano pulsátil con doble circuito sanguíneo. De este modo, el corazón embrionario sufre una tabicación del tracto de entrada, canal atrioventricular y tracto de salida que permite obtener entradas y salidas independientes a las cámaras atriales y ventriculares derecha e izquierda, respectivamente. En este estadio se configura también a nivel morfológico el sistema de conducción cardíaco, el cual permite que se produzca la contracción sincrónica y acompasada de las distintas cámaras cardíacas.⁹ En los últimos años hemos experimentado un gran avance en el conocimiento de los mecanismos moleculares que regulan la cardiogénesis. Hemos asistido al descubrimiento de un número importante de factores de transcripción específicos del miocardio, así como se ha establecido la amplia heterogeneidad en proteínas estructurales que subyace al miocardio en formación y que se mantiene en la mayoría de los casos en el corazón adulto.^{5,6,8} En esta revisión, queremos realizar un barrido por los distintos patrones de expresión que se observan en el miocardio en desarrollo, así como en el adulto, e ilustrar cuáles son las implicaciones que dicha heterogeneidad provoca en la práctica clínica. Para ello es importante resaltar cuáles son los mecanismos de especificación celular que acontecen durante el desarrollo. Las células de mesodermo en formación reciben señales de los tejidos contiguos en forma de factores de crecimiento secretados que, mediante la activación de receptores de membrana específicos, provocan directa o indirectamente que unos factores de transcripción se transcriban y por tanto sean activos. Estos factores de transcripción generan a su vez respuestas en el núcleo que conllevan a la síntesis de proteínas estructurales, tales como proteínas contráctiles, del citoesqueleto o reguladoras del impulso eléctrico. Así pues, la generación de distintos patrones de expresión de los factores de transcripción, proteínas contráctiles/citoesqueleto y proteínas reguladoras del impulso eléctrico es indicativa, respectivamente, de características morfogénicas, estructurales y funcionales del corazón en formación.

En los primeros estadios del desarrollo cardíaco, distintos factores de transcripción tales como MEF2C, Nkx2.5 y GATA4, entre otros, muestran un patrón de expresión homogéneo a lo largo del tubo cardíaco inicial.⁸ Otros factores de transcripción muestran sin embargo una regionalización en su expresión en los distintos ejes embrionarios; Tbx5 muestran un gradiente ántero- posterior,³ Hand2 (eHAND) muestra una expresión diferencial en el eje dorso- ventral¹ y Pitx2 se expresa exclusivamente en la región izquierda del eje derecha- izquierda.² Dentro de las proteínas estructurales, distintas proteínas sarcoméricas muestran diferencias en el eje ántero-posterior pero no hay evidencias de regionalización en el eje dorso-ventral. En el caso del eje derecha-izquierda, existe una proteína de la matriz extracelular, la flectina, que se expresa exclusivamente en la región izquierda.¹⁴ Por el contrario, no existen evidencias de expresión de ninguna de las proteínas involucradas en la generación o conducción del impulso eléctrico en este estadio (figura 2A).



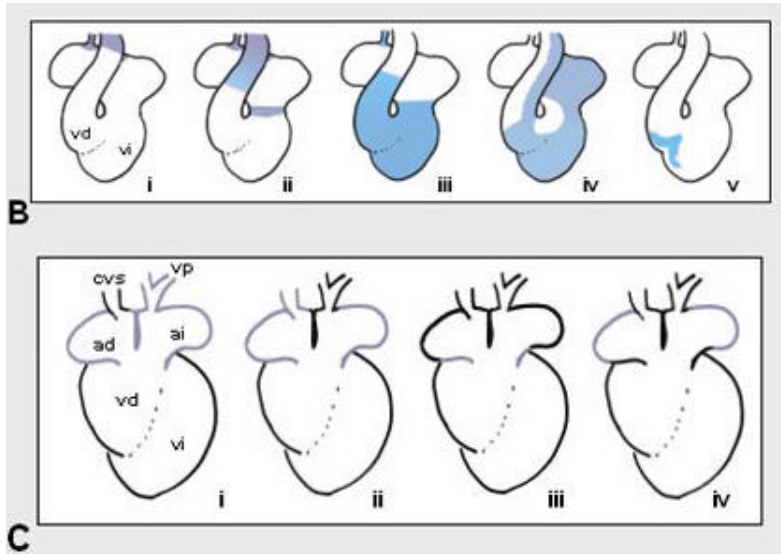


Figura 2. Esquemas representativos de los diferentes patrones de expresión en las distintas etapas del desarrollo cardíaco: **A**, etapa de tubo cardíaco inicial; **B**, etapa embrionaria; y **C**, etapa fetal/adulto. En la etapa de tubo cardíaco inicial (**A**) existe una regionalización en los tres ejes embrionarios. En el eje anteroposterior (**A/P**) muestran heterogeneidad en su expresión factores de transcripción tales como Tbx5 y proteínas sarcoméricas tales como α MHC y β MHC, así como proteínas involucradas en el metabolismo del calcio, tales como SERCA2a y fosfolamban (PBL). En el eje derecha/izquierda (**L/R**) muestran una expresión diferencial el factor de transcripción Pitx2 y la proteína extracelular flectina. En el eje dorso-ventral (**D/V**) sólo el factor de transcripción Hand2 muestra diferencias de expresión. En la etapa embrionaria (**B**) existe una mayor heterogeneidad en la expresión. Hay genes que muestran expresión sólo en las regiones de formación de miocardio (i; p.ej. GATA5 y GATA6), genes que muestran diferencias entre el miocardio primario y el miocardio de cámara (ii; SERCA2a, PLB, Tbx2, BMP2, BMP4, por mencionar algunos), genes que se expresan tan sólo en las cámaras atriales o en las ventriculares (iii; p. ej. α MHC, β MHC, MLC2a y MLC2v), genes que muestran expresión en el miocardio derivado de la cresta cardíaca izquierda (iv; Pitx2) o genes que parecen demarcar el futuro sistema de conducción ventricular (v; Irx2, Irx3 y Tbx3). Finalmente, en la etapa adulta, la heterogeneidad molecular parece restringirse al miocardio auricular puesto que el miocardio ventricular muestra sólo expresión en gradiente a lo largo de las paredes libres ventriculares. En el miocardio auricular existe heterogeneidad molecular entre el miocardio de las venas cavas (i), el miocardio mediastinal (ii), el miocardio derivado del canal atrioventricular embrionario (iii) y el miocardio de las aurículas propiamente dicho (iv).

En el estadio embrionario, la mayoría de los factores de transcripción muestran un patrón homogéneo, tales como los anteriormente mencionados y otros, tales como GATA5 y GATA6, solo se expresan en aquellas zonas donde se está produciendo aún el reclutamiento de nuevas células miocárdicas.¹² En este estadio existe un refinamiento de la diferenciación dorso-ventral de tal modo que algunos factores de transcripción delimitan las fronteras entre el miocardio primario y el miocardio específico de cámara (atrial y ventricular), como es el caso de Tbx2.¹⁰ A su vez aparecen las primeras diferencias de expresión entre el miocardio sistémico y pulmonar, ilustrados por Hand1 y Hand2.¹³ También aparecen los primeros signos de diferenciación del sistema ventricular de conducción, con la expresión de distintos factores de transcripción, Irx2, Irx3 y Tbx3, en las presuntas áreas de formación del fascículo de His y las ramas derecha e izquierda.⁴ Las diferencias en el eje derecha-izquierda siguen estando representadas por Pitx2, resaltado que dichas diferencias se mantiene como tales en las cámaras atriales pero son convertidas en diferencias dorso-ventral en las cámaras ventriculares.² Los patrones de expresión de las proteínas contráctiles refuerza la heterogeneidad molecular en el eje antero-posterior y en las regiones de miocardio primario/cámara (miosinas y actinas), así como en los recién creados compartimentos sistémico/pulmonar (miosinas).¹⁶ Dicha heterogeneidad en la expresión de proteínas contráctiles también se extiende al sistema ventricular de conducción cardíaca.

Las proteínas involucradas en la conducción cardíaca muestran diferencias entre las regiones de miocardio primario/cámara (conexinas),¹⁵ mientras que los distintos canales iónicos muestran el mismo tipo de patrón o bien se expresan de forma homogénea en el corazón embrionario (figura 2B).

En el estadio fetal, así como en el corazón adulto, las diferencias de expresión de los distintos factores de transcripción quedan refinadas al eje antero-posterior, es decir, entre las cámaras auriculares y ventriculares. Por otro lado, las diferencias de expresión dorso-ventral y derecha-izquierda se desvanecen. En definitiva, en los estadios adultos,

sólo un número reducido de factores de transcripción siguen expresándose de forma homogénea, tales como Nkx2.5, MEF2C y GATA4, mientras sólo unos pocos se expresan de forma heterogénea en el eje ántero-posterior, como por ejemplo Irx4 y Tbx5. La expresión de proteínas contráctiles sigue la misma tendencia que los factores de transcripción en lo que respecta al miocardio ventricular pero sin embargo se diversifica ampliamente en el miocardio auricular, dando lugar a la diferenciación de al menos cuatro dominios de expresión. Por otro lado, la expresión de canales iónicos es bien homogénea a lo largo del miocardio, tales como los canales de sodio, o muestran diferencias en el eje ántero-posterior, tales como las subunidades auxiliares de los canales de potasio IK,⁷ o bien presentan heterogeneidad entre el miocardio primitivo y el específico de cámara, tales como las subunidades auxiliares de los canales citoplasmáticos de calcio o distintas bombas de calcio mitocondriales (figura 2C). En esencia, se puede observar que el miocardio en formación es un tejido altamente dinámico que presenta alto grado de heterogeneidad en su expresión génica. Este dato es importante tenerlo en cuenta a la luz de la inminente aplicación de células pluripotentes embrionarias para la reparación del miocardio dañado. En segundo lugar, es importante destacar que dicha heterogeneidad se manifiesta también en el corazón adulto, y de una forma muy especial en las cámaras auriculares. Curiosamente, zonas discretas del miocardio auricular son frecuentemente puntos de reentrada de fibrilación auricular. Este perfil parece coincidir con la heterogeneidad molecular observada en las aurículas. Sería por tanto interesante ver si existe alteración de la expresión molecular en aquellos pacientes con predisposición a reentradas arritmogénicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Biben, C. and Harvey, R. P. Homeodomain factor Nkx2-5 controls left/right asymmetric expression of bHLH gene eHand during murine heart development. *Genes Dev.* 1997 Jun 1; 11(11):1357-69.
2. Campione, M.; Ros, M. A.; Icardo, J. M.; Piedra, E.; Christoffels, V. M.; Schweickert, A.; Blum, M.; Franco, D., and Moorman, A. F. Pitx2 expression defines a left cardiac lineage of cells: evidence for atrial and ventricular molecular isomerism in the iv/iv mice. *Dev Biol.* 2001 Mar 1; 231(1):252-64.
3. Christoffels, V. M.; Habets, P. E.; Franco, D.; Campione, M.; de Jong, F.; Lamers, W. H.; Bao, Z. Z.; Palmer, S.; Biben, C.; Harvey, R. P., and Moorman, A. F. Chamber formation and morphogenesis in the developing mammalian heart. *Dev Biol.* 2000 Jul 15; 223(2):266-78.
4. Christoffels, V. M.; Keijser, A. G.; Houweling, A. C.; Clout, D. E., and Moorman, A. F. Patterning the embryonic heart: identification of five mouse Iroquois homeobox genes in the developing heart. *Dev Biol.* 2000 Aug 15; 224(2):263-74.
5. Fishman, M. C. and Chien, K. R. Fashioning the vertebrate heart: earliest embryonic decisions. *Development.* 1997 Jun; 124(11):2099-117.
6. Franco, D.; Campione, M.; Kelly, R.; Zammit, P. S.; Buckingham, M.; Lamers, W. H., and Moorman, A. F. Multiple transcriptional domains, with distinct left and right components, in the atrial chambers of the developing heart. *Circ Res.* 2000 Nov 24; 87(11):984-91.
7. Franco, D.; Demolombe, S.; Kupersmidt, S.; Dumaine, R.; Dominguez, J. N.; Roden, D.; Antzelevitch, C.; Escande, D., and Moorman, A. F. Divergent expression of delayed rectifier K(+) channel subunits during mouse heart development. *Cardiovasc Res.* 2001 Oct; 52(1):65-75.
8. Franco, D.; Dominguez, J.; de Castro Md Mdel, P., and Aranega, A. [Regulation of myocardial gene expression during heart development]. *Rev Esp Cardiol.* 2002 Feb; 55(2):167-84.
9. Franco, D. and Icardo, J. M. Molecular characterization of the ventricular conduction system in the developing mouse heart: topographical correlation in normal and congenitally malformed hearts. *Cardiovasc Res.* 2001 Feb 1; 49(2):417-29.
10. Franco, D.; Markman, M. M.; Wagenaar, G. T.; Ya, J.; Lamers, W. H., and Moorman, A. F. Myosin light chain 2a and 2v identifies the embryonic outflow tract myocardium in the developing rodent heart. *Anat Rec.* 1999 Jan; 254(1):135-46.
11. Habets, P. E.; Moorman, A. F.; Clout, D. E.; van Roon, M. A.; Lingbeek, M.; van Lohuizen, M.; Campione, M., and Christoffels, V. M. Cooperative action of Tbx2 and Nkx2.5 inhibits ANF expression in the atrioventricular canal: implications for cardiac chamber formation. *Genes Dev.* 2002 May 15; 16(10):1234-46.
12. Morrisey, E. E.; Tang, Z.; Sigrist, K.; Lu, M. M.; Jiang, F.; Ip, H. S., and Parmacek, M. S. GATA6 regulates HNF4 and is required for differentiation of visceral endoderm in the mouse embryo. *Genes Dev.* 1998 Nov 15; 12(22):3579-90.

13. Thomas, T.; Yamagishi, H.; Overbeek, P. A.; Olson, E. N., and Srivastava, D. The bHLH factors, dHAND and eHAND, specify pulmonary and systemic cardiac ventricles independent of left-right sidedness. *Dev Biol.* 1998 Apr 15; 196(2):228-36.
14. Tsuda, T.; Philp, N.; Zile, M. H., and Linask, K. K. Left-right asymmetric localization of flectin in the extracellular matrix during heart looping. *Dev Biol.* 1996 Jan 10; 173(1): 39-50.
15. Van Kempen, M. J.; Vermeulen, J. L.; Moorman, A. F.; Gros, D.; Paul, D. L., and Lamers, W. H. Developmental changes of connexin40 and connexin43 mRNA distribution patterns in the rat heart. *Cardiovasc Res.* 1996 Nov; 32(5):886-900.
16. Zammit, P. S.; Kelly, R. G.; Franco, D.; Brown, N.; Moorman, A. F., and Buckingham, M. E. Suppression of atrial myosin gene expression occurs independently in the left and right ventricles of the developing mouse heart. *Dev Dyn.* 2000 Jan; 217(1):75-85.

Trabajos Distinguidos, Serie Pediatría,
integra el Programa SIIC de Educación Médica Continuada