

Osificación endocondral en el esqueleto apendicular embrionario y fetal humano en la altura - (3.600 m.)

*Patricia Cubillo de Trigo *Roxana Miranda de Escobar
**Teresa Chavarría de Serrano

*Departamento de Embriología - IBBA

**Departamento de Patología Facultad de Medicina - U.M.S.A.

ABSTRACT

We studied human embryos and fetuses histologically in order to analyze and compare the endochondral ossification process at high altitude and sea level. We used histochemical and histological techniques of the universal type and found differences in the beginning of the embryonic ages of chondrogenesis and endochondral ossification and a delay in the appearance both processes at high altitude.

We found similarity in the histogenesis and osteogenesis of the appendicular skeleton compared with the same gestation ages at sea level.

RESUMEN

Se analizaron histológicamente embriones y fetos humanos con el objeto de estudiar y comparar el proceso de osificación endocondral en la altura y a nivel del mar. Las técnicas histológicas e histoquímicas utilizadas son las de tipo universal, determinándose diferencias en las edades embrionarias de inicio de la osificación endocondral de la condrogénesis, referente a un retardo en la aparición de ambos procesos en la altura.

Se encontró semejanza en la histogénesis y osteogénesis ósea comparándolo con similares edades de gestación a nivel del mar.

INTRODUCCION

La osificación fetal humana, es un proceso complejo que requiere amplia investigación y cuyo análisis histológico es dificultoso y complejo.

A pesar de ello, es de interés para la Embriología e Histología, estudiar este proceso en la altura, debi-

do a que solo se conocen sus características a nivel del mar. (1).

Muchos investigadores se han abocado solamente al estudio y descripción del esqueleto adulto, pero ha faltado el área de desarrollo y formación embrionaria en la gestación humana en la altura.

Por ello consideramos muy importante el estudio de la embriogénesis e histogénesis del esqueleto apendicular en un ambiente de altura, como es la ciudad de La Paz (3.600 m).

Se analizó en el presente trabajo solamente la osificación endocondral del esqueleto apendicular humano y en una segunda etapa, se estudiará la osificación membranosa del mismo, para complementar la investigación en esta área de la Biología de Altura.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron 7 embriones y 25 fetos humanos de diferentes edades, (a partir de 4 semanas), obtenidos en el Hospital de Clínicas de la ciudad de La Paz, (Sección Maternidad).

Este material correspondió a abortos espontáneos, razón por la cual, en su mayoría se obtuvieron en condiciones adecuadas para el análisis histológico.

Las muestras se fijaron en Formol al 10% y los cortes histológicos de 7u y 10u, tanto sagitales, longitudinales y transversales para la observación microscópica del tejido a estudiar.

Las técnicas histoquímicas utilizadas fueron: Método corriente (Hematoxilina-eosina); Azul de Metileno; Azul de Alcian y P.A.S. - Schiff (Tricrómico).

Una vez procesada y teñida la muestra histológica, se procedió a su observación y análisis microscópico.

RESULTADOS

En las primeras etapas del desarrollo, los huesos de los miembros superior e inferior, vértebras y costillas se presentan, como condensaciones mesenquimáticas o "blastemas" alrededor de la sexta semana de gestación, período que se aproxima al de embriones a nivel del mar.

La condricación del blastema se observó alrededor de la séptima semana del desarrollo; y, en la octava semana, el inicio de la osificación de los modelos cartilagosos de los huesos largos de los esbozos de miembros superiores e inferiores. (Fig. 2).

También en este período, se observa la aparición de cartílago en costillas y vértebras, tomándose como modelo de estudio y análisis los esbozos de miembros debido a la claridad y amplitud de sus estructuras facilitando la observación microscópica (4).

Tanto la condricación como la osificación, comienzan en la zona apical del embrión. En el caso de los miembros primero en los superiores y posteriormente en los inferiores, lo que coincide con el gradiente céfalo-caudal de desarrollo del embrión humano. (Fig. 1).

En base al modelo cartilaginoso se forma el hueso definitivo y el proceso de osificación continuará durante la vida post-natal.

Para nuestro estudio histológico analizamos la osificación en el esbozo de los brazos y piernas del embrión (Fig. 1.b).

Etapa cartilaginosa

El inicio de este período se observó en embriones de 6 a 7 semanas aproximadamente. Aparecen zonas de cartílago hialino que progresan en el mesénquima a medida que se desarrolla el esbozo apendicular.

Se observa la existencia de condroblastos alojados en los condroplastos y condrocitos maduros rodeados de sustancia fundamental hialina, teñida de azul por el colorante azul de Alcian y esbozándose la cápsula del condroplasto y el área territorial. Existen

también condrocitos algo retraídos en la laguna cartilaginosa y el pericondrio se encuentra intensamente teñido y algo engrosado debido a la actividad desplegada por las células condroblásticas. (Foto 1).

Este mismo fenómeno se observa en todos los esbozos cartilagosos del futuro esqueleto apendicular (miembros, costillas, vértebras, cinturas escapular y pélvica, excepto la clavícula). (6).

Etapa ósea

Comienza alrededor de la 8a. semana de desarrollo embrionario, con la aparición de centros de osificación en la zona media del modelo cartilaginoso. Este se encuentra cubierto por el pericondrio y luego crece en longitud en forma intersticial y en anchura por crecimiento aposicional.

El primer indicio de osificación aparece en el centro del modelo cartilaginoso (diáfisis), donde los condrocitos aumentan de tamaño (hipertrofia) y presentan acúmulos del glicógeno y fosfatasa alcalina (Foto 1). La matriz cartilaginosa comienza a calcificarse, lo cual impide la nutrición de los condrocitos, por lo tanto el cartílago en esta zona comienza a degenerar.

El cartílago una vez que se calcifica, comienza a desintegrarse dejando cavidades irregulares en la zona central del modelo y trabéculas de cartílago calcificado en disposición transversal y longitudinal. (En relación al eje mayor de la pieza ósea en formación).

En este mismo período, al analizar la zona pericondral, se observó que éste aumenta su vascularización y su capa celular interna diferencia osteoblastos y no condroblastos, lo cual dá lugar a que esta capa se transforme en periostio.

Esto trae como consecuencia la formación de tejido óseo alrededor del cartílago, de consistencia delgada y que sirve de refuerzo externo al cartílago que se ha ido desintegrando (Foto 3.)

En un período inmediato posterior se observó que células mesenquimáticas, capilares sanguíneos, osteoblastos (células formadoras de hueso) y osteoclastos (células responsables de la resorción ósea), desarrollados en el periostio del modelo, migran hacia el centro y forman el botón perióstico. (Fig. 3c). Estos elementos celulares que alcanzan la parte media de la pieza cartilaginosa en degeneración forman un "centro de osificación primario" que posteriormente constituirá la médula ósea primitiva. (Fig. 3D; Foto 3). Los osteoblastos del centro de osificación se ubican alrededor de las trabéculas cartilagosas calcificadas, depositan matriz ósea y se transforman en osteocitos al quedar incluidos en ella. Luego, se sigue oponiendo tejido óseo en forma de trabéculas no-laminilares (Fotos 2 y 4).

Se pudo establecer que una vez formado el centro de osificación diafisario, los extremos del modelo cartilaginosa siguen creciendo en longitud mediante un mecanismo intersticial, en el cual los condrocitos

se disponen en filas, separados por delgados tabiques de matriz cartilaginosa (Foto 5b).

Los condrocitos vecinos al centro de osificación primaria se hipertrofian, producen fosfatasa alcalina y se calcifica la matriz cartilaginosa, en consecuencia, los condrocitos mueren, el tejido osteógeno invade el área de cartilago muerto y los osteoblastos forman trabéculas óseas con un núcleo de cartilago calcificado. De esta forma, se va extendiendo el proceso de osificación diafisario hacia los extremos del modelo cartilaginoso. (Fig. 3E).

En esta área en proceso de osificación endocondral que limita con el cartilago hialino de los extremos, se puede distinguir varias zonas:

- a) Limitando con los extremos del modelo, una zona de reposo con cartilago hialino de aspecto normal.
- b) Una zona proliferativa, con condrocitos pequeños, aplanados dispuestos en columnas (grupos isógenos axiales) paralelas al eje mayor cartilaginoso.
- c) Una zona de hipertrofia; donde las células cartilaginosas aumentan de tamaño (cartilago hipertrófico) y la matriz cartilaginosa se adelgaza (Foto 5a).
- d) Una zona de calcificación, donde los condrocitos hipertrofiados producen la calcificación de la matriz cartilaginosa. (7)
- e) Una zona de degeneración y muerte cartilaginosa

donde la matriz se desintegra y quedan solo delgados tabiques calcificados entre las columnas celulares. (Foto 5b) (8).

- f) Una zona de osificación en la cual el tejido osteógeno penetra en los huesos de cartilago en degeneración y los osteoblastos se ubican en las zonas calcificadas y comienzan a formar trabéculas óseas inmaduras.
- g) A medida que avanza el proceso de osificación hacia los extremos del modelo cartilaginoso, se va produciendo la reabsorción de las trabéculas óseas inmaduras, formadas hacia la parte de la diáfisis.

Cuando se reabsorbe el área de hueso inmaduro, se forma médula ósea que quedará rodeada de hueso periosteal que se formó paralelamente a la osificación endocondral. (Foto 3).

Los centros diafisarios de osificación primaria del esqueleto apendicular se determinaron en los fetos humanos aproximadamente a los tres meses de gestación.

Los centros epifisarios de osificación son objetos de este trabajo, ya que aparecen en el período postnatal, (Centros secundarios de osificación).

Posteriormente, no todo el cartilago será reemplazado por hueso, queda una zona entre la epífisis y la diáfisis, llamado "disco apifisario", que permitirá el crecimiento posterior del hueso. (Fig. 3E) (9-10).

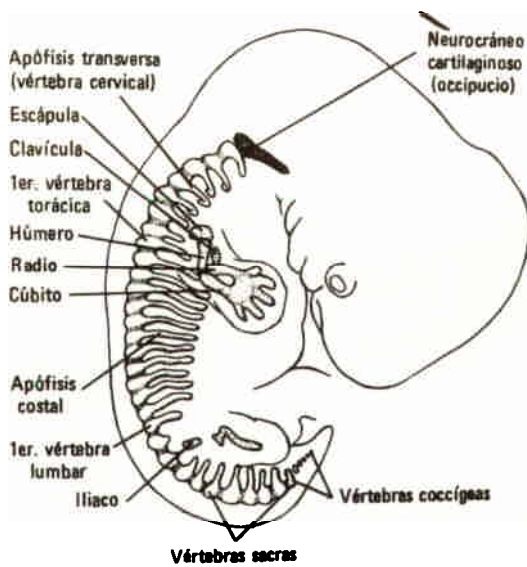


Fig. 1a) Esqueleto cartilaginoso de un embrión humano de aproximadamente 40 días. (Del libro Embriología Humana F.D. Allan (2)).

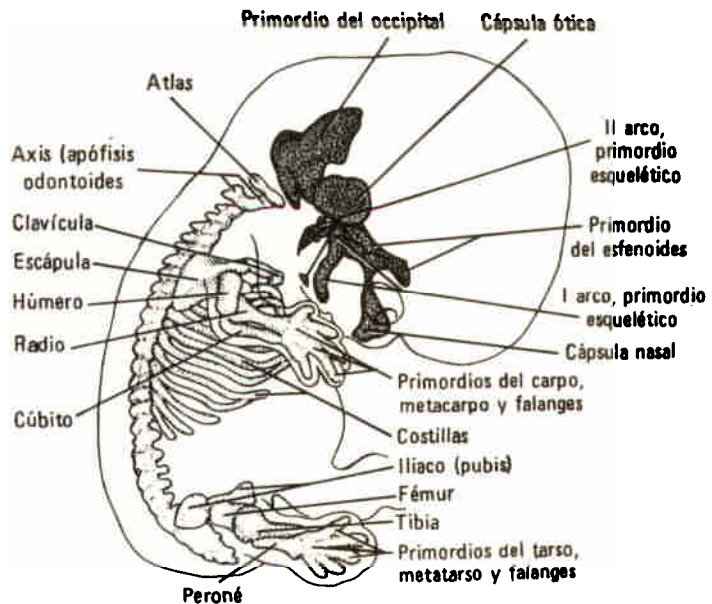


Fig. 1b) Esqueleto cartilaginoso de un embrión de aproximadamente 45 días. (Del libro Embriología Humana F.D. Allan (2)).

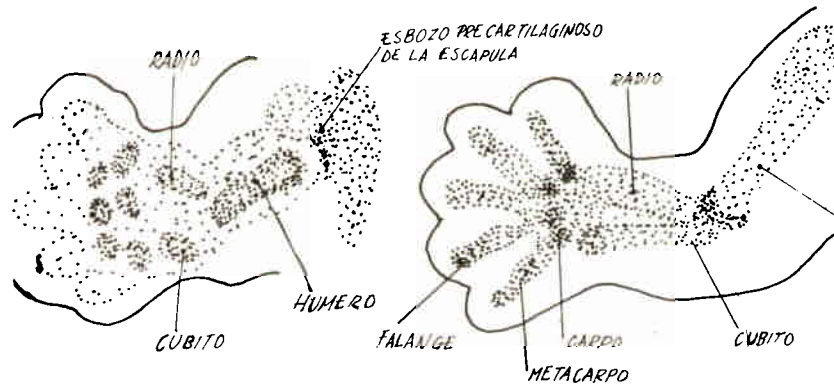


Fig. 2) Estados iniciales en el desarrollo del esqueleto de los miembros (Anterior y Posterior).
 (Punteado fino: blastemas mesenquimáticos)
 (Punteado grueso: cartilago)
 (Del libro Embriología Humana B.L. Patten) (5)

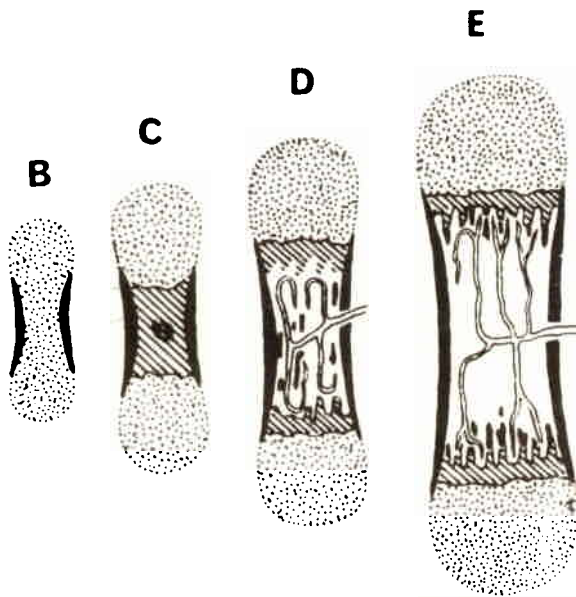
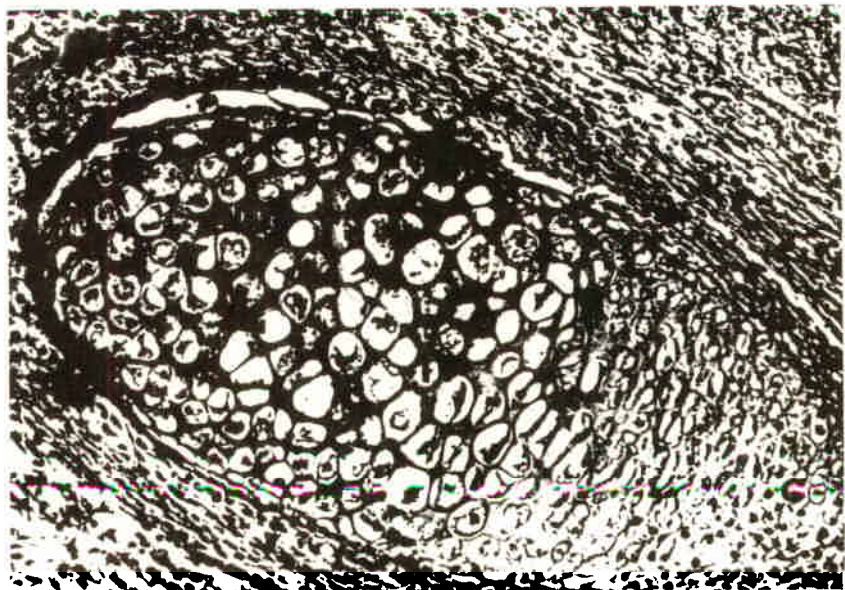


Fig. 3) Esquema del desarrollo de hueso largo.
 (Zona punteada: cartilago normal, zona achurada: cartilago modificado, zonas negras: tejido óseo). (Del libro Histología General C. Mery) (3)

Foto 1) Etapa inicial de osificación endocondral y periostal (x100).
 Cartilago hialino = (c). Condrocitos hipertrofiados = (h). Matriz cartilaginosa calcificada = (u). Osificación periostal (op).



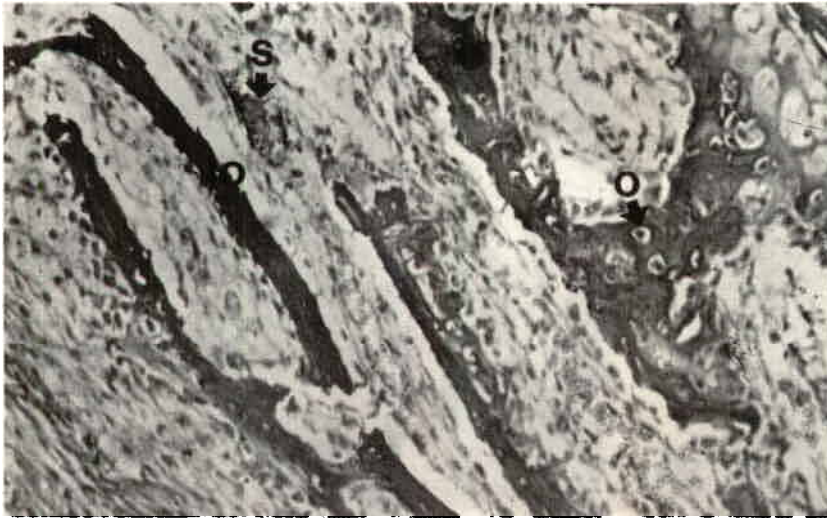


Foto 2) Trabéculas no-laminillares.
Osteocitos=(o).
Matriz ósea = (m.o.). (x 100).

CONCLUSIONES

De la observación y análisis histoquímicos e histológicos del proceso de osificación fetal, se pudo constatar que en líneas generales hay coincidencia y similitud en la embriogénesis e histogénesis del esqueleto apendicular humano, tanto en la altura como a nivel del mar.

Existen sin embargo, algunas diferencias en los períodos y edades embrionarias de comienzo de la condrogénesis y osteogénesis; notándose un retardo de estos procesos del desarrollo en la altura, probablemente debidos a adaptaciones fisiológicas y bioquímicas del nuevo ser al medio ambiente.

En posteriores trabajos se analizará etapas más avanzadas de la osificación humana, para determinar diferencias con las investigaciones realizadas a nivel del mar.

AGRADECIMIENTO

Nuestros agradecimientos a la Sra. Carmen R. de Bohórquez por el trabajo de secretaria y al Sr. Ricardo Valer por su colaboración en Fotografía.

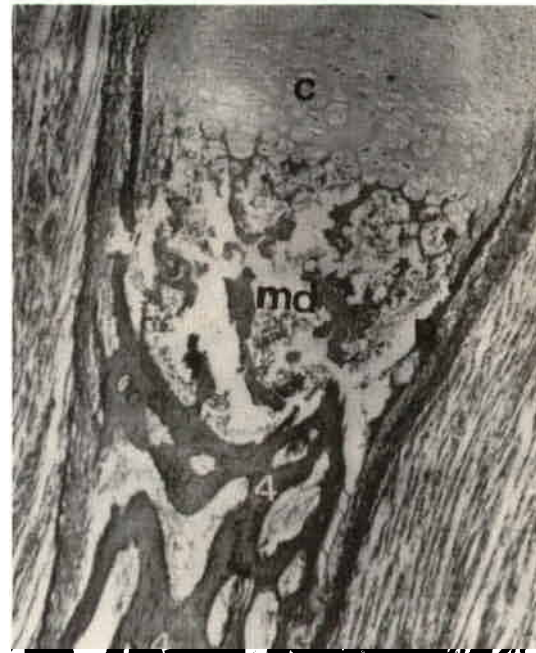


Foto 3) Periostio (p). Cartílago (c).
Trabéculas óseas (4)
Médula en desarrollo (m.d.) (x 100)



Foto 4) Tejido óseo inmaduro.
Laminillas óseas (1o)
Osteocitos (o). Capilares
sanguíneos (s) (x100).

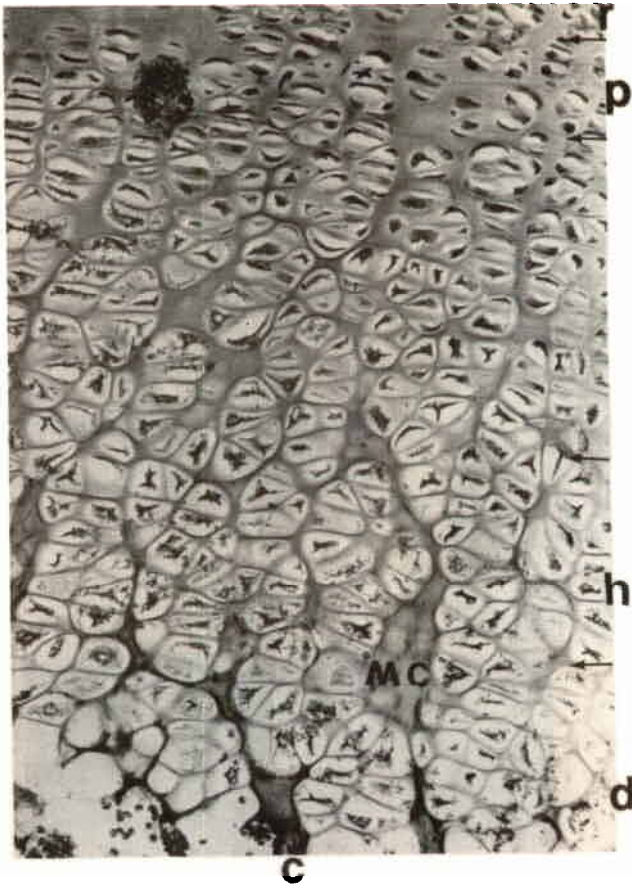
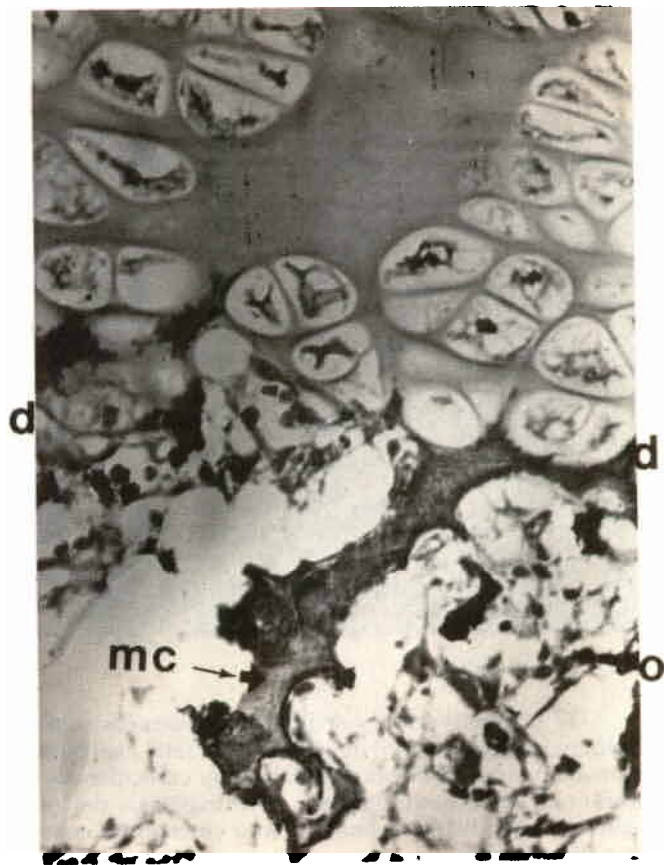


Foto 5 Zonas de Osificación. a) Reposo (r). Proliferación (p). Hipertrofia (h). Calcificación (c). (x400).



En disco Epifisario. b) Degenerativa (d). Osificación (o). Matriz cartilaginosa (m.c.). (x 250).

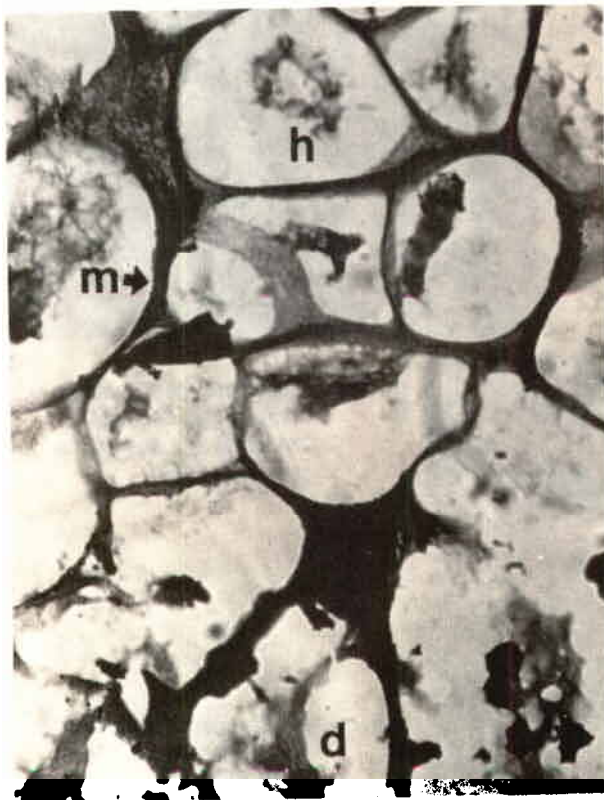


Foto 6) Condrocitos Hipertrofiados (h). Matriz cartilaginosa adelgazada (m). Cartilago degenerado (d). (x 1000).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- GARNER, E. Osteogénesis in the human embryo and fetus in the Biochemistry and Physiology of Bone. New York. Acad. Press. 1956.
- 2.- ALLAN F.D. Embriología Humana. Edit. "El Manual Moderno" - 1973
- 3.- MERY C. Elementos de Morfología Microscópica. Edición Universitaria de Chile. Vol II, 1979.
- 4.- FETS W.J.L. The prenatal development of the human femur. Am. J. Anat. 94, 1954.
- 5.- PATTEN M.B. Embriología Humana. Ed. "El Ateneo" - 5a. Edición, 1969.
- 6.- BONUCCI E. Fine structure of early cartilage calcification. J. Ultrast. Res. 20-33, 1967.
- 7.- BAND CH.A. Submicroscopic Structure and functional aspects of the osteocyte. Clin. Orthop. and Rel Res. 56: 227-236, 1968.
- 8.- FISCHER A. Embriología Humana. 2a. Ed. Española Labor (Barcelona, 1960).
- 9.- CLARKE Y.C. Articular Cartilage: a review and scanning electron microscopy study. J. Anat. 118: 261-280, 1974.
- 10.- HAMILTON W.J. Embriología Humana 3a. Ed. Editorial Intermedica. Buenos Aires, 1968.