

FACULTAD DE MEDICINA DE ALCALÁ DE HENARES. CÁTEDRA DE TRAUMATOLOGÍA.
PROF. A. LÓPEZ ALONSO

FACULTAD DE MEDICINA DE LA LAGUNA. CÁTEDRA DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.
PROF. DÍAZ-FLORES

Características Histológicas del Menisco de la rodilla durante el Desarrollo Intrauterino de la rata

A. VARGAS ROMERO, A. LÓPEZ ALONSO, L. DÍAZ-FLORES, A. AZNAR AZNAR

RESUMEN

Con el objetivo de profundizar en el conocimiento del desarrollo embriológico del esbozo meniscal de la rodilla, los autores realizan un estudio en embriones de rata de 16 y 20 días de gestación. Se comprueba como este esbozo meniscal, que en su inicio está formado por una masa de células mesenquimales, adopta una configuración triangular al corte frontal, situada entre las dos superficies articulares. Posteriormente su vértice experimenta diferenciación cartilaginosa (futuro menisco), mientras que la región periférica sigue siendo altamente vascular y se continúa con tejido conjuntivo fibroso (zona parameniscal).

Descriptor: Menisco. Desarrollo Embriológico.

SUMMARY

An study in embryos of rat between 16-20 days of pregnancy was made to show the meniscus development. The meniscus sketch in the first time was made by mesenchyme cells, later takes a triangular configuration. An at past his vertex became to be a cartilage (future meniscus), while the peripheral plaser is highly vascular and is followed by a fibrous connective tissue (parameniscal zone).

Key Words: Meniscus. Embriological Development.

Introducción

Aunque es un hecho sobradamente conocido el desarrollo embriológico de las articulaciones en general, las aportaciones relativas del camino recorrido por el primitivo esbozo meniscal de la rodilla y su remodelado celular definitivo, son escasas.

El objetivo de este trabajo, ha sido

precisamente el profundizar en el citado aspecto, en tanto en cuanto, a nuestro grupo de trabajo le interesa tener un profundo conocimiento del mismo, para asumir con rigor, lo que es nuestra línea fundamental de investigación: la reparación biológica de los diferentes tejidos que configuran el aparato locomotor, en el que los meniscos, por su importancia clínica, juegan un papel fundamental.

Material y métodos

Fueron empleadas un total de 6 ratas hembras, a las que se extrajeron un total de 52 fetos, 32 de los cuales a los 16 días de gestación, de los que se destinaron 17 rodillas a estudio por microscopía óptica, y las otras 13 rodillas a estudio ultraestructural. Los 32 fetos restantes fueron extraídos a los 20 días de gestación, destinándose 11 rodillas a estudio por microscopía óptica y las otras 11 a estudio ultraestructural.

Los métodos empleados para este estudio, fueron los siguientes:

a) Métodos anestésicos, b) Quirúrgicos. c) Métodos de extracción de embriones en animal gestante, d) Método de estudio morfoestructural en microscopio óptico, e) Método de estudio morfoestructural en microscopio electrónico.

Método anestésico

La técnica anestésica empleada por nosotros fue simplemente la administración de Ketamina, por vía intraperitoneal, a dosis de 10 mgr., por cada 100 grs. de peso, obteniéndose una anestesia buena e inocua, de una hora de duración, y que cuando fue necesario, se prolongó, mediante la administración de más anestésico.

Método de extracción de embriones en animal gestante

Previa comprobación del sexo, y colocada la rata-hembra en condiciones de apareamiento se realizan diariamente en condiciones de rigurosa asepsia, frotis vaginales, con el fin de determinar la fecha de la fecundación. Consideramos como el primer día de gestación aquel en el que hemos encontrado espermatozoides en el frotis vaginal mediante microscopía óptica en fresco.

Transcurrido el tiempo de gestación

necesario para realizar nuestro estudio, y con el animal sometido a anestesia general, realizamos la correspondiente laparotomía, apertura uterina y extracción de los embriones, cuyas rodillas son separadas para su posterior examen.

Método de estudio morfoestructural en microscopía óptica

Para estos estudios, después del sacrificio del animal con sobredosis de barbitúricos, se procedió a la extracción de las respectivas piezas. Obtenidas las muestras, se fijaron en solución acuosa de formol al 10% y se procesaron en un Autotechnicom two, para su deshidratación, aclarado e introducción en parafina, de acuerdo con un programa inspirado en la sistemática habitual seguida en el estudio de las piezas quirúrgicas por el departamento de Anatomía Patológica del Centro Médico de la Universidad de Alabama. Utilizamos 3 tinciones: I. Tinción con hematoxilina-eosina. II.- Tinción de Van Gieson III.- Tinción tricrómica de Braum.

Método de estudio morfoestructural en microscopio electrónico

Obtenidas las piezas, se inicia el proceso con la fijación de las mismas por inmersión directa en gluteraldehído al 2,5%, amortiguado a 7,3 de pH. Permanecen así un mínimo de 6 horas a 4 grados centígrados. Se lavan luego en solución buffer de Milloning, en tres baños sucesivos y se realiza una postfijación con tetróxido de osmio, amortiguado en la solución de Milloning, durante 30 minutos a 4 grados centígrados. Se lava después en agua destilada.

Tras la fijación, se pasa a deshidratar las piezas; para ello se utiliza acetona.

La siguiente etapa, consiste en la inclusión de las piezas en un material que se constituye en soporte adecuado para el corte. Se eligió la epoxi-resina de viscosidad Spurr.

Mediante cortes semifinos (0,5 micras), teñidos con azul de Toluidina, para su visión en M./O., se seleccionaron las piezas para cortes ultrafinos con espesor de 500 A.

Los cortes se montaron en rejillas de cobre electrolítico de 300 mallas.

Para contrastar mejor las estructuras, se practicó una doble tinción; para ello se utilizó en primer lugar, acetato de uranilmagnesio, durante 30 minutos, se lavó a continuación la preparación, con agua destilada tres veces. Se secó y se paso en segundo lugar, a una solución de citrato de plomo, tres minutos, y, tras nuevo lavado, están en condiciones para su estudio.

Los fotos obtenidos en el M./E., lo fueron en placas de vidrio Kodak.

Resultados

Hacia el día 16 post-fecundación, efectuando cortes seriados de los esbozos de las extremidades inferiores, podemos observar la zona correspondiente a la futura articulación de la rodilla, que se presenta como un espacio prácticamente virtual al principio, que se va ensanchando progresivamente, fraguándose entre los componentes mesenquimales, por alteración de alguno de ellos. De esta forma, comprobamos en la citada área, la presencia de células con núcleos piónóticos, o bien, restos celulares, delimitando una franja muy estrecha, aparentemente desprovista de células y de material intracelular. Inmediatamente adyacente a los elementos celulares que delimitan el área degenerativa se observan células discretamente estrelladas, inmersas entre la sustancia fundamental y el material fibrilar; dichas células se continúan con otras, en las que comienzan

a identificarse la presencia de fenómenos de diferenciación cartilaginosa, puestos de manifiesto, entre otros, por su configuración poligonal, existencia de microdigitaciones superficiales y espacio capsular delimitante.

En algunas regiones, la disposición de los elementos estrellados, se hace muy laxa, observándose una clara transición entre el futuro espacio articular y el componente laxo intracelular. Hacia los márgenes del mencionado espacio capsular se observa gran celularidad, en relación con yemas vasculares, en las que se evidencian figuras de mitosis. (Figura nº 1).

En una visión panorámica, cuando ya se ha formado gran parte de la cavidad articular, pueden comprobarse las futuras estructuras vecinas, con especial disposición de las formaciones óseas, áreas cartilaginosas y componentes de la cápsula articular, membrana sinovial y formaciones asociadas. (Figura nº 2).

El hecho diferencial, de mayor interés, entre la zona cartilaginosa de la futura articulación y aquella que va a relacionarse con la membrana sinovial, viene dado por un intenso desarrollo vascular en éstas últimas regiones.

Hacia el día 20 post-fecundación, en la futura articulación de la rodilla, se observa con nitidez la presencia de una masa de aspecto triangular al corte frontral, situada entre las dos superficies articulares, y cuyo vértice, agudo y con diferenciación cartilaginosa, se introduce profundamente en la interlínea existente entre los esbozos óseos. Dicha masa corresponde al esbozo del futuro

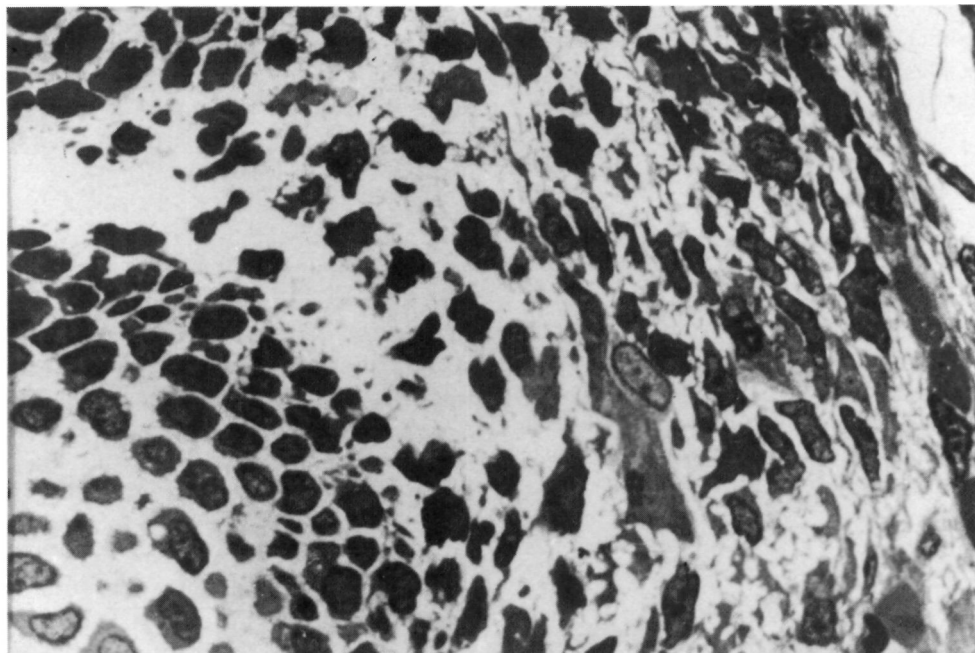


Figura nº 1: Área de gran celularidad en íntima relación con las yemas sanguíneas, en la que se ponen de manifiesto figuras de mitosis.

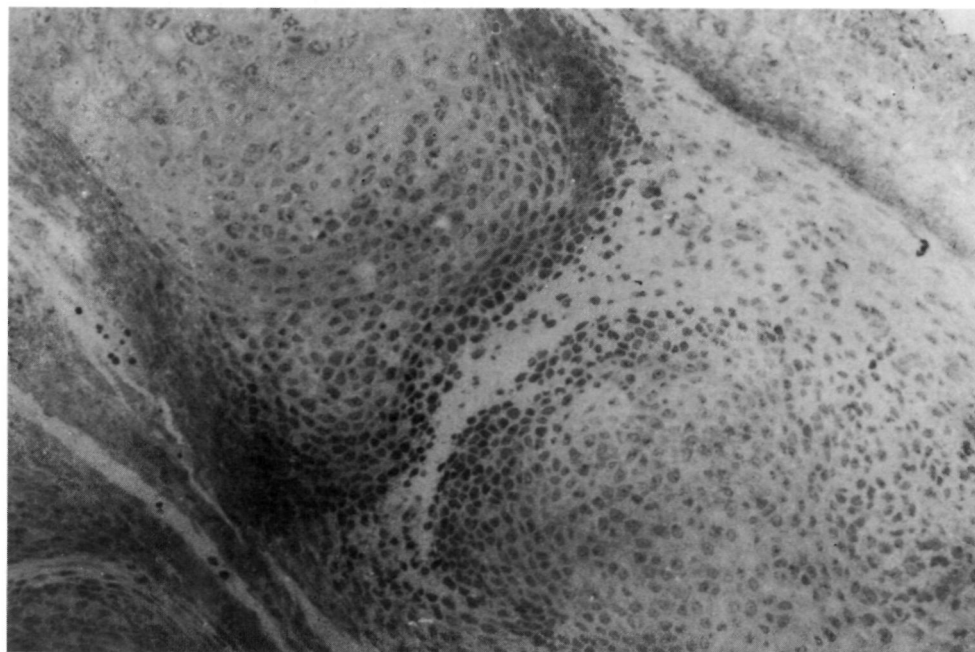


Figura nº 2: Imagen a bajo aumento, en corte semifino, del área articular neoformada. Obsérvese la disposición de las formaciones óseas, áreas cartilaginosas y componente de la cápsula articular y membrana sinovial.

menisco. En secciones afortunadas, se identifican con nitidez las áreas correspondientes al menisco y al paramenisco. (Figura n° 3).

A continuación, procedemos a describir las características que hemos apreciado con M./O. y M./E., de las superficies articulares y de la estructura meniscal en formación.

La zona del vértice del triángulo meniscal muestra como se ha indicado anteriormente, una estructura cartilaginosa en formación, observándose elementos poligonales, con algunas proyecciones digitiformes superficiales, núcleo ovoide y citoplasma con abundante retículo endoplásmico rugoso y evidente aparato de Golgi; es posible también apreciar otras organelas así

como microtúbulos y filamentos intracitoplásmicos. Con alguna frecuencia se distinguen figuras de mitosis, en células que mantienen sus características condroblásticas. (Figuras n° 4 y 5).

De gran interés para nosotros, ha sido el estudio de la región límite, entre menisco y paramenisco, en la que hemos observado un tránsito relativamente brusco con una configuración arqueada entre una región avascular, como es la del menisco, y otra bastante vascularizada, como ocurre con el paramenisco.

En la zona marginal del triángulo meniscal, se aprecian condrocitos inmersos entre componente intersticial, constituido por sustancia fundamental y material fibrilar, de tal forma que dicho componente intersticial contacta

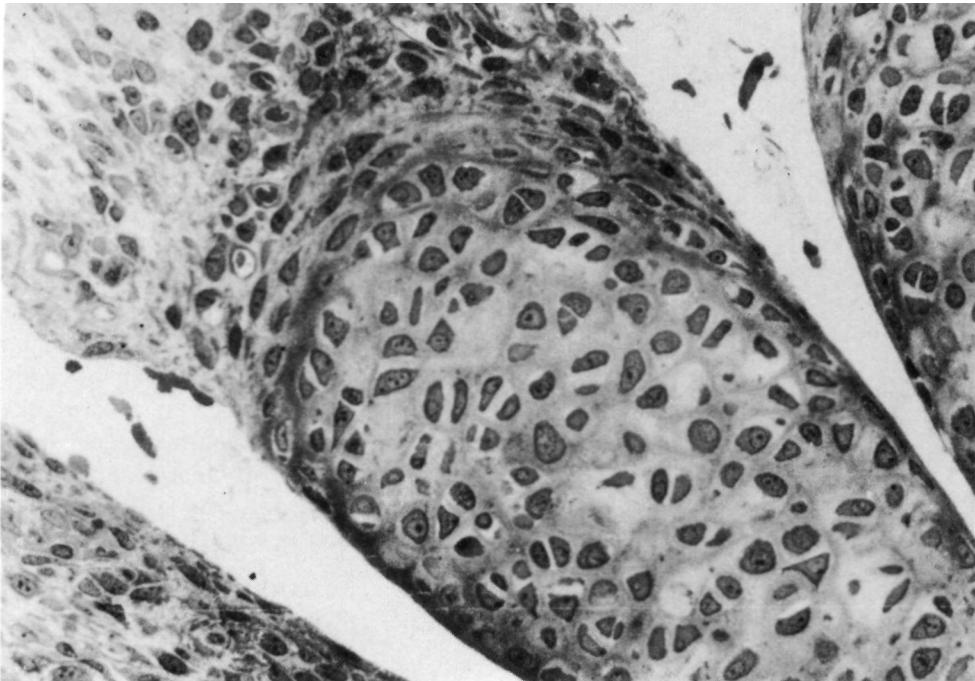


Figura n° 3: Imagen en corte semifino, en la que se observa el futuro menisco entre las superficies articulares. Se pueden evidenciar las áreas correspondientes al menisco y al paramenisco.

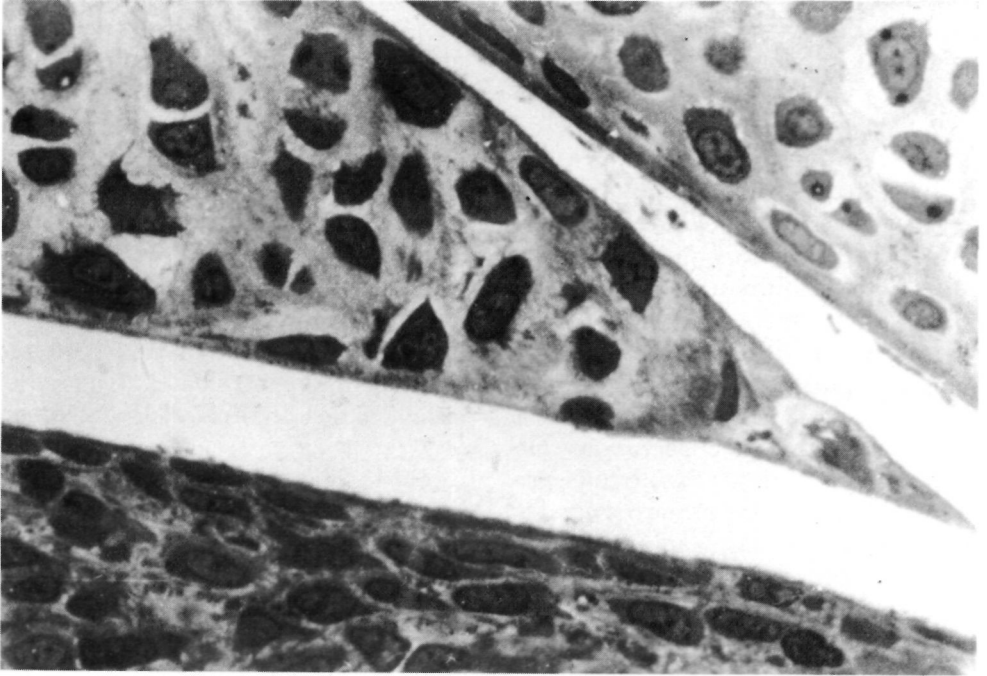


Figura nº 4: Vértice del triángulo meniscal, en cuyo seno se aprecian elementos cartilaginosos poligonales, de núcleo ovoide y citoplasma con moderada apetencia tintorial.

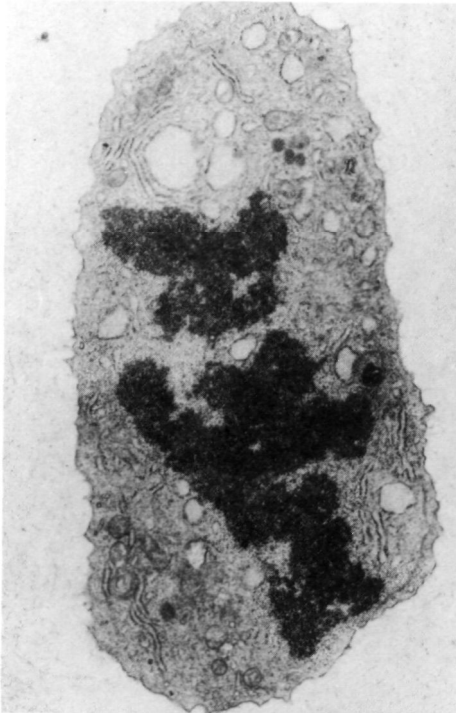


Figura nº 5: Imágenes ultraestructurales de elemento condrocitario perteneciente al vértice del triángulo meniscal. Se aprecia en su citoplasma abundante RER y aparato de Golgi, así como microtúbulos y filamentos. Llama la atención la figura de mitosis.

por lo general, con el futuro medio sinovial, en estos casos es posible descubrir, algunos elementos macrófagos en dicho espacio. No obstante, en las regiones que están próximas al paramenisco, se observan prolongaciones celulares con aspecto fibroblástico, que remotamente recuerdan a los sinoviocitos B, y que tapizan la superficie en contacto con el medio sonovial.

En estos estadios de mayor diferenciación se comprueba que, en la zona delimitante entre paramenisco y menisco, existe una clara diferenciación de

los elementos celulares intersticiales, de tal forma que pasan de ser poligonales, con algunas vellosidades superficiales y con aspecto general cartilaginoso, a ser elongados y con imagen propia de fibroblastos; en la vecindad de estas últimas células, se observan numerosos vasos sanguíneos y elementos de aspecto macrofágico; dichos vasos, suelen mostrar células perivasculares muy prominentes, algunas de ellas en mitosis. (Figura n°. 6).

La zona parameniscal, se continúa insensiblemente hacia la periferia, con tejido conjuntivo fibroso, que experimenta manifiesta remodelación, con presencia de gruesos haces de colágeno, entre los que se disponen fibroblastos

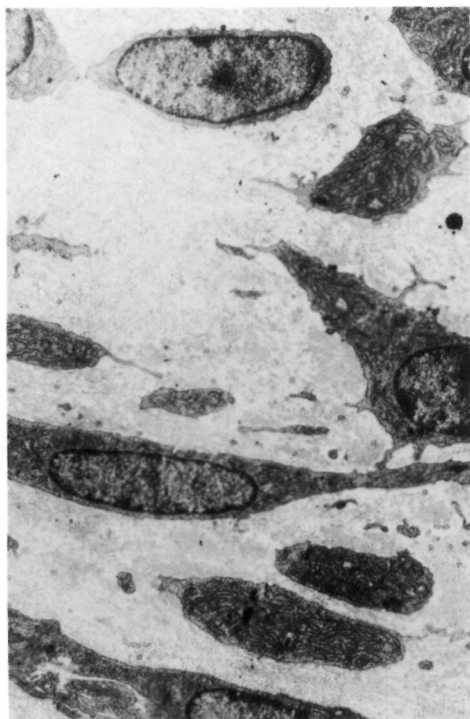


Figura n° 6: Microfotografía en la que se aprecia la modificación de los elementos celulares de poligonal condrocitaria a fusiforme y fibroblástica.

que emiten largas y finas prolongaciones.

Asimismo, la superficie enfrentada hacia la futura cavidad articular, se continúa por sus bordes periféricos, con el esbozo de la membrana sinovial, en el que se aprecian elementos fibroblásticos y macrofágicos dispuestos en vecindad a las yemas vasculares.

Discusión

En lo que respecta al desarrollo del menisco en la rata, es importante conocer que son escasos los trabajos efectuados en esta materia, y que, en general, han estado dirigidos al estudio evolutivo del conjunto articular. (FLODERAS 1.915X1), (WILLIS 1.940X2), (MITROVIC 1.971) 3), (MITROVIC 1.972)(4), (WASSILEV 1.972X5); (MITROVIC 1978X6).

Las observaciones de los distintos autores, han puesto de manifiesto que a partir de un blastema esquelético, con presencia de un acúmulo de células marginales íntimamente adosadas, se originan unos núcleos de tejido cartilaginoso-esquelético, los cuales están separados por lo que será la futura región de la articulación que, en este estadio, se denomina interzona. En esta última, a su vez, se forman tres capas, las dos periféricas son de aspecto cartilaginoso y recubren las superficies corticales, mientras que la de disposición más medial queda formada por un tejido laxo, este último, posee vasos sanguíneos en la porción periférica de la futura articulación.

Nosotros hemos podido comprobar que en esta zona de tejido laxo aparecen

signos de degeneración con focos de necrosis, lo que conduce al desarrollo de la futura articulación.

Indudablemente, el mecanismo íntimo de separación de los elementos esqueléticos, se presta a diferentes interpretaciones; en efecto, para algunos autores, serán debido al movimiento articular (WALMSEY 1.940X7), mientras que, para otros, estaría en relación con el proceso activo del propio cartílago (RETTNER 1.902)(8); (SCHULIN 1879X9); (STRAYER 1943X10); (MCDERMOTT 1943X11); (MITROVIC 1972X4); (MITROVIC 1978X6).

En relación con lo previamente señalado, es evidente que existen focos de necrosis fisiológicos en el blastema esquelético del embrión de la rata, hecho que ocurre entre los días once y trece de la vida intrauterina del animal. Indudablemente, estos fenómenos, tienen una gran importancia en la artrogénesis. Para MITROVIC (1.971,1972, 1978)(3)(5)(6), esto sería debido, a que las células con expresión condrogénica, son eliminadas de este área de la interzona.

Hemos de destacar también que los vasos sanguíneos son prácticamente exclusivos de las partes periféricas de la articulación en desarrollo de la rata, es decir, del mesenquima cápsulo-sinovial. Un hecho similar ha sido descrito por múltiples autores (HAINES 1.947X12); (GARDNER 1.950X13); (GARDNER 1.950X14); (O'RAHILLY 1.957X15).

En lo que respecta al desarrollo del menisco propiamente dicho, las aportaciones de los trabajos realizados en la rata, son muy escasos, ya que MITRO-

VIC (1978)(4), que es el autor que más ha estudiado la evolución y desarrollo de las articulaciones en este animal, se refiere superficialmente a los aspectos que conciernen al menisco, señalando que las estructuras peri e intraarticulares, así como la cápsula, menisco y ligamentos, se desarrollan básicamente, de la misma manera, como el mesenquima esquelético axial.

Por nuestra parte, hemos observado, que hacia el día 20, se aprecia una estructura cartilaginosa en formación de lo que será el futuro menisco, las células adquieren morfología poligonal, observándose prolongaciones digitiformes superficiales, así como manifiesto desarrollo del retículo endoplásmico rugoso y aparato de Golgi; estas células, conservan su capacidad divisional durante este estadio, en el que, por otra parte, existe una clara diferencia entre el menisco y el paramenisco. Efectivamente, contrasta la morfología celular y la diferente vascularización, ya que el paramenisco muestra numerosos vasos sanguíneos, continuándose insensiblemente con el tejido fibroso periférico y con la futura membrana sinovial, donde se disponen elementos de aspecto fibroblástico y macrofágico.

Conclusión

El esbozo del menisco, en la articulación en desarrollo de la rata, aparece después de que han ocurrido fenómenos degradativos en la franja central de la primitiva interzona articular. En su inicio, está formado por una masa densa de células mesenquimales, que adopta configuración triangular al corte frontal, que está situado entre las dos superficies articulares, y cuyo vértice

experimenta diferenciación cartilaginosa (futuro menisco), mientras que la región periférica continúa siendo altamente vascular y se continúa con tejido conjuntivo fibroso, en vías de remodelación (zonaparameniscal). Entre el futuro menisco y el paramenisco, aparece una zona delimitante con elementos transicionales fibroblástico-condrocitario.

Bibliografía

1. FLODERAS, B.: Studien in der biologie skelettgewebe mit besonderer berucksichtigung der pathogenese der histoiden gelenk-gewebsgeschulste. Kug. Sven. Vetus. Handl. 1915, 53: 1.
2. WILLIS, J.: The development of sinovial joint. J. Anat. 1940, 74: 277.
3. MITROVIC, D.: Effect de la paralysie pharmacologique sur le formation et l'elolution des fautes articulaires des articulations digitales des pattes chez l'embryon des poulet. C.R. Acad. Scien. Ser. D. Paris. 1971, 273: 642.
4. MITROVIC, D.: Etude au microscope electronique de la degeneressence cellulaire precoce du mesenchyme articulaire chez l'embryon de poulet. C.R. Acad. Sci. Ser. D. París. 1972,275:294.
5. WASILEV, W.: Elektronenmikroskopische und histochemische untersuchungen zur des Knie gelenkes der ratte. Zei Anat. Entw. 1972, 137: 221.
6. MITROVIC, D.: Development of the diarthrodial joint in the rat embryon Am. J. Anat. 1978,151: 475.
7. WALMSLEI, R.: The development of the patelle. J. Anat. 1940, 74: 360.
8. RETTERER, E.: Ebanche squelettegene des membres et developpement des articulations. J. Anat. Physi. 1902, 38: 580.
9. SCHULIN, K.: Uber die entwicklung und weitere ausbildung der gelenke des menschlichen Korpers. Ar. Anat. Phys. 1879, 240: 274.
10. STRAYER, L.: The embryology of the human hip joint. Yale J. Biol. Med. 1943, 16: 13.
11. MACDERMOTT, L.: Development of the human Knee joint. Arch. Surg. 1943, 46: 705.
12. HAINES, R.W.: The development of joint. J. Anat. 1947, 81: 33.
13. GARDNER, E.: Physiology of moveble joints. Phy. Rev. 1950, 30: 127.
14. GARDNER, E.; GRAY, D.: Prenatel development of the human hip joint. Am. J. Anat. 1950, 87: 163.
15. O'RAHILLY, R.: The development of joint. J. Med. Sci. 1957, 382: 456.