

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL PROCESO DE OSIFICACIÓN
ENDOCONDRALE DE ELEMENTOS ESQUELÉTICOS PROVENIENTES DE LOS
SOMITOS Y LA PLACA LATERAL DEL MESODERMO EN EMBRIONES,
FETOS Y NEONATOS HUMANOS.**

TRABAJO DE GRADO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE

MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTADO POR

Luisa Nathalia Fonseca Ahumada

Bacterióloga

DIRECTORA

María Lucía Gutiérrez Gómez PhD

CO-DIRECTORA

Johana María Guevara Morales PhD



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

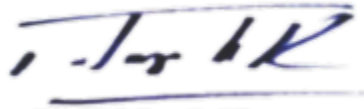
Bogotá D.C 2023

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL PROCESO DE OSIFICACIÓN
ENDOCONDRALE DE ELEMENTOS ESQUELÉTICOS PROVENIENTES DE LOS
SOMITOS Y LA PLACA LATERAL DEL MESODERMO EN EMBRIONES,
FETOS Y NEONATOS HUMANOS.**

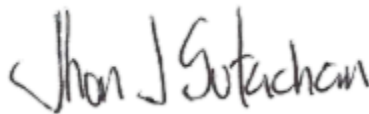
PRESENTADO POR

Luisa Nathalia Fonseca Ahumada

APROBADO



**Alba Alicia Trespalacios Rangel; Ph.D
DECANA ACADÉMICA**



**Jhon Jairo Sutachan Rubio; Ph.D
DIRECTOR DE POSGRADOS**

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

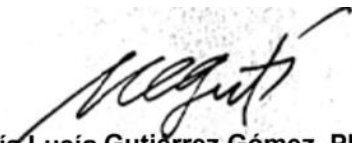
Bogotá D.C 2023

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL PROCESO DE OSIFICACIÓN
ENDOCONDRALE DE ELEMENTOS ESQUELÉTICOS PROVENIENTES DE LOS
SOMITOS Y LA PLACA LATERAL DEL MESODERMO EN EMBRIONES,
FETOS Y NEONATOS HUMANOS.**

PRESENTADO POR

Luisa Nathalia Fonseca Ahumada

APROBADO



María Lucía Gutiérrez Gómez, Ph.D.
DIRECTORA DE TRABAJO DE
GRADO



Johana Guevara Morales, Ph.D.
CO-DIRECTORA DE TRABAJO
DE GRADO



Jorge Andrés Franco Zuluaga, Esp.
JURADO



Juvenal Baena, M.Sc.
JURADO



Ananias Garcia Cardona, M.Sc.
JURADO

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Bogotá D.C 2023

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la resolución N°. 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme las fuerzas para culminar exitosamente este proyecto.

A mi madre, Andrés, Juan Diego y Zully por su compañía e incondicional apoyo para seguir adelante en este proyecto a pesar de las adversidades.

A la Pontificia Universidad Javeriana, especialmente a la Facultad de Ciencias y a Vicerrectoría de Investigación, por acercarme a la realización de mis sueños en investigación.

Al Departamento de Patología del Hospital Universitario San Ignacio, especialmente a la Doctora Mercedes Olaya, por las enseñanzas y acompañamiento.

A mi tutora y cotutora, la Doctora María Lucía Gutiérrez y la Doctora Jhoana Guevara, por su guía y acompañamiento en cada uno de los pasos de esta travesía, por brindarme enseñanzas y conocimientos.

RESUMEN

En el proceso de osificación endocondral participan diversos tipos celulares que constituyen el sistema esquelético; sin embargo, pocos estudios histológicos documentan estos procesos durante los diferentes períodos del desarrollo gestacional humano y mediante histología. El objetivo principal de este estudio fue comparar el proceso de osificación endocondral en el desarrollo de elementos esqueléticos derivados tanto de los somitos y la placa lateral del mesodermo en humanos. Para ello, se realizó un estudio histológico de 30 casos que incluían embriones, fetos y mortinatos de ambos sexos.

Los resultados revelaron diferencias en los tiempos y lugares de osificación de las vértebras, las costillas, el esternón y esqueleto apendicular en comparación con los datos existentes en la literatura. Se observó la formación de estructuras similares a pliegues en el esternón y en las costillas, posiblemente relacionadas con su elongación, lo cual es un hallazgo innovador para este estudio. Durante la presente investigación, no se identificó cambios en el patrón de desarrollo o características histológicas asociados al origen embrionario. Por lo tanto, se sugiere que el proceso de osificación endocondral podría verse influenciado por otros factores tales como las semanas de gestación, la ubicación anatómica y los movimientos fetales. Estos hallazgos resaltan la necesidad de realizar más investigaciones para mejorar nuestra comprensión de los procesos de desarrollo y osificación ósea en humanos.

ABSTRACT

In the process of endochondral ossification, various types of cells participate in the formation of the skeletal system. However, few histological studies document these processes during different periods of human gestational development and using histology. The main objective of this study was to compare the process of endochondral ossification in the development of skeletal elements derived from both somites and the lateral plate mesoderm in humans. A histological study of 30 cases, including embryos, fetuses, and stillbirths of both sexes, was conducted for this purpose.

The results revealed differences in the timing and locations of ossification in the vertebrae, ribs, sternum, and appendicular skeleton compared to existing data in the literature. The formation of structures resembling folds in the sternum and ribs was observed, possibly related to their elongation, which is an innovative finding. During this study, no changes were identified in the development pattern or histological characteristics associated with embryonic origin. Therefore, it is suggested that the process of endochondral ossification could be influenced by other factors, such as gestational weeks, anatomical location and fetal movements. These findings highlight the need for further research to improve our understanding of the processes of development and bone ossification in humans.

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1. Generalidades del sistema esquelético.....	4
3.2. Orígenes embrionarios del sistema esquelético.....	5
3.3. Osificación endocondral.....	5
3.4. Formación de la vértebra	12
3.5. Formación de las costillas.....	15
3.6. Formación del esternón	16
3.7. Formación de la cintura pélvica.....	18
3.8. Formación del fémur	19
3.9. El sistema esquelético	20
4. OBJETIVOS	25
4.1. Objetivo general.....	25
4.2. Objetivos específicos	26
5. METODOLOGÍA.....	26
5.1. Selección de casos	26
5.2. Procesamiento de las muestras.....	27
5.3. Lectura de las muestras.....	27
5.4. Elaboración y alimentación de la base de datos	28
5.5. Análisis de Resultados.....	29
6. RESULTADOS	29
6.1. Distribución de los casos por edad	29
6.2. Diagnósticos de los casos.....	30

6.3. Hallazgos histológicos.....	32
7. DISCUSIÓN	45
7.1. Osificación endocondral en elementos provenientes de los somitos	46
7.2. Osificación endocondral en elementos provenientes de la placa lateral del mesodermo	51
7.3. Comparación de los elementos provenientes de los somitos y la placa lateral del mesodermo en el proceso de osificación endocondral.....	57
8. CONCLUSIONES.....	57
9. BIBLIOGRAFÍA	59

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. El eje proximal-distal de las extremidades de los vertebrados.....	7
Figura 2. Zonas durante la osificación endocondral.....	10
Figura 3. Secuencia de eventos durante la condrogénesis para el desarrollo de huesos largos.....	12
Figura 4. Resegmentación de los esclerotomos para formar las vértebras.....	13
Figura 5. Ubicación de los centros de condricación y osificación en la vértebra.	14
Figura 6. La costilla humana y sus partes.....	15
Figura 7. El esternón humano y sus partes (57).....	17
Figura 8. La cintura pélvica humana y sus partes(57).....	18
Figura 9. Distribución de los casos por elementos esqueléticos y edad.....	30
Figura 10. Descripción de los diagnósticos presentes en los casos de embriones, fetos y neonatos seleccionados.....	31
Figura 11. Histología observada para los casos de cuerpos vertebrales.....	35
Figura 12. Histología observada para los casos de pedículos vertebrales.....	37
Figura 13. Imágenes representativas de la histología observada para los casos de costillas.....	39
Figura 14. Imágenes representativas de la histología observada para el esternón.....	42
Figura 15. Imágenes representativas de la histología observada para la cintura pélvica.....	45
Figura 16. Línea de tiempo según semanas de gestación con hallazgos del presente estudio y lo reportado en la literatura para el desarrollo de las vértebras.....	48
Figura 17. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo de las costillas.....	50
Figura 18. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo del esternón.....	53

Figura 19. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo del esqueleto apendicular. 56

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tejidos y tipos celulares observados en el cuerpo de las vértebras según las semanas de gestación.....	34
Tabla 2. Tejidos y tipos celulares observados en los pedículos vertebrales según las semanas de gestación.	36
Tabla 3. Tejidos y tipos celulares observados para las costillas según semanas de gestación.....	38
Tabla 4. Tejidos y tipos celulares observados en el esternón según las semanas de gestación.....	41
Tabla 5. Tejidos y tipos celulares observados en el esqueleto apendicular según las semanas de gestación.	44

LISTA DE ABREVIACIONES

COL1A1	Colágeno tipo I
COL2A1	Colágeno tipo II que contiene el exón 2
MEC	Matriz extracelular
N-cadherina	Cadherina neural
N-CAM	Molécula de adhesión celular neural
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
BMP	Proteína morfogénica ósea
Hox	Factores de transcripción homeobox
Shh	Sonic hedgehog
FGFR3	Receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos
Ihh	Indian hedgehog
VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular
MMP13	Metaloproteinasa de matriz 13
H&E	Tinción de hematoxilina y eosina
Shh	Sonic hedgehog
GAG	Glucosaminoglicanos
M-CSF	Factor estimulante de colonias Macrófagos
CU	Cordón umbilical
MVM	Malperfusión vascular materna.
RCIU	Restricción del crecimiento intrauterino
MVF	Malperfusión vascular fetal.

1. INTRODUCCIÓN

El sistema esquelético es un tejido conjuntivo especializado que funciona de forma coordinada para llevar a cabo funciones vitales como proteger los órganos internos, albergar la médula ósea roja y la médula ósea amarilla, almacenar y liberar minerales para mantener la homeóstasis mineral, el sostén de tejidos blandos, permitir la inserción de los músculos esqueléticos, y contribuir al movimiento (1). Cada hueso se modela constantemente a lo largo de la vida para adaptarse a las fuerzas biomecánicas cambiantes, así como a la remodelación ósea para formar hueso nuevo mecánicamente más fuerte (2).

El desarrollo del esqueleto inicia desde la quinta semana de vida gestacional y tiene tres orígenes embrionarios distintos: cresta neural, somitos y placa lateral del mesodermo; además, se forma mediante procesos de osificación endocondral u osificación intramembranosa (3). Es así que, por ejemplo, el viscerocráneo tiene su origen en las células provenientes de la cresta neural, a diferencia del esqueleto axial (columna vertebral y costillas), el cual se origina a partir de células provenientes de los somitos, estructuras transitorias de forma esférica que modelan y segmentan el embrión a lo largo del eje céfalo-caudal (4,5). Por su parte, el esqueleto apendicular (extremidad superior, extremidad inferior, cintura pélvica, cintura escapular y esternón), se origina a partir de células de la placa lateral del mesodermo (6). En el proceso de formación ósea participan los diferentes tipos celulares que componen el sistema esquelético, tales como las células madre mesenquimatosas, los osteoblastos, los osteocitos, los osteoclastos, los condroblastos y los condrocitos, los cuales deben asegurar un reservorio para mantener el tejido a lo largo de la vida (7).

Es por esto que el presente trabajo tiene como objetivo comparar el proceso de osificación endocondral humano en el desarrollo de elementos esqueléticos provenientes de somitos y placa lateral del mesodermo, con el fin de aportar información sobre las diferencias y similitudes histológicas entre las vértebras y las costillas (provenientes de los somitos) y el esternón y el esqueleto apendicular

(provenientes de la placa lateral del mesodermo) en relación con sus orígenes embrionarios y etapas de desarrollo. De esta manera, se busca establecer un punto de partida en cuanto a las características histológicas en condiciones normales de dichos elementos esqueléticos dependiendo de su origen embrionario, semanas de gestación y localización anatómica.

Cabe resaltar que el presente trabajo está enmarcado dentro del proyecto titulado “Caracterización de la población de células estromales óseas obtenidas de recién nacidos con muerte perinatal”, cuyo objetivo general es identificar las células madre estromales obtenidas de elementos óseos de recién nacidos con muerte perinatal mediante marcadores de superficie celular.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Los somitos son segmentos mesenquimales de mesodermo paraxial dispuestos en filas a cada lado del tubo neural de cefal a caudal. Las células que componen los somitos se diferencian en el esclerotomo, el miotomo y el dermatoma. En particular, las células derivadas del esclerotomo desempeñan un papel fundamental en la formación de la columna vertebral y las costillas (8,9). Por otro lado, las células de la placa lateral del mesodermo contribuyen a la formación del esqueleto apendicular, y el esternón (6,10). Tanto los somitos como la placa lateral del mesodermo son estructuras clave en el desarrollo del sistema esquelético y la osificación endocondral, ya que dan origen a células como condroblastos, condrocitos, osteoblastos y osteocitos, que componen el tejido esquelético (7).

La información disponible en la literatura actual acerca de la histología de las vértebras, las costillas, el esternón y la cintura pélvica en embriones, fetos y neonatos humanos, dependiendo de los orígenes embrionarios, es limitada. Aunque existen artículos que describen el desarrollo de los elementos esqueléticos durante estas etapas (11–14), se encuentra poca información histológica para las costillas, el esternón y el esqueleto apendicular. Esta limitación se debe a que los estudios se han centrado principalmente en modelos animales (15), o en técnicas como ecografías y radiografías (13,14), estudios histológicos con escasa o nula evidencia

fotográfica (16), además de estudios histológicos realizados en individuos adultos (17).

Hasta la fecha, no se ha documentado en la literatura la histología del sistema esquelético durante el desarrollo gestacional teniendo en cuenta los orígenes embrionarios. Esta información resulta crucial para comprender en detalle la formación y el crecimiento óseo a partir de células madre derivadas de estos orígenes embrionarios, así como para identificar posibles diferencias o similitudes en el desarrollo dependiendo del origen embrionario.

El objetivo principal de este estudio fue comparar el proceso de osificación endocondral en el desarrollo de elementos esqueléticos derivados tanto de los somitos como de la placa lateral del mesodermo en humanos. Con el propósito de proporcionar información sobre las similitudes y diferencias histológicas entre las vértebras y las costillas, originadas a partir de los somitos, y el esternón y el esqueleto apendicular, originados a partir de la placa lateral del mesodermo según las etapas del desarrollo.

Esta información permite establecer parámetros que deben considerarse como normales, teniendo en cuenta el origen embrionario, la edad y la localización específica de cada elemento esquelético según el origen embrionario. Adicionalmente, sirve como base para realizar múltiples estudios en ciencias básicas sobre embriología y desarrollo humano, así como investigaciones relacionadas con anomalías en el desarrollo del sistema esquelético, las cuales son causantes de numerosas patologías. Así mismo, la información obtenida es la base para futuros proyectos de investigación que integran estudios histológicos y moleculares, lo que ofrece la posibilidad de asociar tipos celulares específicos presentes durante el desarrollo esquelético con características moleculares y, de esta manera comprender en detalle el papel que desempeñan las células en su nicho durante el desarrollo gestacional, teniendo en cuenta el tipo de elemento esquelético, su origen y la etapa del desarrollo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Generalidades del sistema esquelético

El sistema esquelético es un tejido conjuntivo especializado compuesto por hueso y cartílago que funciona de forma coordinada para llevar a cabo funciones vitales, entre las cuales se incluyen (1):

- Protección de los órganos internos.
- Depósito de triglicéridos en la médula ósea amarilla.
- Producción de células sanguíneas en la médula ósea roja.
- Homeóstasis mineral, siendo un reservorio de iones de calcio y fósforo.
- Asistencia al movimiento mediante la inserción de los músculos.
- Sostén del cuerpo, permitiendo mantener la postura.

Tradicionalmente se ha establecido que el sistema esquelético cuenta con 206 huesos (sin tener en cuenta variaciones anatómicas), clasificándose según sus funciones y morfologías en (18):

- Huesos planos, como las costillas, el esternón y partes de la cintura pélvica.
- Huesos irregulares, como las vértebras.
- Huesos largos, como el fémur.
- Huesos cortos, como los carpianos.

Los elementos del sistema esquelético también se pueden clasificar de la siguiente manera: esqueleto axial, donde se incluyen los huesos ubicados en la región central del cuerpo humano, como las vértebras, las costillas, el esternón, el viscerocráneo y el neurocráneo; y esqueleto apendicular, que incluye los huesos que conforman las extremidades superiores e inferiores, así como la cintura pélvica y la cintura escapular (19).

Los elementos que constituyen el sistema esquelético también se pueden clasificar según el tipo de osificación que presentan (6,7):

- En la osificación intramembranosa, las células mesenquimales migran a la ubicación de los futuros huesos dando forma y tamaño a los elementos en desarrollo, diferenciándose seguidamente en osteoblastos para formar hueso. Este tipo de osificación ocurre principalmente en huesos planos, como el cráneo.
- En la osificación endocondral, las células mesenquimatosas provenientes de los diferentes orígenes embrionarios se agregan para formar una condensación de células que conforman el anlagen (células mesenquimatosas que se diferencian en condrocitos para la formación de un molde cartilaginoso), que es sustituido progresivamente por hueso. Este proceso ocurre en huesos como las vértebras, el esternón, las costillas, la cintura escapular y la cintura pélvica (7). El presente trabajo se centra en la osificación endocondral y se explicará en detalle en los siguientes párrafos.

3.2. Orígenes embrionarios del sistema esquelético

Diferentes orígenes embrionarios contribuyen al proceso de formación del sistema esquelético en humanos, tales como las células de la cresta neural, las células de la placa lateral del mesodermo y las células provenientes de los somitos (6):

- Las células de la cresta neural provienen de los pliegues neurales y migran dando lugar a la dentina de los dientes, algunos huesos y cartílagos del viscerocráneo, la porción escamosa del temporal y el esfenoides (20).
- Los somitos son el principal origen del esqueleto axial, incluyendo las vértebras y las costillas, al igual que los elementos que conforman la base del cráneo, el componente petroso del temporal y el occipital.
- Las células de la placa lateral del mesodermo forman el esqueleto apendicular (cintura escapular y cintura pélvica), así como el esternón (21).

3.3. Osificación endocondral

Durante el desarrollo embrionario del esqueleto, la condrogénesis representa el primer paso en el proceso de osificación endocondral. Este fenómeno altamente complejo involucra diferentes etapas, que incluyen reclutamiento y migración de

células mesenquimales multipotentes, seguidas de la condensación de estas células, la formación del molde cartilaginoso (condrogénesis), la diferenciación y maduración de los condrocitos hasta llegar a la fase de hipertrofia. Posteriormente, se produce la muerte celular programada, se forman vasos sanguíneos y se reclutan osteoblastos para llevar a cabo la mineralización de la matriz circundante. Todo esto da lugar al desarrollo del centro de osificación primario (18):

Dichos procesos se encuentran regulados por interacciones entre la mesénquima y el epitelio, además de interacciones intercelulares y celulares con la matriz circundante, con factores de crecimiento, diferenciación y factores ambientales que pueden iniciar o inhibir vías de señalización y factores de transcripción (22). Este proceso ha sido principalmente descrito para el miembro superior como se detalla a continuación.

3.3.1. Condensación de células mesenquimales

Para las extremidades superiores e inferiores (componentes del esqueleto apendicular) entre la quinta y octava semana del desarrollo inicia el proceso de formación a partir de un pequeño brote de células mesodérmicas indiferenciadas ubicadas en el ectodermo. Los brotes surgen a ambos lados del cuerpo en los niveles apropiados a lo largo del eje anteroposterior (23,24).

Durante este periodo se forma la yema del respectivo miembro a partir de una masa de células mesodérmicas mesenquimatosas cubiertas por una capa de ectodermo, la cual toma una morfología aplanada e inicia la elongación hacia distal.

Una serie de señales son indispensables para el crecimiento de la yema:

- En el eje proximal-distal, está regulado por el factor de crecimiento de fibroblastos 8 y 10 (FGF 8 y 10) en un circuito de retroalimentación positiva por WNT-3A, el cual actúa sobre la β -catenina para aumentar el FGF-8, que a su vez mantiene la expresión de FGF-10 (25).
- En el eje ventral a dorsal, está controlado por WNT-7A y engrailed-1 (EN-1).

- En el eje radio-cubital (anteroposterior), se regula por la señalización de Sonic hedgehog (Shh) (26).

A medida que se va dando el proceso de elongación, la condensación mesenquimatososa se segmenta formando tres secciones: el estilopodio, el zeugopodio y el autopodio, las cuales forman el brazo/muslo, el antebrazo/pierna y mano/pie, respectivamente (27). Este proceso se desarrolla de proximal a distal tal como se observa en la Figura 1.

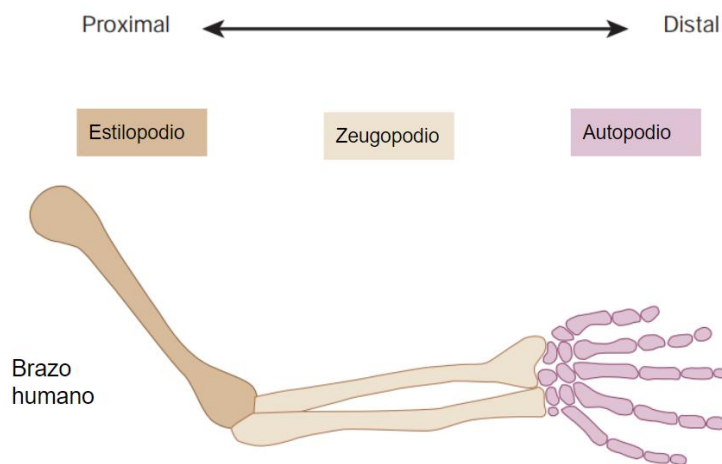


Figura 1. El eje proximal-distal de las extremidades de los vertebrados.

La estructura se subdivide en tres dominios descritos de proximal a distal: el estilopodio, el zeugopodio y el autopodio. El estilopodio es el elemento más proximal, el cual da origen al húmero en la extremidad anterior y al fémur en la extremidad posterior. El zeugopodio es el elemento esquelético medio, que da origen al radio y el cúbito en la extremidad anterior y la tibia y el peroné en la extremidad posterior. El autopodio, el elemento esquelético más distal, da origen a los huesos del carpo (muñeca), metacarpianos y huesos de las falanges (dígitos) en la extremidad anterior, y los huesos del tarso (tobillo), metatarsianos y huesos de las falanges (dedos de los pies) en la extremidad posterior. Imagen tomada de (28).

Por otra parte, en el esqueleto axial, las células mesenquimatosas se diferencian en condrocitos y conforman el anlagen. Esta etapa de condensación tiene como función el reclutamiento de las células mesenquimales y la organización del tejido recién formado. En este proceso participan dos moléculas de adhesión celular: la cadherina neural (N-cadherina) y la molécula de adhesión celular neural (N-CAM), las cuales disminuyen su expresión en condrocitos en proliferación (29,30).

Durante la condensación, las células mesenquimales secretan componentes a la matriz extracelular (MEC), tales como: el hialuronano, una molécula que facilita el

movimiento celular y previene la interacción célula-célula. De este modo, a medida que avanza la condensación aumenta la actividad de la hialuronidasa y disminuye el hialuronano, al tiempo que permite la activación de una o más vías de transducción de señales para iniciar la diferenciación condrogénica. La fibronectina, juega un papel en la condensación de células mesenquimales al mediar la adhesión celular y la motilidad, de modo que su expresión aumenta en áreas de condensación celular y disminuye después del proceso de diferenciación. También se expresa colágeno tipo I (COL1A1) y colágeno tipo II que contiene el exón 2 (que se encuentra en colágenos no cartilagosos, COL2A1) (24).

3.3.2. Diferenciación a condrocitos

Después de la condensación de las células mesenquimatosas se da la diferenciación a condrocitos, de manera que el cartílago hialino forma el anlagen de los elementos del esqueleto, mientras que las células ubicadas en el borde de los elementos condensados forman el pericondrio que rodea el molde del cartílago (7).

Durante esta etapa, las células condensadas comienzan a expresar marcadores de diferenciación condrogénica como los factores de transcripción Sox 9, 5 y 6, necesarios para la expresión de colágeno tipo II, IX, XI y agregano, proteínas que componen la matriz cartilaginosa (31); y finalmente, las BMP 2, 4, 7 y 14, que regulan la condrogénesis de manera positiva al permitir la expresión de los genes Sox (32).

3.3.3. Proliferación e hipertrofia de condrocitos

Durante el proceso de desarrollo del sistema esquelético se debe mantener la relación de la señalización por BMP y FGF, debido a que son los factores que determinan el ritmo de diferenciación y la tasa de proliferación: los condrocitos en proliferación presentan la expresión de BMP-7 y la expresión del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR3), asociado con la proliferación de los condrocitos en la región central de la condensación mesenquimatososa (33).

La proteína relacionada con la hormona paratiroides (PTHrP) es uno de los principales reguladores de los condrocitos en diferenciación durante el desarrollo embrionario y postnatalmente en la placa de crecimiento. Se ha identificado su expresión en el pericondrio, en los condrocitos en reposo, proliferativos e hipertróficos; y su síntesis está controlada por Ihh (34).

La etapa de condrocitos hipertróficos tiene sus inicios cuando las células ubicadas en la región central del molde cartilaginoso comienzan a hipertrofiarse, aumentando el volumen de líquido intracelular casi 20 veces. Durante esta etapa se expresa Ihh en los condrocitos prehipertróficos, proporcionando el cambio de fenotipo proliferativo a hipertrófico, donde se expresan marcadores como colágeno tipo X, VEGF y la fosfatasa alcalina (35). De igual manera, las células desarrollan una superficie granular con microvellosidades que liberan vesículas de matriz necesarias para la mineralización del cartílago (36,37).

El principal factor de transcripción de esta etapa es Runx2, el cual se expresa en el pericondrio adyacente y en los condrocitos prehipertróficos, y en menor cantidad en los condrocitos hipertróficos tardíos, sirviendo como regulador positivo en la maduración de los condrocitos al fenotipo hipertrófico (38).

Estudios indican que proteínas como la osteocalcina y la osteopontina, las cuales conforman la matriz extracelular, se relacionan con la remodelación de esta matriz, lo cual induce estrés ambiental que es un factor contributivo para la expresión del fenotipo hipertrófico de los condrocitos y, eventualmente, la apoptosis de estos (22). La maduración ordenada de los condrocitos produce zonas de proliferación, hipertrofia y formación ósea como se observa en la Figura 2.

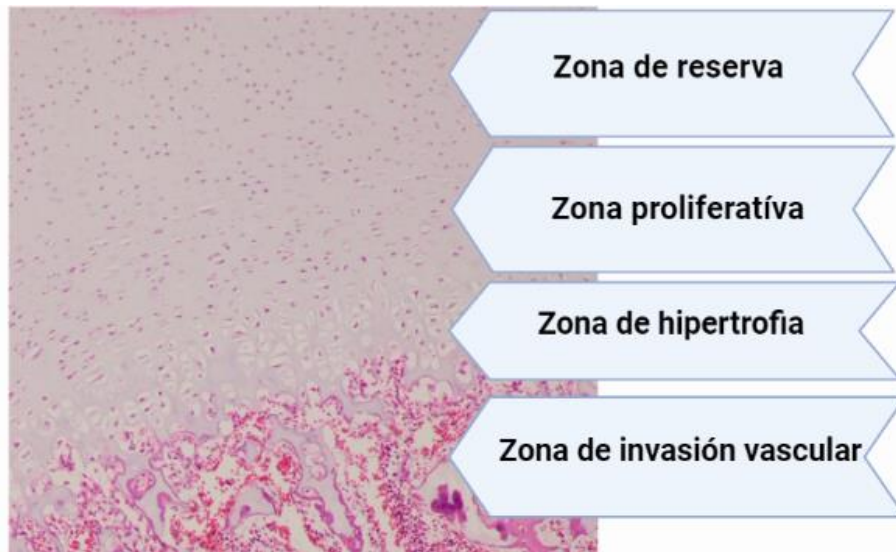


Figura 2. Zonas durante la osificación endocondral.

Iniciando desde la parte superior de la imagen con la zona de reserva, responsable del crecimiento longitudinal de hueso conforme avanza la erosión; seguido de la zona proliferativa, donde se observa como los condrocitos en proliferación se alinean en columnas verticales y paralelas; la zona de hipertrofia donde los condrocitos entran en apoptosis producto de la calcificación de la matriz; y finalmente, la zona de invasión vascular, donde los vasos sanguíneos atraviesan los tabiques y portan células madre hematopoyéticas y precursores de tejido óseo. (10x) Tinción de hematoxilina y eosina (H&E).

3.3.4. Invasión vascular

La angiogénesis es necesaria para la sustitución del cartílago por hueso, siendo el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), producido por los condrocitos hipertróficos, el principal componente que promueve la invasión vascular (39). Estos eventos de remodelación de la matriz cartilaginosa e invasión vascular son un requisito previo para la migración y diferenciación de osteoclastos (que son responsables de la resorción ósea) y los osteoblastos (que son responsables de la formación de hueso). Los osteoblastos surgen de progenitores mesenquimales a través de preosteoblastos, todos los cuales se consideran parte del linaje de osteoblastos. Un subconjunto de osteoblastos puede convertirse en otro tipo de célula del linaje de osteoblastos, los osteocitos, al quedar sepultados en la matriz ósea, y el resto se elimina por apoptosis o se convierten en células de revestimiento óseo inactivas. Los osteoclastos son células multinucleadas originarias de macrófagos derivados de la médula ósea, que a su vez son descendientes de células madre hematopoyéticas (HSC), que eliminan la matriz cartilaginosa (22).

Uno de los primeros cambios de la matriz extracelular durante esta etapa es la regulación a la baja de colágeno tipo II, el cual es sustituido por colágenos tipo X secretado por los condrocitos ubicados en el centro del molde cartilaginoso como producto de su maduración progresiva, y expresando un fenotipo hipertrófico que se relaciona principalmente con la invasión vascular (40). Esto permite la diferenciación de células osteoprogenitoras que, a su vez, se diferencian en osteoblastos, los cuales establecen el centro de osificación primario para generar el hueso trabecular, el microambiente de la médula ósea y llevar a cabo la hematopoyesis (7,41).

Los condrocitos hipertróficos expresan marcadores moleculares adicionales, como por ejemplo la metaloproteinasa de matriz 13 (MMP13) (42). Se han realizado estudios de inactivación en ratones que han demostrado que MMP13 desempeña un papel fundamental en la escisión de las proteínas de la matriz extracelular dentro del cartílago hipertrófico, por lo que facilita la invasión vascular (43).

3.3.5. Mineralización de la matriz

El proceso de mineralización de la matriz extracelular tiene sus inicios en la etapa de condrocitos hipertróficos, los cuales promueven la formación de cristales de hidroxapatita en la matriz extracelular al haber una acumulación de iones de calcio y fosfato (44). La matriz calcificada de los condrocitos hipertróficos sirve como andamio para que los osteoblastos invadan el molde cartilaginoso a través de los vasos y depositen allí la matriz ósea (45).

En la Figura 3 se observa la etapa de condensación de las células mesenquimatosas, la diferenciación de los condroprogenitores, la proliferación de los condrocitos, la invasión vascular y la osificación junto con las moléculas más importantes en cada etapa.

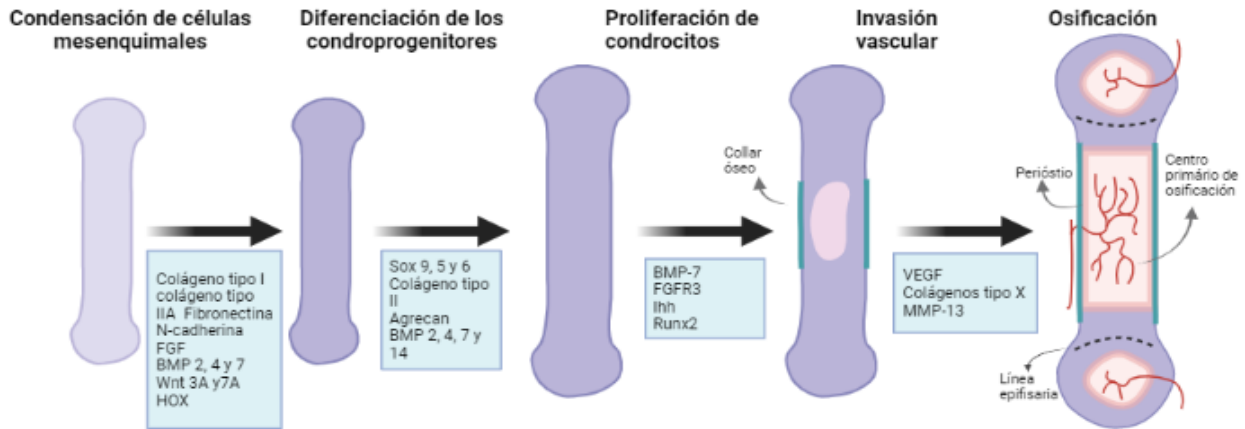


Figura 3. Secuencia de eventos durante la condrogénesis para el desarrollo de huesos largos.

Las diferentes etapas se representan esquemáticamente desde la condensación de las células mesenquimatosas hasta la osificación del elemento esquelético. Se muestra la presencia de los principales factores de crecimiento, diferenciación y de transcripción involucrados, además de las proteínas de la matriz extracelular que distinguen las diferentes etapas de la osificación endocondral.

3.4. Formación de la vértebra

La columna vertebral consiste en una estructura segmentada en 33 huesos: siete cervicales, doce torácicos, cinco lumbares, cinco sacros y un cóccix; los cuales están conectados y funcionan de manera coordinada para brindar apoyo estructural al cuerpo y proteger la médula espinal mientras transportan información hacia y desde el cerebro (3,46).

Las vértebras provienen de los somitos (estructuras transitorias de forma esférica que modelan y segmentan el embrión a lo largo del eje cefalocaudal (4,5)). Los primeros se forman a principios de la tercera semana para dar lugar a las estructuras de las vértebras cervicales. Los siguientes somitos se van formando de manera sucesiva al nivel del cierre del tubo neural en dirección craneocaudal, determinado por la expresión de los genes HOX5 (vértebras cervicales), HOX6 (torácicas), HOX10 (lumbares) y HOX11 (sacras y coxígeas) (47). Los somitos en desarrollo se reorganizan para formar el esclerotomo, el cual es la región ventral que forma el esqueleto axial (48).

En humanos, hacia la quinta semana embrionaria, las células del esclerotomo de cada par de somitos migran ventralmente para rodear la notocorda y formar los centros vertebrales (se considera que cada cuerpo vertebral está formado por la

fusión de cuatro somitos como se observa en la Figura 4). Otra porción de células migra dorsalmente para rodear el tubo neural y formar el arco vertebral. Por otro lado, las células ubicadas más lateralmente en el esclerotomo forman el proceso transverso vertebral y las costillas (49,50), mientras que los cuatro somitos más craneales (también llamados somitos occipitales) se fusionan para formar el hueso occipital de la base del cráneo (50,51).

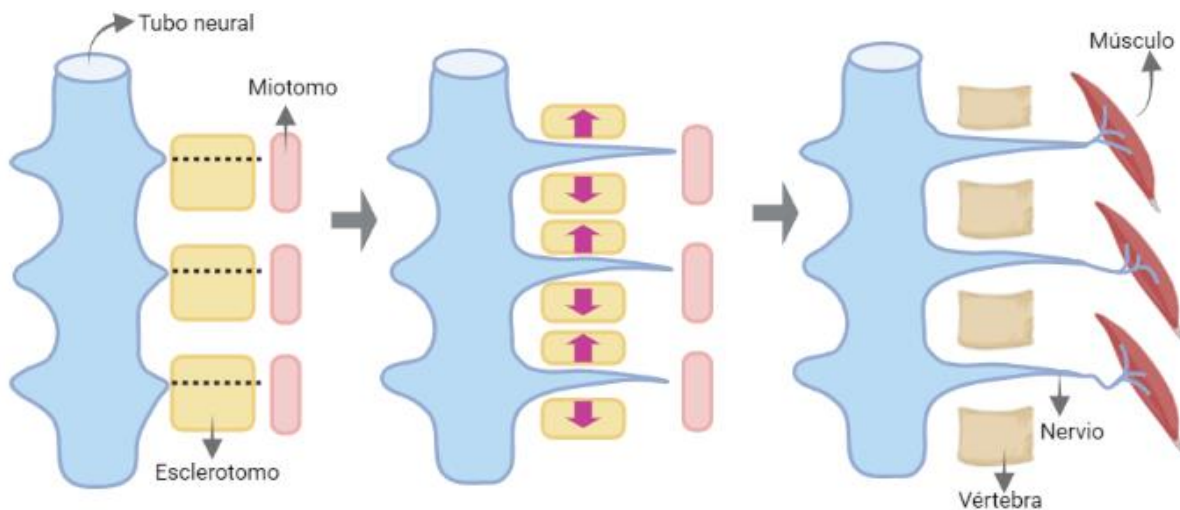


Figura 4. Resegmentación de los esclerotomos para formar las vértebras.

Los axones de las motoneuronas de los nervios espinales atraviesan el tercio cefal de cada esclerotomo, formando la fisura de Ebner. En esta zona hay menor densidad celular, lo que permite que cada uno de los esclerotomos se subdivida en un tercio craneal y dos tercios caudales. Cada uno de los tercios caudales, debido a su alta densidad celular, prolifera hacia caudal y se fusiona con el fragmento de esclerotomo adyacente, dando lugar al cuerpo de la vértebra.

Durante la sexta semana de vida embrionaria inicia la fase del anlagen cartilaginosa, apareciendo un par de centros dentro del cuerpo vertebral, un segundo par dorso-lateral dentro de los arcos vertebrales posteriores y la apófisis espinosa, y un tercer par entre los dos primeros y dentro de la apófisis transversa y arco costal (Figura 5.a). Este proceso de condricación inicia en la región cérvico-torácica y se extiende craneal y caudalmente (52).

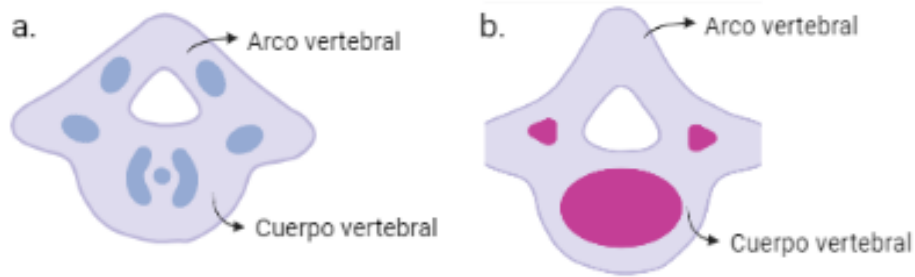


Figura 5. Ubicación de los centros de condricación y osificación en la vértebra.

a. Ubicación de los centros de condricación en la vértebra. se observan de color azul oscuro distribuidos a lo largo del cuerpo y el arco vertebral. **b. Ubicación de los centros de osificación en la vértebra.** Se observan de color morado distribuidos a lo largo del cuerpo y el arco vertebral, que posteriormente formará los pedículos, láminas, apófisis transversa y espinal.

Posteriormente, en el molde cartilaginoso se da la formación de los centros de osificación (Figura 5.b), comenzando durante la octava semana embrionaria y continuando después del nacimiento. La mayoría de los autores describen tres centros de osificación primarios: uno para el centro vertebral y otro para cada lado del arco vertebral; otros autores sugieren dos centros de osificación independientes dentro de cada centro vertebral (52).

Según estudios histológicos y radiológicos, los centros de osificación en el cuerpo de las vértebras inician en la región toracolumbar (T10-L1) entre las semanas prenatales 9 y 10, y se extienden rápidamente de manera bidireccional hacia craneal y caudal, llegando rápidamente a L5 al final del tercer mes prenatal (12 a 16 semanas), y a la segunda vértebra cervical al final del cuarto mes (16 a 20 semanas) (11,21).

Por el contrario, la osificación de los arcos neurales, según estudios de ultrasonografía e histología, comienza en la superficie interna de cada hemisferio del arco neural, de modo que los osteocitos se observan por primera vez en la superficie interna (canal) del arco neural alrededor de la semana 12. Para la semana 13, el hueso perióstico aparece en la parte externa del pedículo ya que la zona de hipertrofia del cartílago se ha extendido a lo largo del arco (11,14). La osificación y el crecimiento subsiguiente del arco neural, por lo tanto, se produce de forma centrípeta (12,53) y apoya la teoría de Bagnall et al. (54), la cual indica que el estímulo para el comienzo de la osificación en el arco neural está relacionado con

la unión de los músculos involucrados en los primeros reflejos prenatales. Así mismo, propone que la iniciación de la osificación en la región cervical y torácica superior durante el segundo mes prenatal y su extensión hacia cefal y caudal es un concomitante del reflejo de sacudida de la cabeza (reflejo de jadeo) observado en el feto alrededor de la semana 10.

Para la semana 12 aparece un segundo grupo de centros de osificación en las regiones torácica inferior y lumbar superior extendiéndose hacia la parte media, siendo los arcos neurales de L5 (asociados a los movimientos reflejos en las extremidades inferiores del feto) los últimos en desarrollarse hacia el final del cuarto mes (21,55).

3.5. Formación de las costillas

En los humanos hay doce pares de costillas ubicadas a nivel de las vértebras torácicas. Los primeros siete pares se conocen como "costillas verdaderas", debido a que se conectan por cartílago al hueso del esternón en la parte anterior; los siguientes tres pares (octava a décima costilla) cuentan con cartílago que las une al cartílago de las costillas anteriores, mientras que los últimos pares (costillas 11 a 12) se conocen como "costillas libres" debido a que no se conectan al esternón (56). En la Figura 6 se detalla las partes de una costilla típica (tercera a novena costilla).

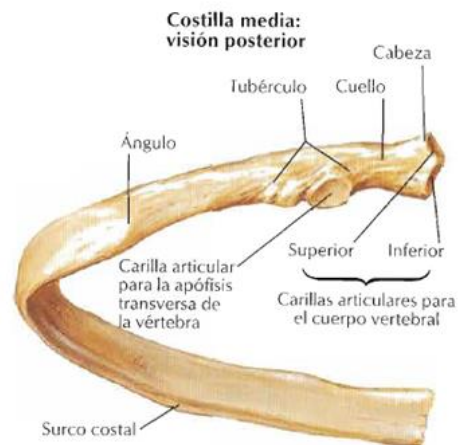


Figura 6. La costilla humana y sus partes.

Se componen de una pequeña porción proximal (cabeza, cuello y tubérculos) asociada con cada vértebra torácica correspondiente, y una porción distal, que constituye la mayor parte de la longitud de cada costilla y se une al esternón o "flota". Imagen tomada de (57).

Al igual que las vértebras, las costillas también provienen de los somitos. Aunque la información del proceso de desarrollo de los elementos costales en humanos es escaso, gran parte de la información que se encuentra en la literatura proviene de estudios en modelos animales (58). Según Scheuer, L. & Black, S. (2004), la formación de las costillas en humanos tiene sus inicios hacia el día 35, cuando los procesos costales de las vértebras de la región torácica inician su elongación. La primera costilla se desarrolla a partir del proceso costal T1 y se une al manubrio, el cuerpo vertebral T1 y la primera costilla formando la abertura de la caja torácica superior. Seguidamente, para mediados de la sexta semana (día 45) las primeras siete costillas se forman como estructuras ovals, se elongan ventralmente para adquirir su forma longitudinal característica, y se conectan hacia anterior al esternón a través de los cartílagos costales (21,50).

De acuerdo con estudios realizados en aves por Romanoff (1960), la condricación inicia en la región de la costilla próxima a la vértebra y más adelante en la región próxima al esternón, extendiéndose caudalmente por los elementos costales. En relación con la formación de las articulaciones costoesternales (entre la costilla y el esternón), estas se forman aproximadamente al mismo tiempo que las articulaciones costovertebrales (entre las vértebras y las costillas) (15,59).

La osificación de las costillas, según estudios histológicos y radiológicos en humanos, tiene sus inicios aproximadamente en la octava a novena semana de vida prenatal en las costillas cinco a siete, y se extienden de manera bidireccional en las semanas 11 y 12 de vida intrauterina (11). Cada costilla (a menudo con excepción de la duodécima) posee un único centro primario de osificación el cual se expande en dirección ventral y se ralentiza durante el cuarto mes prenatal (16 semanas), observándose pocos cambios de las costillas durante las últimas semanas de gestación con respecto a la pubertad (21).

3.6. Formación del esternón

El esternón proviene de la placa lateral del mesodermo y consta de tres partes óseas conectadas por dos articulaciones. En el extremo cefal del esternón se

encuentra el manubrio, un hueso grande, plano, ancho y relativamente fijo en su extremo cefálico debido a que se articula principalmente con la primera costilla y la clavícula. La parte más grande y plana del esternón se denomina cuerpo, el cual se articula con las costillas dos a siete; finalmente, se encuentra el proceso xifoides, que es pequeño y se articula parcialmente con la séptima costilla (60) (Figura 7).

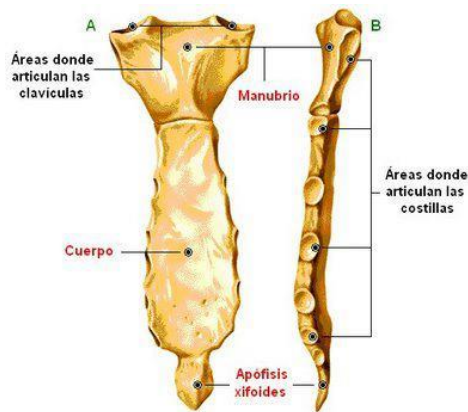


Figura 7. El esternón humano y sus partes (57).

En humanos, el esternón se desarrolla en la sexta semana y aparece como un par de bandas esternales paralelas, verticales, derecha e izquierda de mesénquima condensado procedente de la placa lateral del mesodermo. Estas se fusionan en dirección medial y craneocaudal paralelo a su proceso de condricificación, el cual cesa durante la novena o décima semana, momento en el que suele estar completa la fusión de las barras (10).

La osificación de este elemento esquelético, según estudios ecográficos en fetos, comienza en la semana 19 en el manubrio y la parte superior del cuerpo del esternón, de modo que para la semana 29 se observan cinco centros de osificación a lo largo del elemento esquelético (10). De esta manera, durante el primer año posnatal se observa osificación en la parte inferior del cuerpo, y entre los 5 y 18 años en el proceso xifoides. Sin embargo, cabe resaltar que este hueso muestra extrema variación entre los individuos durante el desarrollo, especialmente en relación con el número (hasta seis) y tiempo de aparición de sus centros de osificación (10). Así mismo, se ha demostrado que la longitud del esternón crece

alrededor de 10 a 15 mm entre las 19 a 20 semanas de gestación y hasta 35 a 42 mm entre las 35 a 38 semanas de gestación (36,37).

3.7. Formación de la cintura pélvica

La cintura pélvica proviene de la placa lateral del mesodermo y está conformada por la fusión de tres huesos: el ilion, el isquion y el pubis. La columna vertebral a nivel de la pelvis, por su parte, se encuentra por debajo de la columna lumbar y está constituida por el sacro y el cóccix. Los dos huesos pélvicos están conectados anteriormente por la sínfisis del pubis, mientras que posteriormente se articulan con la columna vertebral a nivel de la pelvis para conformar las articulaciones sacroilíacas (2) (Figura 8).

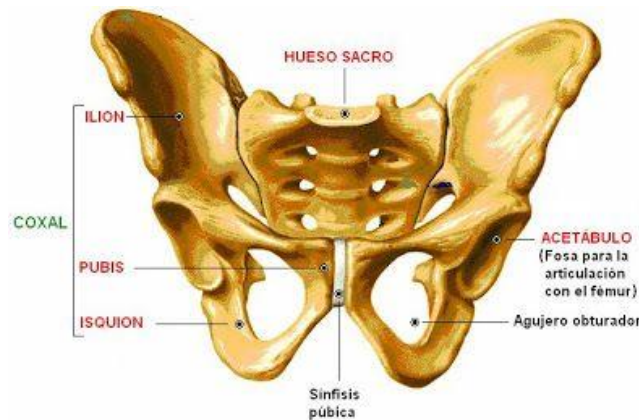


Figura 8. La cintura pélvica humana y sus partes(57).

Según estudios realizados en la década de los 60 por Laurenson y colaboradores, la formación de la cintura pélvica en humanos inicia con la condensación de células en una región delimitada por los nervios obturador, femoral y ciático. Seguidamente, se forman tres estructuras que van a dar lugar al ilion, el isquion y el pubis (16,61). Las estructuras del isquion y el pubis se fusionan a nivel del nervio obturador, mientras que la estructura del ilion aumenta su tamaño hasta fusionarse con el sacro, dando lugar a la articulación sacroilíaca; por otra parte, las células del pubis derecho e izquierdo se extienden medialmente y se fusionan para formar la sínfisis púbica (16,21).

El proceso de osificación del ilion comienza en la novena semana de gestación (62) por encima de la escotadura ciática mayor en el borde superior del acetábulo (16), y progresa cefálicamente hacia la cresta ilíaca (63).

El isquion se osifica durante el cuarto mes de gestación (semana 16), mientras que el pubis se osifica entre las semanas 16 a 20 de la vida prenatal. Durante ese tiempo, los contornos de la escotadura ciática mayor, así como las espinas ilíacas anterosuperior y anteroinferior, ya son visibles. Los centros de osificación primarios en crecimiento del hueso coxal contribuyen a la formación del acetábulo, cuyas tres partes permanecen separadas por una capa de cartílago en forma de "Y" hasta la pubertad (63).

3.8. Formación del fémur

El desarrollo del fémur se ha estudiado mediante tomografía computarizada, e inicia con la condensación mesenquimatosa alrededor del día 41 del desarrollo embrionario (quinta semana), completándose al final del período embrionario. Esta condensación es el primer paso en la formación del hueso. Luego, se forma un molde cartilaginoso entre los días 41 y 44 (quinta a sexta semana) (21,64). Aproximadamente a los 48 días, la cabeza del fémur comienza a condrificarse. A los 52 días, el cuello del fémur, los trocánteres (prominencias óseas en el fémur) y los cóndilos (superficies articulares) ya son visibles en el desarrollo embrionario (65).

En cuanto a la osificación, se observa la formación de un collar óseo en el eje medio del fémur durante las semanas 7 a 8 del desarrollo embrionario. Aproximadamente una semana después, alrededor de las 12-13 semanas, se puede identificar histológicamente el centro de osificación endocondral. Durante este tiempo, la osificación se extiende desde el eje del fémur hacia la región del cuello proximalmente (cerca de la articulación de la cadera) y hacia la epífisis inferior distalmente (cerca de la articulación de la rodilla) (65).

3.9. El sistema esquelético

El esqueleto es una estructura dinámica constituida por diversos tejidos, como el tejido cartilaginoso y el tejido óseo. El tejido cartilaginoso tiene la función de servir como molde para la formación y crecimiento de los huesos, proporcionando una estructura flexible y resistente para el depósito de tejido óseo alrededor de sus cavidades, permitiendo así la formación y el crecimiento de los huesos. Por otro lado, el tejido óseo proporciona soporte estructural y protección a los órganos vitales. Además, actúa como un almacén de minerales, como el calcio y el fósforo, y desempeña un papel crucial en la producción de células sanguíneas a través de la hematopoyesis en la médula ósea (50).

3.9.1 El tejido cartilaginoso

- **La matriz extracelular (MEC)**

La MEC constituye una red compleja de colágenos, glucoproteínas distintas del colágeno y proteoglicanos que rodea las células. Entre las funciones principales de la MEC se incluyen: brindar un andamio, siendo un soporte mecánico y estructural para que las células se adhieran; ayudar a mantener la integridad del tejido; influir en el comportamiento celular a través de moléculas de señalización; restringir o permitir físicamente el movimiento celular; y servir como un centro de señalización, lo que permite que las células se comuniquen entre sí y con el entorno.

La MEC cartilaginosa está formada por proteoglicanos (ricos en glucosaminoglicanos (GAG), condroitín sulfato y queratán sulfato), ácido hialurónico y abundante agua (70-80% de su peso). Los GAG son cadenas largas de moléculas de carbohidratos que se unen a proteínas para formar proteoglicanos: al tener carga negativa, les permite atraer y unir moléculas de agua, proporcionando hidratación y compresibilidad al tejido. De esta manera, las fibras de colágeno proporcionan fuerza y resiliencia al tejido del cartílago, mientras que los proteoglicanos son responsables de su compresibilidad y resistencia a la deformación. El agregano es un gran proteoglicano típico del cartílago, cuya expresión, junto con la del colágeno tipo II, es dependiente del factor de transcripción Sox9. Este factor activa la

expresión del colágeno a través del gen COL2A1, y la falta de su expresión impide la diferenciación de la capa condrógena en condrocitos (7).

- **Los condroblastos**

Los condroblastos tienen tres orígenes tisulares (como ya se ha mencionado anteriormente): los somitos, que forma el esqueleto axial; la placa lateral del mesodermo, que forma el esqueleto apendicular y el esternón; y las células de la cresta neural, que dan origen a los elementos cartilaginosos de la cara y la laringe.

Los condroblastos son un tipo de célula que juega un papel clave en el desarrollo, crecimiento y reparación del tejido. Se encargan de producir la MEC y se derivan de las células madre mesenquimales. Estas células se encuentran en la capa externa del tejido del cartílago y forman centros de condricación (condroblastos rodeados de matriz extracelular). Los condroblastos producen los componentes orgánicos de la MEC, incluidas las fibras de colágeno y los proteoglicanos (7).

Histológicamente, los condroblastos se caracterizan por su forma y tamaño, siendo típicamente células relativamente pequeñas que miden entre 10 y 15 micrómetros de diámetro, de forma ovoide o redondeada y con un solo núcleo grande que ocupa la mayor parte del volumen de la célula. Contienen lípidos, glucógeno, un retículo endoplásmico bien desarrollado (citoplasma basófilo) y un aparato de Golgi. Los condroblastos en tejido adulto se encuentran en la capa externa del tejido cartilaginoso, conocida como pericondrio (7).

- **Los condrocitos**

Los condrocitos son células que se encuentran en la matriz extracelular del tejido cartilaginoso. Son responsables de producir y mantener la matriz del cartílago al producir y secretar los componentes de la MEC, incluidos el colágeno y los proteoglicanos, que proporcionan fuerza y elasticidad al tejido.

Típicamente son de forma redonda o poligonal, con un núcleo grande ubicado en el centro y una pequeña cantidad de citoplasma, un retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golgi y una gran cantidad de vesículas de secreción. Se localizan en

pequeñas cavidades llamadas lagunas, y en su contorno se observa una pequeña porción de matriz que recibe el nombre de cápsula pericelular, la cual está compuesta por una fina red de fibras de colágeno que protege a los condrocitos de fuerzas mecánicas. De manera característica, los condrocitos presentan una o dos divisiones mitóticas, y se organizan en pequeños grupos atrapados en lagunas denominados grupos isógenos, que continúan con la producción de una matriz territorial encargada del crecimiento intersticial del cartílago (7,66).

- **El pericondrio**

El pericondrio es una capa de tejido conectivo irregular denso que rodea el cartílago, el cual juega un papel importante en el crecimiento y mantenimiento del tejido cartilaginoso al tener vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas que suministran nutrientes y oxígeno. Consta de una capa fibrosa externa y una capa celular interna. La capa fibrosa externa del pericondrio está compuesta por fibras de colágeno tipo I y elastina. Las células allí presentes se observan normalmente con una morfología fusiforme, siendo una zona de transición entre el cartílago y el tejido conjuntivo general que lo rodea, de modo que brinda resistencia y protección al cartílago; por otro lado, la capa celular interna del pericondrio o capa condrogénica está compuesta por células mesenquimatosas que se diferencian en condroblastos (7). Posteriormente, los condrocitos dirigen la diferenciación de las células pericondriales en osteoblastos (67).

3.9.2 El tejido óseo

- **El periostio**

El periostio es una membrana de tejido conjuntivo fibroso denso que cubre la totalidad de la superficie externa de los huesos a excepción de las superficies articulares, donde es reemplazado por cartílago articular. Está compuesto por una capa fibrosa externa y una capa osteogénica interna. La capa fibrosa del periostio se compone por fibras de colágeno y fibroblastos que producen y mantienen la matriz extracelular del tejido, y por vasos sanguíneos que penetran en los conductos de Volkman (7).

La capa interna de osteoblastos, denominada capa osteogénica, participa en el crecimiento y la reparación de los huesos. Esta capa también contiene células implicadas en la reabsorción ósea, como los osteoclastos, además de que, en la edad adulta, contiene células inactivas del tejido conjuntivo que conservan la capacidad osteogénica en caso de lesión ósea para su reparación (7).

- **La matriz ósea**

La matriz ósea contiene componentes orgánicos (35%) e inorgánicos (65%). La matriz ósea orgánica está formada por fibras de colágeno de tipo I (90%), proteoglicanos enriquecidos en condroitina sulfato, queratán sulfato y ácido hialurónico, y proteínas distintas del colágeno. El componente inorgánico del hueso consta fundamentalmente de depósitos de fosfatos de calcio con las características químicas de la hidroxiapatita, cuyos cristales se distribuyen a lo largo de las fibras de colágeno mediante un proceso de ensamblaje en el que colaboran las proteínas distintas del colágeno, tales como la osteocalcina, la osteopontina y la osteonectina, sintetizadas por los osteoblastos. La síntesis de estas dos primeras proteínas aumenta debido a la estimulación por el metabolito activo de la vitamina D, 25-dihidroxicolecalciferol (68). Por otra parte, la osteocalcina inhibe el funcionamiento de los osteoblastos, mientras que la osteonectina no constituye un producto exclusivo de los osteoblastos y aparece en tejidos sometidos a remodelación y morfogenia (1,2).

- **Células progenitoras óseas**

Las células osteoprogenitoras son de origen mesenquimatoso, que luego diferencian a fenotipo condroblástico (SOX9) y, por último, tienen la capacidad de diferenciarse en osteoblastos a través de factores de transcripción, como RUNX2, la β -catenina y el factor de transcripción específico de osteoblastos (Osterix), entre otros (69).

- **Osteoblastos**

Son las células que sintetizan y secretan las fibras de colágeno tipo I y otros componentes orgánicos necesarios para el desarrollo de la matriz extracelular, como la osteocalcina, la osteopontina y la osteonectina. Morfológicamente son células grandes (20-30 μm), de forma poliédrica, con citoplasma basófilo y con un aparato de Golgi y un retículo endoplásmico rugoso de tamaño importante, que se disponen en una monocapa que reviste todas las regiones de formación activa de hueso.

Los osteoblastos maduros secretan vesículas y fosfatasa alcalina (ALP) que se combina con los iones de calcio para formar hidroxapatita, con lo que se logra la calcificación del osteoide. El citoplasma de los osteoblastos atrapados en el osteoide se reduce y los osteoblastos luego se diferencian en osteocitos (69).

- **Los osteocitos**

Los osteoblastos disminuyen progresivamente la producción de matriz ósea, experimentan cambios drásticos en su morfología y comienzan a expresar genes propios de los osteocitos. Aproximadamente, entre el 5% y el 20% de los osteoblastos experimentan una diferenciación terminal y se convierten en osteocitos. El resto de los osteoblastos muere por apoptosis o adopta una morfología aplanada y se convierte en células de revestimiento óseo, que cubren las superficies inactivas del hueso. Durante el proceso de diferenciación a osteocitos, la morfología de los osteoblastos cambia a la forma característica estrellada. Los osteocitos, son las células más abundantes del hueso (10 veces más que los osteoblastos) y su cuerpo se ubica en el interior de lagunas, mientras que los procesos citoplasmáticos se comunican entre sí a través de conductos (70).

Este proceso también se caracteriza por una reducción mediada por autofagia en retículo endoplásmico, el número de mitocondrias y el desarrollo de proyecciones citoplasmáticas (71). Durante la diferenciación de osteoblastos a osteocitos, los principales cambios en la transcripción y traducción conducen a la expresión de

moléculas que regulan la homeostasis ósea y el metabolismo del fosfato como Cbfl/Runx2 y osterix (72).

- **Osteoclastos**

Son células grandes que derivan de células precursoras mononucleares del linaje de monocitos-macrófagos (2,73). Se concentran en el endostio, y liberan enzimas lisosómicas y ácidos que digieren los componentes proteicos y minerales de la matriz extracelular ósea subyacente. Este proceso se conoce como resorción ósea, y se da para cumplir funciones como el desarrollo, el mantenimiento y la reparación normal del hueso (1). RANKL y el factor estimulante de colonias de Macrófagos (M-CSF) son dos citoquinas fundamentales para la formación de osteoclastos. Tanto RANKL como M-CSF son producidos principalmente por células del estroma de la médula ósea y los osteoblastos (74). RANKL es fundamental para la formación de osteoclastos, mientras que M-CSF es necesario para la proliferación, supervivencia y diferenciación de los precursores de osteoclastos, así como para el reordenamiento del citoesqueleto, necesario para la resorción ósea (74).

La resorción ósea depende de la secreción de iones de hidrógeno y la enzima catepsina K. Los H⁺ iones acidifican el compartimiento de reabsorción debajo de los osteoclastos para disolver el componente mineral de la matriz ósea, mientras que la catepsina K digiere la matriz proteica, que se compone principalmente de colágeno tipo I (73).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Comparar el proceso de osificación endocondral humano en el desarrollo de elementos esqueléticos provenientes de somitos y placa lateral del mesodermo.

4.2. Objetivos específicos

- Describir las etapas del proceso de osificación endocondral en elementos esqueléticos humanos provenientes de somitos (vértebras y costillas) de embriones, fetos y neonatos.
- Describir las etapas del proceso de osificación endocondral en elementos esqueléticos humanos provenientes de placa lateral del mesodermo (esternón y esqueleto apendicular) de embriones, fetos y neonatos.

5. METODOLOGÍA

El presente trabajo es un estudio de tipo descriptivo que se llevó a cabo como parte de la ejecución del proyecto titulado "Caracterización de la población de células estromales de médula ósea obtenidas de recién nacidos con muerte perinatal". Dicho proyecto fue previamente avalado por el Comité de Investigaciones y Ética Institucional (CIEI) de la Facultad de Medicina de la Universidad Javeriana el 13 de mayo de 2019 (véase ANEXO 1).

5.1. Selección de casos

Para la selección de los casos que se incluyeron en el estudio, se llevó a cabo una revisión de las historias clínicas correspondientes a muertes embrionarias, fetales y neonatales, abarcando desde la semana 7 de gestación hasta los recién nacidos, atendidos en el Hospital Universitario San Ignacio (HUSI) durante el período comprendido entre 2020 y 2022. Dichos casos debían haber sido admitidos en el Departamento de Patología y contar con el debido consentimiento informado, diligenciado por los padres y un testigo (véase ANEXO 2). En dicho consentimiento, se informó a los padres acerca de la finalidad de llevar a cabo un estudio de patología o autopsia fetal, haciendo hincapié en que no implicaba ningún riesgo, sino que, por el contrario, proporcionaba información valiosa sobre posibles complicaciones en futuros embarazos.

Los criterios de inclusión y exclusión que se tuvieron en cuenta para la selección de los casos según la historia clínica son los siguientes:

Criterios de inclusión

- Casos de muertes embrionarias, fetales y neonatales ingresados al HUSI que contaran con la historia clínica de la madre y el embrión, feto o neonato.
- Casos donde se mencionaba en la historia clínica la recolección de tejido óseo durante la autopsia, tales como vértebras, costillas, esternón y cintura pélvica, fijado en formaldehído y que contaban con láminas con tinción H&E para evaluar la calidad del tejido.

Criterios de exclusión

- Descripción en la historia clínica de alteraciones esqueléticas como malformaciones.
- Maceración severa.

Siguiendo estos criterios de inclusión y exclusión, se seleccionaron un total de 30 casos, los cuales fueron preservados en bloques de parafina para su posterior procesamiento.

5.2. Procesamiento de las muestras

Los tejidos histológicos se preservaron en bloques de parafina, fijados en formaldehído. A partir de estos bloques se hicieron cortes de 3 micras de grosor y se dispusieron en láminas para realizar la respectiva tinción H&E.

5.3. Lectura de las muestras

La lectura de las láminas histológicas se llevó a cabo de forma simultánea con la asistencia de dos médicos patólogos, un residente de patología y los investigadores del proyecto en un microscopio Olympus BX53 de diez cabezas en el Departamento de Patología del Hospital Universitario San Ignacio. Estos participantes no tenían conocimiento de los datos relevantes de la historia clínica de los casos, como la edad del paciente, el sexo y la causa de muerte, con el fin de evitar sesgos en los resultados. Se realizó una revisión general de las estructuras presentes en la lámina utilizando el objetivo de 4x; seguidamente, con el fin de obtener una evaluación

morfológica del tejido y sus componentes celulares se observaron las láminas con los objetivos de 10x y 40x. Además, se tomaron fotografías de los campos histológicos representativos para algunos casos.

5.4. Elaboración y alimentación de la base de datos

Para la adecuada organización y análisis de los datos obtenidos de las historias clínicas y las lecturas histológicas de los 30 casos seleccionados, se implementó una base de datos utilizando la plataforma en línea REDCap.

Los criterios extraídos de las historias clínicas fueron los siguientes:

- Número de identificación asignado en el departamento de patología.
- Edad obstétrica y edad de patología del caso.
- Diagnósticos del embrión, feto o neonato, incluyendo infecciones ascendentes, STORCH (sífilis, toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus, herpes simple y VIH), malformaciones mayores, síndromes genéticos, hipoxia, malperfusión vascular materna (MVM), malperfusión vascular fetal (MVF), alteraciones del cordón umbilical (CU), restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y otras complicaciones fetales.

Asimismo, durante las lecturas histológicas se tomaron en cuenta los siguientes datos relacionados con los componentes histológicos de cada elemento esquelético:

- Tipo de elemento esquelético (v.g. vértebra, reja costal, fémur u otro); así como la ubicación estimada del elemento esquelético.
- Componentes histológicos presentes en cada elemento esquelético, tales como fibroblastos, condrocitos, pericondrio, osteoclastos, osteoblastos, osteocito, periostio, hueso compacto, hueso esponjoso, médula ósea, línea hematopoyética y otros tipos celulares.

5.5. Análisis de Resultados

Se realizó un análisis descriptivo de los hallazgos histológicos para cada uno de los elementos esqueléticos disponibles en cada caso. Para esto se organizaron los datos cualitativos recopilados permitiendo la clasificación de los casos según la edad, el elemento esquelético y la localización anatómica del corte histológico. Para cada elemento esquelético en estudio se analizó la presencia o ausencia de células que indicaban el proceso de desarrollo y osificación de dicho elemento por código de color.

Mediante la clasificación de los casos según la edad, se pudo evaluar cómo varían las características histológicas a lo largo del tiempo y determinar posibles patrones de desarrollo. La localización anatómica del corte histológico brindó información adicional sobre la distribución de las características histológicas dentro del elemento esquelético en estudio. Por último, la clasificación por elemento esquelético permitió estudiar las particularidades de cada uno y examinar si existen diferencias en los procesos de desarrollo y osificación entre los elementos esqueléticos y según su origen embrionario; es decir, los somitos y la placa lateral del mesodermo.

6. RESULTADOS

6.1. Distribución de los casos por edad

Los 30 casos seleccionados fueron clasificados según su edad en embriones, fetos y neonatos, y se registraron los elementos esqueléticos observados para cada caso, como se muestra en la Figura 9. Es importante destacar que dentro de la población de estudio se incluyen casos de muertes embrionarias que ocurrieron durante las semanas 7 y 8 de gestación, muertes fetales que ocurrieron desde la semana 9 hasta antes del trabajo de parto (Figura 9a), y muertes neonatales que abarcan desde el momento el parto hasta los primeros 28 días de vida (Figura 9b).

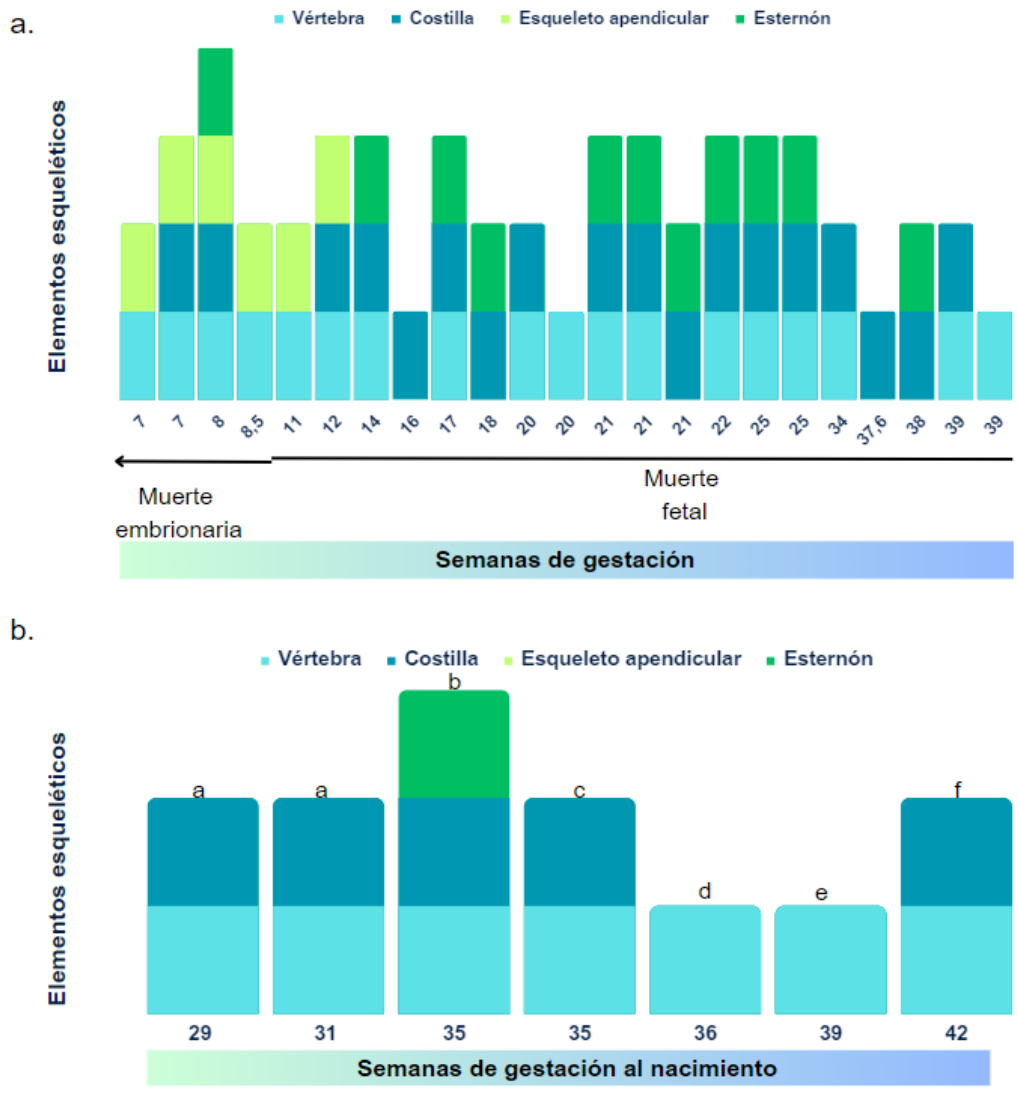


Figura 9. Distribución de los casos por elementos esqueléticos y edad. En el eje “X” se presentan los casos seleccionados en el presente estudio, clasificados según su edad gestacional determinada por el Departamento de Patología. En el eje “Y” se observa la presencia de elementos esqueléticos específicos en cada caso: vértebras y costillas derivadas de los somitos (indicadas en tonos azul), así como el esqueleto apendicular y el esternón (en tonos verde), los cuales se originan a partir de la placa lateral del mesodermo. **(a)** Casos de muertes embrionarias y fetales. **(b)** Casos de muertes neonatales, donde los días de vida posparto se indican de la siguiente manera: (a) menos de un día, (b) 6 días, (c) 14 días, (d) 4 días, (e) 21 días y (f) 5 días de vida.

6.2. Diagnósticos de los casos

Dentro de los casos analizados, se identificaron varios diagnósticos en las diferentes etapas del desarrollo (Figura 10) y se excluyeron los casos con malformaciones relacionadas con el sistema esquelético.

Para los embriones, la principal causa de muerte fueron los probables síndromes genéticos. Para los fetos, se encontraron diversas causas de muerte, como malformaciones mayores, entre las que se pueden encontrar: retardo de la maduración pulmonar y tiroidea, hipoplasia cerebelosa, cardiopatía congénita y hernia diafragmática. Además, se observaron posibles síndromes genéticos, hipoxia, malperfusión vascular fetal (MVF), alteraciones del cordón umbilical (CU) en cuanto a la longitud, el número de vasos, el índice y la dirección del enrollamiento, así como inserciones anómalas. También se identificó la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU). Por otro lado, las madres presentaban infecciones ascendentes y malperfusión vascular materna (MVM).

Por otra parte, en los casos correspondientes a neonatos se observaron malformaciones mayores, tales como, cardiopatía congénita y agenesia renal, posibles síndromes genéticos, infecciones ascendentes, infecciones transplacentarias conocidas como STORCH (siglas en inglés que se refieren a infección por sífilis, toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus, herpes simple y VIH), hipoxia y alteraciones del cordón umbilical (CU). Además, las madres presentaban MVM.



Figura 10. Descripción de los diagnósticos presentes en los casos de embriones, fetos y neonatos seleccionados.

Malperfusión vascular fetal (MVF), Alteraciones del cordón umbilical (CU), restricción del crecimiento uterino (RCIU), malperfusión vascular materna (MVM). Los diagnósticos de las madres corresponden a los señalados con el símbolo #.

6.3. Hallazgos histológicos

6.3.1. Vértebra

Durante la semana 7 a 42 de gestación se observaron los cambios relacionados con el proceso de osificación endocondral, desde la presencia de condroprogenitores, hasta la formación y crecimiento del centro de osificación en el cuerpo de la vértebra, tal como se detalla en la Tabla 1.

Para las siete semanas de gestación se obtuvieron dos casos. En el caso temprano de 7 semanas se pudo identificar el inicio de la formación del anlagen cartilaginosa, compuesto por una condensación de células condroprogenitoras y sin pericondrio (Figuras 11a, 11b). Al comparar estos hallazgos con el caso tardío de siete semanas, para todas las vértebras se observó la presencia del anlagen cartilaginosa, el cual estaba compuesto por condrocitos con su característica morfología redonda u ovalada, con un núcleo grande ubicado en el centro; también, se observaron escasos condrocitos con morfología pre-hipertrófica (Figuras 11c, 11d). A partir de la octava semana de desarrollo se empezó a observar la presencia de condrocitos hipertróficos, caracterizados por presentar un citoplasma expandido y una coloración clara, además de la pérdida del núcleo (Figuras 11e, 11f) y pericondrio, compuesto por células con morfología fusiforme (Figuras 11f); corte histológico extraído de un cuerpo vertebral de la región toraco-lumbar en un corte sagital.

Durante la semana 12 en adelante se evidenció la presencia de un centro de osificación primario, ubicado en el centro de un cuerpo vertebral de la región torácica (Figuras 11g, 11h), y también se observó la aparición de periostio a las 17 semanas, siendo una capa de células rodeando el tejido calcificado (Figura 11i). En el cartílago circundante se observó las siguientes zonas: (1) Zona de cartílago en reposo: en esta zona, los condrocitos en reposo se encuentran presentes en las lagunas; (2) Zona de cartílago en proliferación: en esta región, los condrocitos se multiplican y se aprecian como agregados de pequeñas células dispuestas en pequeñas columnas longitudinales; (3) Zona de cartílago hipertrófico: en esta zona, los

condrocitos se mantienen dispuestos en columnas, con citoplasma aumentado en tamaño y se observan con escasa o nula coloración; y (4) Zona de formación de tejido óseo sobre matriz de cartílago mineralizado: en esta zona, la matriz muestra una tinción basófila (rosado), producto de la calcificación de la matriz, además de la presencia de vasos sanguíneos atravesando el molde cartilaginoso (Figuras 11j, 11k).

Finalmente, fue posible observar la presencia del núcleo pulposo (Figura 11l), ubicado justo en el cuerpo vertebral en medio del tejido calcificado. Las células que componen el tejido de este núcleo se observaron como condrocitos de núcleo prominente, rodeados por una amplia matriz territorial.

Tabla 1. Tejidos y tipos celulares observados en el cuerpo de las vértebras según las semanas de gestación.

SEMANAS	CONDENSACIÓN MESENQUIMATOSA	MOLDE CARTILAGINOSO			DIFERENCIACIÓN DE CONDROCITOS				SÍNTESIS DE OSTEOIDE			OBSERVACIONES
		Condroprogenitores	Condroblastos	Condrocitos	Reserva	Pila de monedas	Hipertrófico	Pericondrio	Osteoblastos	Osteocitos	Periostio	
7												Vértebras en corte sagital
7												Todas las Vértebras en corte sagital
8												Vértebras lumbares y torácicas en corte sagital
8,5												Vértebras lumbares y torácicas en corte sagital
11												Vértebra lumbar en corte transversal
12												T4
14												Vértebra torácica en corte transversal
17												Vértebra torácica en corte transversal
20												Vértebra torácica en corte transversal
20												Vértebra torácica en corte transversal
21												Vértebra torácica en corte transversal
21												Vértebra torácica en corte transversal
22												Vértebra torácica en corte transversal
25												Vértebra torácica en corte transversal
25												Vértebra torácica en corte transversal
31												Vértebra torácica en corte transversal
34												Vértebra torácica en corte transversal
35												Vértebra torácica en corte transversal
35												Vértebra torácica en corte transversal
36												Vértebra torácica en corte transversal
39												Vértebra torácica en corte transversal
39												Vértebra torácica en corte transversal
39												Vértebra torácica en corte transversal
42												Vértebra torácica en corte transversal

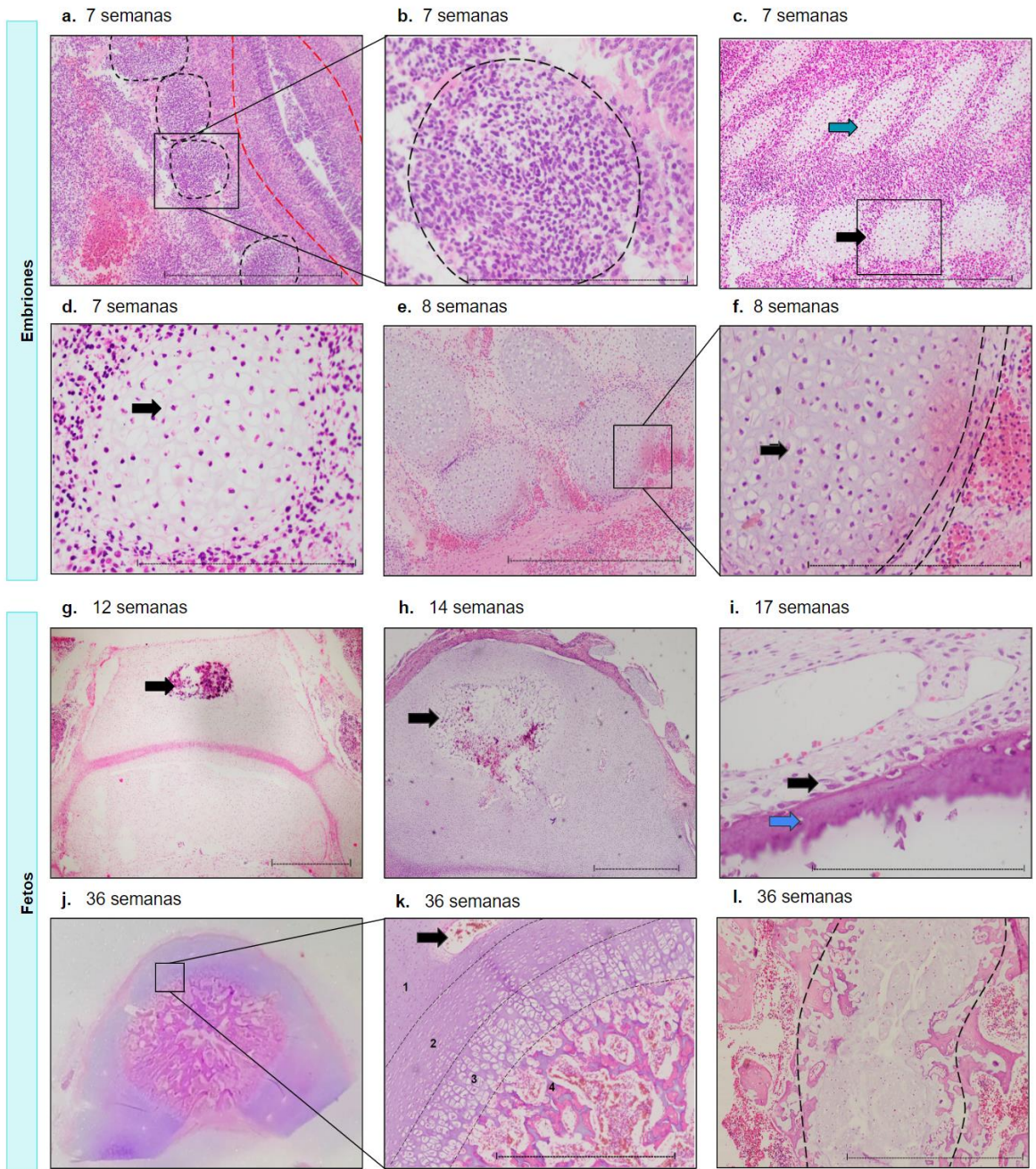


Figura 11. Histología observada para los casos de cuerpos vertebrales.

Se muestran imágenes representativas de algunos de los casos estudiados. **(a-b)**: vértebras en formación (delimitado por la línea punteada negra) y el tubo neural delimitado por la línea punteada roja en un corte sagital (aumento de 4x y 40x). **(c-d)**: molde cartilaginoso correspondiente a vértebras (flecha negra) y costillas (flecha azul) (aumento de 40x y 4x). **(e-f)**: Condrocitos con morfología hipertrófica (flecha negra) en corte sagital, pericondrio delimitado por la línea negra punteada (aumento de 4x y 40x (escala 1mm)) **(g-h)**: Inicio del centro de osificación (indicados con la flecha negra) en el centro del cuerpo vertebral en corte transversal (40x). **(i)** periostio indicado por la línea negra, rodeando la trabécula compuesta por tejido calcificado (flecha azul) (aumento de 10 x). **(j)**: Centro de osificación observado en el estereoscopio **(k)**: (1) Zona de cartilago en reposo, (2) Zona de cartilago en proliferación, (3) Zona de cartilago hipertrófico, (4) Zona de formación de tejido óseo sobre matriz de cartilago mineralizado y vasos sanguíneo indicado por la flecha negra (aumento de 10x). **(l)**: núcleo pulposo delimitado por la línea negra observado en el centro del cuerpo de la vértebra en un corte transversal (aumento de 10x) Imágenes con tinción de H&E, escala de 2 mm.

En la Tabla 2 se describen las etapas del proceso de osificación endocondral en los pedículos vertebrales (elementos provenientes de los somitos), especificando la ubicación del corte histológico. Se observó la presencia del molde cartilaginoso, compuesto por condrocitos y pericondrio desde la semana 11 de gestación. De la semana 14 en adelante, fue posible observar los dos centros de osificación (uno para cada pedículo) a lo largo del desarrollo gestacional (Figura 12); no obstante, en los casos analizados no se observó la transición de hipertrofia a vascularización previo al centro primario de osificación.

Tabla 2. Tejidos y tipos celulares observados en los pedículos vertebrales según las semanas de gestación.

SEMANAS	CONDENSACIÓN MESENQUIMATOSA	MOLDE CARTILAGINOSO			DIFERENCIACIÓN DE CONDROCITOS			SÍNTESIS DE OSTEOIDE			OBSERVACIONES
		Condroprogenitores	Condroblastos	Condrocitos	Reserva	Pila de monedas	Hipertrófico	Pericondrio	Osteoblastos	Osteocitos	
11											Vértebra lumbar en corte transversal
14											Vértebra torácica en corte transversal
17											Vértebra torácica en corte transversal
20											Vértebra torácica en corte transversal
20											Vértebra torácica en corte transversal
21											Vértebra torácica en corte transversal
21											Vértebra torácica en corte transversal
22											Vértebra torácica en corte transversal
35											Vértebra torácica en corte transversal
35											Vértebra torácica en corte transversal
36											Vértebra torácica en corte transversal
39											Vértebra torácica en corte transversal
39											Vértebra torácica en corte transversal

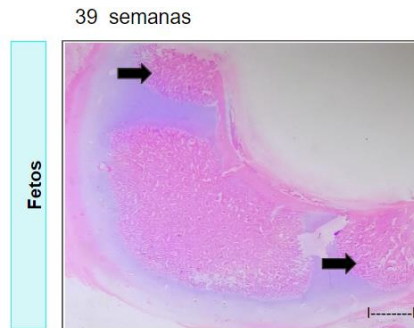


Figura 12. Histología observada para los casos de pedículos vertebrales.

Centro de osificación en cada pedículo (observado en el estereoscopio). Imágenes con tinción de H&E, escala de 2 mm.

6.3.2. Costillas

En la Tabla 3 se describen las etapas del proceso de osificación endocondral en las costillas. A partir de la semana 7 de gestación, se aprecia la presencia de un molde cartilaginoso y la elongación del anlagen a partir de las vértebras torácicas en corte sagital (Figura 13a). En la semana 8 se registra la continuación del proceso de formación y elongación de dicho molde cartilaginoso, el cual está compuesto por condrocitos y rodeado por el pericondrio; se observa, además, la presencia de condrocitos hipertróficos vistos desde un corte sagital (Figuras 13b, 13c). Luego, para la semana 12, fue posible identificar un centro de osificación en la región del ángulo costal en un corte longitudinal, caracterizado por la presencia de osteoblastos, osteocitos y periostio, además de la presencia de condrocitos hipertróficos (Figuras 13d, 13e). Por otra parte, al analizar las costillas en los casos de 14 a 42 semanas de desarrollo, en la región del surco costal y la unión costo-esternal se observó la presencia de un molde cartilaginoso sin centros de osificación (Figura 13f).

De manera particular, en los casos de 14 y 16 semanas se encontraron los condrocitos rodeados por pericondrio y estructuras similares a pliegues o líneas con una coloración más basófila en la matriz cartilaginosa, rodeando una fila de matriz territorial redondeada u ovalada, además de observarse escasos núcleos correspondientes a condrocitos (Figuras 13g, 13h). También se pudo observar el progreso del tejido muscular circundante a lo largo de las semanas del desarrollo (Figura 13i).

Tabla 3. Tejidos y tipos celulares observados para las costillas según semanas de gestación.

SEMANAS	CONDENSACIÓN MESENQUIMATOSA	MOLDE CARTILAGINOSO			DIFERENCIACIÓN DE CONDROCITOS			SÍNTESIS DE OSTEÓIDE			Ubicación
		Condroprogenitores	Condroblastos	Condrocitos	Reserva	Pila de monedas	Hipertrófico	Pericondrio	Osteoblastos	Osteocitos	
7											Costillas en corte sagital
8											Hasta la décima costilla en corte sagital
12											Unión costo-vértbral en corte longitudinal
14											Unión costo externo de segunda a octava costilla en corte longitudinal
16											Surco costal en corte longitudinal
16											Surco costal en corte longitudinal
17											Unión costo externo de segunda a quinta costilla en corte longitudinal
18											Primera a cuarta costilla en corte longitudinal
20											Surco costal del tercio inferior en corte longitudinal
21											Segunda a sexta costilla en unión costo externo y surco costal en corte longitudinal
21											Segunda a quinta costilla en unión costo externo en corte longitudinal
21											Unión costo externo en corte longitudinal
22											Unión costo externo en corte longitudinal
25											Unión costo externo en corte longitudinal
25											Unión costo externo en corte longitudinal
29											Surco costal en corte longitudinal
31											Surco costal en corte longitudinal
34											Corte transversal
35											Unión costo externo en corte longitudinal
35											Unión costo externo en corte longitudinal y transversal
37, 6											Surco costal en corte longitudinal
38											Unión costo externo en corte longitudinal
39											Surco costal en corte longitudinal
39											Surco costal en corte longitudinal
42											Surco costal en corte longitudinal

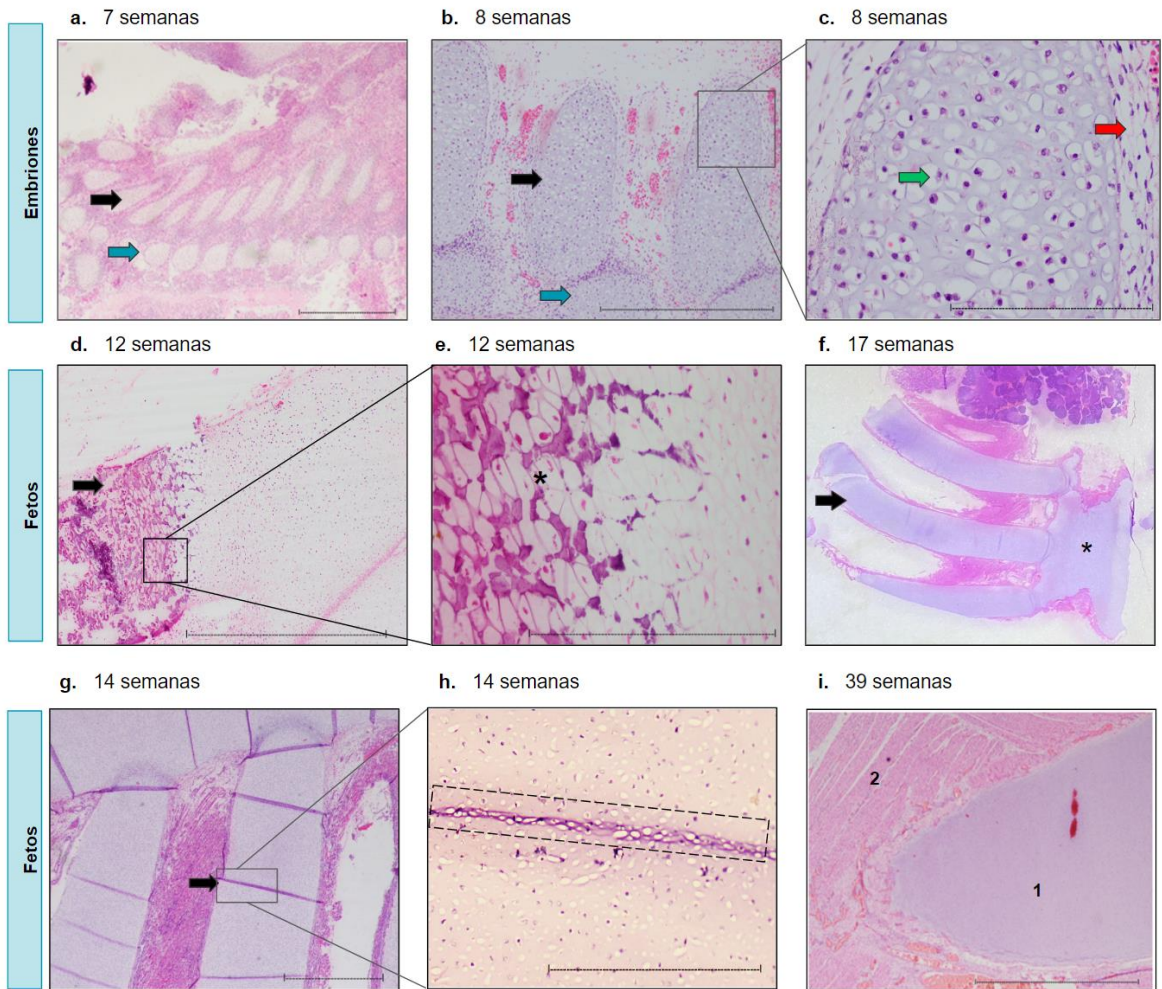


Figura 13. Imágenes representativas de la histología observada para los casos de costillas.

Se muestran imágenes representativas de algunos de los casos estudiados. **(a)**: Se observa desde la primera costilla (flecha negra) como estructuras alargadas que surgen a partir de las vértebras (flecha azul) (4x). **(b-c)**: Elongación del molde cartilaginoso de las costillas (flecha negra) a partir de las vértebras torácicas (flecha azul), el molde cartilaginoso de las costillas está compuesto por condrocitos hipertróficos (flecha verde) y rodeado por pericondrio (flecha roja). (4x y 10x). **(d-e)**: inicio del centro de osificación ubicado en la región del ángulo costal, observando el tejido mineralizado indicado por la flecha negra y tejido comprendido por condrocitos hipertróficos y fragmentos de matriz calcificada (*). (4x y 40x (escala 1mm)). **(f)**: molde cartilaginoso correspondiente a las costillas (flecha negra) y su unión al esternón (*). Se observa el tejido cartilaginoso. **(g-h)**: estructuras que parecieran unos pliegues que son tipos celulares diferentes a los observados el molde cartilaginoso indicado por la flecha negra y delimitado por la línea negra punteada (4x y 10x). **(i)** Formación del anlagen cartilaginoso (1) compuesto por condrocitos y rodeado por tejido muscular (2) (4x). Imágenes con tinción de H&E, escala de 2 mm.

6.3.3. Esternón

En la Tabla 4 se describen las etapas del proceso de osificación endocondral en los elementos analizados que conforman el esternón: el manubrio y el cuerpo del esternón. Durante las semanas 8 a 17, se pudo observar la presencia de moldes cartilaginosos compuestos por condrocitos, escasos condrocitos hipertróficos y

rodeados por pericondrio, observándose que las barras esternales ya se encuentran fusionadas, de modo que se puede apreciar el cuerpo del esternón y el manubrio (Figura 14a).

- **Manubrio**

Seguidamente, en un caso de 18 semanas, se encontraron condrocitos de reserva, en pilas de monedas e hipertróficos en la región del manubrio (Figuras 14b, 14c). Sin embargo, la síntesis de osteoide caracterizada por la presencia de osteoblastos, osteocitos y periostio en el manubrio se observó hasta la semana 38 (Figura 14d).

- **Cuerpo**

Similar a lo observado en las costillas, en un caso de 14 semanas se apreció a lo largo del cuerpo del esternón estructuras similares a pliegues o líneas (Figura 14e) con una coloración más basófila en la matriz cartilaginosa. Por otro lado, para el cuerpo del esternón se observó el molde cartilaginoso compuesto por condrocitos y pericondrio, a excepción de los casos de 25 y 35 semanas, en los cuales se identificó el centro de osificación ubicado en la región cefal del elemento esquelético (Figuras 14f, 14g).

Tabla 4. Tejidos y tipos celulares observados en el esternón según las semanas de gestación.

SEMANAS	CONDENSACIÓN MESENQUIMATOSA	MOLDE CARTILAGINOSO			DIFERENCIACIÓN DE CONDROCITOS				SÍNTESIS DE OSTEOIDE			Ubicación	
		Condroprogenitores	Condroblastos	Condrocitos	Reserva	Pila de monedas	Hipertrófico	Pericondrio	Osteoblastos	Osteocitos	Periostio		
MANUBRIO													
8												Corte longitudinal	
14												Corte longitudinal	
18												Mitad lateral en corte longitudinal	
21												Corte longitudinal	
38													Corte longitudinal
CUERPO													
8												Región cefal en corte longitudinal	
14												Elemento completo en corte longitudinal	
17												Región cefal en corte longitudinal	
18												Mitad lateral corte longitudinal	
21												Elemento completo en corte longitudinal	
21												Elemento completo en corte longitudinal	
21												Región cefal en corte longitudinal	
22												Mitad lateral en corte longitudinal	
25													Región cefal en corte longitudinal
25													Mitad lateral en corte longitudinal
35													Región cefal en corte longitudinal
38													Cuerpo del esternón en corte longitudinal

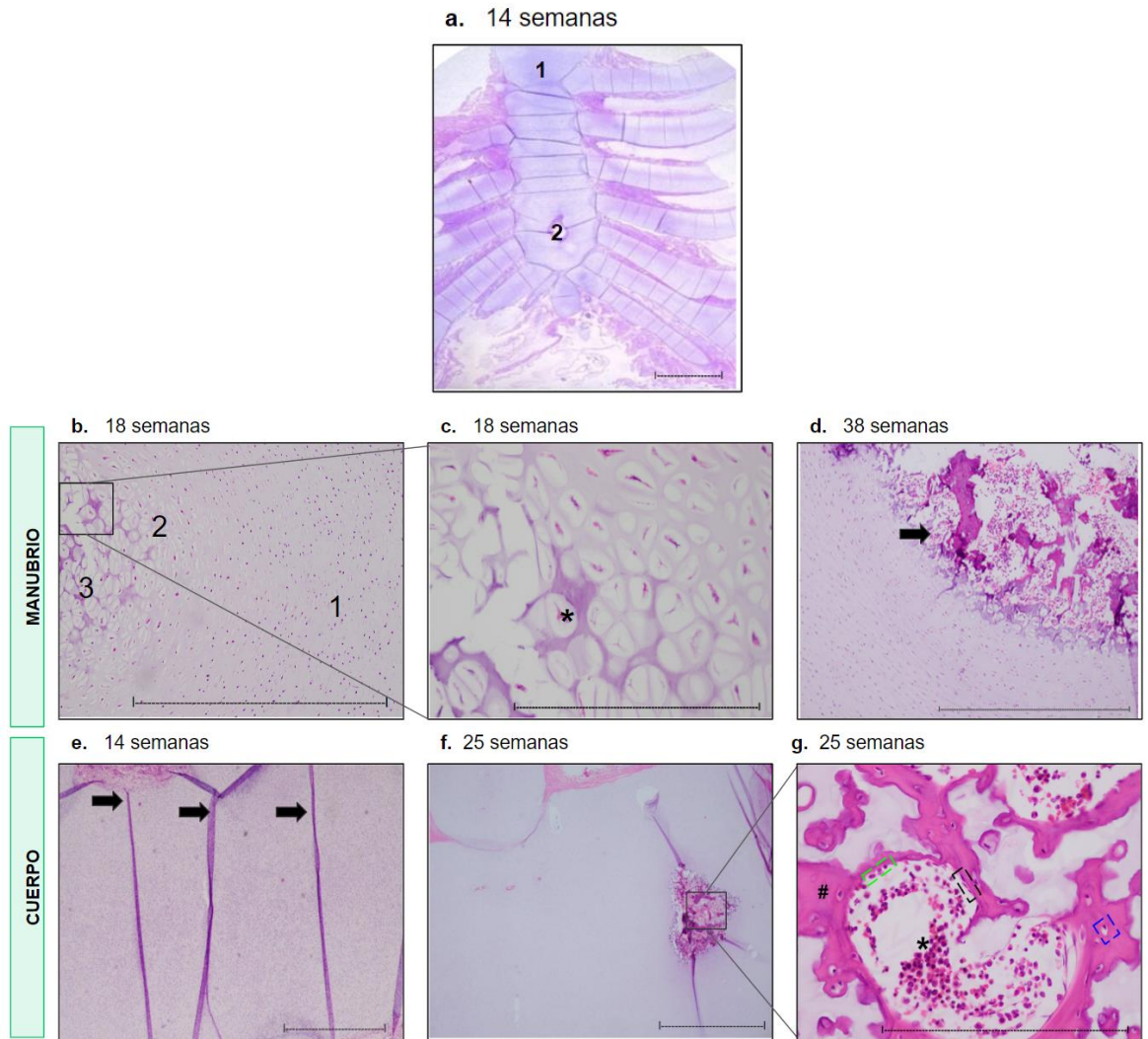


Figura 14. Imágenes representativas de la histología observada para el esternón.

Se muestran imágenes representativas de algunos de los casos estudiados. **(a)**: Molde cartilaginoso del manubrio (1) y el cuerpo del esternón (2). Imagen tomada con estereoscopio (escala de 2 mm) **(b-c)**: en el manubrio se observa: (1) Zona de cartílago en reposo, (2) Zona de cartílago en proliferación, (3) Zona compuesta por condrocitos hipertróficos (*). (10x) **(d)**: Centro de osificación en el manubrio indicado por la flecha negra (4x) **(e)**: molde cartilaginoso con "pliegues" indicados con las flechas negras (4x). **(f-g)**: Centro de osificación en el cuerpo del esternón. Se observa la formación del osteoide (#) y la presencia de tejido hematopoyético (*). Además, se pueden apreciar las células óseas, como los osteoblastos inactivos (delimitados por la línea negra punteada) y osteoblastos activos (delimitados por la línea verde punteada) en la periferia del osteoide, y los osteocitos (delimitados por la línea azul) embebidos en el osteoide (4x y 40x). Imágenes con tinción de H&E, escala de 2 mm.

6.3.4. Esqueleto apendicular

En la Tabla 5 se describen las etapas del proceso de osificación endocondral en los elementos esqueléticos que conforman el esqueleto apendicular, los cuales abarcan las semanas 7 a 12 y comprenden una muestra heterogénea de elementos esqueléticos.

- **Cintura pélvica**

Los elementos observados para la cintura pélvica incluyen el ilion, isquion, tercio superior del fémur y sacro. En el ilion e isquion, durante la séptima y octava semana, se observó la presencia de moldes cartilagosos compuestos por condrocitos y rodeados por pericondrio; también se encontraron condrocitos con morfología hipertrófica (Figuras 15a, 15b). Sin embargo, durante la semana 12, en un corte oblicuo de la cintura pélvica, se pudo observar la presencia de un centro de osificación en el ilion izquierdo, caracterizado por la presencia de osteoblastos, osteocitos y condrocitos hipertróficos en el frente de osificación (Figuras 15c, 15d).

- **Miembro superior**

En un caso de siete semanas fue posible observar la formación del miembro superior desde la escápula (Figura 15e), compuesta por condrocitos hipertróficos en la región del centro y rodeado por pericondrio, al igual que el húmero (Figura 15f); el antebrazo, compuesto por condrocitos y, finalmente, la formación del autopodio, compuesto por una condensación de células mesenquimatosas (Figura 15g). Adicionalmente, se observó la formación de la cresta ectodérmica apical (Figura 15h). En contraste, para las 12 semanas se observó desde el húmero distal hasta las falanges, con la presencia de moldes cartilagosos establecidos, centros primarios de osificación en la diáfisis, rodeada por periostio, a excepción de los carpos y metacarpos (Figuras 15i, 15j).

- **Miembro inferior**

En cuanto al fémur, durante la semana 8,5 se observó la presencia de condrocitos y condroblastos rodeados por pericondrio en un corte sagital. Para la semana 12, se detectó la presencia de condrocitos y pericondrio en un corte oblicuo de un fémur distal izquierdo, así como la presencia de un centro de osificación en el fémur proximal derecho (Figura 15k).

Tabla 5. Tejidos y tipos celulares observados en el esqueleto apendicular según las semanas de gestación.

SEMANAS	CONDENSACIÓN MESENQUIMATOSA	MOLDE CARTILAGINOSO			DIFERENCIACIÓN DE CONDROCITOS				SÍNTESIS DE OSTEÓIDE			Ubicación
		Condrogénitos	Condrioblastos	Condrocitos	Reserva	Pila de monedas	Hipertrofico	Pericondrio	Osteoblastos	Osteocitos	Periostio	
CINTURA PELVICA												
7												Ilion e isquion
8												Ilion
11												Ilion
12												Ilion izquierdo en corte oblicuo
												Ilion derecho en corte oblicuo
												Sacro en corte oblicuo
MIEMBRO SUPERIOR												
7												Escápula
												Húmero
												Antebrazo
												Autopodio
12												húmero distal
												radio distal
												cubito
												carpos
												metacarpos
MIEMBRO INFERIOR												
8,5												Tercio superior del fémur
12												Fémur distal en corte oblicuo
												Fémur proximal derecho en corte oblicuo

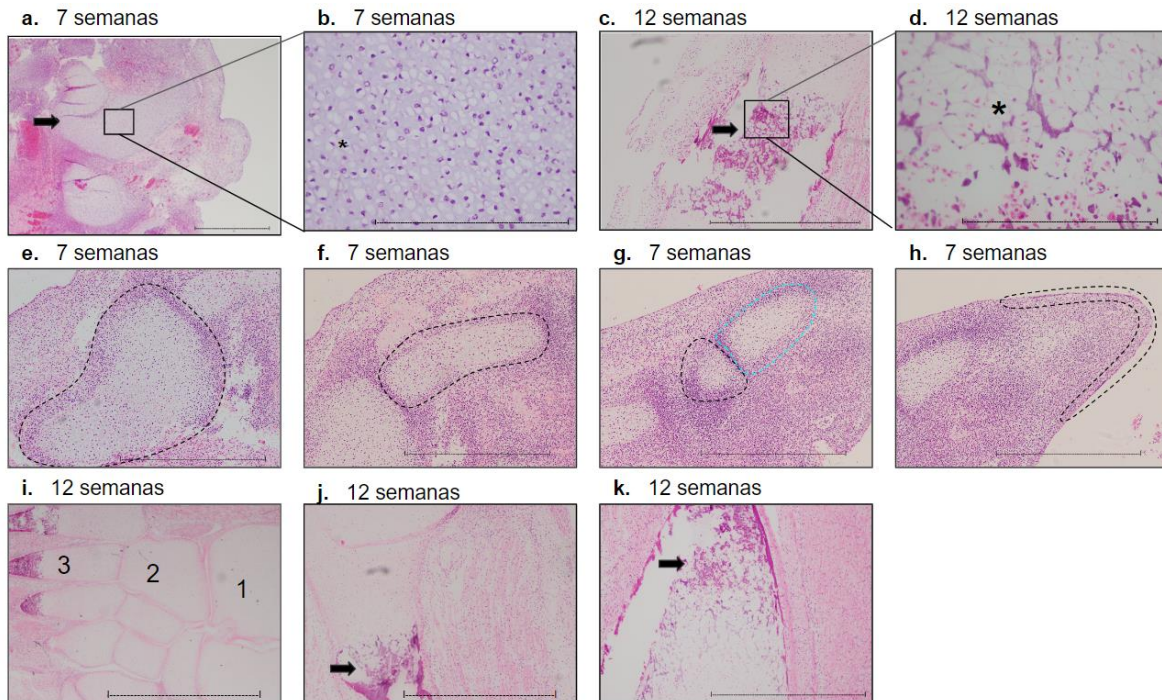


Figura 15. Imágenes representativas de la histología observada para la cintura pélvica.

Se muestran imágenes representativas de algunos de los casos estudiados. **(a-b)**: molde cartilaginoso del ilion en formación indicado con la flecha negra, donde se observa compuesto por condrocitos (*) (4x y 40x (1mm)). **(c-d)**: centro de osificación y condrocitos hipertróficos (*) ubicado en el ilion izquierdo. (4x y 40x (1mm)). **(e)**. Molde cartilaginoso correspondiente a la escápula delimitado por la línea punteada (10x). **(f)** húmero delimitado por la línea punteada (10x) **(g)** antebrazo delimitado por la línea negra punteada y autopodio delimitado por la línea azul punteada (10x). **(h)**. Cresta ectodérmica apical delimitada por la línea punteada. **(i)** huesos de la mano: carpos (1), metacarpos (2) y falanges (3) **(j)**: húmero distal con centro de osificación indicado por la flecha negra **(k)**: centro de osificación ubicado en el fémur proximal (10x). Imágenes con tinción de H&E, escala de 2 mm.

7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó histológicamente el desarrollo del esqueleto axial y apendicular. En general, se encontró que desde la semana 7 todos los elementos estudiados tenían moldes cartilaginosos, y se observó la formación de los centros de osificación siguiendo los procesos en el tiempo. Aunque algunos estudios se han centrado en el desarrollo de los elementos esqueléticos en etapas específicas, hay una falta de información histológica sobre las costillas, el esternón y la cintura pélvica en seres humanos. La mayoría de los estudios se han realizado en modelos animales (15) o utilizando técnicas como ecografías y radiografías (13,14). Además, los estudios histológicos existentes tienen limitaciones en cuanto a su evidencia fotográfica y se han centrado en individuos adultos (17). Por lo tanto, es necesario establecer parámetros normales para el desarrollo esquelético, considerando el

origen embrionario, la edad y la ubicación específica de cada componente. Esto será fundamental para investigaciones en embriología, anomalías en el desarrollo óseo y estudios moleculares e histológicos.

7.1. Osificación endocondral en elementos provenientes de los somitos

7.1.1. Vértebra

- **Cuerpo vertebral**

Los hallazgos para este estudio, en relación con lo reportado en la literatura, se observan en la Figura 16. En el primer caso de siete semanas se observó la formación de las vértebras, presentándose una condensación de células condroprogenitoras que se diferenciarán a condrocitos para establecer el molde cartilaginoso (Figura 11a). Ogden et al. (1994) indican el inicio de la condricación en la sexta semana (11,52), lo que no se pudo establecer con este estudio ya que el inicio de este proceso se determinó desde la semana 7.

Por otra parte, en el segundo caso de 7 semanas se observó el inicio de la formación del pericondrio, lo cual no se encuentra datado con exactitud en la literatura para vértebras; sin embargo, no fue hasta la semana 8 cuando se observaron células pericondriales. Estas se encargan de recubrir el cartílago y durante la osificación endocondral reciben señales de los condrocitos hipertróficos para dirigir su diferenciación en osteoblastos (67).

Según la literatura, el inicio del centro primario de osificación ocurre durante la octava semana de gestación (52). Ogden et al. (1994) señalaron que el centro primario de osificación se extiende de manera bidireccional hacia craneal y caudal, siendo evidente en la región toraco-lumbar durante la novena a decima semana (75). No obstante, en este estudio se contó con muestras de la región toracolumbar y se evidenció la presencia de condrocitos hipertróficos en el centro del cuerpo de la vértebra a partir de los casos de ocho y once semanas de desarrollo, destacándose la ausencia de tejido mineralizado. Estos hallazgos muestran una etapa inicial del proceso para la osificación del elemento esquelético, y sugieren que la histología

observada para este caso es tardía con respecto a lo reportado en estudios anteriores.

Durante la semana 8 se observó la presencia de condrocitos con fenotipo hipertrófico, encargados de dirigir la mineralización de la matriz al expresar VEGF. Así pues, en esta etapa se observó la invasión de los vasos sanguíneos, lo que permite la llegada de osteoprogenitores, del tejido hemo y que las células preosteoblásticas de la región pericondrial también invadan el cartílago para comenzar la formación el centro primario de osificación (67).

Para este estudio no se observaron centros de osificación para el cuerpo de las vértebras hasta un caso de 12 semanas del desarrollo a la altura de T4 en un corte sagital. Estos resultados son similares a los obtenidos por Nolting et al. (1998), quienes estudiaron muestras de columnas vertebrales de fetos humanos normales mediante radiografía e histología, identificando un centro de osificación en los cuerpos vertebrales de la columna torácica en un caso de 12 semanas (13).

Durante las semanas siguientes de gestación, se pudo observar el crecimiento de los centros de osificación en el sistema esquelético. Este proceso comienza en el centro del cuerpo de la vértebra, y se expande de manera radial a lo largo del elemento esquelético. Este desarrollo es influenciado por otros tejidos, como los músculos, que ejercen acción mecánica y estimulan la osificación (12). Sin embargo, en la serie de casos analizados a las 20 semanas en los pedículos y a las 21 y 25 semanas en el cuerpo de la vértebra, no se detectaron centros de osificación. Esto sugiere que el corte realizado pudo haber sido superficial y no representar completamente la naturaleza del elemento esquelético.

- **Pedículos**

En cuanto a los pedículos o arcos vertebrales, Ogden et al. (1994) en sus estudios han observado la aparición de los centros de osificación durante la semana 10 a 11 (11) y la existencia de dos núcleos primarios de osificación, uno a cada lado (52). En el caso de 11 semanas se observó para los pedículos el molde cartilaginoso y fue hasta el siguiente caso con 14 semanas que se observó el centro

primario de osificación para cada pedículo. Sin embargo, cabe mencionar que este hallazgo puede ser producto de que en este estudio se presenta una ventana de tiempo de casos durante la novena y décima semana y, por otra parte, tal como se ha descrito por Bareggi (1994) (12), el proceso de osificación de la columna vertebral no ocurre de manera sincrónica en todos los elementos a lo largo de la columna vertebral.

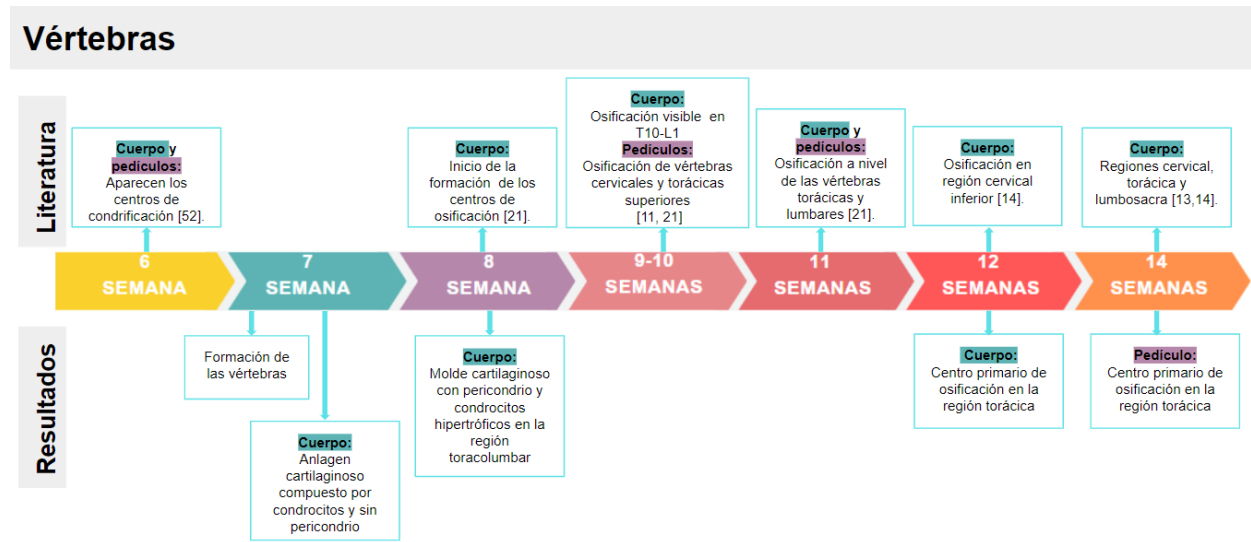


Figura 16. Línea de tiempo según semanas de gestación con hallazgos del presente estudio y lo reportado en la literatura para el desarrollo de las vértebras

7.1.2. Costillas

Los principales hallazgos con respecto a este elemento esquelético se encuentran en la Figura 17. Se analizaron dos casos correspondientes a la séptima semana, en los cuales se identificó la formación del anlagen cartilaginoso compuesto por condrocitos y su elongación a partir de las vértebras. Esto es similar a lo indicado por Scheuer et al. (2004), quien describe el esqueleto humano desde la etapa embriológica hasta la madurez desde la medicina forense, indicando que, para la sexta semana, las primeras siete costillas se forman como estructuras ovales, de modo que para la séptima semana se tiene el anlagen cartilaginoso (21,50).

Por otra parte, a pesar de la escasa información acerca de los centros de osificación en las costillas para humanos y la inexistencia de reportes histológicos acerca de la osificación durante las etapas del desarrollo, Scheuer et al. (2004) indicaron que el

centro primario de osificación inicia cerca del ángulo de la costilla, entre las semanas 11 y 12 de vida intrauterina y que cada costilla (a menudo con la excepción de la duodécima) posee un único centro primario de osificación (21). No obstante, en el presente estudio esto no se pudo determinar con claridad, dado que la gran mayoría de cortes que se usaron corresponden a la unión costo-esternal y el surco costal, a excepción de un caso de 12 semanas tomado de un corte longitudinal en la región del ángulo de la costilla, en el cual fue posible observar el centro primario de osificación (Figura 13d, 13e).

Adicionalmente, en este estudio se detectaron condrocitos con morfología hipertrófica (Figura 13b, 13c) en los casos analizados de 8 y 8,5 semanas, donde su aparición en las costillas no había sido definida con certeza anteriormente en la literatura, lo que representa un aporte relevante de este estudio para la literatura sobre el desarrollo del elemento esquelético.

De manera particular, en los casos de 14 y 16 semanas se apreciaron estructuras similares a unos pliegues, los cuales son tipos celulares diferentes a los observados en el molde cartilaginoso, que forman patrones regulares de cartílago. Al respecto no se han encontrado reportes preliminares en la literatura, por lo que esto representa un hallazgo novedoso que puede servir de base para futuros estudios con el objetivo de detallar la formación de las costillas. Nuestra hipótesis con respecto a estas estructuras es que desempeñan una función en la elongación del elemento esquelético al formarse segmentos cartilagosos que se fusionan, formando lo que se observa en la histología como pliegues, para así formar un molde continuo de cartílago, lo cual debe ser estudiado en mayor detalle.

A lo largo de las siguientes semanas se evidenció un aumento del tejido muscular circundante como reflejo del desarrollo esquelético. Estudios realizados en modelos murinos enfocados en la ablación de factores reguladores miogénicos han confirmado que el desarrollo de músculo esquelético es esencial para la formación y el crecimiento de las costillas distales (76,77). Khabyuk et al. (2022) encontraron que en la fase temprana del desarrollo del tórax el músculo crece antes que el

anlagen de la costilla, lo que indica que los espacios intermiotomales son corredores que permiten y guían el alargamiento del anlagen de la costilla (58).

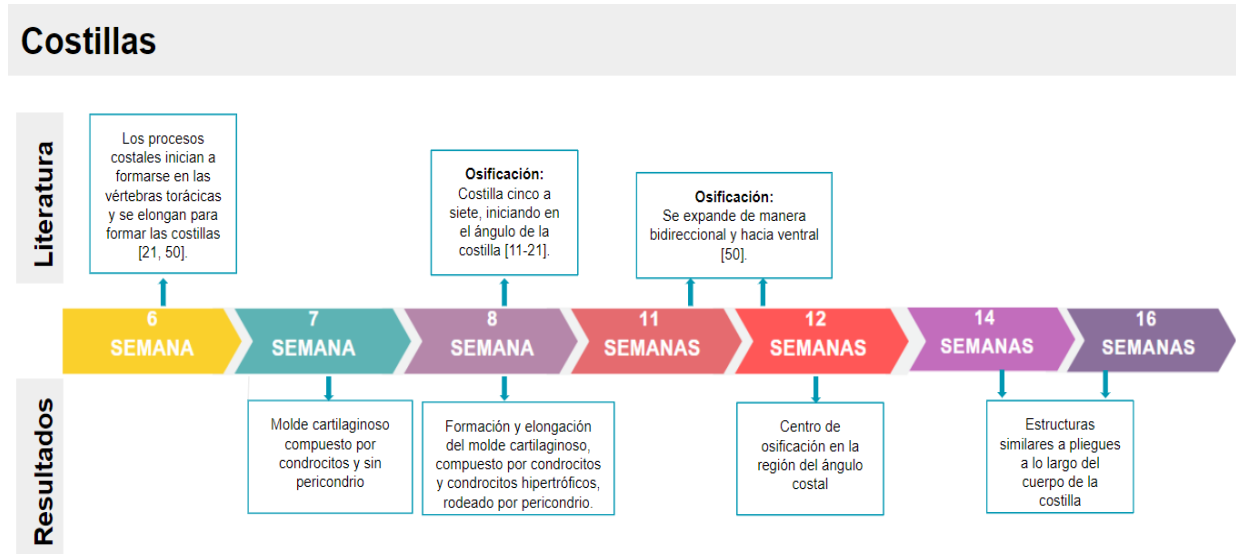


Figura 17. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo de las costillas.

7.1.3. Influencia de los somitos en el proceso de osificación endocondral

Al comparar la formación y osificación de las vértebras y las costillas en este estudio, ambos con origen en los somitos, se observó que la formación de estos dos elementos se da hacia las primeras semanas del desarrollo, de modo que para la séptima semana ambos elementos esqueléticos se observan compuestos por condrocitos.

La literatura describe que ambos elementos esqueléticos inician su osificación hacia la octava semana, mientras que en los casos analizados para este trabajo se identificó el inicio del centro de osificación para ambos elementos hacia la semana 12 del desarrollo. En las siguientes semanas no se pudo establecer puntos de comparación con respecto a lo reportado en la literatura y lo observado en las vértebras, debido a que se observaron pocos casos en la ventana de tiempo de 8 a 12 semanas de desarrollo en las costillas, y a que reportes anteriores indican la presencia del centro de osificación en partes específicas del elemento esquelético, como por ejemplo el ángulo de la costilla (21); en contraste, la gran mayoría de los casos analizados en el presente estudio corresponden a la región de la unión costo esternal.

De este modo, se observó que los procesos no se dan de manera simultánea en la totalidad del elemento esquelético, lo que sugiere que posiblemente el proceso de osificación endocondral está mayormente influenciado por la morfología del elemento que por su origen embrionario; siendo las vértebras huesos irregulares, mientras que las costillas son huesos planos y curvos.

Por último, a diferencia de las vértebras, en las costillas, se pudo observar la presencia de unos pliegues a lo largo del cuerpo de este elemento, los cuales parecen estar relacionados con el proceso de elongación de las costillas hacia la región ventral.

Para futuros estudios se podría profundizar sobre los tipos celulares presentes en esta sección de tejido y su función específica, debido a que no hay reportes previos sobre estos pliegues en la literatura, lo que representa un hallazgo propio de este estudio.

7.2. Osificación endocondral en elementos provenientes de la placa lateral del mesodermo

7.2.1. Esternón

La Figura 18 muestra los resultados de este estudio para el esternón, los cuales difieren en algunos puntos mencionados en la literatura previa. Esta reporta que la formación de este elemento esquelético comienza con la migración central de las bandas mesenquimatosas hacia la sexta semana de gestación, las cuales se unen y constituyen los moldes cartilaginosos del esternón a las 7,5 semanas de gestación, proceso que cesa durante la novena o décima semana (9,10,17). Esto coincide con lo observado en las láminas histológicas para este elemento esquelético, observándose desde la octava semana presencia del manubrio y el cuerpo del esternón, compuesto por condrocitos y rodeado de pericondrio (Figura 14a), lo que indica que las barras esternales ya se encuentran unidas.

Durante la octava semana es posible notar la presencia de condrocitos hipertróficos en la región del centro del manubrio, y en el área más cefal del cuerpo del esternón

desde el caso correspondiente a 14 semanas (ver tabla 4). Las semanas en las que aparecen los condrocitos hipertróficos para este elemento esquelético no han sido descritas anteriormente en la literatura mediante histología u otras técnicas, por lo que esto representa un resultado propio del presente estudio al dar cuenta de los diferentes fenotipos de los condrocitos con respecto a las semanas del desarrollo.

Estudios preliminares reportan la existencia de centros de osificación después de 20 semanas de gestación, inicialmente en el manubrio y posteriormente en el cuerpo del esternón (10), pero no están presentes en el proceso xifoides hasta alrededor de los 6 años (17). En contraste, en este estudio no se observó la presencia de centros primarios de osificación para los casos de 20, 21 y 22 semanas, dándose la aparición de estos a las 25, 35 y 38 semanas. Para los dos primeros casos anteriormente mencionados, se observó el centro de osificación en el cuerpo del esternón hacia la región cefal, mientras que, para el caso de 38 semanas, fue posible observar el centro primario de osificación compuesto por osteoblastos, osteocitos y la mineralización de la matriz extracelular en la región del centro del manubrio. Sin embargo, cabe resaltar que este hueso muestra extrema variación entre los individuos durante el desarrollo, especialmente en relación con el número (hasta seis) y tiempo de aparición de sus centros de osificación (21). Con esto se resalta la importancia de ampliar los estudios en relación con la osificación de este elemento esquelético.

En estudios histológicos y radiográficos realizados en humanos en la etapa posnatal se ha reportado estructuras denominadas esternebras, las cuales son estructuras histológicamente análogas a un centro epifisario de osificación y, en muchos aspectos, similares a un centro vertebral que a un centro de osificación de un hueso largo (78). Teniendo en cuenta lo anterior, en un caso de 14 semanas se observó la presencia de pliegues a lo largo del cuerpo del esternón, formando segmentos de cartílago. Esto permite plantear la hipótesis de que dichos segmentos de molde cartilaginoso separados por los pliegues, conformarán las esternebras.

Esternón

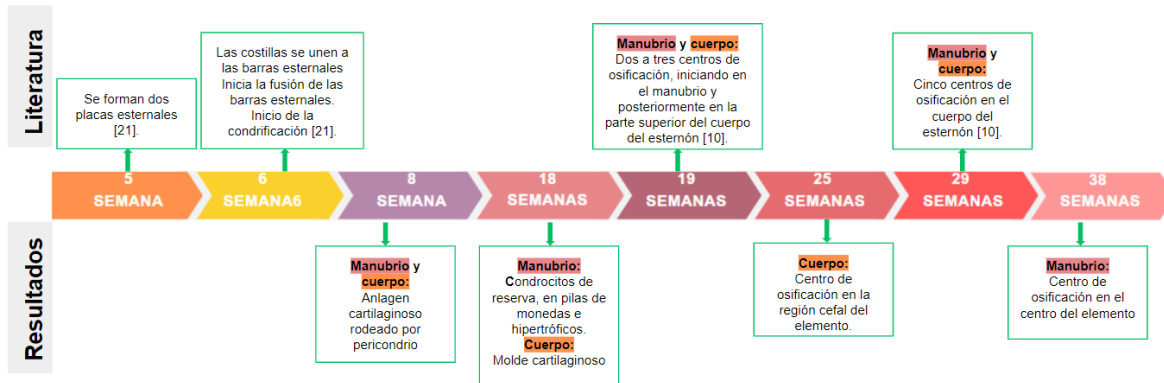


Figura 18. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo del esternón.

7.2.2. Esqueleto apendicular

Los hallazgos para este elemento esquelético se observan en la Figura 19.

- **Cintura pélvica**

La pelvis conecta el esqueleto axial con el esqueleto apendicular, cuya función principal es transferir el peso de la parte superior del cuerpo a las extremidades inferiores al estar de pie o al caminar. Esta estructura fuerte y rígida también sirve para proteger los órganos y tejidos de la región pélvica y algunas vísceras abdominales (63). Los casos obtenidos para la cintura pélvica fueron pocos, y constituyen una muestra heterogénea dado que se incluyeron huesos como el ilion, isquion, pubis, sacro y tercio superior del fémur durante el primer trimestre de formación.

Bardeen (1905) (79), O'Rahilly y Gardner (1975) (64) y Laurenson (1964) (81), describen la aparición del molde cartilaginoso en la región del acetábulo superior a la escotadura ciática mayor, separados por el curso del nervio obturador, de modo que en el pubis y el isquion están bien desarrollados entre las siete y ocho semanas de gestación. En este estudio, por su parte, en los casos de siete y ocho semanas en el ilion e isquion se observó la presencia de un molde cartilaginoso compuesto por condrocitos y rodeado por pericondrio, además de condrocitos hipertróficos

ubicados en la región central del corte histológico, de manera que coincide con lo reportado en la literatura.

Según Laurenson (1964) (61), el centro primario de osificación que se desarrolla en el ilion aparece alrededor de la novena semana de gestación en la región del acetábulo cerca del sitio de la futura escotadura ciática mayor. Aproximadamente en la décima u onceava semana, se forma una cavidad medular, lo que permite que los osteoblastos y los vasos sanguíneos invadan el espacio cartilaginoso interno en degeneración como respuesta a estímulos moleculares y a los cambios en las fuerzas ejercidas por los músculos que rodean la articulación de la cadera y la rodilla durante la etapa fetal (80,81). Sin embargo, a diferencia de lo descrito en la literatura, para este estudio no se observó la presencia de centros de osificación sino hasta las 12 semanas en un corte oblicuo de la cintura pélvica; de modo que en el ilion izquierdo se observaron condrocitos en proliferación, condrocitos hipertróficos, osteocitos y periostio. Este hallazgo posiblemente se debe a los pocos casos analizados entre la semana 9 y la semana 12, dado que solamente se contó con un caso de 11 semanas compuesto por cartílago y pericondrio; y a que dicho caso de 12 semanas se trataba de un corte oblicuo de la cintura pélvica, lo que permitió ver la histología del elemento esquelético a más profundidad.

Según Scheuer y Black (2004) (21), el centro primario de osificación de la primera y segunda vértebra sacra se forma durante el tercer mes prenatal (12 a 15 semanas). Por el contrario, en este estudio se observó el sacro en la parte superior trasera de la cintura pélvica compuesto por el molde cartilaginoso y condrocitos hipertróficos en el centro de dicho molde a las 12 semanas de gestación.

- **Miembro superior**

En un caso de siete semanas, se pudo observar la formación del miembro superior desde la escápula y el húmero, siendo los elementos más desarrollados que se observaron, hasta el autopodio, conformado por una condensación de células mesenquimatosas, siendo el elemento esquelético más distal y menos desarrollado con respecto a los elementos observados. De esta manera, en el presente estudio

se pudo observar el patrón de desarrollo del elemento superior de proximal a distal; incluso, fue posible observar la cresta ectodérmica apical, la cual es responsable del crecimiento del miembro y la formación posicional a lo largo del eje proximal-distal de la extremidad (desde el hombro hasta las puntas de los dedos) gracias a que estudios realizados en aves indican que la cresta ectodérmica apical produce FGF, responsable de la proliferación de las células precursoras (25,82,83).

- **Miembro inferior**

En la literatura se ha descrito el desarrollo del fémur mediante tomografía computarizada: este proceso inicia con la condensación mesenquimatososa alrededor de la quinta semana, condricándose durante la sexta y séptima semana. La osificación se ha observado en el eje medio del fémur durante las semanas 7 a 8 del desarrollo embrionario. En contraste, para este estudio se tuvo un caso de 8,5 semanas en el que aún había condrocitos y condroblastos rodeados por pericondrio en un corte sagital. Este hallazgo puede deberse a que la osificación se extiende desde el eje del fémur hacia la región del cuello proximalmente (cerca de la articulación de la cadera), donde estaba ubicado el corte histológico estudiado, y hacia la epífisis inferior distalmente (cerca de la articulación de la rodilla) (65). Por otra parte, se determinó la presencia de condrocitos y pericondrio en un corte oblicuo de un fémur distal izquierdo, además de un centro de osificación en el fémur proximal derecho.

Esqueleto apendicular

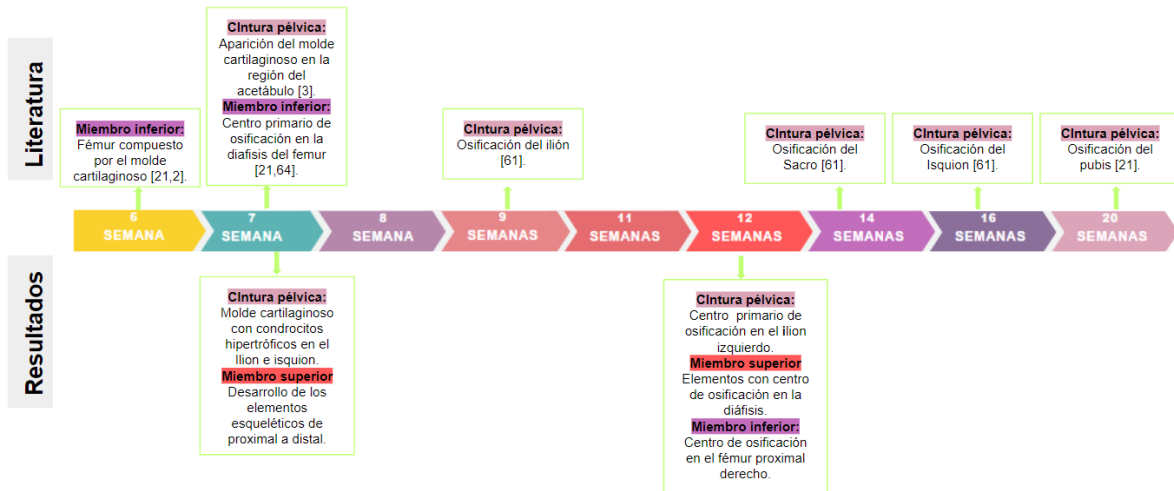


Figura 19. Línea de tiempo basada en las semanas de gestación, que presenta los hallazgos obtenidos en el presente estudio y lo reportado en la literatura en relación con el desarrollo del esqueleto apendicular.

7.2.3. Influencia de la placa lateral del mesodermo en el proceso de osificación endocondral

Al comparar el proceso de desarrollo de los elementos provenientes de la placa lateral del mesodermo, se evidencia que son elementos divergentes en varios aspectos. Se observó que para la octava semana todos los elementos esqueléticos estudiados estaban compuestos por el molde cartilaginoso, a excepción del miembro superior, en el que, en un mismo corte histológico, fue posible identificar las diferentes etapas del desarrollo desde proximal a distal: desde la formación de un molde cartilaginoso con condrocitos hipertróficos, pasando por la condensación mesenquimatoso, hasta la presencia de la cresta ectodérmica apical. Para este último tejido sería relevante profundizar en futuros estudios sobre la identidad de las células madre para la formación de los elementos esqueléticos. Por otro lado, se identificó que, pese a que los elementos presentan un mismo origen embrionario, cada uno lleva su proceso de osificación en semanas diferentes del desarrollo; además, la aparición del centro de osificación y su expansión a lo largo del elemento esquelético están relacionados con la morfología del hueso y su ubicación anatómica, observando un patrón de desarrollo en orden cronológico de proximal a distal en el miembro superior.

Cabe resaltar que el presente estudio presenta limitaciones en cuanto a que se estudiaron diversos elementos del esqueleto apendicular concentrados entre la semana 7 a 12 de gestación; para el esternón, por el contrario, la muestra estuvo distribuida entre la semana 8 y 38. Esto genera dificultades al intentar establecer diferencias y similitudes entre estos dos elementos esqueléticos.

7.3. Comparación de los elementos provenientes de los somitos y la placa lateral del mesodermo en el proceso de osificación endocondral

Al contrastar los hallazgos obtenidos en los elementos esqueléticos con respecto a su origen embrionario, no se logró establecer un patrón de desarrollo o la identificación de características histológicas propias para los tejidos provenientes de los somitos o de la placa lateral del mesodermo. No obstante, se identificó que el proceso de osificación endocondral de los elementos esqueléticos estudiados depende de las semanas de gestación y la ubicación anatómica del elemento esquelético: por ejemplo, las vértebras, dependiendo de su ubicación dentro de la columna vertebral, presentan diferentes tiempos en su osificación; además, este proceso se relaciona con la inserción muscular, involucrada en los primeros reflejos prenatales (54).

8. CONCLUSIONES

En este estudio, se investigó el proceso de osificación endocondral en diferentes elementos esqueléticos humanos durante el desarrollo considerando su origen embrionario. Se analizaron las vértebras, las costillas, el esternón y el esqueleto apendicular. Los resultados revelaron diferencias en los tiempos y lugares de osificación de las vértebras y las costillas en comparación con los datos existentes en la literatura. Se observó la formación de estructuras similares a pliegues en las costillas, posiblemente relacionadas con su elongación, lo cual representa un hallazgo novedoso de este estudio. En cuanto al esternón, se encontraron diferencias en la aparición de condrocitos y centros de osificación en el cuerpo y el manubrio. En el esqueleto apendicular, se observó una formación progresiva de los elementos esqueléticos en la cintura pélvica, miembro inferior y miembro superior,

siguiendo un patrón de desarrollo de proximal a distal. Aunque no se estableció un patrón distintivo de osificación endocondral para los tejidos esqueléticos derivados de los somitos o la placa lateral del mesodermo, se observó que la osificación de los elementos estudiados depende de las semanas de gestación y la ubicación anatómica del elemento esquelético, y se relaciona con los movimientos fetales. Estos hallazgos proporcionan una base para futuras investigaciones, pese a las limitaciones metodológicas dada la complejidad y dificultad en la obtención de muestras de tejido esquelético, lo que resultó en una falta de cortes histológicos para cada elemento esquelético en cada semana de desarrollo. Sin embargo, estos resultados son fundamentales para la realización de estudios en ciencias básicas sobre embriología y desarrollo humano, así como investigaciones relacionadas con anomalías en el desarrollo del sistema esquelético, las cuales pueden dar lugar a diversas enfermedades. Además, sientan las bases para futuros proyectos de investigación que combinan estudios histológicos y moleculares, lo que permitirá vincular tipos celulares específicos presentes durante el desarrollo esquelético con características moleculares y comprender en detalle el papel que desempeñan las células en su entorno durante el embarazo.

PRODUCTOS OBTENIDOS DURANTE EL TRABAJO:

Como parte del desarrollo investigativo de este proyecto se obtuvieron los siguientes productos:

- Publicación de una revisión sistemática de la literatura:

Fonseca LN, Bolívar-Moná S, Agudelo T, Beltrán LD, Camargo D, Correa N, Del Castillo MA, Fernández de Castro S, Fula V, García G, Guarnizo N, Lugo V, Martínez LM, Melgar V, Peña MC, Pérez WA, Rodríguez N, Pinzón A, Albarracín SL, Olaya M, Gutiérrez-Gómez ML. Cell surface markers for mesenchymal stem cells related to the skeletal system: A scoping review. *Heliyon*. 2023 Feb 10;9(2):e13464. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13464. PMID: 36865479; PMCID: PMC9970931.

- Presentación simposio Facultad de Medicina: Corriendo las fronteras en investigación con células madre. Noviembre 05-2022. Buscando la identidad de células madre esqueléticas a través de marcadores de superficie celular.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Tortora G, Berrickson B. Principios de Anatomía y Fisiología. 15th ed. Vol. 1. Editorial panamericana; 2017. 172–173 p.
2. Clarke B. Normal Bone Anatomy and Physiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3(Suppl 3):S131.
3. Arteaga Martínez M. Embriología Humana y Biología del Desarrollo. Editorial Médica Panamericana;
4. Pourquoié O. Somite formation in the chicken embryo. Int J Dev Biol. 2018;62(1-2-3):57–62.
5. Christ B, Huang R, Scaal M. Formation and differentiation of the avian sclerotome. Anat Embryol (Berl). 2004 Aug;208(5):333–50.
6. Berendsen AD, Olsen BR. Bone development. Bone. 2015 Nov 1;80:14–8.
7. Kierszenbaum AL, Tres LL. Histología y biología celular: introducción a la anatomía patológica. 2020;
8. O’Rahilly R, Müller F. Somites, spinal Ganglia, and centra. Enumeration and interrelationships in staged human embryos, and implications for neural tube defects. Cells Tissues Organs. 2003;173(2):75–92.
9. O’Rahilly RR, Müller F. Human Embryology & Teratology, 3rd Edition. 2001;520.
10. Zalel Y, Lipitz S, Soriano D, Achiron R. The development of the fetal sternum: a cross-sectional sonographic study. Ultrasound Obstet Gynecol. 1999;13(3):187–90.
11. Skórzewska A, Grzymisławska M, Bruska M, Lupicka J, Woźniak W. Ossification of the vertebral column in human fetuses: histological and computed tomography studies. Folia Morphol (Warsz). 2013;72(3):230–8.
12. Bareggi R, Grill V, Zweyer M, Narducci P, Forabosco A. A quantitative study on the spatial and temporal ossification patterns of vertebral centra and neural

- arches and their relationship to the fetal age. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 1994 Aug 1;176(4):311–7.
13. Nolting D, Hansen BF, Keeling J, Kjær I. Prenatal development of the normal human vertebral corpora in different segments of the spine. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1998 Nov 1;23(21):2265–71.
 14. Vignolo M, Ginocchio G, Parodi A, Torrisi C, Pistorio A, Venturini PL, et al. Fetal spine ossification: The gender and individual differences illustrated by ultrasonography. *Ultrasound Med Biol*. 2005 Jun 1;31(6):733–8.
 15. Khabyuk J, Pröls F, Draga M, Scaal M. Development of ribs and intercostal muscles in the chicken embryo. *J Anat*. 2022 Sep 1;241(3):831–45.
 16. Laurenson RD. The chondrification of the human ilium. *Anat Rec*. 1964 Feb 1;148(2):197–202.
 17. O’Neal ML, Dwornik JJ, Ganey TM, Ogden JA. Postnatal development of the human sternum. *J Pediatr Orthop*. 1998;18(3):398–405.
 18. León-Figueroa DA. Latarjet - Ruiz Liard Anatomia Humana 5a Edicion T1. Latarjet - Ruiz Liard Anatomia Humana 5a Edicion T1. 2020 Jan 1;
 19. Marz A, Kamatchi G, D’Silva J, Prabhakaran K, Chandra R, Isekeije S. Chapter 7 Axial Skeleton.
 20. Sadler TW. LAGMAN. EMBRIOLOGÍA MÉDICA. Wolters Kluwer. 2019;14(1):454.
 21. Scheuer Louise, Black SM. The juvenile skeleton. 2004;485.
 22. Goldring MB, Tsuchimochi K, Ijiri K. The control of chondrogenesis. *J Cell Biochem*. 2006 Jan 1;97(1):33–44.
 23. Olsen BR, Reginato AM, Wang W. Bone Development. 2003 Nov 28;16:191–220.
 24. Sandell LJ, Adler P. Developmental patterns of cartilage. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 1999, 4(4), 731-742. 1999 Oct 15;4(4):731–42.

25. Tickle CA. Patterning systems--from one end of the limb to the other. *Dev Cell*. 2003 Apr 1;4(4):449–58.
26. Kmita M, Tarchini B, Zákány J, Logan M, Tabin CJ, Duboule D. Early developmental arrest of mammalian limbs lacking HoxA/HoxD gene function. *Nature* 2005 435:7045. 2005 Jun 23;435(7045):1113–6.
27. Vargas AO, Kohlsdorf T, Fallon JF, VandenBrooks J, Wagner GP. The Evolution of HoxD-11 Expression in the Bird Wing: Insights from Alligator *mississippiensis*. *PLoS One*. 2008 Oct 3;3(10):e3325.
28. Mariani FV, Martin GR. Deciphering skeletal patterning: clues from the limb. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):319-25. doi: 10.1038/nature01655. PMID: 12748649.
29. DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000 Sep 1;8(5):309–34.
30. Davies SR, Sakano S, Zhu Y, Sandell LJ. Distribution of the transcription factors Sox9, AP-2, and [delta]EF1 in adult murine articular and meniscal cartilage and growth plate. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2002 Aug 1;50(8):1059–65.
31. Goldring MB. Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2012;4(4):269–85.
32. Seghatoleslami MR, Roman-Bias JA, Rainville AM, Modarresi R, Danielson KG, Tuan RS. Progression of chondrogenesis in C3H10T1/2 cells is associated with prolonged and tight regulation of ERK1/2. *J Cell Biochem*. 2003 Apr 15;88(6):1129–44.
33. Minina E, Kreschel C, Naski MC, Ornitz DM, Vortkamp A. Interaction of FGF, Ihh/Pthlh, and BMP Signaling Integrates Chondrocyte Proliferation and Hypertrophic Differentiation. *Dev Cell*. 2002 Sep 1;3(3):439–49.

34. Kobayashi T, Chung U II, Schipani E, Starbuck M, Karsenty G, Katagiri T, et al. PTHrP and Indian hedgehog control differentiation of growth plate chondrocytes at multiple steps. *Development*. 2002;129(12):2977–86.
35. Tamamura Y, Otani T, Kanatani N, Koyama E, Kitagaki J, Komori T, et al. Developmental Regulation of Wnt/ β -Catenin Signals Is Required for Growth Plate Assembly, Cartilage Integrity, and Endochondral Ossification. *Journal of Biological Chemistry*. 2005 May 13;280(19):19185–95.
36. Engum SA. Embryology, sternal clefts, ectopia cordis, and Cantrell's pentalogy. *Semin Pediatr Surg*. 2008 Aug 1;17(3):154–60.
37. Anat APJ, 1900 undefined. The sternum Its early development and ossification in man and animals. *ci.nii.ac.jp* [Internet]. [cited 2023 Mar 27]; Available from: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10009432124/>
38. Takeda S, Bonnamy JP, Owen MJ, Ducky P, Karsenty G. Continuous expression of Cbfa1 in nonhypertrophic chondrocytes uncovers its ability to induce hypertrophic chondrocyte differentiation and partially rescues Cbfa1-deficient mice. *Genes Dev*. 2001 Feb 15;15(4):467–81.
39. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nature Medicine* 1999 5:6. 1999 Jun;5(6):623–8.
40. Myllyharju J. Extracellular matrix and developing growth plate. *Curr Osteoporos Rep*. 2014 Nov 1;12(4):439–45.
41. Maes C, Kobayashi T, Selig MK, Torrekens S, Roth SI, Mackem S, et al. Osteoblast Precursors, but Not Mature Osteoblasts, Move into Developing and Fractured Bones along with Invading Blood Vessels. *Dev Cell*. 2010 Aug 8;19(2):329.

42. Mackie EJ, Ahmed YA, Tatarczuch L, Chen KS, Mirams M. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(1):46–62.
43. Inada M, Wang Y, Byrne MH, Rahman MU, Miyaura C, López-Otín C, et al. Critical roles for collagenase-3 (Mmp13) in development of growth plate cartilage and in endochondral ossification. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101(49):17192–7.
44. Kirsch T, Nah HD, Shapiro IM, Pacifici M. Regulated Production of Mineralization-competent Matrix Vesicles in Hypertrophic Chondrocytes. *J Cell Biol.* 1997 Jun 6;137(5):1149.
45. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature.* 2003 May 15;423(6937):332–6.
46. Kalamchi L, Valle C. Embryology, Vertebral Column Development. *StatPearls.* 2022 May 8;
47. Müller F, O’Rahilly R. Somitic-vertebral correlation and vertebral levels in the human embryo. *American Journal of Anatomy.* 1986 Sep 1;177(1):3–19.
48. Christ B, Schmidt C, Huang R, Wilting J, Brand-Saberi B. Segmentation of the vertebrate body. *Anat Embryol (Berl).* 1998;197(1):1–8.
49. Chal J, Pourquié O. Making muscle: Skeletal myogenesis in vivo and in vitro. *Development (Cambridge).* 2017;144(12):2104–22.
50. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. *Larsen’s Human Embryology E-Book.* :608.
51. Muller F, O’rahilly R. Occipitocervical segmentation in staged human embryos. *J Anat.* 1994 Oct;185(Pt 2):251.
52. Ogden JA, Ganey TM, Light TR, Belsole RJ, Greene TL. Ossification and pseudoepiphysis formation in the “nonepiphyseal” end of bones of the hands and feet. *Skeletal Radiol.* 1994 Jan;23(1):3–13.

53. Chandraraj S, Briggs CA. Multiple growth cartilages in the neural arch. *Anat Rec.* 1991 May 1;230(1):114–20.
54. Bagnall KM, Harris PF, Jones PRM. A radiographic study of the human fetal spine. 2. The sequence of development of ossification centres in the vertebral column. *J Anat.* 1977 Dec;124(Pt 3):791.
55. Dias MS. Normal and Abnormal Development of the Spine. *Neurosurg Clin N Am.* 2007 Jul 1;18(3):415–29.
56. Connolly MR, Auchincloss HG. Anatomy and Embryology of the Thoracic Outlet. *Thorac Surg Clin.* 2021 Feb 1;31(1):1.
57. Netter FH (Frank H, Machado CAG, Neumann PE, Tubbs RS, Brueckner JK, Gdowski MJ, et al. *Netter atlas of human anatomy : classic regional approach.* :202.
58. Khabyuk J, Pröls F, Draga M, Scaal M. Development of ribs and intercostal muscles in the chicken embryo. *J Anat.* 2022 Sep 1;241(3):831–45.
59. Romanoff AL. The avian embryo. Structural and functional development. The avian embryo Structural and functional development. 1960;
60. Graeber GM, Nazim M. The Anatomy of the Ribs and the Sternum and Their Relationship to Chest Wall Structure and Function. *Thorac Surg Clin.* 2007 Nov;17(4):473–89.
61. Laurenson RD. THE PRIMARY OSSIFICATION OF THE HUMAN ILIUM. *Anat Rec.* 1964;148(2):209–17.
62. Delaere O, Kok V, Nyssen-Behets C, Dhem A. Ossification of the human fetal ilium. *Acta Anat (Basel).* 1992;143(4):330–4.
63. Verbruggen SW, Nowlan NC. Ontogeny of the Human Pelvis. *Anat Rec (Hoboken).* 2017 Apr 1;300(4):643–52.

64. O'Rahilly R, Gardner E. The timing and sequence of events in the development of the limbs in the human embryo. *Anat Embryol (Berl)*. 1975 Jan;148(1):1–23.
65. Panattoni GL, D'Amelio P, Di Stefano M, Isaia GC. Ossification centers of human femur. *Calcif Tissue Int*. 2000 Mar 23;66(4):255–8.
66. Cartílago y hueso | Texto Atlas de Histología. *Biología celular y tisular, 2e | AccessMedicina | McGraw Hill Medical*.
67. Kronenberg HM. PTHrP and Skeletal Development. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Apr 1;1068(1):1–13.
68. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
69. Ren R, Guo J, Chen Y, Zhang Y, Chen L, Xiong W. The role of Ca²⁺/Calcineurin/NFAT signalling pathway in osteoblastogenesis. *Cell Prolif*. 2021 Nov 1;54(11).
70. Delgado-Calle J, Bellido T. The osteocyte as a signaling cell. *Physiol Rev*. 2022 Jan 1;102(1):379.
71. Palumbo C, Palazzini S, Zaffe D, Marotti G. Osteocyte differentiation in the tibia of newborn rabbit: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes. *Acta Anat (Basel)*. 1990;137(4):350–8.
72. Karsenty G. Minireview: transcriptional control of osteoblast differentiation. *Endocrinology*. 2001;142(7):2731–3.
73. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003 May 15;423(6937):337–42.
74. Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet*. 2003 Aug 1;4(8):638–49.

75. Kovacs CS. Bone development in the fetus and neonate: Role of the calciotropic hormones. *Curr Osteoporos Rep.* 2011 Dec 9;9(4):274–83.
76. Wood WM, Etemad S, Yamamoto M, Goldhamer DJ. MyoD-expressing progenitors are essential for skeletal myogenesis and satellite cell development. *Dev Biol.* 2013 Dec 1;384(1):114–27.
77. Wood WM, Otis C, Etemad S, Goldhamer DJ. Development and patterning of rib primordia are dependent on associated musculature. *Dev Biol.* 2020 Dec 12;468(1–2):133.
78. Ogden JA, Conlogue GJ, Bronson ML, Jensen PS. Radiology of postnatal skeletal development. II. The manubrium and sternum. *Skeletal Radiol* [Internet]. 1979 Nov [cited 2023 Jul 20];4(4):189–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/531583/>
79. Bardeen CR. Studies of the development of the human skeleton. (A). The development of the lumbab, sacbal and coccygeal vertebwe. (B). The cubves and the pbopobtionate regional lengths of the spinal column during the first thbee months of embbyonic developnent. (C). The development of the skeleton of the posterior limb. *American Journal of Anatomy.* 1905 May 25;4(3):265–302.
80. Verbruggen SW, Loo JHW, Hayat TTA, Hajnal J V., Rutherford MA, Phillips ATM, et al. Modeling the biomechanics of fetal movements. *Biomech Model Mechanobiol.* 2016 Aug 1;15(4):995–1004.
81. Baumgart M, Wiśniewski M, Grzonkowska M, Badura M, Biernacki M, Siedlecki Z, et al. Quantitative anatomy of the ilium's primary ossification center in the human fetus. *Surgical and Radiologic Anatomy.* 2018 Sep 1;40(9):1047.
82. Mahmood R, Bresnick J, Hornbruch A, Mahony C, Morton N, Colquhoun K, et al. A role for FGF-8 in the initiation and maintenance of vertebrate limb bud outgrowth. *Curr Biol.* 1995;5(7):797–806.

83. Crossley PH, Minowada G, MacArthur CA, Martin GR. Roles for FGF8 in the induction, initiation, and maintenance of chick limb development. *Cell*. 1996 Jan 12;84(1):127–36.

ANEXO 1



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

13 de mayo de 2019

FM-CIE-0272-19

Doctora
MARÍA LUCÍA GUTIÉRREZ GÓMEZ
Investigadora Principal
Pontificia Universidad Javeriana
Bogotá

Ref. "Caracterización de la población de células estromales de médula ósea obtenidas de recién nacidos con muerte perinatal"
2019/090

Apreciada doctora Gutiérrez.

El Comité de Investigaciones y Ética Institucional de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana declara su total adhesión a los principios éticos y científicos citados en la declaración de Helsinki, versión 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. Además, certifica que se rige para la conducción de estudios por las buenas prácticas clínicas aceptadas internacionalmente y las normas vigentes de la legislación colombiana.

Por medio de la presente le comunico que en la sesión ordinaria del 09/05/2019 N° de Acta (08/2019), el Comité analizó el proyecto y lo aprobó. Se presentó toda la documentación necesaria para evaluar el estudio. Los miembros de equipo de investigación son idóneos para participar. El proyecto es pertinente y cumple con el rigor metodológico para este tipo de diseños. Las consideraciones éticas se adhieren a las normas nacionales e internacionales, permiten determinar que se realizará una selección justa de los sujetos y que se respetarán sus derechos y se tomarán las medidas que garanticen su seguridad y bienestar. La relación riesgo beneficio es favorable para los sujetos.

Durante la reunión correspondiente a esta comunicación se encontraron presentes 11 de los 15 miembros del Comité.

CARLOS GÓMEZ-RESTREPO

Médico, Especialista en Psiquiatría, Magister en Epidemiología Clínica. Presidente.

JUAN GUILLERMO CATANO CATANO

Médico, Especialista en Urología. Vocal.

FERNANDO SUÁREZ OSANDO

Médico, Especialista en Genética Clínica, Magister en Epidemiología Clínica, Especialista en Biología. Vocal.

ÁNGEL ALBERTO GARCÍA PEÑA

Médico, Especialista en Medicina Interna y Cardiología, Magister en Epidemiología Clínica. Vocal.

ANDRÉS DUARTE OSORIO

Médico, Especialista en Medicina Familiar, Magister en Epidemiología Clínica. Vocal.

SAÚL JAVIER RUGELES

Médico, Especialista en Cirugía Gastrointestinal y Endoscopia Digestiva, Especialista en Metabolismo y Soporte Nutricional. Vocal.

LILIAN TORREGROSA ALMONACID

Especialista en Cirugía General, Especialista en Cirugía de Mama y tejidos blandos, Especialista en Biología, Magister en Biología. Vocal.

PABLO ASCHNER MONTOYA

Médico, Especialista en Endocrinología, Magister en Epidemiología clínica. Vocal.

Facultad de Medicina – Comité de Investigaciones y Ética

Hospital Universitario San Ignacio, Carrera 7ª N° 40 – 62, Piso 2, Bogotá, Colombia, PBX (57-1) 3208320 Ext.2770 – 2879227, Fax 2882284



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

FM-CIE-0272-19

MARÍA ELIZABETH GÓMEZ NEVA
Enfermera, Magíster en Epidemiología Clínica, Vocal.

ADRIANA DEL PILAR BARBOSA CASTAÑO
Abogada, Vocal.

ÁLVARO DÁVILA LADRÓN DE GUEVARA
Economista, Representante de la Comunidad, Vocal.


"La aprobación de este proyecto por parte del CIEI no implica que la Pontificia Universidad Javeriana o el Hospital Universitario San Ignacio estén en la obligación de financiar los rubros descritos en el presupuesto".

Añentamente,

CARLOS GÓMEZ-RESTREPO, MD
Presidente Comité de Investigaciones y Ética
Cajón Archivo de Comité de Investigaciones y Ética



ANEXO 2

 HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN IGNACIO <small>UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA</small>	GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA	CÓDIGO: GIC-R-25
	CONSENTIMIENTO INFORMADO EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN	VERSIÓN:04 APROBADO:23/05/18 PÁGINA 1 DE 2

Proyecto de investigación: *Caracterización de la población de células estromales de médula ósea obtenidas de recién nacidos con muerte perinatal*

Los suscritos _____ y _____, mayores de edad con los documentos de identidad CC _____ y _____, respectivamente, manifestamos que hemos sido informados del propósito de realizar el estudio de patología o autopsia fetal a nuestro hijo(a), practicado por el grupo de patólogos de esta Entidad, el cual no tiene riesgo para nosotros y por el contrario puede darnos información sobre la causa última de la muerte del bebé, posibles causas de la enfermedad que presentaba y las posibles complicaciones de embarazos futuros en la familia, etc.

El grupo de profesionales solicitan nuestra autorización y nos explican que la entrega del cuerpo se hará una vez haya culminado el proceso; el cuerpo no será mutilado ni desfigurado y presentará al final del examen, una herida o incisión central en el tórax y en el abdomen y otra en la cabeza. Los resultados finales del estudio se nos entregarán en aproximadamente 30 días.

Las muestras de los tejidos serán incluidas en bloques de parafina y puestas en láminas para su estudio al microscopio. Los bloques y las láminas se guardarán por un mínimo de 20 años como parte de la Historia clínica y podrán ser eventualmente utilizados con fines médicos educativos, investigativos o como parte de una auditoria. Durante el procedimiento pueden tomarse fotografías científicas, radiografías u otros estudios iconográficos que también ingresarán a la Historia clínica del paciente.

Se nos explicó que debemos llevarnos el cuerpo del bebé una vez terminada la autopsia, para lo cual el Hospital diligenciará el correspondiente Certificado de Defunción, con el cual nosotros nos comprometemos a solicitar la licencia de inhumación o de cremación en la Secretaría Distrital de Salud con el fin de hacer la disposición final del cadáver.

En caso de que dentro de los siguientes 30 días no retiremos el cuerpo, autorizamos a la administración del Hospital para realizar la disposición final del cadáver.

Finalmente entendemos que, de conformidad con lo dispuesto por el Decreto 786 de 1987, si los médicos tratantes lo consideran necesario, podrán ordenar la realización de la autopsia aún sin nuestra autorización.

Si desea información adicional con relación al procedimiento de autopsia fetal, del proyecto de investigación "Caracterización de la población de células estromales de médula ósea obtenidas de recién nacidos con muerte perinatal"





GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA
CONSENTIMIENTO INFORMADO EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

CÓDIGO: GIC-R-25
VERSIÓN:04
APROBADO:23/05/18
PÁGINA 2 DE 2

los resultados o la disposición final del cuerpo, puede comunicarse con la Dra. Mercedes Olaya del Departamento de Patología del Hospital San Ignacio al teléfono 5946161 Ext 2440. Presidente del Comité de Ética Institucional: Carlos Gómez Restrepo, 3208320 ext 2770, Carrera 7 N.º 40 – 62 - piso 9 Ed. Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia.

Padres del paciente:

Nombre _____ Apellido: _____

Dirección: _____ Teléfono: _____

Firma: _____

Nombre: _____ Apellido: _____

Dirección: _____ Teléfono: _____

Firma: _____

Testigo 1

Nombre: _____ Apellido: _____

Dirección: _____ Teléfono: _____

Firma: _____

Fecha: _____ Diligenciado por: _____

