

vio demoledor, depositándose la materia fundamental en la trama conectiva preexistente.

**Osificación endocondral.** — El proceso osteogénico no se desenvuelve simultáneamente en todo el espesor de cada cartilago del esqueleto embrionario; se inicia en ciertos parajes, constantes en número y posición para cada hueso, que se llaman *puntos de osificación*.

Cuando se examina al microscopio un fino corte de un punto ó zona de osificación del cartilago endocondral, atrae nuestra atención una serie de cambios estructurales que enlazan, por suaves gradaciones, el cartilago normal con el hueso neoformado. Estos cambios, reveladores del mecanismo osteogénico, pueden distinguirse por zonas que son, á partir del territorio cartilaginoso indiferente, las siguientes:

*Zona proliferante.* — Iníciase el proceso osteogénico por el aumento de volumen de las células cartilaginosas, así como por la celeridad de sus divisiones. Abundan en esta zona las células con dos núcleos y las cápsulas que encierran dos ó cuatro células recién engendradas (fig. 113, A).

*Zona de células seriadas.* — Las familias celulares, fruto de la proliferación, se disponen en series ó hileras paralelas y perpendiculares al plano de osificación. Las células de cada grupo se aplanan y aproximan por sus caras, ganando en talla conforme se acercan á la zona siguiente (fig. 113, B).

*Zona de atrofia ó de los grandes condroplasma.* — La seriación celular se mantiene, mas no la disposición de las células, que sufre grandes metamorfosis. Merced á unmovimiento de absorción de la materia fundamental, ampliáanse los condroplasma, en cuyo interior se ven los elementos cartilaginosos, marchitos, retraídos, sin señales de proliferación y provistos de un núcleo arrugado, incapaz de teñirse por los reactivos de la cromatina. La materia fundamental comprendida entre las series se estrecha, mostrándose más ó menos calcificada (fig. 113, C).

*Zona de las lagunas medulares.* — Durante la fase anterior, numerosos capilares brotan de la red del pericondrio, los cuales, escoltados por rico cortejo de corpúsculos conectivos embrionarios, invaden la zona de los grandes condroplasma, absor-

biendo los tabiques intercavitarios y destruyendo las células cartilaginosas degeneradas (fig. 113, D). Resultado de esta labor demoledora es la construcción de vastos espacios longitudinales más ó menos y paralelos, cuyos contornos festoneados representan todavía los restos de los grandes condroplasma.

En cada laguna medular adviértese un asa capilar y un conglomerado de diminutos corpúsculos poliédricos, fusiformes ó triangulares, que llenan todo el hueco esculpido en la materia fundamental cartilaginosa. De entre estos corpúsculos (que no son otra cosa, como antes indicamos, que células conjuntivas llegadas del pericondrio), los tangentes á las paredes de la laguna forman un revestimiento más ó menos continuo, adquieren figura estrellada, y se aplican íntimamente á las tiras cartilaginosas limitantes (fig. 113, D). La virtud que tales corpúsculos poseen de segregar la substancia intercelular del hueso, les ha valido el nombre de *osteoblastos*.

El trabajo constructor de los osteoblastos comprende dos períodos de desigual actividad. Durante el primero, la cara exterior de estas células segrega un material hialino que no tarda

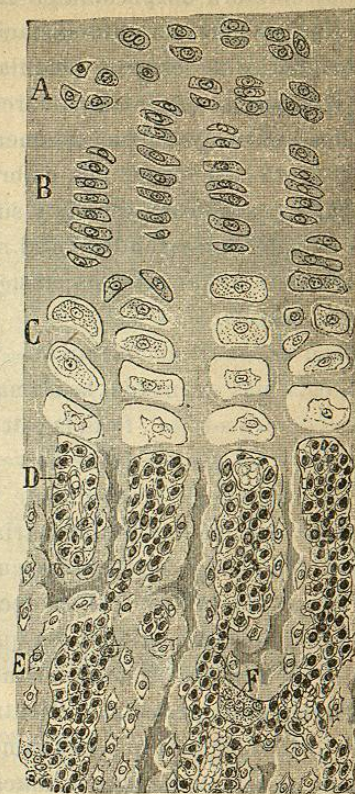


Fig. 113. — Osificación endocondral. — Corte de un metacarpiano de perro recién nacido. Decalcificación en ácido pírico. — A, zona de proliferación de las células cartilaginosas; B, zona de las células seriadas; C, zona de los grandes condroplasma; D, zona de los espacios medulares; E, tiras óseas recién formadas; F, osteoclasto al nivel de una tira ósea interrumpida.

en atraer las sales calcáreas de los plasmas inter-orgánicos ; durante la segunda, la secreción celular amaina y el corpúsculo queda empotrado en la materia fundamental, merced á la actividad secretora despertada en una nueva serie de osteoblastos que han surgido por diferenciación del seno de los corpúsculos embrionarios del espacio medular. Envuelta esta nueva hilera por el material orgánico-calcáreo, aparece otra serie de osteoblastos activos, y así sucesivamente, hasta que el espacio cavernoso agota casi sus células embrionarias. Como cada célula englobada posee forma estelar y sus apéndices se anastomosan en red, la substancia fundamental reserva también unos finos conductos para alojar estas expansiones. Tal es el origen de los conductos calcóforos.

*Zona del hueso embrionario.*—En los parajes donde la osificación está más avanzada, la trama ósea no presenta exactamente la estructura adulta : falta la estratificación de la materia fundamental, y los conductos de Havers, todavía anchos y anfractuados, se comunican ampliamente entre sí y contienen una gran cantidad de médula embrionaria. Entre las formaciones óseas que rodean cada conducto vascular, subsisten todavía las *tiras cartilaginosas directrices*, es decir, aquellos trayectos de materia fundamental cartilaginosa que separaban en la fase antecedente los grandes espacios lacunarios.

**Osteogénesis periostal.**—Mientras en el seno del cartilago ocurren los fenómenos que acabamos de exponer, la superficie del mismo es asiento de otra formación debida á la actividad osteogénica del periostio. Posee esta membrana dos zonas : *superficial ó fibrosa*, pobre en células y capilares, pero rica en haces conjuntivos ; *profunda ú osteogénica*, escasa en haces, pero copiosa en corpúsculos embrionarios y capilares. Las células más hondas adquieren forma poliédrica y se adhieren al cartilago, dando origen á una capa casi continua de *osteoblastos periósticos* (fig. 114, B). Estos osteoblastos emiten hacia el cartilago finas expansiones, y no tardan en segregar una materia fundamental afine de las sales y en la que, como ocurre en la formación endocondral, quedarán sucesivamente emparedados. Edificanse de este modo diversos estratos de materia ósea, en cuyo seno

se observan espacios cavernosos comunicantes con el periostio, y en donde se alojan capilares y una capa de osteoblastos activos (fig. 114, C). El hueso periostal júntase al endocondral, conservando sus caracteres embrionarios durante algún tiempo, hasta que se inicia el proceso de absorción.

Por igual mecanismo se produce la osificación en el seno de membras fibrosas, tales como las que originariamente constituyen los huesos de la bóveda craneal. Estas membranas, que

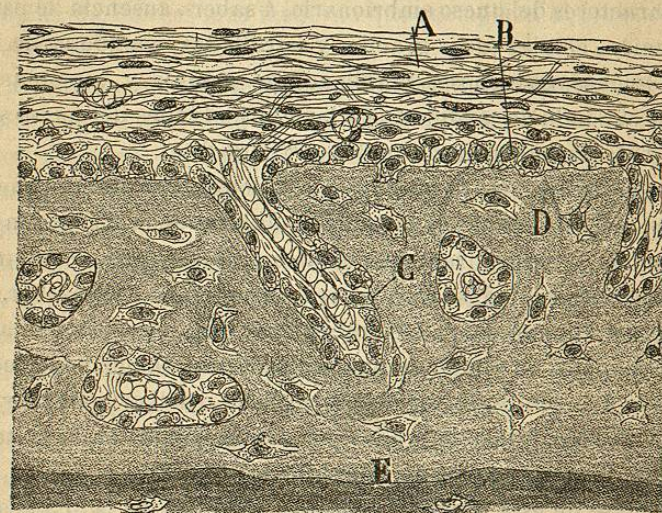


Fig. 114. — Periostio y hueso periostal en vías de formación de un metacarpiano de feto humano. — A, zona fibrosa del periostio ; B, capa germinal ó de osteoblastos ; D, osteoblastos englobados en la materia fundamental.

son verdaderos periostios independientes, se vascularizan en el paraje donde se iniciará la osificación ; la cara interna de la capa fibrosa se puebla de osteoblastos, que no tardan en producir el material calcáreo en donde quedarán englobados. Como el depósito ocurre en un tejido fibroso, los haces conectivos serán envueltos con las células en la misma substancia intersticial, lo que explica la abundancia de fibras de Sharpey en la trama de los huesos anchos.

**Absorción y construcción definitiva del hueso.** — El hueso embrionario es una formación transitoria destinada á desaparecer

por absorción, para ceder su lugar á una construcción más regular de la trama ósea.

Fijémonos en lo que ocurre en los huesos largos, donde el proceso osteogénico se ha estudiado mejor. Estos órganos poseen dos formaciones óseas: una central, nacida en el cartilago de la diáfisis y extendida hasta las extremidades; y otra periférica desarrollada debajo del periostio, y prolongada solamente hasta el contorno del cartilago articular. Ambas construcciones ofrecen los caracteres del hueso embrionario, á saber: ausencia de estratificación, células óseas grandes y estrelladas, conductos de Havers anchos, cavernosos y rellenos de médula y osteoblastos. Falta el conducto medular. En las extremidades del hueso subsiste todavía una gran parte del cartilago fetal.

En tal situación, la absorción comienza. Por diferenciación de los osteoblastos de los espacios medulares de la formación endocondral, se engendran unas células grandes, granuladas, multinucleadas, llamadas *osteoclastos* ó corpúsculos de Kölliker, las cuales se apoyan sobre las trabéculas óseas, desgastándolas y corroyéndolas en virtud de una acción digestiva que puede compararse á la realizada por el zoospermo al disolver la membrana del óvulo. Las fosetas labradas por dichas células en la materia ósea, se llaman lagunas de Howship (fig. 105, E).

Fórmase de esta suerte el conducto medular de la diáfisis, el cual va ensanchándose progresivamente, merced al trabajo demolidor de los osteoclastos, hasta destruir toda la formación endocondral y una buena parte de la periostal. Semejante destrucción queda compensada por el depósito de nuevas capas en la zona osteogénica del periostio, así como en torno de las expansiones que esta membrana dirige al espesor del hueso recién formado. Sólo en las epífisis subsistirá la primitiva edificación endocondral, que se transformará, con el tiempo, en la sustancia esponjosa del hueso adulto.

No paran aquí las transformaciones óseas. Aun después del nacimiento, prosigue la absorción, sufriendo nuevos retoques la construcción periostal, para dar origen al hueso definitivo. Por este tiempo ocurre la estratificación de la materia fundamental, el angostamiento de los conductos de Havers, cuyos

osteoblastos desaparecen en gran parte, y la edificación de las láminas fundamentales internas, debida al trabajo de la capa de osteoblastos que envuelve la médula ósea. Testimonio de estos demoliciones y reconstrucciones, son esos sistemas de Havers á medio absorber que nos presentan los cortes de hueso adulto. La línea más ó menos desigual á cuyo nivel las laminillas óseas aparecen interrumpidas por el trabajo demolidor, llámanse *línea de absorción*, y *línea de aposición* el contorno del sistema de Havers más moderno que reemplaza al parcialmente destruido.

En suma; el modelamiento definitivo del hueso es debido á la colaboración armónica de dos clases de células: los *osteoblastos* que segregan el material organico-calcáreo, y los *osteoclastos* que lo destruyen ó retocan hasta reducirlo á la forma definitiva. Una vez acabada la evolución, el osteoblasto, empotrado en la materia fundamental, pierde la cualidad secretora, así como la virtud proliferante, y no tarda en caer en la atrofia y aniquilamiento. La vitalidad del hueso quedará en adelante encomendada á las células periósticas y medulares, las cuales podrán, en caso de fractura ó de destrucción de aquél, reparar el tejido, ajustándose al mecanismo de la osteogenesis periostal embrionaria. La célula ósea adulta debe estimarse como un elemento degenerado, incapaz de proliferación.

**Preparación del hueso.** — *Osteoplasmas y conductos calcóforos.* — Uno de los métodos mejores y más expeditos, consiste en incluir en el bálsamo del Canadá seco, es decir, privado de su esencia, cortes convenientemente afilados y pulidos de huesos macerados. Para los detalles del manejo del bálsamo y de la obtención de los cortes de huesos, véase la *Técnica* en la página 112. Este procedimiento muestra perfectamente los conductitos y lagunas, que aparecen negras por estar llenas de aire, pero no presentan con igual claridad las laminillas de Havers. Para poner de manifiesto ambas cosas, debe escogerse el procedimiento de teñido con las anilinas (pág. 113).

*Demostración de la textura laminar.* — Puede conseguirse fácilmente por el siguiente método, debido á Ebner: Comiézase por diluir en su volumen de agua destilada una solución saturada de sal común, en cuyo líquido se abandonarán los trozos de hueso destinados á la decalcificación. Para disolver las sales calcáreas, se añadirán al líquido, sucesivamente y por varios días, gotas de ácido clorhídrico, hasta que los huesos

se tornen flexibles, constituyéndose lo que se ha llamado el *cartilago óseo*. Entonces se lavan prolijamente en agua corriente y se sumergen en una solución salina igual á la anterior, pero sin ácido, hasta que la pieza haya perdido su acidez, resultado que se obtendrá más seguramente alcalinizando ligeramente con amoníaco el licor salino. Los cortes, que deben ser muy delgados y tangenciales al hueso, se examinarán en agua destilada ó en la misma solución salina. La disociación de las fibrillas se logrará dislacerando los cortes con las agujas ó rascando las secciones longitudinales óseas con el filo de un escalpelo.

Este procedimiento puede simplificarse del modo siguiente, sin que los resultados nos parezcan inferiores: Un corte conveniente desgastado del hueso seco, se deposita en un vidrio de reloj que contenga agua con algunas gotas de ácido clorhídrico. A los pocos minutos el corte, ya decalcificado, se lava muchas veces con agua destilada, y se deja macerar por algunas horas en la solución salina al 10 por 100. La observación del preparado, así como la conservación del mismo, se efectuarán en este mismo licor.

*Fibras de Sharpey.*—Uno de los mejores métodos que pueden utilizarse para evidenciarlas, es el que acabamos de describir. Es preciso que los cortes sean perpendiculares á la diáfisis de un hueso largo, y que muestren de preferencia las láminas fundamentales externas. Serán útiles también los cortes perpendiculares á los huesos del cráneo, que, por ser de origen exclusivamente fibroso, contienen muchas fibras perforantes.

Para obtener las fibras de Sharpey aisladas ó semiseparadas de las láminas que atraviesan, no hay más que desgarrar con las agujas un corte decalcificado. No es raro encontrar láminas desprendidas que llevan clavadas todavía algunas fibras perforantes. La continuidad de estas fibras con el periostio, se demostrará fácilmente examinando huesos frescos decalcificados, preferentemente los del cráneo en vías de desarrollo (cabeza del perro ó gato de pocos días).

Kölliker propone el siguiente medio de coloración de las fibras de Sharpey: Cortes de cartilago óseo, obtenidos por cualquier procedimiento de decalcificación, son tratados durante algunos minutos por el ácido acético concentrado; sumérgense luego por medio minuto en una solución de carmín de índigo en ácido oxálico, y, por último, se lavan en agua destilada y conservan en glicerina. Las fibras de Sharpey aparecen de rosa pálido, y de azul claro la materia fundamental ósea.

Hay otro medio de demostración de las fibras de Sharpey, que proporciona preparaciones muy demostrativas. Es sabido que estas fibras no están calcificadas, ó si lo están lo son imperfectamente. Por consiguiente, si se destruyen las partes orgánicas del hueso, bien por la ebullición prolongada, bien por la calcinación, todo resto de fibras habrá desaparecido, y el lugar que ellas ocuparon aparecerá lleno de aire y con vigoroso contraste. La calcinación (á la que nosotros debemos excelentes preparacio-

nes), se practica depositando una lámina bien seca y afilada de hueso sobre una cápsula de platino calentada al rojo por la llama de gas ó de alcohol. El corte óseo se volverá negro en seguida, pero á los pocos minutos emblanquecerá; entonces es cuando debe trasladarse con cuidado (es sumamente frágil), á un porta-objetos, donde se montará en preparación persistente con ayuda del bálsamo seco, recién derretido por el calor. Las fibras de Sharpey se mostrarán negras, así como las lagunas y conductitos, sobre fondo incoloro.

*Células óseas.*—Las células óseas pueden examinarse en estado fresco, para lo cual se tomarán delgados pedazos de concha nasal de rata ó de conejillo de Indias, que se examinarán en el licor salino indiferente, previo desprendimiento de la mucosa y periostio de que están revestidos. Asimismo cabrá utilizar pequeños cortes practicados paralelamente á los huesos frescos con una navaja de filo duro. El estudio del núcleo se facilitará mucho, sometiendo estos cortes á la acción de una solución acética de verde de metilo. El carmín y la hematoxilina no obran bien sino después de fijadas las células por el alcohol.

Las células óseas podrán estudiarse también en los cortes de hueso fresco decalcificado por el ácido pícrico, crómico, etc. La coloración se efectuará en la hematoxilina, la tionina, la zafranina, con sujeción á las reglas formuladas en las págs. 87 y 89.

*Desarrollo del hueso.*—El examen debe recaer sobre huesos decalcificados y convenientemente indurados. He aquí el procedimiento de decalcificación más recomendable:

En una solución saturada de ácido pícrico se dejarán macerar por algunos días trozos de huesos en vías de desarrollo. Se preferirán con este fin los metacarpianos y los metatarsianos de feto humano de cinco meses en adelante, los huesos del cráneo, de la mano y pié del conejo, perro, gato, etc., recién nacidos ó de pocas semanas. Se tendrá cuidado de observar el líquido diariamente y de mantenerlo á saturación agregándole un sobrante de cristales de ácido pícrico. Cuando la decalcificación sea completa, se descartará el exceso de ácido pícrico, mediante la maceración de las piezas en el agua (por veinticuatro horas), se fijarán éstas en alcohol absoluto, que se mudará durante dos ó tres días hasta completa deshidratación; luego se tratarán por cuarenta y ocho horas en una mezcla de éter y alcohol, y por último, se impregnarán por varios días en celoidina sirupsosa. La pieza se pegará con la misma celoidina á la superficie de un corcho, y se someterá todo junto á la induración en el alcohol flojo. Los cortes microtómicos, que deben ser longitudinales en los huesos largos, se recogerán en el agua, se teñirán por las anilinas (procedimiento de Gieson, coloración triple de Cajal, teñido con zafranina, tionina, etc.), se decolorarán en el alcohol absoluto y se lubricarán en esencia de bergamota, para montarlos en el bálsamo disuelto en cloroformo ó xilol.