

CATEDRA DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA
GENERAL Y DE ANATOMIA PATOLOGICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE BARCELONA

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA CITODIFERENCIACION
DEL MIOCARDIO DE EMBRION DE POLLO
" IN VIVO " E " IN VITRO "

Memoria presentada para la obtención del
Grado de Doctor en Medicina y Cirugía
por

José Antonio Bombí Latorre

Barcelona, 1973

EMBRION DE 4 DIAS

En este estadio encontramos al miocardio recubierto por una capa de células endoteliales en su superficie interna y en la externa por una capa de células fusiformes, muy aplanadas.

A partir de este estadio vamos ya únicamente a referirnos a la pared del miocardio propiamente dicha, ya que la porción más interna dará lugar a los músculos papilares y trabeculares, y se diferencia más rápidamente que el resto.

Las células del miocardio tienen una forma más o menos alargada, con un núcleo redondeado mayor a medida que la célula es más externa, generalmente con un nucleolo. El citoplasma es abundante en las células más internas, y relativamente escaso en las más externas. En dicho citoplasma se encuentran gran cantidad de pequeños corpusculos oscuros, a veces algo alargados formando como cadenas; otras veces encontramos fibras alargadas, que a veces muestran una clara estriación transversal, en longitudes variables a veces de más de una docena de sarcómeros. En algunos casos estas miofibrillas parecen ser

comunes a varias células vecinas. Generalmente estas fibrillas adoptan una orientación paralela con el eje mayor celular. Hay grandes espacios intersticiales, y a veces éstos son muy amplios recubiertos por una capa de células endoteliales, correspondientes a capilares.

Estudiando dicho estadio al microscopio electrónico observamos que las células poseen un núcleo ovalado limitado por una doble membrana nuclear en la que a veces se aprecian los poros nucleares; en el interior hay uno o dos nucleolos. (Fig. 14)

El citoplasma es muy abundante, encontrándose en él gran cantidad de filamentos gruesos y delgados la mayoría de ellos ordenados en miofibrillas, (Fig.13), que a su vez a veces se orientan paralelamente al eje mayor celular. En ocasiones se encuentran miofibrillas ramificadas. Aisladamente pueden también verse algunos filamentos gruesos agrupados en haces, ó entrecruzados, y también filamentos más finos entrecruzados entre sí, algunos de los cuales son algo más gruesos y corresponden a los filamentos intermedios. Algunas de las miofibrillas son de grosor parecido al adulto, y pueden encontrarse varias en una misma célula, en cuyo caso siempre están orientadas

paralelamente al eje mayor celular.

Entre estas miofibrillas se encuentran gran cantidad de mitocondrias, generalmente alargadas.

En zonas predominantemente periféricas se observan grandes acúmulos de glucógeno, y también gran cantidad de depósitos lipídicos, que generalmente guardan relación de vecindad. (Fig.14)

El aparato de Golgi se encuentra muy desarrollado y con gran cantidad de pequeñas cisternas, encontrándose siempre en la zona perinuclear. (Fig.14)

En el citoplasma y de forma difusa encontramos gran cantidad de pequeñas cavidades limitadas por una membrana lisa, que adoptan formas redondeadas, y que creemos corresponden al retículo sarcoplasmático, que situándose predominantemente por debajo del sarcolema y alrededor de las miofibrillas, casi constantemente a nivel de la línea Z.

En algunos lugares, a veces en o cerca de las cisternas del Aparato de Golgi se encuentran algunas vesículas iguales a las anteriores, con un contenido ligeramente denso y granuloso, siendo los llamados "gránulos

densos". (Fig. 13)

En muchas ocasiones, es frecuente localizar al centriolo en el área perinuclear.

Distribuidos difusamente por todo el sarcoplasma se encuentran gran cantidad de ribosomas libres, en menor número que en el estadio anterior, predominando en las zonas vecinas a los filamentos o miofibrillas, en donde a veces se encuentran en forma de polisomas de estructura helicoidal de más de 16 ribosomas de longitud, y también otros en forma de rosetas.

En los puntos de contacto entre las células aparecen algunas condensaciones del sarcolema del tipo desmosoma, y en otras zonas del tipo "fascia adherens". En estas zonas del plasmolema condensadas, parecen confluír gran parte de las miofibrillas, en ambas células vecinas, adoptando en estos casos, una misma dirección los filamentos si son de miofibrillas de grosor casi adulto, pero orientadas en todas direcciones si las miofibrillas son estrechas, Algunas de estas zonas de contacto intercelular no son rectas como en los estadios anteriores, sino que son ya algo sinuosas.

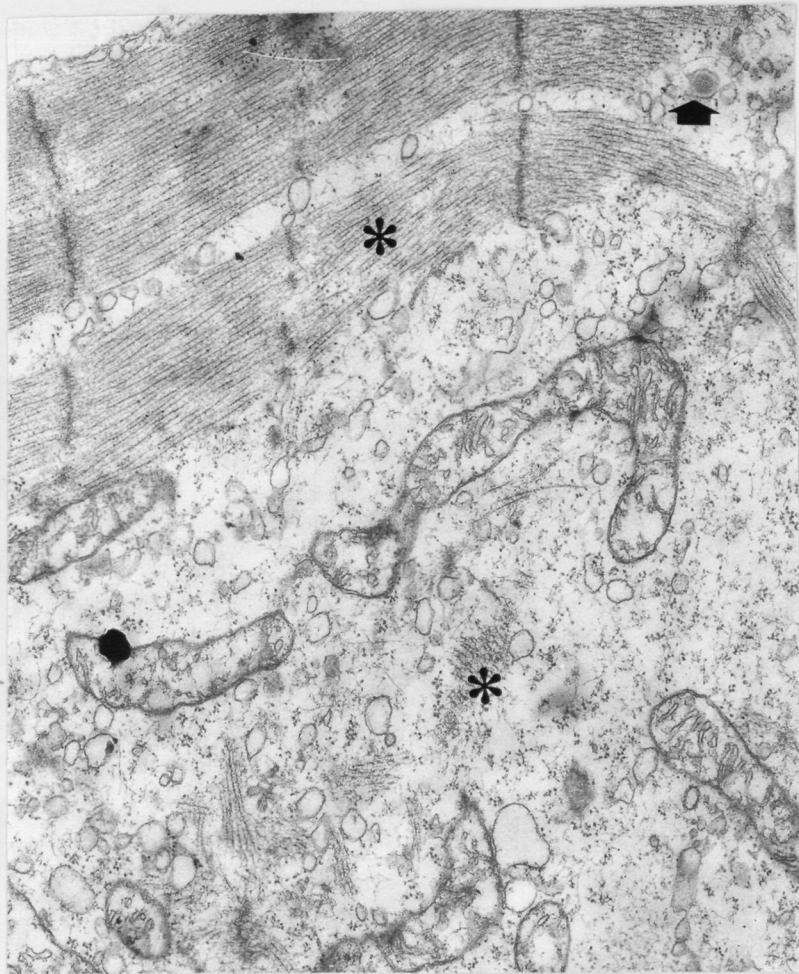


Fig. 13 : Embrión de 4 días. Miocito con miofibrillas bien formadas, pero orientadas en diversas direcciones, ya que aparecen en ocasiones cortadas transversalmente y otras veces la sección es longitudinal (asteriscos). También puede comprobarse que el retículo sarcoplasmático se localiza con cierta frecuencia a nivel de la línea Z. flecha- gránulo denso. 24.750 X.

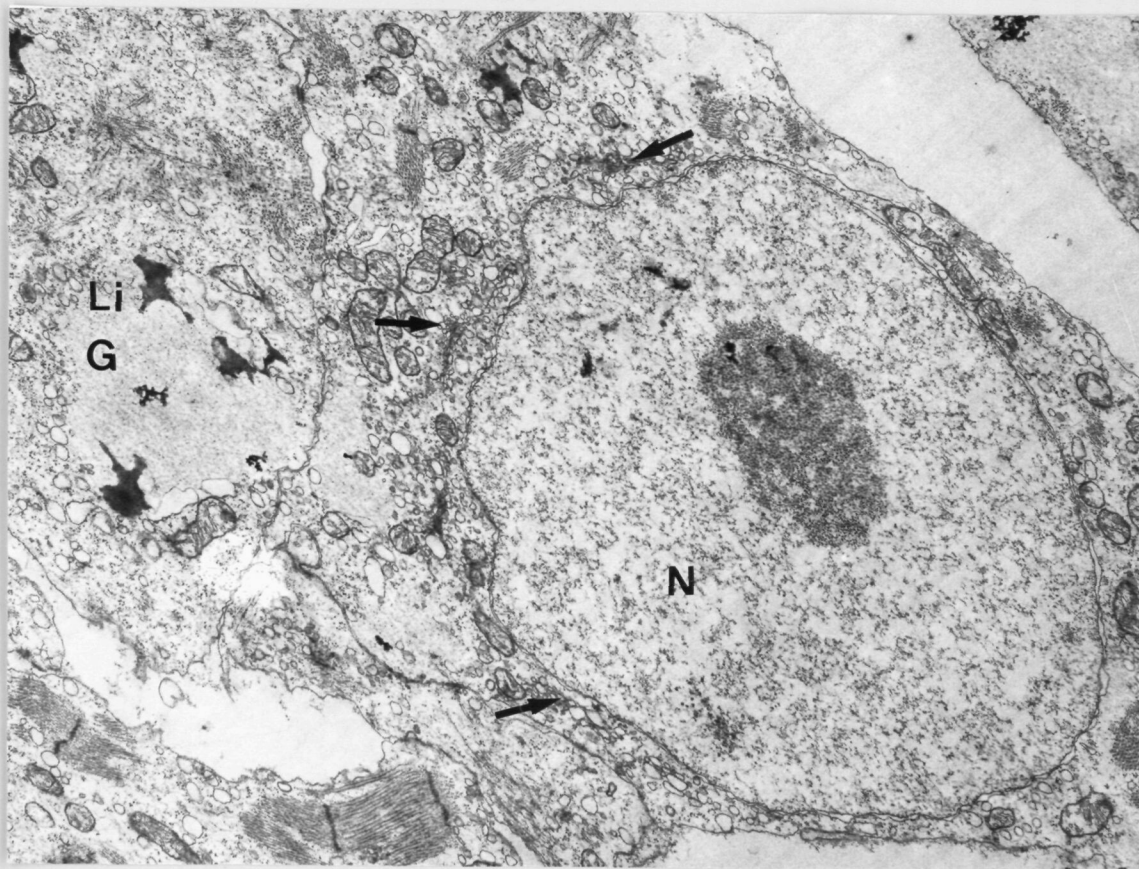


Fig. 14 : Embrión de 4 días. Miocito con varias miofibrillas orientadas en distintas direcciones. Pueden observarse extensas zonas claras que corresponden a glucógeno (G) relacionadas con otras más densas e irregulares que son de lípidos (Li). En una de las células hay un Aparato de Golgi muy extendido (flechas) alrededor del núcleo (N). 11.000 X.

EMBRION DE 5 DIAS

Estudiando al microscopio óptico los miocitos de la pared ventricular, observamos que son unas células de citoplasma más ó menos alargado con un núcleo redondeado con uno ó más nucleolos. Entre sí estas células dejan amplios espacios intersticiales. En el citoplasma de estas células observamos gran cantidad de corpúsculos oscuros pequeños orientados formando cadenas, en medio de las cuales se aprecian fibras alargadas; en algunas de ellas se distingue claramente una estriación transversal (Fig.15) Estas fibrillas estriadas siempre se encuentran orientadas paralelamente al eje mayor celular, pareciendo a veces que pasan de una célula a la siguiente. Estas fibrillas son bastantes abundantes y relativamente largas, ya que pueden llegar a tener varias decenas de sarcómeros de longitud. En el intersticio de la pared ventricular se pueden observar algunos capilares recubiertos por su capa endotelial, conteniendo a veces células sanguíneas.

Al microscopio electrónico las células tienen una membrana doble de contornos irregulares más ó menos alargada en donde se observan condensaciones en algu-

nos de los puntos de contacto entre las células vecinas en forma de desmosomas o de "fascia adherens", que en muchos casos tienen formas más ó menos sinuosas, y confluyendo a este nivel de la membrana gran parte de las miofibrillas y de los miofilamentos.

El citoplasma está en gran parte surcado por gran cantidad de filamentos, la mayoría de los cuales se encuentran ordenados en miofibrillas bastante gruesas, casi comparables con las adultas. En otros casos se observan filamentos gruesos en cantidad inferior a la decena, más ó menos paralelos, pero sin relación con ninguna banda Z. También se observan dispersos en el citoplasma unos filamentos, más delgados de diámetros variables, entrecruzados, a veces en relación con algunos polirribosomas.

En todo el citoplasma se encuentran gran cantidad de ribosomas libres, y en las zonas vecinas a los filamentos agrupados en forma de polisomas.

El Aparato de Golgi está formado por gran cantidad de pequeñas cisternas en la zona perinuclear.

En todo el citoplasma se observan gran cantidad de pequeñas vesículas rodeadas por una sola membra-

na de contornos lisos y redondos que corresponden al retículo sarcoplasmático. Estas vesículas se encuentran en muchos casos en la vecindad de la línea Z de las miofibrillas, y también en la zona por debajo del sarcolema.

En algunos casos vesículas parecidas a las anteriores, pero con un contenido granuloso y denso se observan en la vecindad del Aparato de Golgi y también en el resto del citoplasma; estos "gránulos densos" son relativamente escasos, encontrándose solo dos o tres por célula.

Entre todos estos elementos descritos anteriormente se encuentran gran cantidad de mitocondrias, algunas de ellas muy alargadas, que condicionadas por la ordenación de las miofibrillas adoptan una orientación en cadenas paralela al eje mayor celular.

Hay extensas y abundantes zonas de depósito de glucógeno, y de acúmulos de lípidos, muchas veces en relación de vecindad.

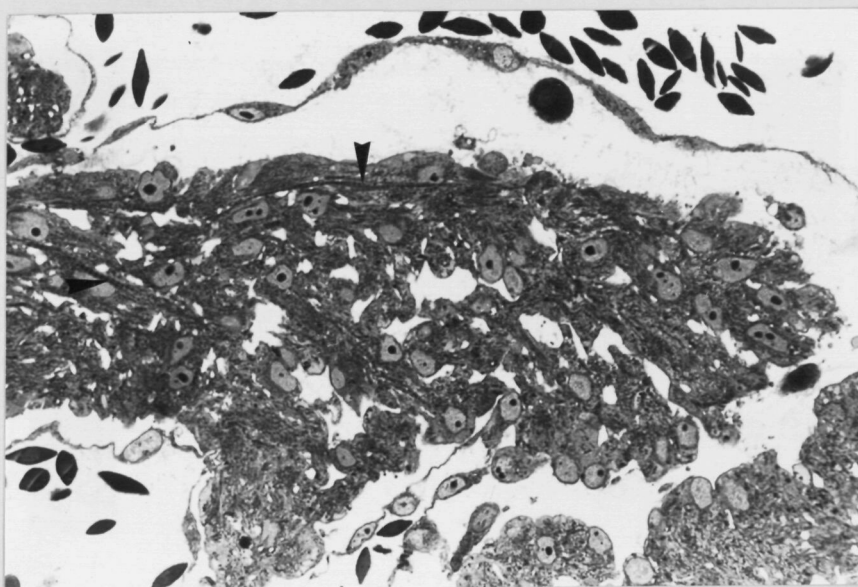


Fig. 15 : Embrión de 5 días. Microscopio óptico. Fragmento de tejido miocárdico cuyas células presentan miofibrillas, en ocasiones de considerable longitud, que parecen ser comunes para varias células. (flechas).

1.500 X.

EMBRION DE 6 DIAS

Estudiando al microscopio óptico los miocitos de la pared ventricular, observamos que están formados por unas células de forma alargada con núcleo grande, redondeado, con uno o dos nucléolos. En el citoplasma se encuentran gran cantidad de corpúsculos y de fibras, algunas de las cuales presentan una clara estriación transversal; estas miofibrillas pueden encontrarse en número de tres a cuatro en una misma célula, orientándose en este caso paralelamente al eje mayor celular. Estas miofibrillas son de longitud variable pudiendo llegar a varias decenas de sarcómeras, pareciendo en estos casos que son comunes a varias células vecinas. Se observa una figura de mitosis, en el seno de estos miocitos.

Al microscopio electrónico los miocitos poseen un núcleo grande, con una doble membrana nuclear en la que en ocasiones se descubren los poros nucleares. (Fig.18). En algunas células se observa un gran nucléolo, con sus porciones granular y fibrilar.

En el citoplasma se encuentran gran cantidad de miofibrillas con sus características bandas A e I,

de longitudes variables, alcanzando varias sarcómeras de longitud. En los casos en que estas miofibrillas se observan en un corte longitudinal a ellas, vemos como a pesar de ser generalmente paralelas al eje mayor celular, confluyen hacia las condensaciones de membrana, ya sean desmosomas o bien "fascias adherens", pareciendo como si se continuaran en la célula vecina, al mismo nivel. A este nivel estas especializaciones del plasmolema adoptan formas sinuosas, (Fig.16) más que en los estadios anteriores. En algunas células estas zonas están situadas en los dos polos celulares.

Aparte de estos filamentos agrupados en miofibrillas también es posible observar algunos filamentos gruesos agrupados en haces en número alrededor de la decena, y casi siempre en zonas subsarcolémicas, y en algún caso aparecen en relación de vecindad con la banda Z. (Fig.17) De forma difusa y distribuidos por todo el citoplasma también se encuentran gran cantidad de ribosomas, predominando en la vecindad de las miofibrillas, donde en ocasiones se encuentran formando polisomahelicoidales.

Entre las miofibrillas se encuentran gran cantidad de mitocondrias y en algún caso hemos observado un "multivesicular body". (Fig.16)

Esparcidos por todo el citoplasma hay gran cantidad de vasiculas de paredes lisas, predominando en zonas vecinas al sarcolema y a las bandas Z. En un caso hemos encontrado una estructura del tipo de los "annulate lamellae". (Fig.19) Algunas vesículas morfológicamente parecidas a éstas tienen en su interior un material granuloso y algo denso; estos "gránulos densos" se encuentran en poca cantidad en cada célula y están a veces alguno de ellos en la zona vecina al aparato de Golgi.

El Aparato de Golgi se encuentra en la zona perinuclear y está formado por gran cantidad de pequeñas vesículas.

En alguna célula se observa el centriolo.

En algunas zonas hay grandes acúmulos de glucógeno y muchas veces en relación con ellos depósitos de lípidos que parecen ser más abundantes que en los estadíos anteriores.

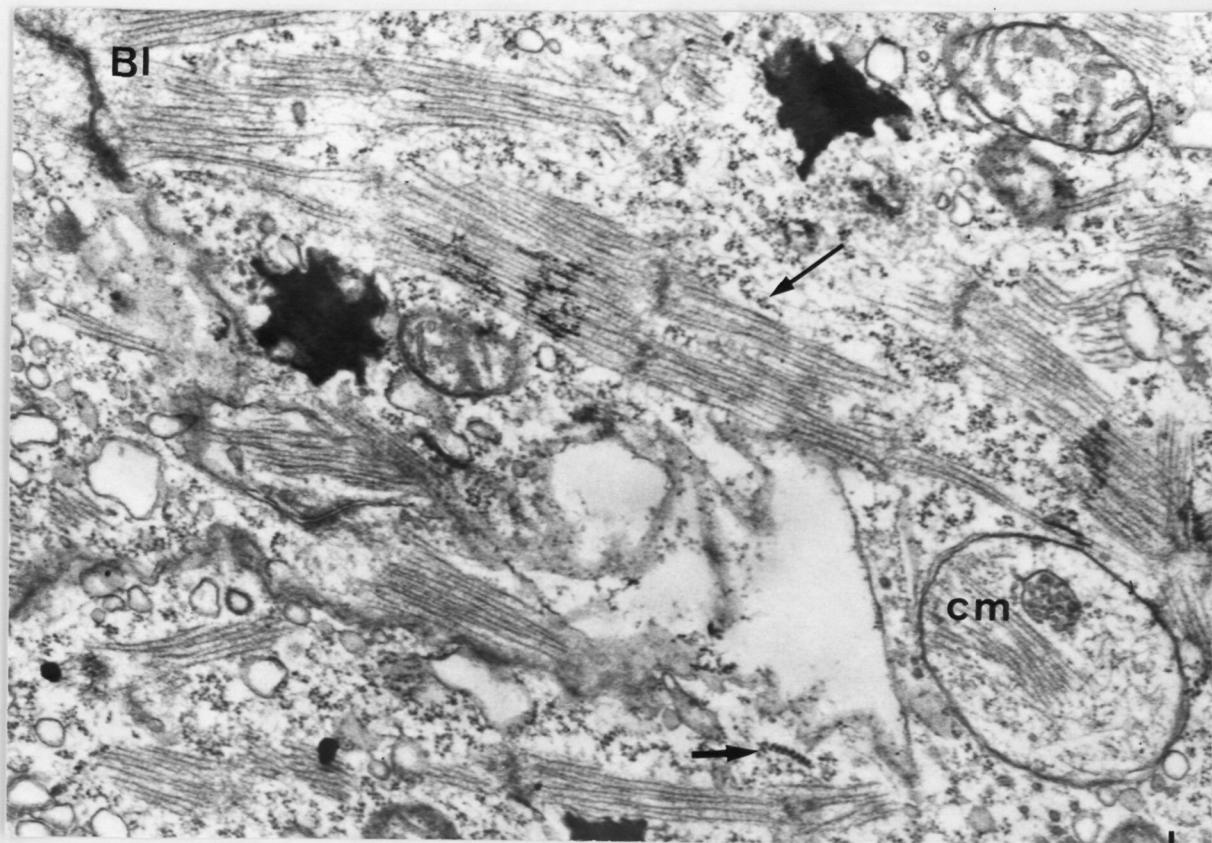


Fig. 16 : Embrión de 6 días. Se observan abundantes miofibrillas que convergen oblicuamente hacia una banda intercalar en formación (BI). En el sarcoplasma aparecen abundantes ribosomas, algunos en forma de polisomas helicoidales (flecha corta). Se distinguen también algunos filamentos Intermedios (flecha larga) y un cuerpo multivesicular (cm). 27.500 X.

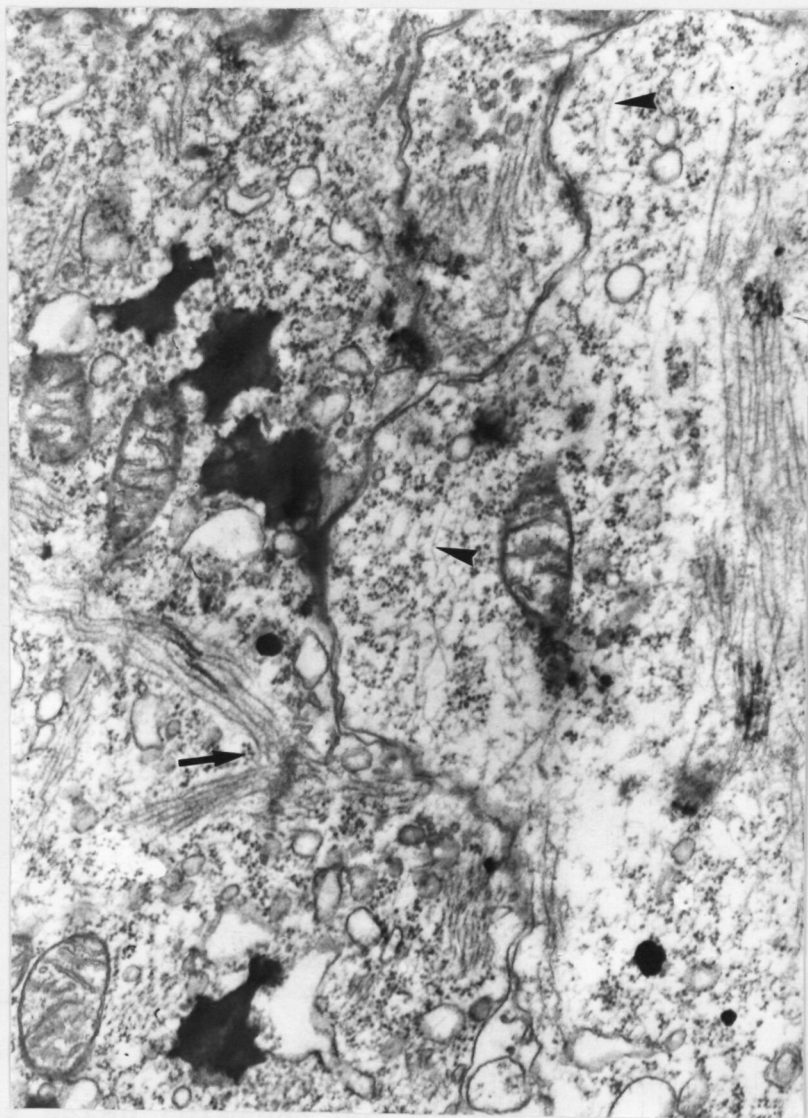


Fig. 17 : Embrión de 6 días. Miocitos con miofibrillas mal estructuradas, algunas de ellas ramificadas (flecha). Se observan abundantes filamentos Intermedios (puntas de flecha) y ribosomas. 27.500 X.

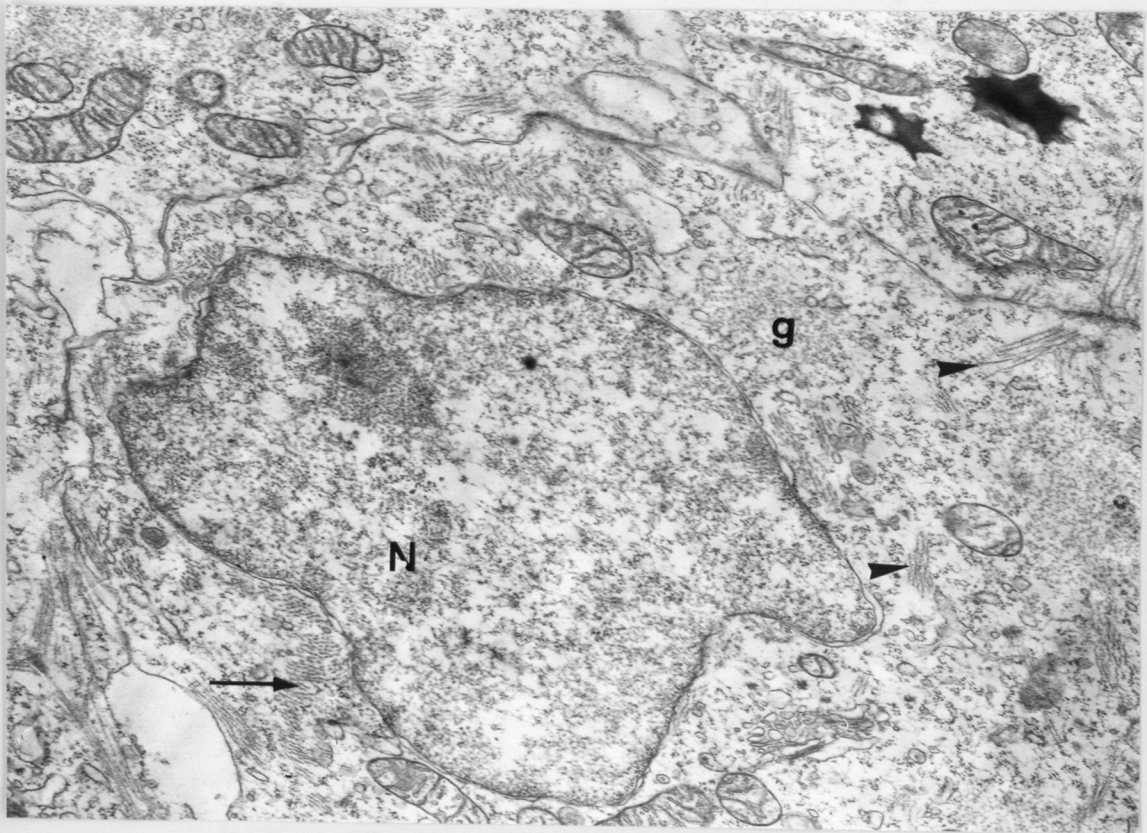


Fig. 18 : Embrión de 6 días. Miocito que muestra miofibrillas en distinto estadio de formación, ya que unas están formadas por muchos miofilamentos (flechas) y otros sólo por haces de escasos filamentos (puntas de flecha). N-núcleo ; g- glucógeno. 16.500 X.

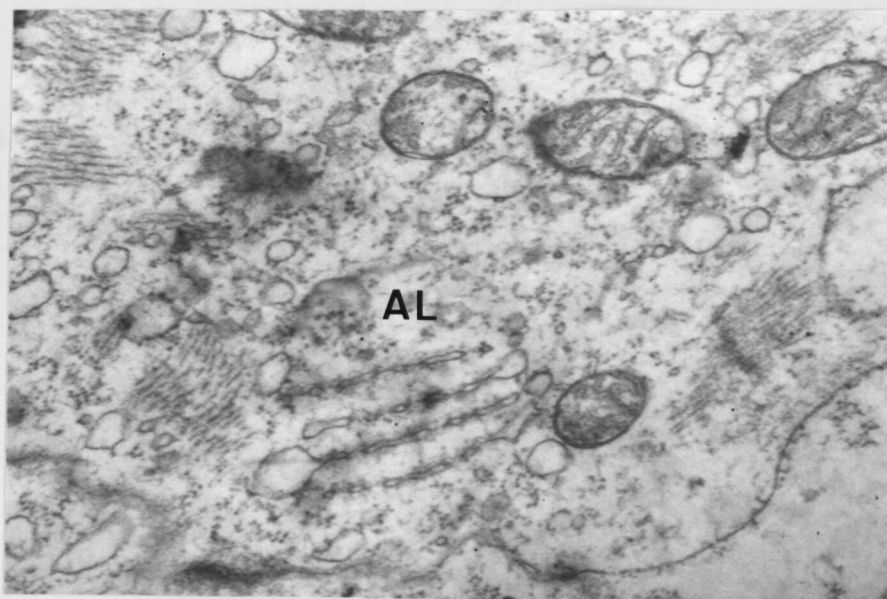


Fig. 19 : Embrión de 6 días. Miocito en cuyo sarco-
plasma se observa un " Annulate lamellae " tetralami-
nar (AL). 30.000 X.

EMBRION DE 7 DIAS

Los miocitos de este estadio estudiados al microscopio óptico casi no son diferenciables de los del estadio anterior de 6 días, pues tienen una morfología muy parecida si bien parece que haya mayor número de miofibrillas en el citoplasma.

Al microscopio electrónico se observan mayor número de miofibrillas que en el caso anterior, orientadas en su mayor parte paralelamente al eje mayor celular, aunque es posible observar algunas fibrillas en direcciones distintas así como haces de miofilamentos gruesos aislados. (Fig. 22, 23) También se observan difusamente distribuidos por el citoplasma en forma de retículo algunos filamentos delgados de diámetros variables.

Quizás por una casualidad del azar, se encuentran mayor número de centriolos en general, localizándose como siempre en el área perinuclear. (Fig. 20, 21)

Los "gránulos densos" también son más abundantes en este estadio que en el precedente.

Hay grandes acúmulos de glucógeno y de lípidos, guardando casi siempre relación de vecindad como en los otros estadios.

Hay abundantes ribosomas, (Fig.22, 23) quizás menos que en el embrión de 6 días, localizados preferentemente en la vecindad de los filamentos, sobre todo en los de los filamentos finos, donde en muchos casos forman polisomas de estructura helicoidal.

El Aparato de Golgi es extenso, formado por muchas pequeñas cisternas. (Fig. 21).

Distribuidas por todo el citoplasma se encuentran gran cantidad de vesículas pertenecientes al retículo sarcoplasmático.

Como en los casos anteriores la mayoría de las miofibrillas confluyen hacia la membrana en los desmosomas o bien en las "fascias adherens", pero en este estadio estas condensaciones del sarcolema son más largas y más sinuosas. (Fig.22).

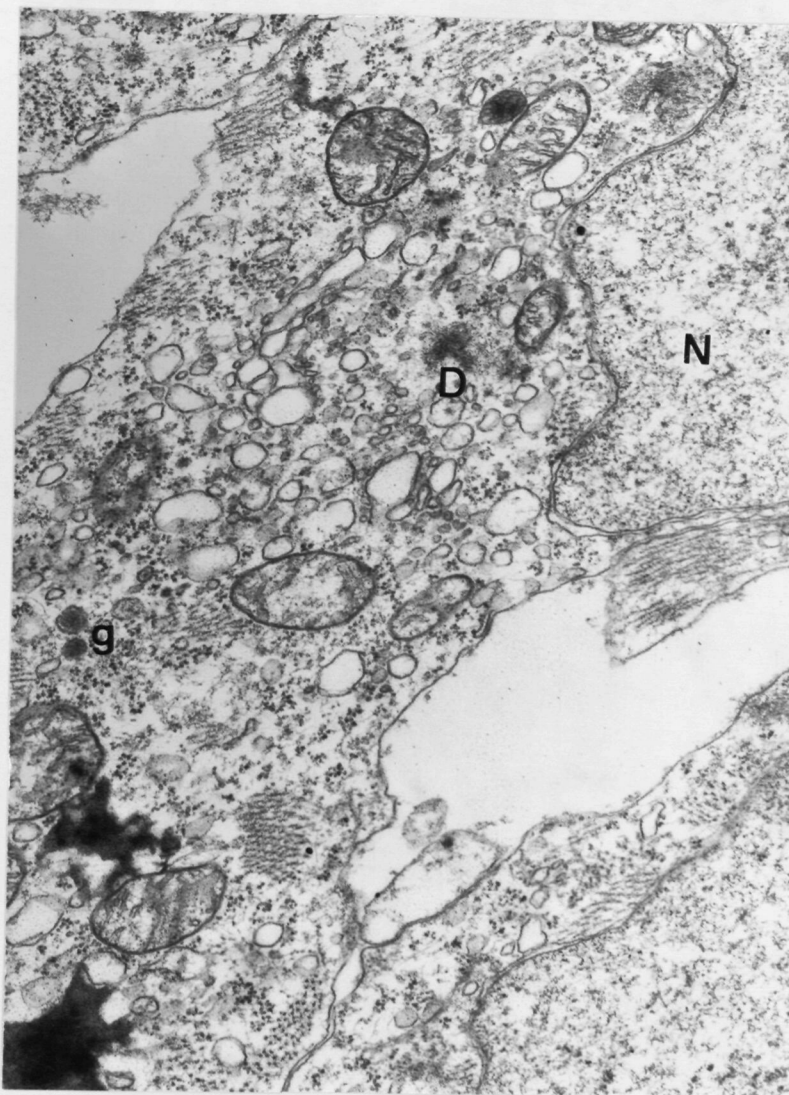


Fig. 20 : Embrión de 7 días. Miocito que muestra un diplosoma (D) en el área perinuclear. También se observan dos gránulos densos. N- núcleo. 27.500 X.



Fig. 21 : Embrión de 7 días. Miocito con un Aparato de Golgi muy desarrollado (Go), en la vecindad del núcleo y cerca de un diplosoma (D). Además hay abundantes mitocondrias alargadas (asteriscos), en ocasiones de formas irregulares. 27.500 X.

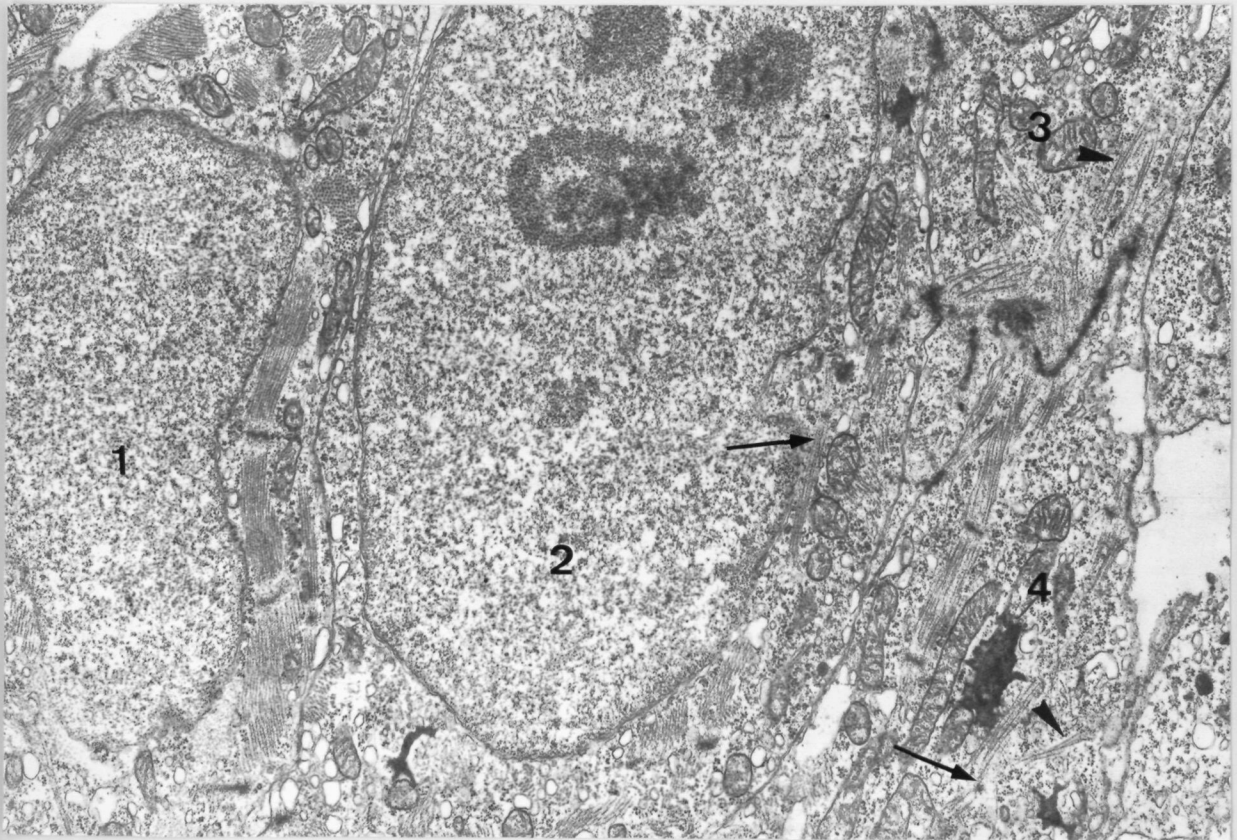


Fig. 22 : Embrión de 7 días. Fragmentos de cuatro miocitos (1, 2, 3, 4), que están en distinto estadio de diferenciación. El miocito 1 tiene gran cantidad de miofibrillas bien desarrolladas que ocupan casi todo el sarcoplasma. El miocito 2 tiene miofibrillas bien formadas, pero otras (flecha) de poco grosor. Los miocitos 3 y 4 presentan haces de filamentos gruesos (puntas de flecha) y alguna pequeña miofibrilla (flecha). Nótese en ellos la gran abundancia de ribosomas. 13.750 X.

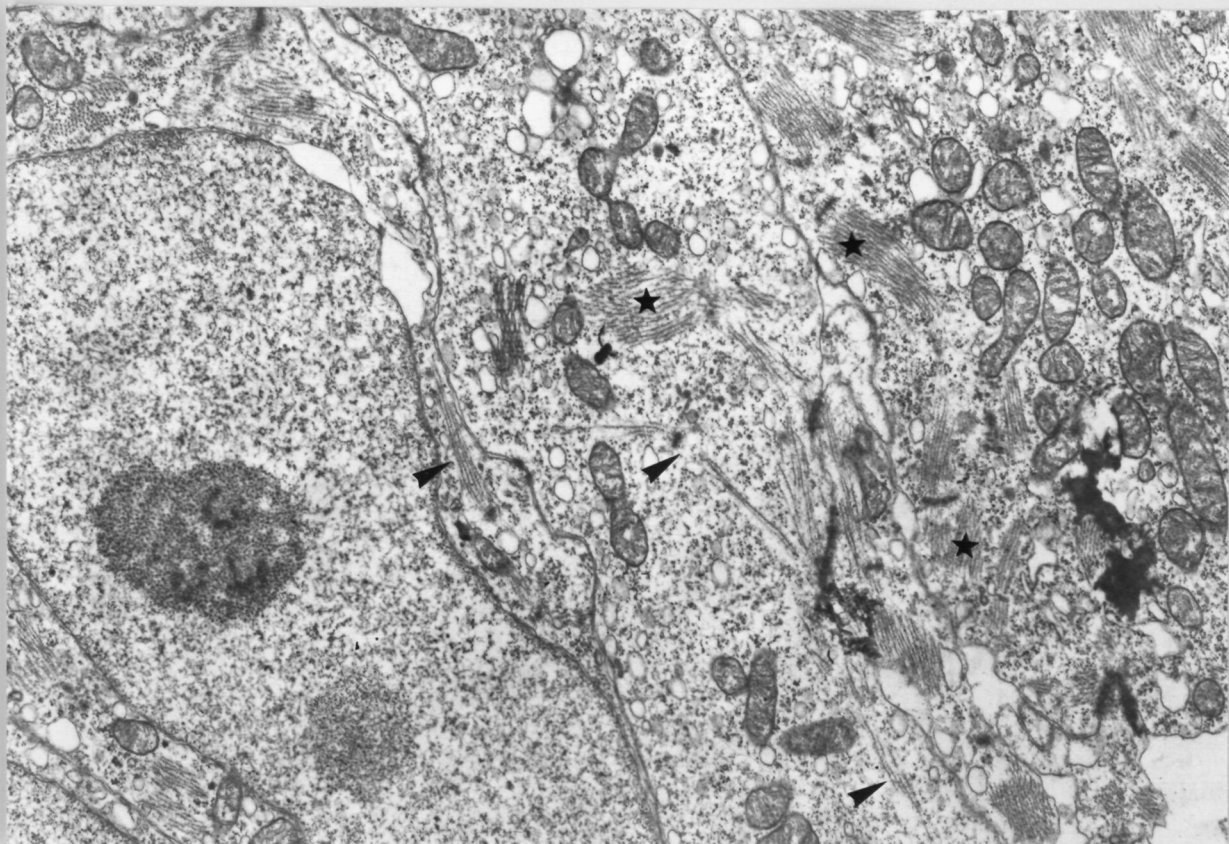


Fig. 23 : Embrión de 7 días. Miocitos que muestran miofibrillas bien desarrolladas (estrellas) contiguas a otras muy iniciales (puntas de flecha). Aparece un núcleo con dos nucléolos. 16.500 X.