

06.80.13

ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DEL OSTEOCLASTO DE LA ENFERMEDAD DE PAGET

FRYD. CZAJOWICZ¹, RÓMULO L. CABRINI², ISIDORO
BLUMENFELD³, ANGELA M. UBIOS⁴, EDUARDO
SANTINI ARAUJO⁵ y MARIO BERENSTEIN⁶

RESUMEN

Se estudiaron 16 casos de Osteitis Deformante o Enfermedad de Paget.

Se confirma la presencia de estructuras características en los núcleos de las células osteoclásticas de la Enfermedad. Se describen diferentes modelos de distribución de elementos filamentosos de aspecto paracristalino y de localización intranuclear.

Se discute el significado de estos hallazgos en su relación con la etiopatogenia de la enfermedad y las características ultraestructurales del proceso.

SUMMARY

This study comprises 16 cases of osteitis deformans or Paget's disease.

The presence is confirmed of characteristic structures in the nuclei of the osteoclastic cells which characterize the condition.

Different models are described of the distribution of filamentous elements of paracrystalline aspect and intranuclear localization.

The significance of these findings is commented upon in their relation with the etiopathogenesis of the disease and its ultrastructural characteristics.

¹ Registro Latinoamericano de Patología Ósea.

² Departamento de Radiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.

³ Servicio de Ortopedia y Traumatología, Hospital Israelita.

⁴ Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica.

⁵ Registro Latinoamericano de Patología Ósea.

⁶ Servicio de Ortopedia y Traumatología, Hospital Israelita.

RESUMME

On a étudié 16 cas d'Ostéite déformante ou Maladie de Paget.

On a pu confirmer la présence de structures caractéristiques dans les noyaux des cellules ostéoclastiques de la Maladie.

Il y a différents modèles de distribution des éléments filamenteux d'aspect paracrystallin et de localisation intra-nucléaire.

On discute le sens de ces decorrantes en relation avec l'óthiopathogénie de la Maladie et ses caractéristiques ultrastructurales.

A pesar de haber transcurrido más de cien años desde la primera descripción de la osteítis deformante por Sir James Paget, que la interpretó como un proceso inflamatorio crónico, no se ha aclarado aun la etiología de esta enfermedad; por el contrario su cuadro clínico y su histopatología son bien conocidas. La Enfermedad de Paget se caracteriza por un aumento inicial de la reabsorción ósea osteoclástica seguida por una intensa aposición ósea osteoblástica, aparentemente compensatoria, alternando ambos procesos en forma anárquica, lo que se manifiesta histológicamente por la estructura "en mosaico" de las trabéculas óseas, descritas por Schmorl.

Estudios ultraestructurales recientemente efectuados por tres grupos diferentes de investigadores, en Francia, Rebel y col. (^{1,2,3}), en Estados Unidos, Mills y Slinger (^{4,5}) y en Italia, Gherardi y col. (⁶), han demostrado la presencia de inclusiones nucleares que varían en tamaño y disposición. Dichas inclusiones estarían presentes en un gran porcentaje de los osteoclastos de la Enfermedad de Paget (20-24 %), pero estarían ausentes en los osteoclastos normales y de otras diferentes enfermedades óseas metabólicas, incluyendo el hiperparatiroidismo. Solamente se han encontrado inclusiones nucleares semejantes, en las células gigantes de dos casos de Tumor de Células Gigantes óseo (Osteoclastoma), comunicados por Welsh y Meyer (⁷) y en otro caso del mismo tumor comunicado por Le Charpentier (⁸).

El significado de estas inclusiones nucleares observadas en los osteoclastos de la Enfermedad de Paget, no está aún aclarado, pero las estructuras descritas se asemejan mucho a las halladas en células nerviosas de pacientes de panencefalitis esclerosante subagu-

da (⁶), actualmente aceptada como una infección viral lenta, causada por un paramixovirus semejante al del sarampión. Estos hallazgos ultraestructurales han inducido a la hipótesis que la Enfermedad de Paget constituye una infección a virus atemperados.

Con el objeto de comprobar estos hallazgos tan importantes y al mismo tiempo sorprendentes de tres laboratorios aparentemente independientes, hemos llevado a cabo el estudio de una serie de 16 pacientes con Enfermedad de Paget, todos ellos sin tratamiento previo.

Materiales y métodos:

Se tomaron muestras óseas de 16 pacientes afectados por Enfermedad de Paget, no tratados, utilizando la aguja de Jamsidi.

El material se separó para su estudio con microscopía óptica y microscopía electrónica. En el primer caso se fijó según técnica corriente para su inclusión en parafina, los cortes se colorearon con hematoxilina-eosina. Para su observación en el microscopio electrónico, las muestras fueron fijadas inmediatamente de extraídas en una solución de Karnowsky (¹⁰). Luego se descalcificaron en E.D.T.A. 10 % en buffer TRISO, 1M pH6, 95, lavadas en buffer fosfato y postfijadas en tetróxido de osmio 1 % en buffer fosfato 0,1M pH 7,2-7,4. Las muestras fueron procesadas para su inclusión en Epon 812. Se prepararon cortes finos de 3u de espesor que fueron coloreados con azul de toluidina alcalino, en los que se seleccionaron las zonas que presentaban osteoclastos. De los tacos seleccionados, se hicieron cortes ultrafinos, que fueron contrastados con citrato de plomo y acetato de uranilo y fueron observados en un microscopio electrónico Philips 300.

Resultados:

De los 16 casos estudiados, 6 debieron ser descartados por no haberse encontrado en los cortes finos ningún osteoclasto, en los 10 casos restantes se hallaron osteoclastos, por lo que fueron cortados para su observación al microscopio electrónico.

Los osteoclastos presentaban un número variable de núcleos en un rango entre 3 y 37, los que fueron barridos cuidadosamente. En total se estudiaron 124 núcleos, pertenecientes a 21 osteoclastos. En 16 núcleos correspondientes a 6 de los 10 casos estudiados se encontraron inclusiones en su interior.

Estas formaciones estaban constituidas por estructuras de tipo filamentoso agrupadas ordenadamente en haces, los que pudieron observarse cortados tanto en forma longitudinal como transversal, semejando estructuras cristalinas. Dichas estructuras ocupaban un sector variable del núcleo y lograban dimensiones también variables. (Fig. 1). El diámetro de las formaciones filamen-

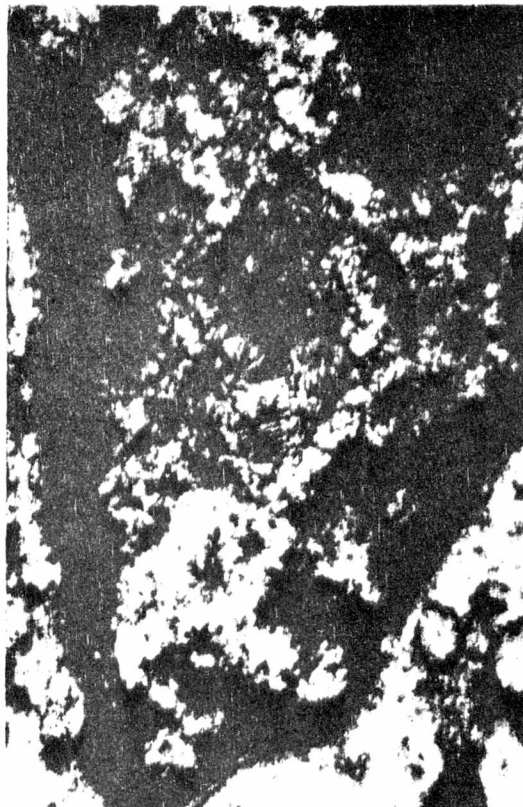


FIG. 1 — Parte del núcleo de un osteoclasto en donde se pueden apreciar inclusiones intranucleares de aspecto paracristalino. 4.000 X.

tosas, evidenció un tamaño constante en el orden de los 150 Å, separadas entre sí por espacios de aproximadamente 200 Å. Fig. 2).

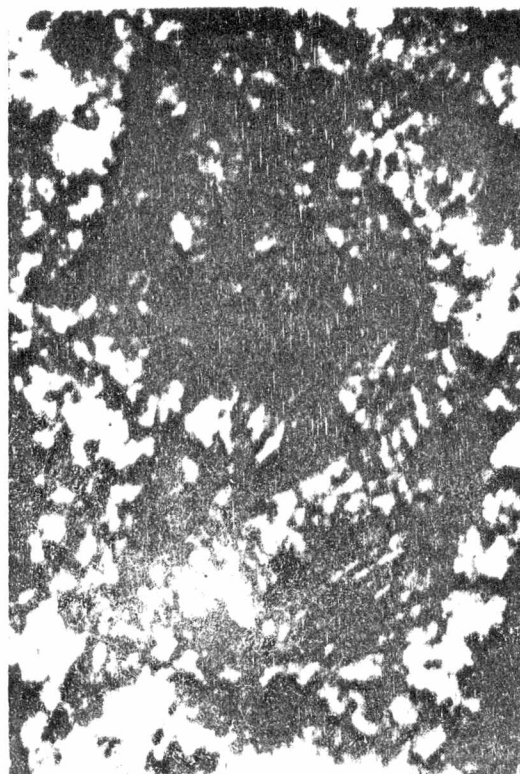


FIG. 2. — La misma inclusión vista con mayor magnificación, nótese la disposición de los filamentos en haces paralelos cortados transversal y longitudinalmente. 8.000 X.

Con las mayores magnificaciones pudo verse que las estructuras filamentosas cortadas transversalmente poseen una zona central clara.

La ubicación de las inclusiones dentro del núcleo fue indistinta, ya sea cerca del nucléolo o cerca de la membrana nuclear, pero nunca en contacto con dichas estructuras.

En aquellos casos en que estos haces se agrupaban compactamente y cortados transversalmente, fue posible distinguir una zona electrónicamente clara que las rodeaba. (Fig. 3).

En general la presencia de las inclusiones se evidencia con los menores aumentos como una zona electrónicamente menos densa que la cromatina.

En algunos casos se pudieron distinguir formas filamentosas sin constituir agrupaciones definidas, pero que conservan las ca-

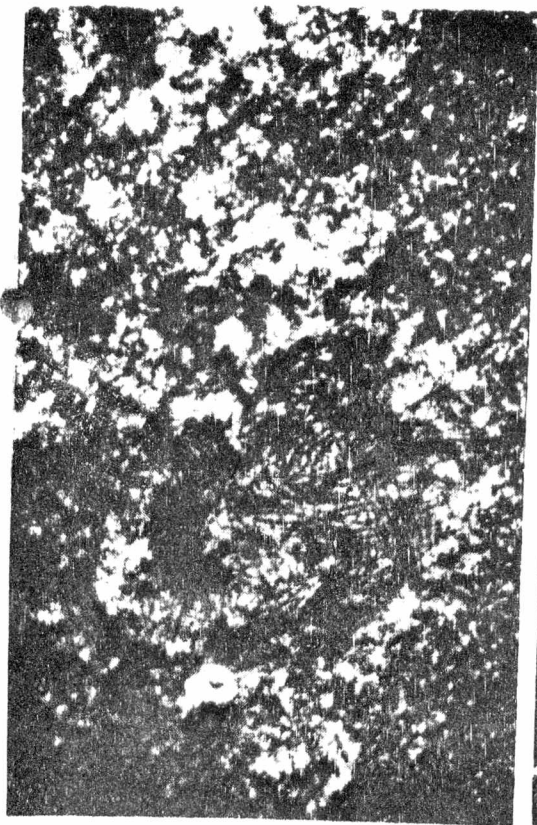


FIG. 3. — Inclusion intra nuclear con disposición paracristalina en otro caso de enfermedad de Paget 6.000 X.



FIG. 4. — Inclusiones intra nucleares compuestas por fibrillas dispuesta en forma laxa a lo largo del núcleo. 2.000 X.

racterísticas dimensionales de las descritas anteriormente. Su disposición, sin embargo es más anárquica y también se las puede ver cortadas según los diferentes ejes del espacio.

Otras veces las inclusiones se disponían en pequeños grupos alternando con acúmulos de cromatina.

También se han podido ver largas y delicadas formaciones fibrilares, laxamente dispuestas entre sí en forma paralela, aunque sin llegar a constituir verdaderos haces, y en otras oportunidades adoptando una disposición entrelazada. Podría tratarse de formas transicionales. (Fig. 4).

Hemos distinguido además otras formas de estructuras intranucleares que no han sido descritas hasta el presente en la enfermedad de Paget. Se trata de cuerpos electrónicamente densos rodeados por un halo claro que se ubicaron aparentemente dentro de los acúmulos de cromatina, cuyas dimensiones corresponden al doble de diámetro de las estructuras filamentosas.

Discusión:

La microscopía electrónica permite la observación estructural de las lesiones patológicas a un nivel de ampliación superior en dos o tres órdenes a la simple observación por microscopía óptica. Sin embargo en patología diagnóstica el estudio electronomicroscópico de la mayor parte de los procesos no ha tenido mayor utilidad práctica.

No obstante algunos estudios realizados en la Enfermedad de Paget, lesión ósea de tipo presumiblemente displásico, indicarían datos a nivel ultraestructural de interés por las implicaciones posibles dentro del marco etiopatogénico. En efecto, Rebel y col. (^{1, 2, 8}), Mills y Singer (^{4, 5}) y Gherardi y col. (⁶), han encontrado con regularidad notable la presencia de estructuras de aspecto viral en los núcleos de las células gigantes multinucleadas de tipo osteoclastico de dicha enfermedad.

El hallazgo de estructuras de tipo cristalino, que suelen caracterizar la presencia de virus en las células, suele ser un dato de interés para orientar futuros estudios en esta patología. En este caso en particular es evidente que el núcleo del osteoclasto de la

lesión pagética, presenta una estructura para-cristalina que es hasta cierto punto de vista característico. Desgraciadamente el estudio con microscopía electrónica de la Enfermedad de Paget es bastante dificultoso. En primer lugar porque es necesario obtener material con poco contenido en calcio, que sea factible de ser sometido a una descalcificación en un lapso de tiempo razonable. También se hace tediosa la búsqueda de las células osteoclasticas, a las que hay que localizarlas primeramente en los cortes finos obtenidos de los mismos bloques de los que después se hará la microscopía electrónica. Para ello hay una primera etapa en donde una vez localizada la célula multinuclear, vecina a la trabécula ósea se procede a recortar el taco y recién después de esta operación es posible obtener los cortes ultrafinos que serán observados en el microscopio electrónico. Con esta rutina la posibilidad de estudiar un número grande de células es muy limitada en particular si se trata de casos poco activos, con pocos osteoclastos, o también cuando hay gran riqueza de trabéculas óseas.

Por lo tanto los datos obtenidos por nosotros, son positivos en el sentido de haber comprobado la existencia en los núcleos de los osteoclastos de la Enfermedad de Paget, elementos paracrystalinos, pero es muy difícil definir la frecuencia con que estos elementos aparecen, tanto en el caso, como en la célula tomada como unidad. El estudio de este aspecto numérico requiere sin lugar a dudas un análisis estadístico del problema y posiblemente encarar con mayor cantidad de material este tipo de estudio.

Queda sin embargo claro, que la Enfermedad de Paget acusa la presencia de inclusiones de aspecto viral como característicos, aunque no se pueda por el momento determinar con alta precisión si su presencia se ciertamente una regla, ni tampoco si todos los osteoclastos del Paget poseen núcleos con estas características.

La presencia de elementos de este mismo tipo en tumores de células gigantes (^{7,8}) constituyen un caso aislado en la literatura, que requiere una cuidadosa revisión. No hay duda que aquellos dedicados a la microscopía electrónica del hueso tendrán que revisar con mucho cuidado la posibilidad de aparición de estos elementos en la vasta gama de lesiones óseas que ofrecen en su cuadro histopatológico células gigantes simples y/u osteoclastos.

El valor de estos hallazgos podría ser solamente descriptivo, o tal vez de alguna utilidad para el diagnóstico en microscopia electrónica; pero también abre una sugerencia de realizar investigaciones de mayor envergadura que permitan analizar la presencia de un factor verdaderamente viral en este proceso, cuya etiología es sin lugar a dudas poco clara hasta el presente.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Rebel, A.; Malkani, K. et Basle, M.*: Anomalies nucleaires des ostéoclastes de la maladie de Paget. *Nouvelle Presse Medicale*, 18: 1299-1301, 1975. — 2) *Rebel, A.; Bregeon, G.; Basle, M. et Malkani, K.*: Les inclusions des ostéoclastes dans la maladie osseuse de Paget. *Revue du Rhumatisme*, 42: 637-641, 1975. — 3) *Rebel, A., Malkani, K.; Basle, M. and Bregeon, G.*: Is Paget's disease a viral infection? *Calcif. Tissue Res.* 22 suppl.: 285-286, 1977. — 4) *Mills, B. and Singer, F. R.*: Nuclear inclusions in Paget's disease of bone. *Science*, 194: 201-202, 1976. — 5) *Singer, F. R. and Mills, B.*: The etiology of Paget's disease of bone. *Orthop. and Relat. Res.* 127: 37-42, 1977. — 6) *Gherardi, G.; Cio, V. and Bonucci, E.*: Fine structure of nuclei and cytoplasmic inclusions in Paget's disease of bone. *Histopathology*, 4: 63-70, 1977. — 7) *Welsb, R. A. and Meyer, A. T.*: Nuclear fragmentation associated fibrils in giant-cell tumor of bone. *Lab. Invest.* 22: 65-70, 1977. — 8) *Le Charpentier, Y.; Le Charpentier, M.; Forest, M.; Daudon, M.; Lavenue-Vacher, M.; Louvel, A.; Sedel, L. et Abelman, R.*: Les inclusions intranucléaires dans une tumeur osseuse à cellules géantes. *Nouvelle Presse Medicale*, 6: 259-262, 1977. — 9) *Oyamagi, S.; ter Muelen, V.; Katz, M. and Caprowski, H.*: Comparison of subacute sclerosing panencephalitis and measles virus: an electron microscope study. *J. Virol.* 7: 176, 1971. — 10) *Karnowsky, M. J.*: a formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 127: 137-138 A, 1965.