



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Estudio comparativo de la morfología ósea, en individuos prehispánicos sanos y con treponematosis, utilizando tecnología de punta

Zoila Emilia Castañeda Murcia

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Departamento de Morfología
Bogotá, Colombia
2011

Estudio comparativo de la morfología ósea, en individuos prehispánicos sanos y con treponematosis, utilizando tecnología de punta

Zoila Emilia Castañeda Murcia
Código: 598917

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de:
Maestría en Morfología Humana

Directora
Doctora MARIA CLEMENCIA VARGAS V.
Ph.D. Antropología Biológica

Codirector
Doctor
DIMAS DENNIS CONTRERAS VILLA
MD. PATOLOGO

Asesor
Doctor
CARLOS ARTURO FLORIDO
MD. M.Ed. M.A.

Línea de Investigación:
PALEOHISTOLOGIA

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Departamento de Morfología
Bogotá, Colombia
2011

(Daniel Sebastián eres la razón de ser de este trabajo. Que el esfuerzo y la dedicación con que asumí este reto, te sirva de ejemplo para comprometerte y salir adelante en tu proyecto de vida.

A mis hermanas, hermanos y a José Orlando por su apoyo incondicional

*A la memoria de una mujer incomparable, justa, inteligente, sensible y amorosa.....
Mi madre.*

Agradecimientos

Considero que los logros alcanzados en esta investigación se deben a personas e instancias y laboratorios que me abrieron las puertas para poder argumentar desde las técnicas de MEB y MCLB, una nueva perspectiva al análisis paleohistopatológico.

El **Dr. JOSÉ VICENTE RODRÍGUEZ**, Director del laboratorio de Antropología Humana, quien con sus profundos conocimientos permitió mi crecimiento académico y me dio las herramientas necesarias para incursionar en un nuevo camino de aprendizaje multidisciplinar.

La **Dra. MARIA CLEMENCIA VARGAS V.** con su entusiasmo y conocimiento en antropología dental me permitió soñar con unir mi quehacer docente a una nueva dimensión del diagnóstico microscópico.

El **Dr. Dimas Denis Contreras**, quien en su condición de codirector y amigo siempre apoyo, revisó y participó en forma activa en esta investigación.

El **Dr. Carlos Florido**, que con su fluidez, paciencia y calidad humana me permitió ampliar los límites del conocimiento adquirido.

La **Dra. Magda Castañeda** quien ha sido mi guía permanente, con su rigor científico y amplio conocimiento en microscopia electrónica corroboró el diagnóstico ultraestructural.

El **Dr. Luis Enrique Caro** por todos los conocimientos que me brindó a lo largo de este tiempo

El **Dr. EDGAR DANILO OSUNA.**, de quien hay mucho que aprender.

El **Dr. ANDRES JAGUA**, con su permanente sonrisa y conocimiento me permitió consolidar este proyecto de investigación.

El **Dr. Jorge Eduardo Caminos** quien como investigador y persona, ha sido en modelo a seguir.

El médico neurobiólogo **Dr. Luis Carlos Morales** me enseñó el nuevo mundo de la Microscopia Confocal.

La Ingeniera **Adriana Antolinez** con ella compartí muchísimas horas de trabajo en el centro de Microscopia Electrónica de la Universidad.

La **Sra. Liliam de la Villa** su afecto y solidaridad me ayudaron a terminar esta etapa.

La **Sra. PAOLA OVIEDO**. Nuestra histotecnóloga quien siempre estuvo pendiente de las muestras y desarrollo una técnica impecable.

El **Sr. OTONIEL VARGAS**, fue mi acompañante en la adquisición del material y facilitó todos los procesos.

La **UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**, institución gestora de mi formación académica en pre y posgrado.

La **FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL.**, con su apoyo logré culminar una etapa más.

El **DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA**, el más enriquecedor ámbito laboral y de aprendizaje.

La **MAESTRIA EN MORFOLOGIA HUMANA**, artífice de este proceso

El **LABORATORIO DE ANTROPOLOGIA FORENSE**, que me abrió sus puertas para consolidar un nuevo paradigma.

El **LABORATORIO DE MICROSCOPIA ELECTRONICA**, donde he pasado mucho tiempo en los últimos años.

El **LABORATORIO DE MICROSCOPIA CONFOCAL**, me abrió las puertas para aprender.

El **LABORATORIO DE HISTOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA**, sitio donde se han cristalizado varias ideas de investigación

Especialmente a mi hijo **DANIEL SEBASTIAN AVENDAÑO C.** quien con su ingenio me corrigió y propuso nuevas alternativas.

Resumen

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MORFOLOGIA OSEA, EN INDIVIDUOS PREHISPANICOS SANOS Y CON TREPONEMATOSIS, UTILIZANDO TECNOLOGIA DE PUNTA

COMPARATIVE STUDY OF BONE MORPHOLOGY IN PREHISPANIC HEALTHY INDIVIDUALS AND THOSE WITH TREPONEMATOSES USING THE LATEST TECNOLOGY

Resumen

Este trabajo de investigación plantea la posibilidad de utilizar tecnología de punta en el diagnóstico paleopatológico como una herramienta de alta complejidad y mayor discriminación, en el diagnóstico de la microestructura de los huesos con periostitis, frente a un control normal. Se utilizaron secciones pequeñas de tibias y fémur de individuos prehispánicos normales y con periostitis, frente a muestras de individuos contemporáneos. Se realizó un análisis morfológico macroscópico, radiográfico, histológico convencional por técnica de desgaste, microscopia Confocal laser (MCLB) y microscopio electrónico de barrido (MEB). Los resultados obtenidos muestran la respuesta tanto perióstica como endostica del hueso afectado y la presencia de células momificadas, la preservación del colágeno así como la identificación y análisis iónico de elementos biogénicos, demostrando el beneficio de las técnicas de MEB y MCLB como herramienta de identificación en restos humanos de individuos prehispánicos.

Palabras claves: Hueso, Paleopatología, Diagénesis, Microscopía Electrónica, Microscopía Laser Confocal

Abstract

This research raises the possibility of using technology in the diagnosis paleopathological as a tool of high complexity and greater discrimination in the diagnosis of bone microstructure with periostitis, compared with normal control. We used small sections of tibia and femur of normal and pre-Hispanic individuals periostitis, compared to samples of contemporary individuals. Morphological analysis was performed macroscopic, radiographic, histological wear conventional technique, confocal laser microscopy (MCLB) and scanning electron microscope (SEM). The results obtained show the periosteal and endosteal response to both the affected bone and mummified cells are present, the preservation of collagen and ion identification and analysis of biogenic elements, demonstrating the benefit of SEM techniques and MCLB as an identification tool in human remains of prehispanic individuals.

Keywords: Microscopy, Electron; Microscopy, Confocal; Paleopathology; Bone

Contenido

Resumen.	Pág. .IX
Lista de Imágenes.	XIV
Lista de gráficas.XVI
Lista de tablas.	XVII
Siglas.	XVIII
Introducción.	1
1. Capítulo 1.	3
1.1 Justificación.	3
1.2 Antecedentes y Planteamiento del Problema	4
1.3 Objetivos	7
1.3.1 Objetivo General.	7
1.3.2 Objetivos Específicos.	7
2. Capítulo 2.	9
2.1 Marco teórico.	9
2.1.1 Evidencia Tisular Paleo biológica.	9
2.1.2 Estudio de Muestras Momificadas.	10
2.1.3 Paleopatología.	11
2.1.4 Paleo-Histología.	13
2.1.5 Treponematosi.	14
2.2 Descripción Morfológica de la Tibia.	17
2.2.1 Desarrollo Embrionario de la Tibia.	17
2.2.2 Morfología Tibial.	22
2.3 Tejido Óseo.	26
2.3.1 Modelo Biológico del Hueso.	27
2.3.2 Tipos de Hueso.	27
2.3.3 Células.	29

2.3.3.1 Pre-Osteoblasto.	29
2.3.3.2 Osteoblasto.	29
2.3.3.3 Osteocito.	30
2.3.3.4 Osteoclasto.	31
2.3.4 Matriz Orgánica.	34
2.3.4.1 Componente Inorgánico.	36
2.3.5 Mecanismos de Calcificación.	36
2.3.6 Características Estructurales del Hueso.	37
2.4 Técnicas de Laboratorio para el Estudio de Muestras Óseas.	38
2.4.1 Imagenología.	38
2.4.2 Microscopía de Luz.	439
2.4.3 Microscopía Confocal.	40
2.4.4 Microscopía Electrónica de Barrido.	41
3. Capítulo 3 Materiales y Métodos.	43
3.1 Tipo de investigación.	43
3.2 Población y Muestra.	43
3.2.1 Universo.	43
3.2.2 Población.	43
3.2.3 Muestra.	43
3.3 Criterios para la Selección de la Muestra.	45
3.3.1 De Inclusión.	45
3.3.2 Criterios de Exclusión.	45
3.4 Variables.	46
3.5 Manejo de las Muestras.	47
3.5.1 Obtención de la Muestra.	47
3.5.2 Inspección Ocular y Análisis Fotográfico.	47
3.5.3 Análisis de Imágenes Mediante Radiografía.	47
3.5.4 Análisis Mediante Microscopio Estereoscópico.	48
3.5.5 Técnica de Desgaste.	49
3.5.6 Técnica de Decalcificación.	49
3.5.7 Microscopía de Luz.	50
3.5.8 Técnica de Microscopía Confocal.	50
3.5.9 Técnica de MEB.	51
3.6 Consideraciones Éticas.	52

4. Capítulo 4.	54
4.1 Resultados.	54
4.1.1 Descripción de las Muestras.	54
4.2 Descripción PaleoHistopatología de las Muestras.	68
5. Capítulo 5.	104
5.1 Análisis de Resultados y Discusión.	104
6. Capítulo 6.	111
Conclusiones.	111
Limitaciones del Trabajo.	113
Prospectiva.	113
A. Anexo A.	115
B. Anexo B.	116
C. Anexo C.	117
Bibliografía.	119

Lista de Imágenes

No		Pag.
1	Hibridación In Situ	18
2	Modelo de Desarrollo Prenatal	19
3	Modelo Cartilaginoso	20
4	Centro Secundario de Osificación. H.E 10X	21
5	Centro Secundario de Osificación. H.E. 25X	21
6	Morfología Tibial	23
7	Hueso Compacto y Esponjoso	28
8	Hueso Esponjoso Preparación por Descalcificación	31
9	Hueso Esponjoso Preparación por Descalcificación	33
10	Radiografo Convencional Equipo panorámico	48
11	Microscopio Estereoscópico	49
12	Microscopio de Luz	50
13	Microscopio Confocal	51
14	Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)	52
15	Muestra 1 Esquema de Posición	68
16	Muestra 1 Características Morfológicas	69
17	Muestra 1 Características Radiográficas	70
18	Muestra 1 Características Estereoscópicas	71
19	Muestra 1 Características Histológicas	72
20	Muestra 1 Características Ultraestructurales	73
21	Muestra 1 Tipos Celulares	74
22	Muestra 1 Tejidos Asociados	75
23	Muestra 1 Elementos Biogénicos	76
24	Muestra 2 Características Morfológicas	77
25	Muestra 2 Características Radiográficas	78
26	Muestra 2 Características Estereoscópicas	79
27	Muestra 2 Características Histológicas	80
28	Muestra 2 Características Ultraestructurales	81
29	Muestra 2 Características Ultraestructurales	82
30	Muestra 2 Células y Características de la Matriz	83
31	Muestra 3 Características Morfológicas	84
32	Muestra 3 Características Ultraestructurales	85
33	Muestra 3 Características Ultraestructurales	86
34	Muestra 3 Características Ultraestructurales	87
35	Muestra 3 Características Ultraestructurales	88

36	Muestra 4 Características Morfológicas	89
37	Muestra 4 Radiografía Convencional	90
38	Muestra 4 Características Estereoscópicas	91
39	Muestra 4 Características Histológicas	92
40	Muestra 4 Características Ultraestructurales	93
41	Muestra 5 Características Morfológicas	94
42	Muestra 5 Características Radiográficas	95
43	Muestra 5 Características Estereoscópicas	96
44	Muestra 5 Características Histológicas	97
45	Muestra 5 Características Ultraestructurales	98
46	Muestra 6 Características Morfológicas	99
47	Muestra 6 Características Radiográficas	100
48	Muestra 6 Características Estereoscópicas	101
49	Muestra 6 Características Histológicas	102
50	Muestra 6 Características Ultraestructurales	103

Lista de gráficas

	Pág.
1 Desmineralización	57
2 Biogeno 1	64
3 Biogeno 2	65
4 Control	67

Lista de tablas

		pag
1	Hallazgos estructurales del hueso en las muestras incluidas	54
2	Identificación de osteones en las muestras	55
3	Aposición en las muestras	56
4	Hallazgos en la desmineralización de las muestras	57
5	Células óseas identificadas en las muestras	58
6	Tejido mieloide en las muestras analizadas	59
7	Relación de presencia de células de la sangre en las muestras.	60
8	Evidencia de contaminación de las muestras	61
9	Artificios de las muestras.	62
10	Elementos biogénicos elemento 1	63
11	Elemento biogénico 2	64
12	Anova de 2 vías, elementos biogénicos	65
13	Comparación de los elementos biogénicos con el control	66
14	Relación de la procedencia con otras variables de estudio	67

Lista de Símbolos y abreviaturas

BSP	Sialoproteína ósea
BGP-GLA	Osteocálcina
CRT	Tubo de rayos catódicos
MEB	Microscopia electrónica de barrido
MCLB	Microscopio confocal laser barrido
RANK	Receptor de activación kappa beta
RANK – L	Ligando del receptor

Introducción

Los estudios paleo-patológicos han sido una herramienta bastante útil para los antropólogos quienes a través de la evidencia ósea, la organización de los cuerpos, el ajuar de los enterramientos, las condiciones del terreno y las características de la cosmovisión prehispánica han logrado consolidar un importante referente histórico y evolutivo de nuestra realidad biológica, social cultural y de gran impacto frente a la inter-relación medio-ambiental y demográfica de los primeros pobladores cazadores o recolectores con sus sitios de asentamiento; así han construido un saber médico que sustenta la historia natural de las principales enfermedades que han aquejado a la humanidad desde épocas inmemorables.

La utilización del microscopio como criterio de diagnóstico de las principales patologías se inicia en 1910 con Ruffer ⁽¹⁾ y la propuesta de desarrollar una técnica de rehidratación de tejidos momificados. En Colombia el extenso trabajo de J. V. Rodríguez,⁽²⁾ Silva,⁽³⁾ Correal,⁽⁴⁾ Polanco⁽⁵⁾ y Vargas⁽⁶⁾ entre otros, han permitido conocer el impacto de las enfermedades y la forma sistemática de guardar los registros arqueológicos que hacen evidente a la enfermedad como un hecho de alto impacto en nuestro país.

La tecnología de punta se hace relevante en el presente siglo y puede llegar a discriminar los factores de riesgo, alteraciones estructurales, funcionales, tisulares y orgánicas; es por esto que el trabajo **“Estudio comparativo de la morfología ósea, en individuos prehispánicos sanos y con treponematosis, utilizando**

tecnología de punta” permite manejar diferentes técnicas de imágenes, ampliando el horizonte macroscópico, para llegar a entender una realidad concreta como los cambios biogénicos propuestos por Pate⁽⁷⁾ y colaboradores en la década del 80, los cuales han sido difíciles de concebir ya que se requiere llegar a discernir la organización molecular para entender la composición y descomposición orgánica y bioquímica de nuestro cuerpo.

1. Capítulo 1

1.1 Justificación

El estudio comparativo de la morfología ósea tibial y de fémur en individuos prehispanicos que hacían parte de un grupo poblacional determinado en Colombia, es un proyecto que permite identificar las características ultra estructurales del hueso humano, preservado a lo largo de grandes periodos del tiempo. Los resultados obtenidos podrán contribuir en un corto plazo a que los grupos de investigación de antropología biológica de la Universidad Nacional de Colombia, utilicen tecnología de punta, que permita identificar las características histológicas y ultramicroscópicas de la matriz calcificada normal, versus los cambios observables en enfermedades prehispanicas como la periostitis por treponematosis, consolidando los criterios de diagnóstico sobre patrones de desmineralización, como también, la identificación de células momificadas; además de lograr determinar los niveles reales de calcio y otros iones presentes en el tejido y de esta forma, establecer posibles cambios biogénicos producto del enterramiento y las diferencias con respecto a la contaminación tisular. De esta forma, los resultados presentados coadyuvan a las investigaciones sobre palio-dieta, estados nutricionales y enfermedades óseas de tipo metabólico y stress, que aquejaron a estos pobladores en diferentes espacios y periodos de tiempo.

El desarrollo de este estudio permitió establecer estándares de calidad óptimos en la manipulación de muestras de restos óseos que posteriormente fueron evaluados mediante la técnica de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) y la Microscopia Confocal Laser (MCLB). El uso de tecnología de punta de alta precisión es un método novedoso y de máxima sensibilidad, mediante el cual se reconocen estructuras y células no visibles durante el examen morfológico convencional, el cual ha sido poco explorado por los paleo-patólogos. La

identificación de los constituyentes orgánicos representados por una variada gama de células momificadas, la presencia de fibras y la identificación del componente molecular iónico y elementos traza, propios de la matriz calcificada. Abre una nueva posibilidad de diagnóstico muy útil para el antropólogo que le va a permitir conocer aun más la historia natural de la enfermedad en el contexto prehistórico.

Todo el material fotográfico y de placa obtenido durante la investigación, es original y ha sido elaborado al interior de la Universidad Nacional de Colombia siendo útil tanto para el Departamento de Antropología de la facultad de Ciencias Humanas, el laboratorio de Antropología Física y la unidad de Histología del Departamento de Morfología, beneficiando a los estudiantes de pre y posgrado de las dos facultades.

Además, se puede crear una línea de investigación ínter-facultades de histopaleopatología, apoyando las investigaciones que conciernen a las condiciones de salud y a la relación con las características socio-culturales de las poblaciones prehispánicas involucradas en diferentes estudios.

1.2 Antecedentes y planteamiento del problema

Una de las principales fuentes de información y diagnóstico histopaleopatológico en individuos prehispánicos, corresponde a los tejidos calcificados del diente los cuales son únicos e irrepetibles, ⁽⁸⁾ ya que ellos presentan una morfología característica, determinada por la expresión génica diferencial. En segundo lugar se encuentran los restos óseos los cuales guardan una importante información histórica sobre el estado de salud-enfermedad, las condiciones medioambientales, sociales, la dieta, así como el impacto de las enfermedades que aquejaron a los diferentes grupos poblacionales prehistóricos.

El diagnóstico de la estructura tridimensional de la matriz ósea y de las modificaciones que presenta; lleva a un investigador de antropología biológica a desarrollar una descripción morfológica de los posibles cambios estructurales que presente el hueso, es en este momento, en que el observador se enfrenta ante el dilema de ¿si las variaciones observadas corresponden realmente a cambios paleo-patológicos o ellos son producto de procesos tafonómicos? Para ello con la utilización y aplicación de tecnologías de punta en diagnóstico morfológico, se hace necesario realizar una minuciosa evaluación macroscópica, iconológica, micro y ultramicroscópica del hueso, para determinar la cantidad, calidad y porcentaje de las variaciones encontradas en este tipo tejidos.

El Doctor José Vicente Rodríguez C, PhD en Antropología física y profesor de la Universidad Nacional, lidera varios grupos de investigación en antropología Biológica, Física, Forense y Dental, fortaleciendo así los análisis en el área de la paleo-patología; utiliza en sus trabajos de investigación, técnicas de histopaleopatología dental y ósea, dirigidas al análisis diferencial por sexo y edad, en huesos los fósiles teniendo en cuenta la estructura, tamaño y número de osteones, por medio de preparaciones por desgaste, las cuales son observadas al microscopio estereoscópico y convencional de luz, con menor aumento (10X).

La técnica de microscopia de barrido (MEB) ha sido utilizada por el grupo de investigación de antropología forense de la Universidad de Barcelona, para determinar las características de lesiones por trauma, arma blanca o arma de fuego, como una herramienta más de la escena del crimen.⁽⁹⁾

Los investigadores mexicanos han utilizado la microscopia electrónica de barrido para establecer el origen de obras de arte prehispánicas.⁽¹⁰⁾ El Doctor Peter Lewin y colaboradores utilizaron microscopia electrónica de transmisión, para identificar tejidos momificados.⁽¹¹⁾ El profesor Haruko, en la década del 80, realizó

un estudio de la epidermis y el pelo de una momia egipcia, utilizando microscopia electrónica de transmisión y barrido.⁽¹²⁾

Aun no se han encontrado reportes de la utilización del microscopio confocal laser de barrido (MCLB). De acuerdo a los diferentes estudios, los métodos histológicos permiten establecer criterios más claros en el diagnóstico del estado de salud-enfermedad, siendo necesario estandarizar los procedimientos relacionados con las técnicas pertinentes para analizar restos óseos.

El auge y fortalecimiento de la biotecnología hace indispensable el desarrollo de estrategias de laboratorio, de alta calidad, pertinentes y actualizadas que permitan un abordaje multidisciplinario tanto del antropólogo físico, forense y dental, así como del biólogo o de cualquier investigador del área de la salud, contribuyendo en la adquisición, consolidación y diseño de propuestas encaminadas a emitir un saber construido en torno a la identificación de los biómodelos histopaleopatológicos, mediante la MEB - MCLB, ampliando los conocimientos histológicos que aun hoy, no son tan claros en el campo de la antropología biológica, además de lograr establecer una línea de investigación que ayude a desentrañar y resolver interrogantes que surgen en una disciplina poco conocida como es la paleo-histología.

¿Es posible establecer criterios de diagnóstico ultraestructural diferencial del tejido óseo de individuos prehispanicos sanos y con periostitis por treponematosi s, utilizando las técnicas de MEB y MCLB?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Aplicar la tecnología de punta de alta calidad para comparar la ultraestructura del hueso normal versus las características de la cortical ósea con periostitis por treponematosi, de individuos prehispánicos utilizando MEB y MCLB, creando un modelo de estudio y diagnóstico que permita inferir las particularidades histológicas y niveles de Calcio almacenado en la matriz osificada, como indicadores de problemas paleo-patológicos sucedidos en la historia.

1.3.2 Objetivos específicos

- Obtener las muestras de fémur, tibias sanas y en sable previamente identificadas, tipificadas y codificadas, correspondiente a individuos prehispánicos cuyos enterramientos se encontraron en el altiplano cundí-boyacense y en la región costera del país, así como las tibias de individuos contemporáneos.
- Describir las características morfológicas de las muestras, mediante visión directa, radiografía convencional y estéreomicroscopio.
- Obtener muestras de fémur, como modelo preliminar.
- Definir protocolos de manipulación de la muestra.
- Analizar las muestras en condiciones de bajo vacío en el centro de microscopia electrónica del laboratorio ínter-facultades de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
- Capturar y tipificar el contenido iónico por medio de imágenes topográficas y de contraste químico, utilizando sondas generadas por electrones difundidos
- Evaluar histológica química y ultra-estructuralmente el material obtenido.
- Comparar las variaciones morfológicas de la cortical y osteones de huesos sanos Vs afectados por treponematosi.
- Reconocer linajes celulares momificados.

2. Capítulo 2

2.1 Marco teórico

2.1.1 Evidencia tisular paleobiológica

La evidencia evolutiva de las especies y en especial del hombre, está representada por el descubrimiento de tejidos y estructuras fosilizadas, entre las que se encuentran restos óseos, dientes, restos de faneras, alimentos de la paleo dieta y elementos de la cotidianidad cultural o social de los asentamientos. El profesor Luis Enrique Caro, en su libro la Continuidad de la vida, propone:

”Cuando los fósiles fueron considerados como un problema que valía la pena investigar, se pudo comprobar que eran huellas del pasado, que integrados al estudio de los estratos geológicos, permitían establecer una cronología de la evolución del mundo y de la vida. El advenimiento de la geología y la paleontología como ciencias modernas, colocó en el centro del debate científico el dar una interpretación válida a las transformaciones que habían sucedido. Al mismo tiempo la anatomía y la embriología comenzaban a establecer similitudes y diferencias de las estructuras entre los organismos vivos y extintos, y con ello trataban de identificar relaciones filogenéticas entre ellos”.⁽¹³⁾

El hallazgo de restos fósiles humanos requiere de una identificación previa y la correspondiente datación para determinar la edad, sexo, tiempo y espacio. Las técnicas utilizadas son:

- La estratigrafía.⁽¹⁴⁾

- Datación radiométrica, “Entre los elementos que han sido más utilizados están el Carbono 14 (14C), Potasio 40 (40K), Iodo 129, Uranio 238 y el Uranio 235. El 14C se encuentra en la atmósfera y es incorporado a las plantas cuando éstas absorben CO₂. Cuando la planta muere el 14C comienza su desintegración para dar origen a nitrógeno 14”.⁽¹³⁾
- La geoquímica
- La tectónica
- Análisis de tradiciones cerámicas.
- Análisis del ajuar funerario.

Una vez se ha establecido la identidad de la muestra y su contexto, se realizan las técnicas de identificación que nos acercan a un pasado no conocido plenamente. El antropólogo Alfred Russel plantea que *“la evolución es la historia de los vertebrados, para aprehender de esa inmensidad temporal de conocimientos se recurre a la paleontología que es la disciplina dedicada al estudio de los sucesos del pasado remoto”*⁽¹⁴⁾.

2 1.2 Estudio de muestras momificadas y fosilizadas

La paleo-antropología biológica es una disciplina científica, que permite determinar la identidad de individuos prehispánicos, haciendo un diagnóstico de tejidos momificados y restos óseos preservados. Es a partir de este material orgánico que el antropólogo físico puede establecer los criterios de identificación específicos, tales como: edad, sexo, grupo étnico al que pertenecen los restos, características paleo-geográficas de la población y condiciones del asentamiento⁽¹⁵⁾. Cuezva y colaboradores, (2000), hacen una aproximación de los rasgos estructurales e histológicos de restos óseos fósiles de mamíferos en el yacimiento de Somosaguas⁽¹⁶⁾. Las variables que tiene en cuenta para el análisis óseo, en su estudio, corresponden a:

- El desarrollo ontológico de los huesos largos.
- La descripción de la diáfisis.

- Determinación de la edad y definición de un modelo del crecimiento mandibular, teniendo en cuenta las posibles alteraciones tafonómicas que pueden alterar la estructura ósea calcificada.

La palabra Tafonomía del griego **taphos**, enterramiento, y «νόμος» *nomos*, ley; es la parte de la paleontología que estudia los procesos de fosilización. Aguirre sostiene que el término fue propuesto por el paleontólogo ruso IVAN EFREMOV en la década de los 40,

“Es la rama de la paleontología que permite evaluar la evidencia física fósil, para determinar las causas e intervalo de la muerte, la fosilización y las características del medio que permitieron mantener esta evidencia, es vital evaluar la eco-morfología para reconocer el impacto del medio ambiente y los cambios adaptativos”.⁽¹⁷⁾

2.1.3 Paleopatología

El término paleo-patología deriva de las raíces griegas **παλαιό** (viejo) y **πάθος** (sufrimiento). Según Campillo la definición propuesta por R. V. Schultze, en 1882 *“Es La ciencia de las condiciones patológicas presentes en animales extintos o petrificados”*⁽¹⁸⁾. Posteriormente, el médico-bacteriólogo francés Sir Marc Arman Ruffer ⁽¹⁹⁾ a finales del siglo XIX, fue considerado el pionero de esta nueva disciplina la cual evalúa el impacto de las afecciones sistémicas sobre los restos esqueléticos óseos, permitiendo establecer que la enfermedad ha sido una dolencia que ha afectado al ser humano desde su aparición en la escala evolutiva.

Según Campillo y colaboradores, las lesiones y enfermedades tanto localizadas como sistémicas, muestran perfiles evidentes y evaluables mediante el estudio en los restos óseos:

“Es el caso del Pithecanthropus muestra una gran exostosis en uno de los fémures, en el Homo Neanderthalis se han descubierto signos de artritis y trauma. En el hombre del

paleolítico se han encontrado lesiones de artritis, tumores, traumas, y malformaciones, entre éstas, espina bífida y luxación congénita de la cadera. La paleo patología ha demostrado la presencia de sífilis, tuberculosis ósea, mastoiditis, la enfermedad de Paget; En los tejidos blandos y vísceras se han podido identificar arterioesclerosis, neumonía, pleuritis, cálculos renales y biliares y apendicitis, lesiones cutáneas similares a las de la viruela”.⁽¹⁸⁾

De acuerdo a lo planteado por el profesor J. V. Rodríguez en el 2006, el conocimiento histórico del padecimiento del individuo prehispánico, se hace relevante en la medida que contribuya a conocer la historia natural de la enfermedad y de esta forma, permite evaluar el impacto de la misma en la modernidad:

”La ocupación del territorio americano durante quizás 20 mil años antes de la llegada de los europeos, dio origen a un conjunto de sociedades indígenas, que conocieron y modificaron su entorno, adaptándolo, según sus características, necesidades y nivel tecnológico alcanzado....

Dentro de la cosmovisión indígena, la energía es una, restringida, se encuentra en equilibrio y fluye permanentemente por el agua de los ríos. Cuando deja de fluir, se producen los desequilibrios, y, por consiguiente, se destapan las enfermedades que son productos del desajuste. La caza, la pesca y la recolección en exceso, además de las conductas individuales y colectivas disociadoras -como los amoríos inoportunos - y el desmesurado crecimiento de la población, es decir el exceso de consumo, pueden producir desarreglos ecológicos, y, por ende, la enfermedad.

Hoy en día, se sabe que en el nuevo mundo existían la tuberculosis, treponematosi (sífilis, pinta), hepatitis, tripanosomiasis, leishmaniasis (uta), infecciones por estafilococos y estreptococos, gastroenteritis, infecciones por hongos, enfermedades gastrointestinales, infecciones respiratorias y posiblemente artritis reumatoidea adulta.

“El estudio de las enfermedades que padecieron los antiguos habitantes de Colombia.... tienen una gran utilidad no solamente por las perspectivas históricas.... También desde el punto de vista antropológico, pues la recuperación de esta memoria sirve para contribuir a la solución de problemas contemporáneos.”⁽²⁰⁾

Rodríguez (2006), establece los criterios básicos de estudio de la paleo-patología teniendo como evidencia, los restos óseos humanos, producto de los enterramientos:

“El tejido óseo es un remante orgánico muy importante tanto para el contexto de la antropología física, como del capítulo de la paleo-patología, ya que en él se evidencian alteraciones tanto sistémicas (endógenas) como externas (exógenas), por lo tanto el análisis histopatológico permite establecer parte del patrón biográfico del individuo y establecer el nivel de salud enfermedad que soportaba”.⁽²⁰⁾

Un rasgo interesante, reportado por varios autores: Hudson en 1965⁽²¹⁾, López en el 85⁽²²⁾, Rodríguez, Rodríguez y Bernal en el 98,⁽²³⁾ es la evidencia paleopatológica de la sífilis en los pobladores prehispánicos, con la presencia de tibia en sable, deformación que se presenta como consecuencia de la inflamación permanente del periostio óseo. *“Enfermedad que llegó de Europa portada por marinos que acompañaron a Cristóbal Colon durante la conquista de América”.*⁽²⁴⁾

2.1.4 Paleo-histología

La histopaleopatología es una nueva rama de la antropología física y junto con la paleo-medicina, interpreta e identifica estructuras tisulares fósiles en dientes, huesos y tejidos momificados, además de remanentes de la paleo-dieta, ayudando de esta forma a definir las características socioculturales, medioambientales y nutricionales de comunidades antiquísimas. Permite además demostrar las huellas de los procedimientos médicos aun tangibles en momias y fósiles encontrados en diferentes asientos de comunidades prehispánicas, de acuerdo a los estudios realizados por Cisneros y colaboradores.⁽²⁵⁾

Los estudios histopaleopatológicos establecen la relación entre la normalidad y las variaciones tisulares propias de los tejidos expuestos a factores de riesgo, que preservan marcas óseas identificables,⁽²⁶⁾ para luego hacer un diagnóstico retrospectivo y de esta forma, asumir las enfermedades que pudieron aquejar a estos individuos, en las diferentes comunidades y regiones de nuestro país. Los

criterios que se deben tener en cuenta para la manipulación del material fósil óseo son:

- Procedencia del material.
- El estado de conservación.
- Identificación y tipificación del material.
- Descripción de las alteraciones macroscópicas.
- Obtención y conservación de la muestra.
- Aplicación de la técnica histológica y en este caso de MEB.
- Interpretación de los resultados.
- Reconstrucción del contexto global del asentamiento para determinar las características de los pobladores.

2.1.5 Treponematosi

La treponematosi es una infección bacteriana causada por la espiroqueta del genero *Treponema pallidum*, causante de la sífilis.

Hudson (1.965), sustenta el origen en África ecuatorial, durante el paleolítico, estableciendo que “la pinta, el yaws, la sífilis endémica y la sífilis venérea, corresponden a cuatro entidades patológicas causada por el *Treponema Pallidum*.⁽²¹⁾

Rothschild (1995), establece que el Yaws Americano mutó hace más o menos 1.600 años, mientras que la sífilis endémica no se presentó en el nuevo continente. Establece además, que las cuatro enfermedades propuestas por Hudson, son dolencias diferentes que presentan daño óseo con patrones claramente identificables.⁽²⁷⁾

Las primeras referencias de treponematosi, las describe Standen,⁽²⁸⁾ en restos humanos de la cultura Nazca (1.929), cuyo diagnóstico corresponde a CARIE SICCA en cráneo, periostitis de huesos largos y alteraciones palatinas. Guerra⁽²⁹⁾ en el 90, reporta la misma alteración en el Perú; Burgos y Correal⁽³⁰⁾ en el 94,

identifica trepanomatosis en Aguazuque (Colombia), Rothschild⁽²⁷⁾ demuestra la presencia de sífilis en san Lorenzo (Ecuador). El reporte de Allison⁽³¹⁾ confirma la presencia de sífilis durante la colonia. La acción terapéutica estaba encaminada a bloquear el agente mediante el uso de altas temperaturas, por lo cual enterraban al paciente en arena caliente ⁽²⁷⁾.

La información paleo-patológica estudiada por Maseman⁽³²⁾ antes del descubrimiento de América, hacen referencia a la sífilis como enfermedad reportada en Islas Canarias, por el antropólogo francés René Vernau. El científico describe la periostitis tibial como una enfermedad osteolítica, esclerosante con presencia de secuestros óseos únicos o múltiples. La destrucción de la corteza externa es mayor que en la zona interna. En la tibia se presenta aposición sub-perióstica en el borde anterior y establece una curvatura anterior muy evidente, constituyendo la tibia en sable. ⁽³³⁾

Los estudios de paleo-patología, plantean que la aparición de la enfermedad, se generó en África Septentrional durante el paleolítico, y que fueron los recolectores-cazadores quienes la expandieron a lo largo de sus travesías de esta forma fue traída a América por la migraciones asiáticas. ⁽³⁴⁾

Kolman y colaboradores⁽³⁵⁾ en la década del 90, reportan la identificación del *Treponema Pallidum* subespecie *Pallidum*, agente causal de la sífilis venérea, en una muestra del esqueleto de 200 años de edad de Isla de Pascua. El diagnóstico paleo-patológico de la morfología ósea, muestra una marcada curvatura anterior subperióstica de la tibia. Se obtiene la muestra de DNA y mediante la técnica de ELISA-PCR, se comprueba que corresponde al *treponema*. ⁽³⁶⁾

Los tipos de lesiones óseas ⁽³⁶⁾encontradas en la tibia, son:

- Periostitis laminar. Estriaciones finas, paralelas al eje diafisario.
- Engrosamiento de la cortical y obstrucción parcial o total del canal medular.

- Tibia en sable.

El nombre de sífilis fue adaptado definitivamente en el siglo XIX proveniente de las raíces griegas **χοιρίvό** = cerdo y **Philus** = amor. Es una enfermedad infecciosa crónica generalizada, de transmisión sexual, de rápida propagación y sus efectos fueron devastadores tanto en la América prehispánica, como en la Europa medieval. Esta patología tiene orígenes remotos y aun se considera de alto impacto para la humanidad. Existe una significativa controversia histórica en cuanto a su origen. Hackett⁽³⁷⁾ en el 76, Salas en el 82⁽³⁸⁾, Baker⁽³⁹⁾ y colaboradores en la década del 80, exponen las diferentes teorías sobre la aparición de esta enfermedad endémica a saber:

- La sífilis fue llevada a Europa proveniente de América, a través de los conquistadores españoles en el siglo XV; la enfermedad se difundió rápidamente entre los soldados franceses y se denominó el morbo gallico, expandiéndose en el siglo XVI generando una mortalidad del 15% entre la población europea.
- La sífilis no proviene de América hay investigadores que sostienen que la enfermedad ya estaba presente en nuestro continente desde antes del descubrimiento. De acuerdo a los estudios de los antropólogos de la Universidad de Bradford en el poblado de Hull, norte Inglaterra, donde se hicieron excavaciones en un convento allí encontraron restos fechados entre 1.300 y 1.450 con presencia clara de sífilis.
- Otros investigadores como Mancilla y Pijoan⁽⁴⁰⁾ plantean la posibilidad que varias poblaciones hayan padecido esta enfermedad desde una antigüedad remota.

Según la investigación de Turnes⁽⁴¹⁾ fueron el bacteriólogo y protozoo-morfólogo ruso Fritz Richard Schaudinn, junto con el médico dermatólogo Paul Erich Hoffman en 1905, quienes descubren en el exudado de una pápula vulvar de sífilis secundaria, el agente causal: una espiroqueta denominada "TREPONEMA

PALLIDUM". En su texto de 100 años de la sífilis, nuevamente Turnes ⁽⁴¹⁾ plantea que en 1911 el médico bacteriólogo Japonés Hideyo Noguchi, cultivó por primera vez el trepanema⁽⁴¹⁾ y luego en la década del 40, se utilizó el primer tratamiento con penicilina en el "Estudio Tuskegee sobre sífilis"⁽⁴²⁾

Durante la evolución de la enfermedad presenta un periodo de incubación que oscila entre 2 y 6 semanas y luego aparecen las lesiones primarias tipo chancro en el sitio de la inoculación, presentando linfadenitis. Durante la segunda fase entre 6 y 10 semanas después hay compromiso de mucosas y piel, cefalea, periostitis y artritis. La fase subclínica puede durar años. ⁽⁴³⁾

Según Zimmermann ⁽⁴⁴⁾ La descripción inicial de la enfermedad la hace el historiador valenciano Gaspar de Torella en 1.427. Girolamo Fracostaro en 1.530, escribió un poema "Syphilis sive morbos gallicus" en honor a un pastor llamado Syphilo, quien fue castigado con la enfermedad por el Dios Apolo, como lo reporta Lansing en su revisión sobre la sífilis ⁽⁴⁵⁾ De acuerdo a Hermann ⁽³⁶⁾ el primer reporte de sífilis fue dado por el profesor escocés de anatomía, John Hunter en 1769, en la publicación: "Syphilis and gonorrhoea are one disease" y aparece referenciado en la dermatología de 1870, como "Patterns of occurrence of cutaneous disease" ⁽³³⁾ ⁽⁴⁶⁾

2.2 Descripción morfológica de la tibia

2.2.1 Desarrollo embrionario de la tibia

Una vez de ha llevado a cabo el encorvamiento embrionario durante la cuarta semana de desarrollo, se generan interacciones celulares a lo largo del eje antero posterior del embrión, relacionadas con el posicionamiento y la formación de los miembros; estas acciones están reguladas por los genes Hox.⁽⁴⁷⁾ Hacia el día 30 se desarrollan las yemas que van a dar origen a los miembros inferiores. Este blastema está constituido por dos regiones claves en la formación, crecimiento y expresión de diferenciación del miembro inferior:

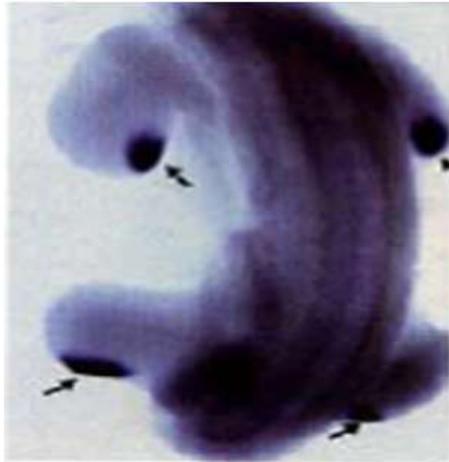


Fig. 1. Identificación, mediante la técnica de Hibridación In Situ de la proteína Shh en la región ZAP.

Foto tomada del libro de Biología del desarrollo de Gilbert, cortesía de R.D. Riddle. Pág. 572

- La cresta ectodérmica apical (CEA) da información a la masa de células mesoblásticas, provenientes de la hoja parietal de la placa lateral, y cuya finalidad es dar identidad celular y posicional.
- Está regulada por inductores como BMP, permitiendo la evaginación del blastema. ⁽⁴⁸⁾
- La Fig. 1 muestra la zona de actividad polarizante (ZAP) del flanco posterior del miembro en desarrollo; a medida que la extremidad crece, la ZAP se aleja de CEA y se expresa la proteína Shh, permitiendo diferenciar el modelo preliminar de la zona proximal (Estilopodo. Fémur.) y luego el de la zona media-distal (Zeugopodo. Pierna) ⁽⁴⁷⁾, esta última corresponde al sitio donde se expresa el tejido cartilaginoso hialino que va a formar los modelos de la tibia y peroné ⁽⁴⁸⁾.
- El ectodermo guía la expresión del eje dorso-ventral.

Durante la séptima semana, las extremidades inferiores, se posicionan mediante un giro de 90 grados en dirección medial, regulada por los genes Hox; en la duodécima semana aparecen los centros de osificación primarios. Las señales de estimulación para el crecimiento son reguladas por el gen TBX4 mediante el estímulo del factor activador FGF10 quien interactúa con Shh y el ácido retinoico.⁽⁴⁸⁾ Ver Fig. 2

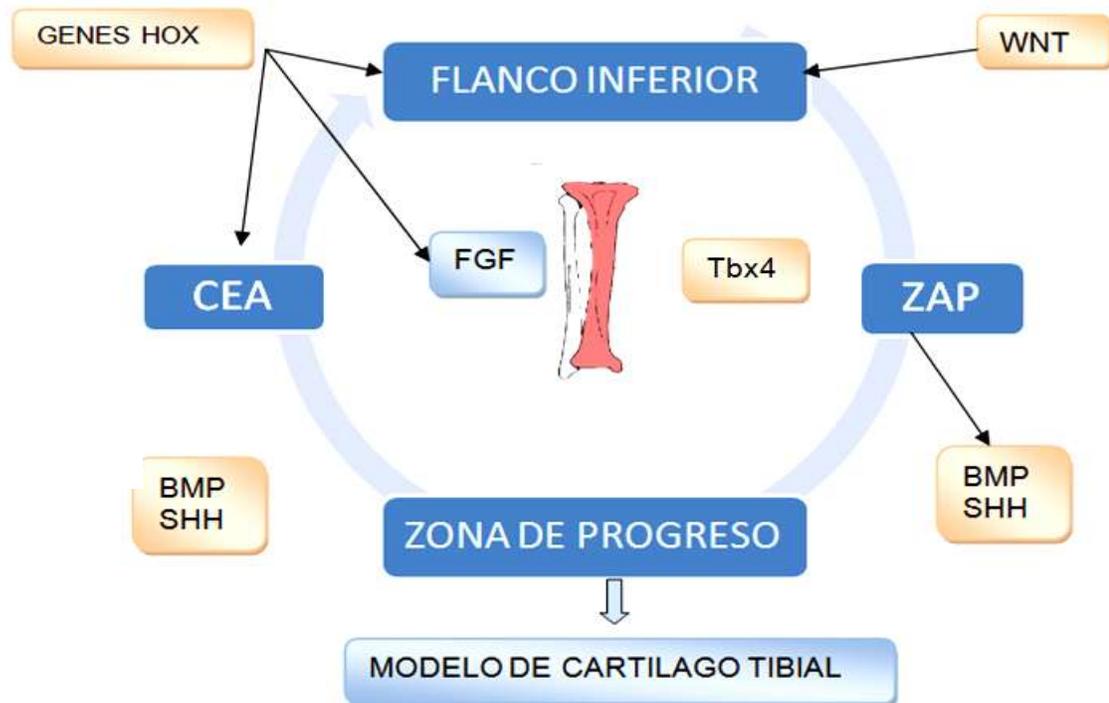


Fig. 2 El modelo de desarrollo prenatal de la tibia, Los genes Hox, participan en el posicionamiento a nivel del flanco inferior, el cual da origen al blastema del miembro inferior. En la zona proximal se ubica la cresta apical ectodérmica CAE, en el extremo distal, se localiza la zona de actividad polarizante ZAE, que determina el eje antero posterior. La interacción de CEA y ZAP, junto con la expresión diferencial del gen Tbx4, determinan la zona de progreso y crecimiento del Zeugopodo, con la participación de BMP y SHH. Esquema de Castañeda Z.

La tibia sufre un proceso de osificación endocondral, que le permite un crecimiento longitudinal. El centro primario de osificación aparece entre la séptima y octava semana de desarrollo intrauterino en la mitad del modelo. Se caracteriza por una hipertrofia inicial de los condrocitos, los cuales almacenan

gran cantidad de glucógeno e inician sus procesos apoptóticos; hacia la periferia, la capa celular de la envoltura se torna osteogénica e inicia la secreción de matriz calcificada, constituyendo un collar óseo periférico que avanza hacia al centro del modelo y luego hacia los extremos, calcificando completamente la diáfisis.⁽⁴⁹⁾ Ver fotografía de osificación del miembro inferior humano, Fig.3



Fig. 3. Modelo cartilaginoso de tibia de un feto humano de 26 semanas DIU., donde se puede identificar en el cuadro superior, la articulación de la rodilla. En el cuadro inferior, la articulación del tobillo en el extremo distal. Es evidente la osificación de las diáfisis del Fémur, tibia y fíbula

Fotografía tomada Castañeda Z.

Los centros de osificación secundarios que se localizan en la unión epífisis-diáfisis, tienen como finalidad, proporcionar el crecimiento longitudinal de la tibia mediante un mecanismo de aposición intersticial de matriz. ^(Fig. 4 y 5) Se fusionan alrededor de los 14 años en las niñas y 16 a 17 años en los niños y su unión completa con la definición anatómica de la metafisis, ocurre alrededor de los 20 años.⁽⁵⁰⁾ Estos cartílagos de crecimiento se caracterizan por una perfecta organización condroblástica, a tal punto que se evidencian histológicamente, cuatro zonas de las cinco específicas:

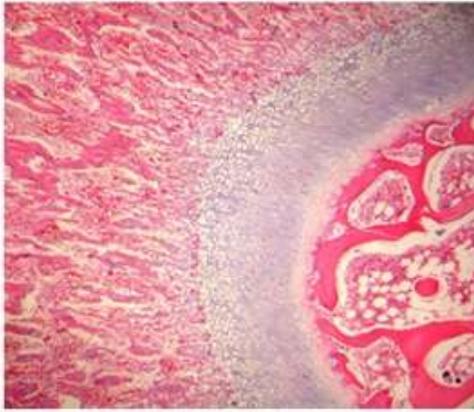


Fig. 4 Centro secundario de osificación. Coloración H.E. 10X. Preparación por decalcificación. La interfase basofila corresponde al disco epifisiario



Fig. 5 Centro secundario de osificación. Coloración H.E. 25X. La imagen muestra la organización de condrocitos en columnas

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

- Zona de reposo. Constituida por cartílago hialino típico, los condrocitos están alojados en las lagunas, rodeados de matriz territorial.
- Zona de hiperplasia o proliferación. Los grupos isógenos de condrocitos aplanados, se organizan en columnas longitudinales definidas y presentan una alta rata de mitosis.
- Zona de maduración. No es evidenciable histológicamente; se caracteriza por una fuerte actividad metabólica.
- Zona de hipertrofia. Los condrocitos aumentan considerablemente su tamaño, almacenan glucógeno y entran en la fase de activación de las caspasas, generando apoptosis. ⁽⁵¹⁾
- Zona de recambio. Corresponde a un mecanismo de sustitución celular: los condrocitos mueren y son reemplazados por células osteoprogenitoras, las cuales se diferencian rápidamente en osteoblastos.
- Zona de osificación. El osteoide se calcifica. Es común encontrar trabéculas mixtas u osteocartilaginosas.

Según Lacroix ⁽⁵²⁾ el crecimiento en grosor de la tibia se da a partir de un proceso de osificación intramembranosa o aposicional a expensas de la zona interna celular osteogénica del periostio. Las células osteoprogenitoras se diferencian en osteoblastos que inician el proceso de secreción de matriz osteoide.

2.2.2 Morfología tibial

La tibia es el segundo hueso más largo, después del fémur y es par; situado en la parte anterior e interna de la pierna, se localiza al lado del peroné o fíbula y está encargado de soportar el peso del cuerpo. Se articula en la porción superior con el fémur y la rotula, lateralmente con el peroné y en la porción inferior con el tobillo.

Presenta dos curvaturas de sentido contrario: una superior, cóncava hacia fuera y otra inferior, cóncava hacia dentro en forma de S itálica. Presenta una extremidad superior, un cuerpo, y extremidad inferior. ⁽⁵³⁾ Ver Fig. 6 A y B

La epífisis superior es voluminosa, cuadrangular y prolongada en sentido transversa; l presenta una adecuada superficie para soportar el peso del cuerpo, transmitido por el fémur. ⁽⁵⁴⁾ Su cara superior, destinada a articularse con los cóndilos femorales, presenta dos cavidades glenoideas ligeramente excavadas en su centro, siendo la interna más larga y con forma de C y más excavada que la externa en cambio la externa, es más ancha, forma de O.

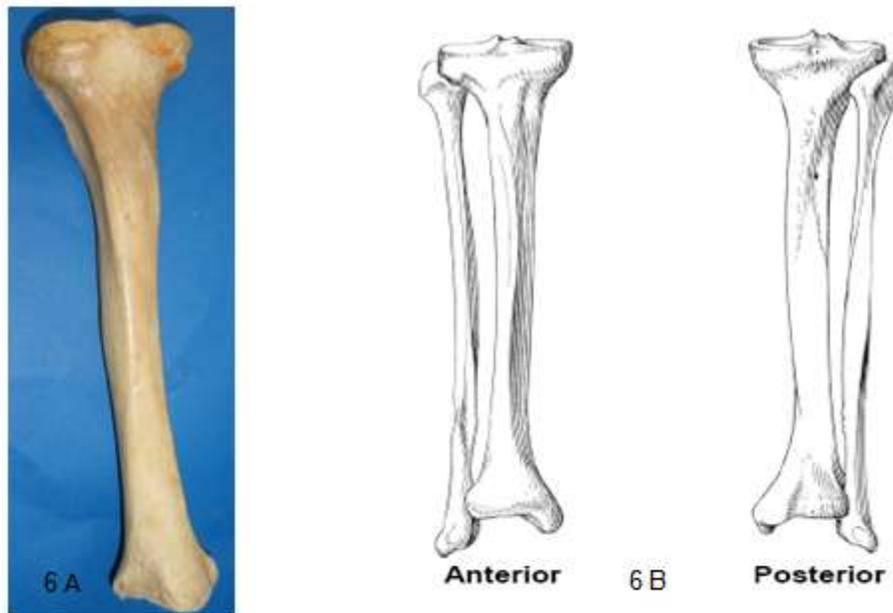


Fig. 6A. Características macroscópicas de la tibia de un individuo contemporáneo. Muestra tomada del anfiteatro de la facultad de medicina

Fig. 6B Vista anterior y posterior de los huesos de la pierna: La tibia, presenta un mayor tamaño y volumen. El peroné, más delgado

Fotografía tomada por Castañeda Z.

Las dos cavidades glenoideas descansan en dos masas voluminosas, llamadas tuberosidades de la tibia y se encuentran separadas una de otra, en su parte media por una eminencia, la espina de la tibia. dividida por una escotadura en dos tubérculos, uno interno y otro externo. Por delante y por detrás de la espina, por dos superficies triangulares y rugosas llamadas superficies pre-espinal y retro-espinal.

La tuberosidad interna, más desarrollada que la externa, presenta por detrás una impresión rugosa. Por delante, un canal horizontal para el tendón del músculo semitendinoso. La tuberosidad externa posee en su parte postero-externa, una carilla articular llamada la carilla peronea del hueso. ⁽⁵⁵⁾

Las dos tuberosidades, separadas por detrás por una escotadura vertical, se confunden íntimamente en su parte anterior. Por delante de las mismas se ve una superficie triangular, rugosa y llena de agujeros, en la parte inferior se encuentra una eminencia oval, llamada tubérculo anterior o tuberosidad anterior de la tibia (para el ligamento rotuliano). Del lado externo Del tubérculo anterior parte una cresta, que es oblicuamente ascendente, y termina en el tubérculo de Gerdy (para el músculo tibial anterior).⁽⁵³⁾

La diáfisis es prismática y presenta tres caras: Interna, externa y posterior separadas por los bordes inter-óseo, lateral y posterior. Los bordes son anterior e interno y externo.

- El **borde anterior** tiene forma de S itálica y presenta una aguda cresta que se curva suavemente en la parte inferior, hacia el maléolo medial. El borde inter-óseo, sirve de inserción a la membrana interósea, que une la tibia y el peroné.
- El **borde interno**, poco marcado por arriba, es muy prominente en su parte inferior. Da inserción a la aponeurosis tibial.
- El **borde externo** presta inserción a la aponeurosis interósea. En su parte inferior se bifurca, circunscribiendo de este modo, entre sus dos ramas, un espacio triangular rugoso (para ligamentos) que termina por abajo en una pequeña carilla articular para el maléolo del peroné.

Las caras:

- La cara interna, casi plana en sus dos extremidades, es convexa en su parte media y está en relación directa con los tegumentos.
- La cara antero-superior presenta una tuberosidad tibial, donde se inserta el ligamento rotuliano.
- En la cara posterior se localiza la línea del soleo; presenta en su parte superior una cresta oblicua hacia abajo y adentro, la línea oblicua de la

tibia, para cuatro músculos: sóleo en el intersticio, poplíteo en el labio superior, tibial posterior y flexor común de los dedos del pie en el labio inferior. Por encima de la línea oblicua se encuentra una superficie triangular para el poplíteo. Por debajo, se halla una cresta vertical, que subdivide esta cara en dos porciones, una interna, para el flexor común de los dedos del pie y otra externa para el tibial posterior. Un poco por debajo de la línea oblicua se encuentra el agujero nutricio.⁽⁵⁴⁾

El extremo inferior es menos voluminoso que el superior, pero también es de forma cuboídea. Por abajo (cara inferior) se articula con la polea astragalina. Posee para este objeto, una extensa superficie cuadrilátera, cóncava de delante atrás, con una cresta antero-superior obtusa (garganta de la polea) en su parte media y dos porciones laterales (para los dos vientres de esta misma polea) . Por delante, la extremidad inferior es convexa y lisa (corresponde a los tendones extensores). Por detrás es también convexa.⁽⁵⁵⁾

Por dentro, la extremidad inferior se prolonga en una apófisis descendente, llamada maléolo interno; la cara interna, lisa (en relación con la piel); la cara externa, articular (para la carilla lateral interna del astrágalo); el borde anterior, rugoso (para ligamentos); el borde posterior, con un canal oblicuo (para los tendones de los músculos tibial posterior y flexor común de los dedos del pie); el vértice, dividido por una escotadura (en la cual se inserta el ligamento lateral externo) en dos eminencias, una anterior y otra posterior.⁽⁵⁶⁾

La cara inferior define la articulación con el astrágalo.⁽⁵⁷⁾

La conformación interior del hueso está representada por tejido compacto y esponjoso en la parte interna, donde se encuentra un conducto medular.

La tibia es uno de los huesos donde es identificable la presencia de sífilis en los primeros pobladores; presenta una superficie hiperostótica, que alcanza la totalidad de la diáfisis, la cual define una curvatura anterior denominada tibia en hoja de sable.⁽²⁰⁾

2.3 Tejido óseo

El tejido óseo se clasifica como un tejido conectivo especializado bifásico, ⁽⁵⁰⁾ cuya matriz intercelular se encuentra calcificada y junto con el cartílago, conforma el sistema esquelético. Sus funciones mecánicas, protectoras y metabólicas derivan de su estructura. Presenta una fase orgánica, constituida por células y matriz intercelular; además de una fase inorgánica representada por cristales de hidroxiapatita $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$, que corresponde a la forma cristalizada del fosfato tricálcico amorfo. Existen en menor proporción, algunas sales ⁽³⁵⁾ como: CO_3^{2-} , Mg^{2+} , Citratos, Na^+ , K^+ , sulfatos, etc. La presencia de una fase inorgánica mantiene su estructura funcional y define la conformación del esqueleto funcional representado por cartílago, hueso, ligamentos, tendones y músculos; lo que permite su preservación a lo largo del tiempo, manteniendo sus características como modelo de estudio antropológico y de identificación. ⁽⁵⁸⁾

“El hueso es único entre los tejidos del cuerpo. En primer lugar, durante la vida es de reparación automática y puede alterar sus propiedades y su configuración, en respuesta a la demanda mecánica; y, en segundo lugar, utilizar la organización de su micro-morfología, soportando cientos, si no miles de años de enterramientos y variaciones de su constitución bioquímica”⁽⁵⁹⁾

Su función metabólica prioritaria es captar iones y establecer el principal reservorio de calcio orgánico, el cual es indispensable para realizar todas las funciones celulares, ya que la mayoría de moléculas orgánicas son calcio-dependientes. ⁽⁶⁰⁾

Como componente morfológico sirve de soporte y sostén a muchos tejidos, además de formar cavidades de protección como:

- La bóveda craneana, que protege al encéfalo.
- La cavidad torácica, protege al corazón y los pulmones.
- Cintura pélvica, protege la porción inferior del aparato urogenital.

- Columna vertebral, protege la medula espinal.
- Canal medular y diplòe: protege el tejido mieloide.⁽⁶⁰⁾

2.3.1 Modelo biológico del hueso

Los huesos son órganos que están constituidos por tejido óseo. La matriz intercelular se encuentra calcificada, lo que le otorga propiedades biomecánicas importantes: alta resistencia a la tracción, compresión y un bajo peso, con una alta plasticidad de renovación permanente. En los miembros inferiores como: el fémur, tibia y peroné, deben ser firmes para cumplir la función de soporte del cuerpo, permitiendo mantener un centro de gravedad durante el movimiento.⁽⁶¹⁾

Su forma básica puede ser alterada por:

- Enfermedades infecciosas como la sífilis que varían el patrón de depósito o agregación de la matriz orgánica y su calcificación, generando hipertrofia
- Influencia ambiental, como la dieta. La baja ingesta de calcio produce alteraciones considerables como el raquitismo.
- Los factores hormonales.
- El estrés mecánico. Cada hueso ejerce una función, soporta un peso, determina equilibrio, se relaciona con fuerzas de contracción, lo que permite cambios geométricos de la masa ósea. La respuesta al estrés mecánico, depende de la duración de la fuerza, apareciendo atrofas, erosiones superficiales y reabsorciones.⁽⁶¹⁾

2.3.2 Tipos de hueso

De acuerdo a sus características se puede clasificar morfológicamente como:

- Hueso compacto; define una masa sólida continua y organizada, constituida por sistemas laminares muy evidentes. Fig. 7A

- Hueso esponjoso; siendo este una continuación funcional del anterior, sin presentar límites definidos entre uno y otro. Se caracteriza por formar espículas o trabéculas ramificadas y anastomosadas. Fig. 7B



Fig. 7 A Hueso compacto. Preparación por desgaste. Corte transversal. 10X. La flecha muestra la organización circunferencial de las laminillas. Se identifican osteones y conductos perforantes

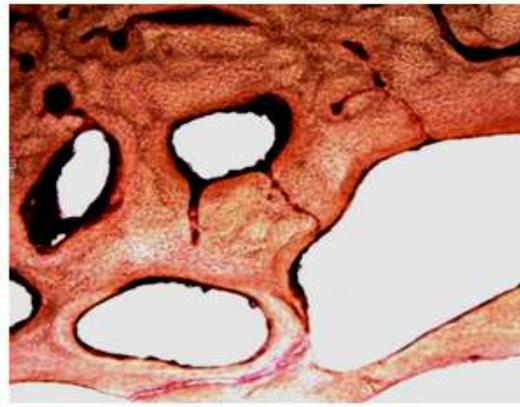


Fig. 7B. Hueso esponjo. 25X. Preparación por desgaste. Corte transversal. La imagen muestra las trabéculas óseas interconectadas

Fotografía tomada por Castañeda Z.

El hueso está recubierto por una envoltura fibrosa externa, a excepción de la superficie articular, que lo protege y a la vez sirve de inserción a ligamentos y tendones, llamada **periostio**, el cual está constituido histológicamente por una capa superficial de tejido conectivo denso irregular de predominio colágeno, y una zona laxa o celular interna de tipo osteogénico que le permite presentar un crecimiento oposicional, debido a la presencia de células osteoprogenitoras. Se ancla firmemente a la superficie externa del hueso compacto, mediante haces gruesos y perpendiculares de fibras colágenas (fibras de Sharpey), cuyo extremo interno asegura una estrecha adherencia con el sistema laminar externo.⁽⁶²⁾ El periostio se encuentra ricamente vascularizado y transporta los vasos sanguíneos que van a discurrir por los conductos de Volkmann, y posteriormente a los de Havers.⁽⁶³⁾

La cara interna de hueso esponjoso o medular, y las demás cavidades y estructuras ductales, se encuentra recubierta por una fina capa de tejido conectivo laxo, llamada **endostio**. Es una cubierta celular, rica en fosfatasa alcalina cuyo estroma presenta escasas fibras de colágeno tipo III. Según Fawcett, el endostio corresponde a una capa periférica del estroma medular. Se asocia con un alto porcentaje de capilares recubiertos por pericitos, los cuales pueden llegar a tener funciones de diferenciación osteogénica.⁽⁵⁰⁾

2.3.3 Células

Las células óseas presentan un doble linaje ya que provienen de líneas de células osteoprogenitoras, que dan origen a las células preóseas (osteoblasto y osteocito) y de UFC –M de la medula ósea.⁽⁶⁴⁾

2.3.3.1 Pre-osteoblasto.

Célula de origen mesenquimatoso, se origina de una precursora denominada osteoprogenitora es responsable de establecer el linaje de las células óseas principales tipo osteoblasto, se localizan en la zona osteogénica del periostio y en el endostio.⁽⁶⁵⁾

Tienen la capacidad de dividirse frecuentemente, por lo cual pueden ser encontrados en estas células caracteres mitóticos. Presentan una menor afinidad tintorial a la fosfatasa alcalina, sus organelos de síntesis proteica se encuentran poco desarrollados.⁽⁶⁶⁾

2.3.3.2 Osteoblasto

Se consideran células formadoras, son responsables de la síntesis de osteoide y de la posterior mineralización de la matriz extracelular del hueso. (Fig.8 Ob) Presentan una forma cuboidea, constituyendo láminas de cubierta alrededor de

las trabéculas óseas, es consideran metabólicamente activas durante su ciclo, contienen, de forma notoria, todos los organelos citoplasmáticos propios de la síntesis de proteínas como: REG aumentado, golgi prominente con muchos dictiosomas, es significativa la conformación de las vesículas matriciales que contienen fosfatasa alcalina, y pirofosfatasa, las cuales son exocitadas, siendo fundamentales en el tránsito iónico intracitoplasmático a expensas del REL. Una de sus actividades bioquímicas está dada por la producción de fosfatasa alcalina, la cual sirve de marcador en la membrana plasmática. Esta enzima tiene una acción directa sobre los procesos de calcificación de la matriz osteoide.⁽⁶⁷⁾

Los osteoblastos también sintetizan factores de crecimiento FG, los cuales son captados por los GAG para ser almacenados en la matriz ósea y ser utilizados cuando se requieran. Entre ellos encontramos:

- $FG\beta_T$ Factor de crecimiento transformante Beta.
- BMP_4 Proteínas morfogenética ósea.
- FGDP Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- IGF Factor de crecimiento similar a la insulina.
- Citocinas como IL_6 .

2.3.3.3 osteocito

Son las principales células del tejido óseo de tipo terminal maduro; se localizan dentro de las lagunas en las trabéculas y en la porción compacta del hueso; se encuentran interconectadas entre si, por prolongaciones citoplasmáticas finas localizadas dentro de los canalículos óseos, las cuales se unen mediante gaps, donde se expresan moléculas de adhesión tipo conectinas: Cx_{22} y Cx_{26} .⁽⁵⁹⁾. Cuando son maduros pierden la actividad de fosfatasa alcalina. (Fig. 8 Oc)

Los osteocitos son responsables de la calcemia: para ello realizan procesos de osteolisis osteocítica. Ross propone la identificación de tres linajes de osteocitos:

- **OSTEOCITOS LATENTES.** Presentan escasos organelos, se consideran células en reposo. Carecen de osteoide alrededor.
- **OSTEOCITOS FORMATIVOS.** Realizan funciones lentas de producción y secreción de matriz; por lo tanto se identifican organelos de síntesis proteicas aumentados. Presentan una fina capa de osteoide alrededor de su cuerpo.
- **OSTEOCITOS RESORTIVOS.** Presentan organelos de síntesis y una mayor cantidad de lisosomas.⁽⁵⁰⁾

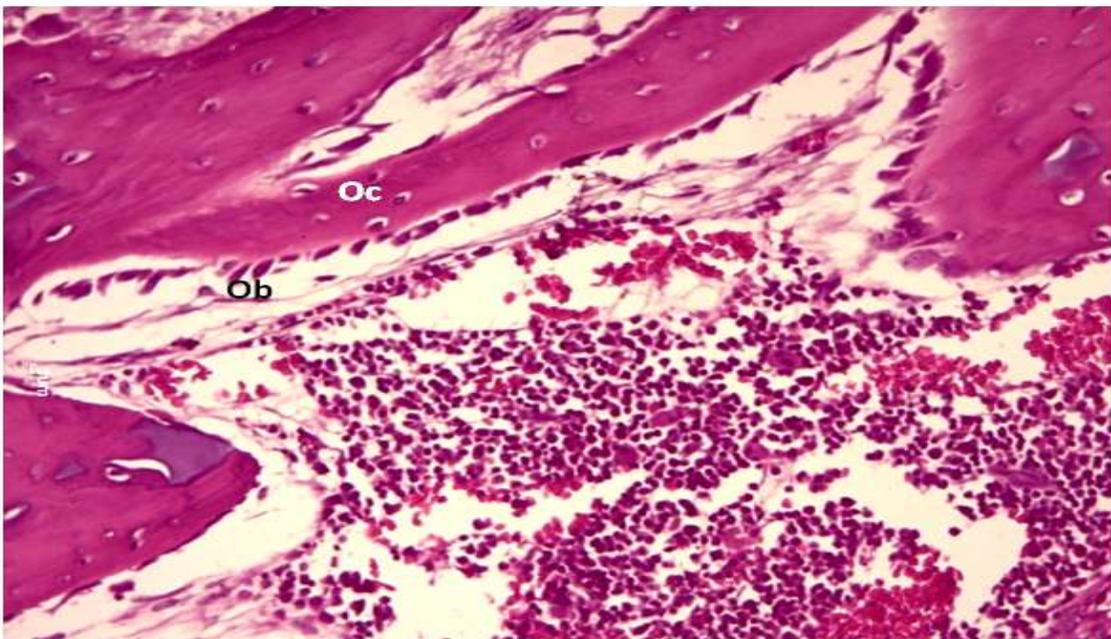


Fig. 8. Hueso esponjoso. Preparación por descalcificación. Coloración H.E. La imagen muestra la ubicación de los osteoblastos (Ob) alrededor de la trabécula en forma de monocapa. Los osteocitos (Oc) se localizan dentro de la laguna y se caracterizan por su forma almendrada

Fotografía tomada por Castañeda Z.

2.3.3.4 Osteoclasto

Los osteoclastos son células que realizan sus funciones en el tejido óseo. Su linaje es mieloide, se diferencian de la UFCM y son responsables de la reabsorción o destrucción del hueso, mediante mecanismos de osteoclasto-lisis.

Morfológicamente se consideran como células globulares gigantes (20 – 50 μ) multinucleadas, pueden tener de 4 a 40 núcleos en condiciones normales y hasta 100 núcleos en estados patológicos, constituyendo células gigantes de cuerpo extraño; presentan abundantes lisosomas, mitocondrias y un aparato de golgi bien desarrollado. La cara que se localiza sobre la superficie ósea se adhiere a ella firmemente, mediante la formación y expresión de moléculas de adhesión calcio-dependientes, tipo ocludinas y claudinas, quienes definen la formación de zonulas ocludens laterales para generar un perfecto selle entre la membrana celular y la superficie ósea. En la porción inferior se encuentran prolongaciones citoplasmáticas irregulares denominadas podosomas, son sitio de secreción de enzimas lisosomales y metaloproteinasas, necesarias para degradar la matriz orgánica y liberar los cristales de hidroxiapatita los cuales se desensamblan, de tal forma que el Ca sigue una ruta sérica y el PO₄ es excretado por vía urinaria. En esta zona se pueden observar mediante microscopia electrónica, pequeñas vesículas endocíticas. Los osteoclastos se localizan en depresiones formadas como producto de la reabsorción de la matriz calcificada denominadas lagunas de Howship. ⁽⁶⁸⁾

La osteoclastogénesis es propiciada por el osteoblasto, el cual secreta la proteína que expone en su superficie, denominada RANK_L, de la familia del TNF; este ligando se ancla con el receptor RANK, el cual se encuentra en la superficie de la membrana osteoclástica; el contacto estructural y funcional entre RANK_L/RANK estimula la formación de nuevos osteoclastos y a los que ya están formados los mantiene activados e inhibe su proceso apoptótico. El efecto regulatorio lo genera el mismo osteoblasto, el cual produce otra molécula llamada osteoprotegerina, que incide en el acople de RANKL/RANK y de esta forma bloquea la osteoclastogénesis. La relación entre RANKL/OPG define el proceso de remodelación ósea. ⁽⁶⁹⁾

La resorción ósea se inicia con la movilización por parte de los osteoclastos, de enzimas proteolíticas y iones de hidrógeno producidos por la anhidrasa carbónica

tipo II, para ser transportados luego, desde el citoplasma hacia el borde rugoso (podosomas) de las células, mediante una bomba de protones que mantiene acidificado el medio externo permitiendo, de esta forma, activar las enzimas de degradación y la disolución del mineral óseo.

Posteriormente, las enzimas lisosomales sintetizadas por los osteoclastos, son secretadas a través del borde rugoso a la zona de resorción ósea extracelular.

La finalidad ulterior del osteoclasto es el remodelado óseo, permitiendo mantener la plasticidad, integridad estructural y anatómica del esqueleto mediante la renovación constante del hueso, expresada en actividades de aposición y reabsorción ósea permanente.⁽⁷⁰⁾ Ver fig 9

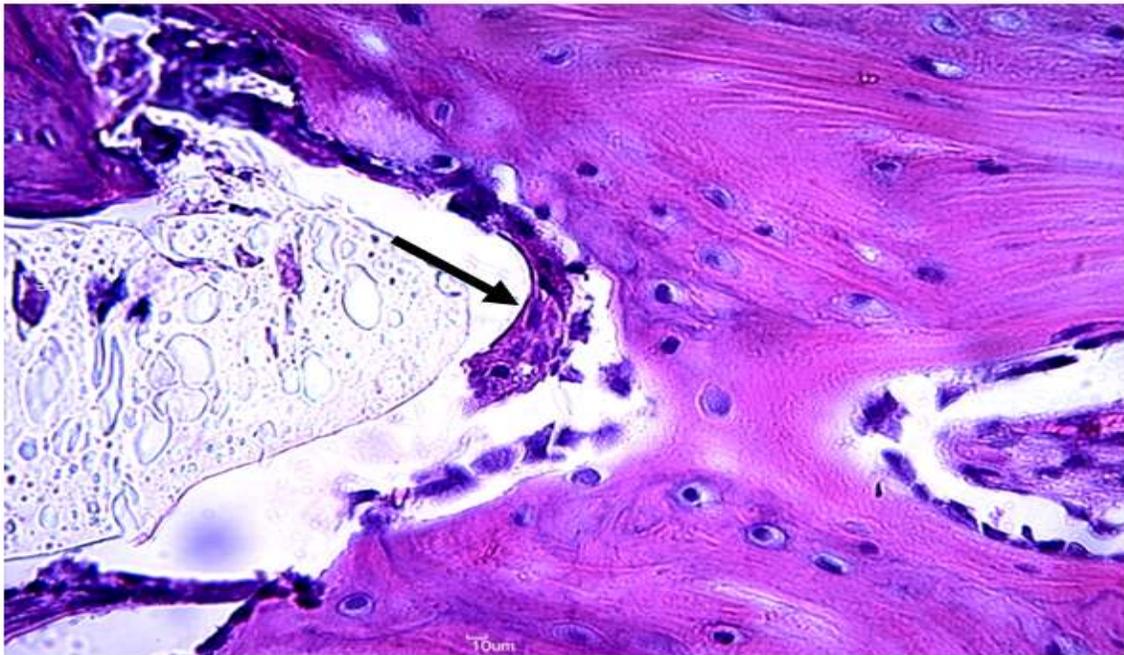


Fig. 9. Hueso esponjoso. Preparación por descalcificación. Coloración H.E. La imagen muestra un proceso de remodelación ósea, mediada por un osteoclasto. Corresponde a una célula gigante multinucleada.

Fotografía tomada por Castañeda Z.

2.3.4 Matriz orgánica

La matriz orgánica está conformada por complejos proteicos macromoleculares. El principal componente son las fibras de colágeno tipo I representada entre un 85 a 95%, del contenido de la matriz, además de un escaso porcentaje de colágeno tipo V y XII. Estas proteínas estructurales se encuentran embebidas en un entorno saturado de glicosaminoglicanos (GAG) como el condroitinsulfato, queratansulfato y ácido hialurónico.

El colágeno es sintetizado por el osteoblasto. Ésta compuesto por tres cadenas polipeptídicas, entrelazadas, diseñando una proteína terciaria. Presenta dos cadenas idénticas α_1 , y una cadena estructuralmente similar, pero genéticamente diferente, que corresponde a α_2 , las cadenas se ensamblan configurando tridimensionalmente una triple hélice larga y resistente que se estabiliza mediante enlaces de disulfuro, constituyéndose como un precursor: el procolágeno tipo I, molécula que contiene en un extremo la extensión del propéptido aminoterminal de aproximadamente 25.000 D, y la extensión distal, donde se localiza el propéptido carboxilo terminal de 35.000 D. La zona central o cuerpo de la molécula tiene aproximadamente 100.000 D. La maduración se sucede dentro del aparato de Golgi y es transportado al medio extracelular en vesículas revestidas por clatrina. Una vez ha sido secretada, las telopeptidasas escinden los propéptidos, dejando una molécula desnuda, madura e inestable, que por acción de la vitamina C, se ensamblan formando polímeros ordenados con una periodicidad de 67nm⁽⁷¹⁾ denominados fibrillas de colágeno; estas se empaquetan densamente formando micro-fibrillas, fibrillas y fibras colágenas, las cuales se organizan de una manera muy ordenada en fascículos, los cuales, son fundamentales para definir la periodicidad de las laminillas óseas propias de los sistemas laminares concéntricos.

Las proteínas no fibrilares, participan en funciones de adhesión y reconocimiento de los cristales de hidroxiapatita y corresponden a:

- **LA FAMILIA DE LAS PROTEÍNAS ADHESIVAS.** Formada por la osteopontina, la fibronectina, la vitronectina y la trombospondina. La osteogenina corresponde a una variedad de BMP-3, la sialoproteína ósea BSP. Estas proteínas tienen una secuencia peptídica RGD que, al fijarse a receptores de membrana tipo integrina, permite la adhesión de las células a la matriz ósea. Pueden, entonces, desempeñar un papel en la regulación de la actividad de las células óseas y en el control local de la reconstrucción.⁽⁷²⁾
- **LA FAMILIA DE LAS PROTEÍNAS ANTIADHESIVAS,** representadas por: la trombospondina, la osteonectina y dos pequeños proteoglicanos: el decorin y el biglicán. Estas proteínas intervienen en el desprendimiento de las células de su soporte matriz, y con ello en su proliferación y maduración. Las dos últimas, decorin y el biglicán; pueden influir en la proliferación celular porque tienen capacidad de unión e inactivación del TGF- β .⁽⁷³⁾
- **LA FAMILIA DE LAS PROTEÍNAS QUE CONTIENEN ÁCIDO GAMACARBOXIGLUTÁMICO**

La osteocalcina **BGP GLA**. Es una proteína sintetizada por el osteoblasto, constituye el 8% - 12% de las proteínas no colágenas del hueso. Estereoquímicamente se considera una proteína globular; estructuralmente está constituida por un polipéptido de 49 aminoácidos y un peso molecular de 5000 D, la presencia del aminoácido γ -carboxiglutámico (Gla) en las posiciones 17, 19 y 24 de su secuencia, le confieren la capacidad de fijar el calcio, y de manera más específica a la hidroxiapatita ósea. La incorporación de GLA en estas proteínas depende de la vitamina K. Las funciones de las mismas son poco conocidas. Al parecer, la osteocalcina ejerce efecto quimiotáctico sobre los precursores de los osteoclastos e interviene en los mecanismos de resorción ósea.⁽⁷⁴⁾

2.3.4.1 Componente inorgánico

La fase inorgánica constituye cerca del 60% del contenido de la matriz; se organiza en depósitos sub-microscópicos, está representada por:

- **Fosfato cálcico.** Forma placas en forma de palillos de 1.5 a 3 nm de espesor y 40nm de largo que se organizan en intervalos de 60 a 70 nm, sobre las fibras colágenas.
- **Cristales de hidroxiapatita.** $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ corresponde a la forma madura del fosfato tricalcico.
- **Carbonato de Calcio.** $[\text{CO}_3]$ Es un ion que se puede ubicar en la superficie del cristal y cuando se requiera sustituye un fosfato.
- **Citrato de Calcio.** $[\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]$ Se considera que el ion citrato está en fase separada, localizado en la superficie del cristal
- **Magnesio.** El magnesio es un ion fundamentalmente intracelular. En el plasma circula el 1%; se encuentra un 70%.
- **Flúor.** $[\text{F}^-]$ Es frecuente la presencia de flúor sustituyendo un $[\text{OH}^-]$, de la hidroxiapatita, la cantidad depende de su ingesta en el agua o en la sal.

2.3.5 Mecanismos de calcificación

El proceso de calcificación de la matriz extracelular o mineralización ósea, es complejo y requiere la participación activa de los osteoblastos. Es conveniente identificar cuatro fases secuenciales que conllevan a la definición de la matriz ósea madura:

- **FASE DE ADAPTACIÓN Y REORGANIZACIÓN DE LA MATRIZ.** Se lleva a cabo una saturación iónica de Ca^{2+} y PO_4^- en la matriz, superando el umbral normal, acción que se realiza por la captación Ca^{2+} que lleva a cabo la osteocalcina y la presencia de fosfoproteínas, glicoproteínas y sialoproteinas calcio-dependientes. El incremento de calcio estimula la secreción de fosfatasa alcalina de los osteoblastos y la hidrólisis del fosfato orgánico.

- **FASE DE NUCLEACIÓN.** Los niveles altos de Ca^{2+} y PO_4 inducen a los osteoblastos a secretar el contenido de las vesículas matriciales aumentando el punto isoeléctrico, lo cual permite la cristalización de CaPO en las vesículas matriciales circundantes. En esta fase bioquímica, se diferencian varias formas de fosfato cálcico, importantes en la consolidación de los cristales de hidroxiapatita.
- **FASE DE CRECIMIENTO.** Una vez se consolidan los cristales de hidroxiapatita, ellos crecen por un mecanismo denominado acreción, hasta que se unen con cristales vecinos, de tal forma que se disminuye la concentración de calcio y fosfato. La organización de los cristales depende de la orientación de las fibras colágenas, la presencia de osteogenina y la expresión de osteocalcina.
- **FASE DE REMODELACIÓN.** Acción que depende de los osteoclastos que generan un proceso controlado de degradación de la matriz cálcificada.⁽⁷⁵⁾

2.3.6 Características estructurales del hueso laminar

La perfecta organización de las fibras colágenas y la agregación paralela de los cristales de hidroxiapatita ha permitido mantener y conservar los detalles histológicos del tejido óseo a través del tiempo. El hueso presenta una serie de unidades cilíndricas llamadas osteones, que contienen en su interior canales paralelos al eje longitudinal de la diáfisis, denominados conductos de Havers, los cuales se encuentran intercomunicados por ductos transversales, que se dirigen tanto al periostio como al endostio y corresponden a los conductos de Volkmann o conductos perforantes ellos conducen paquetes vasculo-nerviosos acompañados de endostio que llegan a los conductos de Havers.⁽⁷⁰⁾

Los sistemas laminares se definen a expensas de las fibras colágenas, las cuales, presentan un patrón organizativo por acción de la osteogenina y

estabilizadas mediante la expresión de osteonectina. Sobre las fibras se depositan los cristales de hidroxiapatita altamente hidratados, permitiendo establecer enlaces débiles, del tipo puentes de hidrogeno, con las fibras colágenas, además de estabilizarse mediante una proteína ligadora del cristal denominada la osteocalcina; entre las laminillas se deposita matriz cementante u osteoide. Las lagunas con los osteocitos se localizan entre las laminillas y se intercomunican mediante los canalículos óseos.

Las laminillas del hueso compacto se organizan de cuatro formas diferentes:

- Concéntricas, alrededor del canal vascular longitudinal, constituyendo la unidad estructural ósea llamada osteón o sistema de Havers, cuyo tamaño varía dependiendo de la cantidad de laminillas, puede ir de 4 hasta 20.
- Uniendo entre sí los osteones; se pueden identificar sistemas laminares intersticiales. El tamaño y organización dependen de los intersticios que dejan los osteones.
- Debajo del periostio y sin presencia de conductos de Havers, se encuentran laminillas periféricas, paralelas, circunferenciales diafisiarias externas, que corresponden a los sistemas laminares periósticos.
- Sobre la superficie interna, debajo del endostio, la zona relacionada con el canal medular, presenta laminillas cortas y onduladas, denominados sistemas laminares endosticos.⁽⁵⁰⁾

2.4 Técnicas de laboratorio para el estudio de muestras oseas

2.4.1 Imagenología

Las técnicas radiográficas son consideradas por Campillo ⁽¹⁸⁾ como una herramienta de uso ineludible para el paleopatólogo, ya que reportan datos valorables y cuantificables para establecer un diagnóstico presuntivo, etiológico o

definitivo. La radiografía convencional se constituye en una herramienta iconológica fundamental. ⁽⁷⁶⁾

Vila en el 96⁽⁷⁷⁾ establece que si bien la imagen radiográfica permite establecer criterios diagnósticos, se debe tener en cuenta que no existen tejidos blandos o superposición de estructuras normales, como en el diagnóstico médico convencional; además se debe tener en cuenta el proceso de descalcificación de la muestra como producto del enterramiento, el tejido se encuentra fosilizado y puede incluir sustratos biógenos pétreos que se han agregado a través del tiempo. ⁽⁷⁸⁾

2.4.2 Microscopía de luz

Campillo en el 2001⁽¹⁸⁾, reporta que en los procedimientos paleopatológicos se utilizan:

- Técnicas directas de identificación ocular macroscópica.
- Técnicas indirectas como el estudio de coprolitos.
- Técnicas de aumento de imagen mediante el uso de lupas compuestas que permiten tener hasta 300 aumentos.
- La utilización del microscopio como herramienta paleohistológica ha sido relativamente pobre, debido a la fragilidad del tejido.

El diagnóstico preliminar de una muestra, requiere de un equipo estereoscópico para identificar las imágenes macroscópicas en profundidad, permitiendo percibir la tridimensionalidad del espécimen. El microscopio de luz o de campo claro, es un instrumento de análisis de imágenes planas, obtenidas de cortes delgados de 5μ y procesados mediante técnicas histológicas de histoquímica convencional, aumentando el tamaño de la imagen hasta en 1.000x, de tal forma que se pueden analizar estructuras hasta de 2μ ⁽⁷⁹⁾. Los procedimientos de laboratorio requeridos para el estudio del tejido óseo, corresponden a:

- Técnica de desgaste, consistente en tomar una muestra de tejido calcificado desgastarla hasta que quede de 5 μ permitiendo hacer un análisis histológico de la matriz calcificada.
- La segunda, es la técnica habitual empleada de histopatología, en que se decalcifica el tejido, se corta y colorea para hacer un pormenorizado examen de las poblaciones celulares; la utilización de esta técnica en muestras fosilizadas, genera una pérdida sensible de las células y sus intersticios.

Según Campillo ⁽¹⁸⁾ no son muy numerosos los trabajos paleopatológicos con microscopía óptica, a pesar de los años transcurridos desde que Moodie en la década del 20 iniciara su sistematización. Se han estudiado callos óseos de fracturas, algunas alteraciones tumorales, en especial angiomas, osteítis y lesiones artríticas si bien en estos dos últimos tipos de lesiones los resultados no pueden considerarse óptimos. Chester ⁽⁸⁰⁾ en los años 40 confirma la existencia de los supuestos microbios fosilizados detectados por Bernard Renault en 1896.

2.4.3 Microscopía confocal

La Microscopía Láser Confocal es una nueva técnica de observación microscópica que permite obtener imágenes de mayor nitidez, contraste y resolución, el software superpone las imágenes verticales y horizontales generando la tridimensionalidad de la muestra. ⁽⁸¹⁾

En este tipo de microscopio la fuente de luz es un láser que ilumina la muestra a diferentes alturas generando secciones ópticas de tridimensionalidad. Uno de sus componentes fundamentales es el Pinhole, que filtra la luz proveniente de planos fuera de foco de iluminación. ⁽⁸²⁾ No existen reportes en la literatura de la utilización del Microscopio Confocal en el diagnóstico paleopatológico

2.4.4 Microscopía electrónica de barrido

Mediante el uso del Microscopio Electrónico de Barrio o Scanning, se puede llegar a identificar las características ultraestructurales de las corticales óseas; el MEB utiliza un filamento de Tungsteno, emisor de los electrones (haz de electrones) que bombardean la muestra y tienen una longitud de onda 2.000 veces menor que el haz de luz y un aumento en el poder de resolución de 10^3 ; los electrones al chocar generan interacciones entre los átomos de la muestra y los electrones dispersos generando electrones secundarios y retro-difundidos y luego son tomados por un detector que genera señales las cuales son capturadas por un tubo de rayos catódicos (CRT), que las proyecta como señales electrónicas y de allí la imagen tridimensional es enviada a la pantalla de un computador, la cual es capturada, mostrando las características morfológicas superficiales del espécimen.⁽⁸³⁾

La elección del material para la metalización depende fundamentalmente del estudio que se va a realizar.⁽⁸⁴⁾ Así, para la observación de imágenes de electrones secundarios el oro y el oro-paladio son los materiales que conducen a los mejores resultados; al ser elementos pesados, producen mayor emisión. Cuando lo que se pretende es realizar un estudio micro-analítico es recomendable emplear carbono.⁽⁸⁵⁾

Pedro Fernández y colaboradores⁽⁸⁶⁾ plantearon, que fue el antropólogo británico Mark Armand Ruffer, el primer científico en estudiar tejidos blandos momificados y rehidratados, cuyas muestras fueron procesadas y manejadas con técnica histológica convencional.⁽⁸⁷⁾

3. Capítulo Materiales y Métodos

3.1 Tipo de investigación

Se realizó un estudio observacional descriptivo con enfoque cuantitativo utilizando tecnología más alta disponible en la actualidad.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Universo

Corresponde a los restos óseos de enterramientos, ubicados en diferentes asentamientos del territorio Colombiano.

3.2.2 Población

Muestras óseas de individuos prehispánicos, tipificadas y con datación precisa a partir de la técnica de Carbono 14, realizada en el laboratorio de Antropología Forense de la Universidad Nacional de Colombia, además se seleccionaron restos óseos que reposan en el anfiteatro de la facultad de medicina.

3.2.3 Muestra

Corresponden a dos grupos poblacionales: el primero de individuos prehispánicos con asentamientos en el altiplano cundi-boyacense y la costa Caribe Colombiana y el segundo de individuos contemporáneos de a década del 50 aproximadamente.

Los restos óseos que se utilizaron como muestra en este trabajo, corresponden a:

- 1 fragmento de la diáfisis tibial del individuo prehispánico número 5 de sexo femenino; hallado en el departamento del Magdalena, Colombia. La ubicación geográfica corresponde a una región lagunar-estuarina en la cuenca del Caribe, correspondiente al río Magdalena y a la Ciénaga Grande de Santa Marta; fechado entre el siglo VII y VIII d.C. Presenta morfología en sable.
- 1 tibia sin periostitis de individuo prehispánicos, de poblamientos del centro del país, del altiplano Cundí-boyacense con asentamiento en Soacha y corresponde a la cultura muisca tardía, fechado entre el siglo XII y XIII d.C. Presenta morfología normal. Corresponden al grupo control prehispánico.
- 1 fémur de individuo prehispánico, sin periostitis, de poblamiento del centro del país, codificado como la Purnía F-17 y corresponde a la cultura muisca temprana; fechado entre el siglo IX a XI d.C. encontrado en la década del 90.
- 1 tibia de individuo prehispánico, sin periostitis con asentamiento en Tunja, corresponde a la cultura Muisca; fechado entre el siglo XII y XIII d.C. marcado CTI.
- 1 tibia de individuo prehispánico, marcado TSX encontrado en Tunja, de la cultura Muisca, fechado entre el siglo XII Y XIII d.C.
- 1 tibia de individuos ciudadanos modernos, sin tipificar, cuyos restos óseos, corresponden a un niño entre 8 a 12 años, se encuentran en el anfiteatro de la facultad de Medicina, de la Universidad Nacional. Presenta una

morfología normal y pertenecen seguramente a una población bogotana de mediados del siglo XX. Hace parte del grupo control actual.

- 1 tibia de individuos ciudadanos modernos, sin tipificar, cuyos restos óseos, corresponde a un adulto, se encuentran en el anfiteatro de la facultad de medicina, de la Universidad Nacional. Presenta una morfología normal y pertenecen seguramente a una población bogotana de mediados del siglo XX. Hace parte del grupo control actual.

La mayor parte de las muestras óseas han sido seleccionadas, identificadas, descritas y se ha hecho datación por expertos del laboratorio de antropología forense de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Es prioritario aclarar que las muestras pertenecientes a individuos prehispánicos son de alto valor histórico y de una riqueza paleo-patológica indescriptible. Hacen parte del patrimonio científico y cultural de nuestro país. Por lo tanto la agresión en la toma de muestra es mínima, selectiva y poco invasiva.

3.3 Criterios para la selección de la muestra

3.3.1 De inclusión

Tibias y fémur de individuos prehispánicos con características morfológicas normales y en sable.

Tibias normales de individuos contemporáneos del anfiteatro de la Facultad de Medicina.

3.3.2 Criterios de exclusión

Tibias que presenten otro tipo de alteraciones

- Por contaminación.

- Fracturas.
- Destrucción de la cortical.
- Otras enfermedades óseas.

3.4 VARIABLES

Variable	Definición Operativa	Tipo de Variable	Nivel de Medición
Procedencia	Lugar de procedencia de la muestra	Cualitativa nominal	Descripción del sitio de procedencia de la muestra.
Tipo óseo	Característica tisular	Cualitativa, ordinal	Compacto [Macro (lisa e irregular), ultra (disminuido, aumentado, normal)] y esponjoso [Presente (normal, disminuido), ausente]
Osteones	Unidad estructural	Cualitativa, nominal	Ductos y sistemas laminares (presentes o ausentes)
Elementos biógenos	Elementos neo-agregados	Cuali y cuantitativa, nominal de tipo	Presencia Sonda iónica y descripción cuantitativa de la cantidad de iones presentes.
Periostitis	Evidencia de periostitis en la muestra	Cualitativa nominal	Presencia de aposición o ausencia
Células	Componentes momificados	Cualitativa de tipo nominal, multinomial	Osteoblastos Osteocitos Osteoclastos Células sanguíneas Células mieloides
Contaminación del suelo	Presencia de partículas de contaminación	Cualitativa nominal	Presencia o ausencia
Densidad ósea	Constitución inorgánica	Cualitativa nominal multinomial	Presencia (lineal o radial) o ausencia
Artificios	Presencia de artificios al analizar la muestra	Cualitativa nominal	Presencia o ausencia

3.5 Manejo de las muestras

3.5.1 Obtención de la muestra

Las muestras de individuos prehispánicos son prestadas por el laboratorio de antropología forense de la facultad de Ciencias Humanas de la Universidad Nacional, sede Bogotá, previa la justificación y relevancia del trabajo de investigación y con autorización de su director Doctor José Vicente Rodríguez.

Las muestras de individuos actuales, son prestadas por el anfiteatro de la facultad de Medicina, con autorización del director de departamento, Doctor Luis Enrique Caro.

3.5.2 Inspección ocular y análisis fotográfico

El estudio paleo-patológico de los restos óseos, se inició una delicada limpieza de los restos óseos, utilizando un pincel de pelo de marta. Luego se hizo la evaluación macroscópica, identificación de la morfología tibial e identificación de las alteraciones, presentes. Se tomaron fotografías en todos los planos, utilizando una cámara digital marca Sony de 25 mm con Zoom de 12 mega pixeles, procedimiento similar a cualquier tipo de estudio osteológico.

3.5.3 Análisis de imágenes mediante radiografía convencional

Las imágenes radiográficas se tomaron mediante técnica convencional, con un equipo panorámico de marca ORTHOSLICE TROPHY 1000C (KODAK) Fig. 10 y se digitalizaron en un equipo KODAK CR 7400 DIGITAL RADIOGRAPHY SYSTEM.



Fig. 10
TROPHY
1000C

Fotografía tomada por Castañeda Z.

3.5.4 Análisis mediante microscopio estereoscópico

Una vez terminada la inspección macroscópica se procedió a realizar una disección ósea, diseñando tres pequeñas ventanas diafisiarias, en los sitios más representativos de normalidad, así como de variaciones topográficas y de estructura de superficie de las muestras.

Los cortes se realizaron en el laboratorio de pre-clínica de operatoria, de la facultad de Odontología de la Universidad Nacional, utilizando una pieza de alta velocidad marca Concentrix, de 40.000 rpm, empleando como instrumento de corte, fresas cilíndricas extremidad en llama, revestidas por granos de diamante fino, marca Kome, con refrigeración y discos flexibles de diamante con seguridad. Obtenidas las muestras se procedió a observar en un microscopio estereoscópico binocular, marca Olympus SZX10.



Fig. 11

Olimpus SZX10

Fotografía tomada por Castañeda Z.

3.5.5 Técnica de desgaste

Se tomaron muestras de 1.5 cms de largo por 0.5 cms de ancho y cuya profundidad está dada por el canal medular, se alisaron con un disco de carburo y se procedió hacer al desgaste manual utilizando lija de agua 9087NA de 3M(MR) de grano 220 muy fino y lavado permanente, hasta obtener un grosor de 5 μ . La mitad de las muestras se montaron directamente sobre una lámina de vidrio y se adosó la laminilla utilizando resina sintética.

La otra mitad de las muestras se contrastó con una coloración de rutina, con ligera sobre-coloración de eosina útil para el microscopio Confocal.

3.5.6 Técnica de decalcificación

El tejido momificado se re-hidrató, durante 1 semana, utilizando la solución de Ruffer (agua destilada mas alcohol etílico). Posteriormente la muestra fue decalcificada lentamente con EDTA, luego se procedió a realizar la técnica histológica convencional:

- Inclusión
- Corte en el micrótopo
- Desparafinación y pesca
- Coloración con eosina y montaje

3.5.7 MICROSCOPIA DE LUZ

Las preparaciones histológicas de desgaste y descalcificación se analizaron en un microscopio Motic Dmb1-223, con cámara digital incorporada



Fig. 12
Motic Dmb

Fotografía tomada por Castañeda Z.

3.5.8 Técnica de microscopía confocal

Se tomó una muestra de tejido óseo semi-translucido por desgaste contrastada con Eosina ($C_{20}H_{8}Br_{2}N_{2}O_{9}$, dibromodinitrofluoresceína, CI 45400), también conocido como eritrosina B azulada, que actúan como un colorante fluorescente convencional. Una segunda muestra se decalcificó por método convencional y se coloreó con Hematoxilina Eosina. Se procedió a capturar las imágenes en tres planos y luego realizó un análisis tridimensional de la superficie ósea, determinando sus características volumétricas utilizando un Microscopio Confocal

Olympus Fluoview: dos canales para fluorescencia y DIC del laboratorio de equipos comunes de la facultad de medicina.



Fig. 13

Fotografía tomada por Moreno L. C.

3.5.9 TÉCNICA DE MEB

Las muestras de hueso se encuentran deshidratadas por desecación de punto crítico, posteriormente se metalizaron al vacío con metales evaporados, se montaron sobre una base de aluminio marcada, se posicionaron con plastilina de carbón y se llevaron a la cámara del MEB donde se estudia la estructura cortical y trabecular, así como el análisis de la constitución inorgánica mediante sondas de calcio. ^(52, 60)

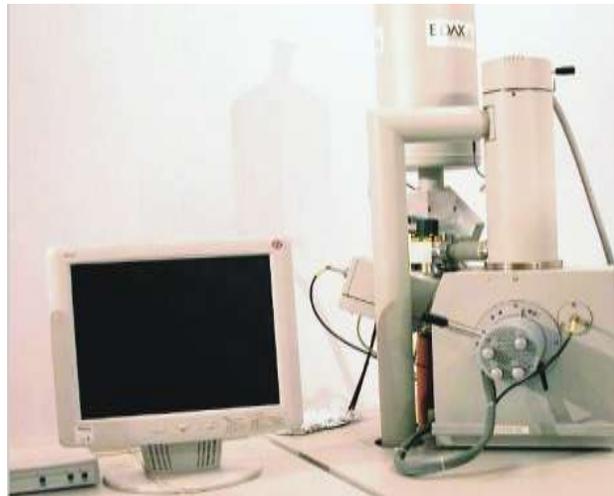


Fig. 14

Fotografía tomada por Castañeda Z.

3.6 Consideraciones éticas

La presente investigación se realizó en los laboratorios de microscopía electrónica del CEIF, el laboratorio de equipos comunes de la facultad de medicina, el laboratorio de antropología forense de la facultad de ciencias humanas y el anfiteatro de la facultad de medicina de la Universidad Nacional de Colombia. El material óseo humano fue prestado por el laboratorio de antropología forense y el anfiteatro.

La investigación fue regida por los parámetros internacionales de la asociación médica mundial de acuerdo a la declaración de Helsinki de Junio de 1964:

Como una propuesta de principios éticos que sirvan para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos. La investigación médica en seres humanos incluye la investigación del material humano o de información identificables.⁽⁸⁸⁾

No presentó ningún tipo de riesgo para investigadores, técnicos ni auxiliares de laboratorio, la manipulación de las muestras y el manejo de los equipos de laboratorio cumplen con el rigor y condiciones de contenidas en el manual de aseguramiento de la calidad de los laboratorios Biotecnología y el CEIF.

La resolución 08430 de 1993, del ministerio de salud, mediante su articulado, establece que:

Artículo 4. *La investigación para la salud comprende el desarrollo de acciones que contribuyan:*

- *Al conocimiento de los procesos biológicos y psicológicos del ser humano.*
- *Al conocimiento de los vínculos entre las causas de la enfermedad, la práctica Médica y la estructura social*
- *Al conocimiento y evaluación de los efectos nocivos del ambiente en salud.*

Artículo 5 que *“toda investigación en que el ser humano sea objeto de estudio, deberá prevalecer el respeto por la dignidad”, de acuerdo a:*

- *Los principios científicos y éticos que la justifiquen*
- *Se realizara solo cuando el conocimiento que se pretende producir, no pueda Obtenerse por otro medio idóneo.*

Artículo 11 define una investigación sin riesgo cuando se emplean técnicas y métodos retrospectivos, donde no se realiza intervención o modificación las variables biológicas.⁽⁸⁹⁾

Dado que era una investigación sin riesgo para los sujetos de estudio, este trabajo no requería evaluación por parte del comité de ética médica.

4. Capítulo 4

4.1 Resultados

Se realizó un estudio descriptivo con enfoques cualitativo y cuantitativo en el cual se analizaron muestras óseas. En esta sección se presentan los resultados de la investigación

4.1.1 Descripción de las muestras

Se examinó la estructura ósea encontrada en las muestras. En la tabla 1 se presenta la descripción de los hallazgos.

Tabla 1. Hallazgos estructurales del hueso en las muestras incluidas.

MUESTRA	HUESO COMPACTO			SUPERFICIE OSEA		HUESO ESPONJOSO	
	RX	MACRO	ULTRA	LISA	IRREGULAR	SI	NO
Muestra 1	Aumentado	Aumentado	Aumentado		X	X	
Muestra 2	Disminuido	Disminuido	Disminuido		X	X	
Muestra 3	Normal	Normal	Desmineralización		X		Escaso
Muestra 4	Normal	Normal	Normal	Normal		Normal	Escaso
Muestra 5	Normal	Normal	Normal	X		X	
Muestra 6		Reabsorción			X	Escaso	

Como puede apreciarse en la tabla se encuentra que en tres casos el hueso era normal en su aspecto, en la muestra 1 el hueso compacto se encontraba aumentado la superficie ósea en esta muestra era irregular y había presencia de hueso esponjoso. En la muestra 2 el hueso compacto estaba disminuido, la superficie era irregular y había presencia de hueso esponjoso. La muestra tres muestra desmineralización ósea y escasez del hueso esponjoso. En la muestra cuatro el hueso compacto era de características normales pero el esponjoso era escaso. La muestra cinco era normal en su hueso compacto, superficie lisa y presencia del hueso esponjoso. El espécimen seis muestra reabsorción del hueso compacto, superficie irregular y escasez del hueso esponjoso.

Se examinó también la presencia de osteones en las muestras estudiadas. En todas las muestras fue posible identificar la presencia de estos elementos histológicos. La tabla 2 muestra la relación de la presencia de los osteones en cada muestra.

Tabla 2. Identificación de osteones en las muestras.

MUESTRA	OSTEONES	
	SI	NO
MUESTRA 1	X	
MUESTRA 2	X	
MUESTRA 3	X	
MUESTRA 4	X	
MUESTRA 5	X AB	
MUESTRA 6	X	

Se evaluó además la presencia de aposición, mecanismo de crecimiento del hueso. Estas se caracterizan como capas neoformados sobre superficies libres del hueso. No se encontró aposición en la muestra 6, y en la muestra 1 y 2 esta se dió de forma irregular. Las muestras 3 a 5 presentaron aposición regular. La tabla 3 presenta la relación de esta aposición.

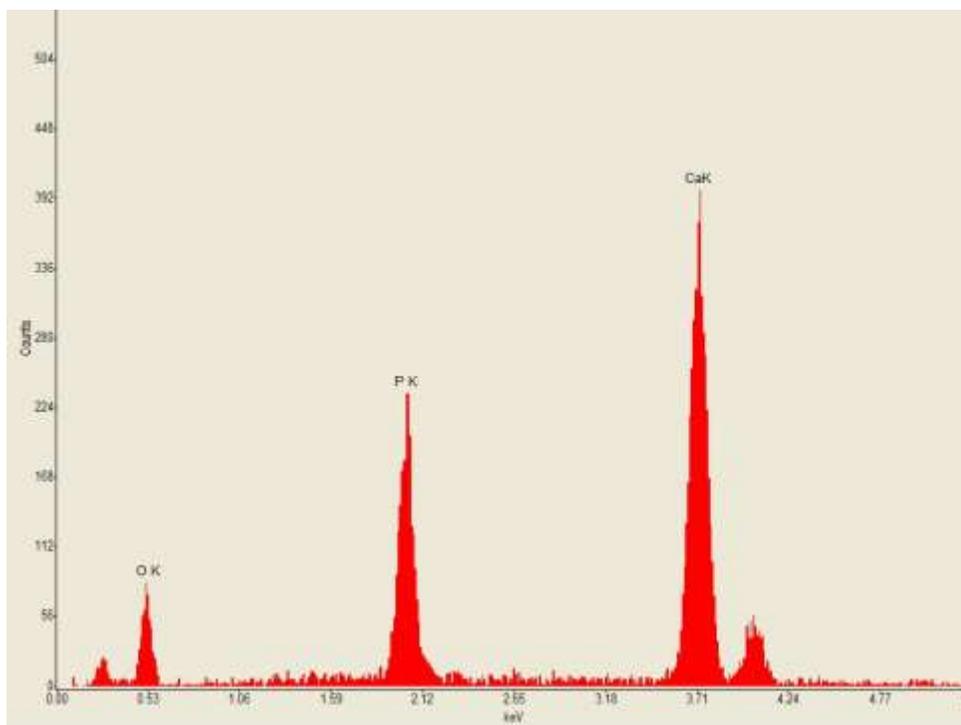
Tabla 3. Aposición en las muestras

MUESTRA	APOSICION	
	REGULAR	IRREGULAR
MUESTRA 1 - 7		x
MUESTRA 2		X
MUESTRA 3	X	
MUESTRA 4	X	
MUESTRA 5	X	
MUESTRA 6	NO	

Se exploró además la presencia de desmineralización ósea en las muestras. Se encontró evidencia de pérdida de la densidad del hueso en las muestras 1, 2, 3 y 6. En las muestras 1 y 6 esta se dió de forma lineal y en las muestras 2 y 3 de forma radial. La tabla 4 presenta estos hallazgos.

Tabla 4. Hallazgos en la desmineralización de las muestras.

MUESTRA	DESMINERALIZACION	
	LINEAL	RADIAL
MUESTRA 1	X	
MUESTRA 2		X
MUESTRA 3		X
MUESTRA 4		
MUESTRA 5		
MUESTRA 6	X	



GRÁFICA 1
DESMINERALIZACIÓN

En contra a las células óseas identificadas se encontraron hallazgos diversos pero interesantes. Únicamente en las muestras 1 y 3 se encontró evidencia de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. En la muestra 2 hubo evidencia de osteoblastos y osteocitos, en la muestra cuatro se encontraron solamente osteoblastos. La tabla 5 presenta los resultados encontrados sobre células óseas en las muestras.

Tabla 5. Células óseas identificadas en las muestras.

MUESTRA	CELULAS OSEAS		
	BLASTO	CITO	CLASTO
MUESTRA 1	X	X	X
MUESTRA 2	X	X	No
MUESTRA 3	X	X	X
MUESTRA 4	X	No	No
MUESTRA 5	No	No	No
MUESTRA 6	No	No	No

En cuanto a la presencia de tejido mieloide productor de las células sanguíneas y presente en el hueso este se encontró sólo en la muestra 1. En las demás muestras de hueso analizadas no se encontró evidencia de la presencia de este tejido. La tabla 6 presenta la relación de la identificación del tejido mieloide.

Tabla 6. Tejido mieloide en las muestras analizadas.

MUESTRA	TEJIDO MIELOIDE	
	SI	NO
MUESTRA 1	x	
MUESTRA 2		X
MUESTRA 3		X
MUESTRA 4		X
MUESTRA 5		X
MUESTRA 6		X

Se identificaron células de la sangre en algunas de las muestras. En las muestras 1 y 3 se identificaron tanto glóbulos rojos como glóbulos blancos. En las demás muestras no pudieron identificarse estos elementos. La tabla 7 presenta esta información.

Tabla 7. Relación de presencia de células de la sangre en las muestras.

MUESTRA	CELULAS SANGRE	
	GR	GB
MUESTRA 1	x	x
MUESTRA 2	NO	NO
MUESTRA 3	X	X
MUESTRA 4		
MUESTRA 5	NO	NO
MUESTRA 6	NO	NO

Abreviaciones: GR glóbulos rojos, GB glóbulos blancos.

Al examinar la contaminación de las muestras con suelo se encontró que las muestras 1 y 2 presentaban evidencia de contaminación, en las demás muestras no se encontró. La tabla 8 presenta estos resultados.

Tabla 8. Evidencia de contaminación de las muestras.

MUESTRA	CONTAMINACION SUELO	
	SI	NO
MUESTRA 1	X	
MUESTRA 2	X	
MUESTRA 3		X
MUESTRA 4		
MUESTRA 5		X
MUESTRA 6		X

Por otra parte la muestra 6 mostró evidencia de abundantes artificios en las muestras. La tabla 9 presenta los resultados encontrados sobre la presencia de artificios en las muestras analizadas.

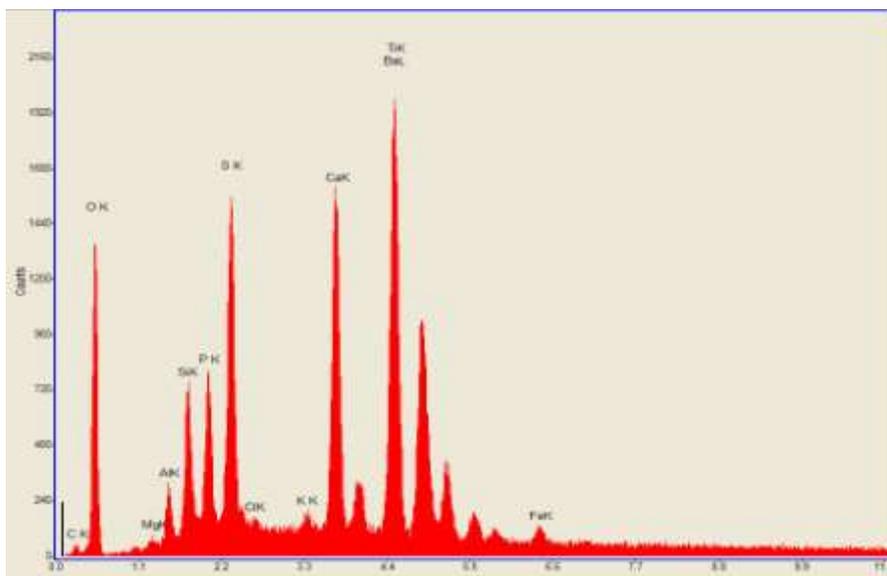
Tabla 9. Artificios de las muestras.

MUESTRA	ARTIFICIOS	
	ESCASAS	ABUNDANTES
MUESTRA 1	X	
MUESTRA 2	X	
MUESTRA 3	X	
MUESTRA 4		
MUESTRA 5	X	
MUESTRA 6		X

Se identificaron dos elementos biogénicos en las muestras que fueron caracterizados químicamente. Como elementos se encontraron el carbono, oxígeno, magnesio, aluminio, silicio, fósforo, cloro, calcio, titanio e hierro. La tabla 10 presenta el resumen de hallazgos sobre la presencia de los iones en estos elementos en las zonas periférica y central de la muestra para el elemento biogénico 1.

Tabla 10. Elementos biogénicos elemento 1

ZONA BIOGENICO	elemento	%wt1	at%1
PERIFERIA	C	4,47	8,24
PERIFERIA	O	44,3	61,31
PERIFERIA	Mg	0,25	0,23
PERIFERIA	Al	0,95	0,78
PERIFERIA	Si	4,78	4,78
PERIFERIA	P	9,81	7,01
PERIFERIA	Cl	0,96	0,6
PERIFERIA	Ca	22,1	12,21
PERIFERIA	Ti	9,75	4,51
PERIFERIA	Fe	0,67	0,27
CENTRO	C	4,27	1,09
CENTRO	O	102,8	1,67
CENTRO	Mg	2,72	5,04
CENTRO	Al	14,71	7,16
CENTRO	Si	39,48	7,92
CENTRO	P	216,22	10,44
CENTRO	Cl	21,41	14,8
CENTRO	Ca	54,8	15,09
CENTRO	Ti	17,18	14,05
CENTRO	Fe	8,81	11,36

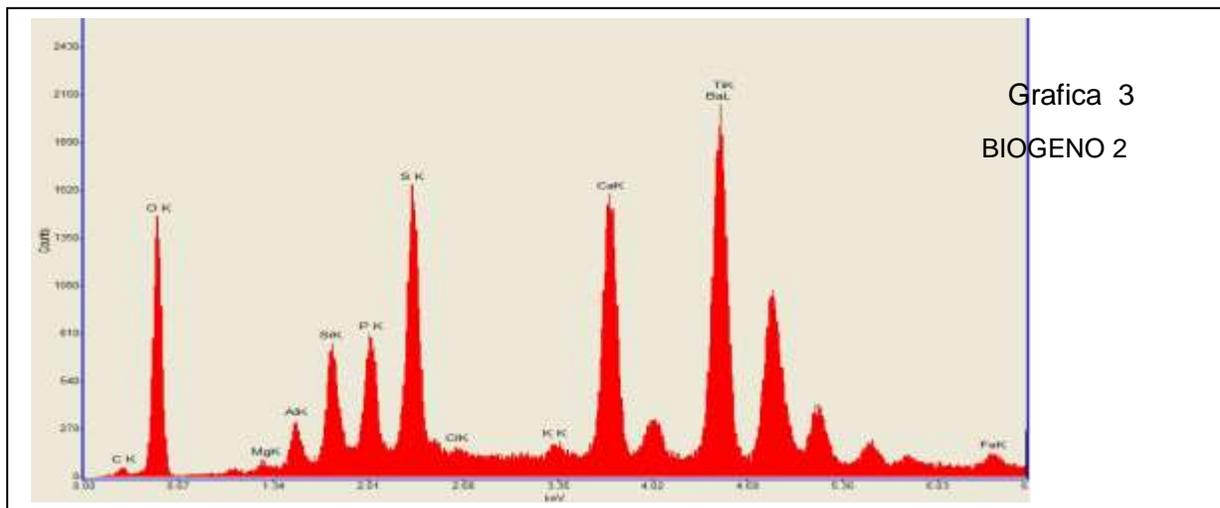


GRÁFICA 2
BIOGENO 1

En el otro elemento biogénico identificado se identificaron iones de oxígeno, aluminio, silicio, fósforo, potasio, calcio y hierro. La tabla 11 presenta el resumen de hallazgos de la muestra y el control incluido.

Tabla 11. Elemento biogénico 2

Zona	Elemento	2peso%wt	2atomosat%
zona 2 1 sífiles	O	117,51	1,27
zona 2 1 sífiles	Al	20,27	5,74
zona 2 1 sífiles	Si	64,62	6,37
zona 2 1 sífiles	P	298,78	8,41
zona 2 1 sífiles	K	11,47	11,34
zona 2 1 sífiles	Ca	762,84	9,72
zona 2 1 sífiles	Fe	15,17	6,21
zona 2 2 sífiles	O	30,39	0,56
zona 2 2 sífiles	Al	7,35	2,96
zona 2 2 sífiles	Si	15,44	3,14
zona 2 2 sífiles	P	132,85	3,87
zona 2 2 sífiles	K	4,08	4,7
zona 2 2 sífiles	Ca	341,27	3,94
zona 2 2 sífiles	Fe	10,27	2,47
control	O	30,39	0,56
control	Al	7,35	2,96
control	Si	15,44	3,14
control	P	132,85	3,87
control	K	4,08	4,7
control	Ca	341,27	3,94
control	Fe	10,21	2,47



Como puede apreciarse a diferencia del elemento presentado anteriormente en este no se encuentra la presencia del titanio.

Se realizó un análisis mediante la aplicación de una anova de 2 vías para conocer si existía alguna dependencia entre los elementos y zonas biogénicas identificadas, sin embargo no se encontró evidencia alguna de dependencia o relación entre las variables. La tabla 12 presenta los resultados del análisis por anova.

Tabla 12. Anova de 2 vías, elementos biogénicos

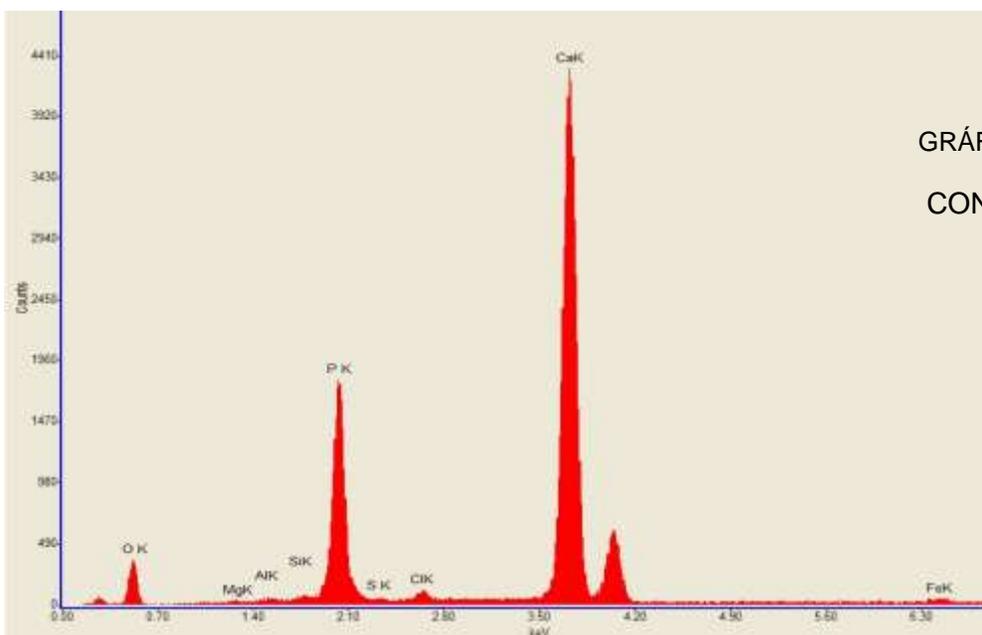
VARIABLE	FACTORES	PRUEBA	Valor p
% PESO	ZONA 1 SIFILIS	ANOVA 2 FACTORES 1 MUESTRA POR GRUPO	0,432
	ELEMENTOS QUIMICOS		0,000
% ATOMOS	ZONA 2 SIFILIS		0,47
	ELEMENTOS QUIMICOS		0,000

De esta información puede interpretarse que el porcentaje promedio de peso en las dos zonas con sífilis no difiere significativamente. El porcentaje de de peso de los elementos químicos presentes en ambas zonas difiere significativamente. El porcentaje promedio de átomos en las dos zonas con sífilis no difiere significativamente y el porcentaje de átomos presentes en ambas zonas difiere significativamente, es decir las dos zonas identificadas presentan diferencias significativas en su composición.

Al realizar la comparación con el control también hubo hallazgos interesantes. La tabla 13 presenta estos resultados.

Tabla 13. Comparación de los elementos biogénicos con el control.

VARIABLE	FACTORES	% PROMEDIO	LSD FISHER	
% PESO	CONTROL	9,29	P>0.05	
	ZONA 1 1 SIFILIS	8,53		
	ZONA 1 2 SIFILIS	9,29		
	ELEMENTO QUIMICO			
	Al	1,18	p<0.05	
	Ca	34,27		
	Fe	1,71		
	K	0,42		
P	14,36			
Si	2,27			
% ATOMOS	CONTROL	5,84	P>0.05	
	ZONA 1 1 SIFILIS	5,34		
	ZONA 1 2 SIFILIS	5,84		
	ELEMENTO QUIMICO			
	Al	1	p<0.05	
	Ca	19,61		
	Fe	0,7		
	K	0,25		
P	10,63			
Si	1,84			



GRÁFICA 4

CONTROL

Con base en esta tabla se encuentra que el porcentaje de peso por la diferencia mínima significativa de Fischer no presenta diferencia significativa entre los factores control, y las dos zonas con sífilis. El porcentaje de peso por la diferencia mínima significativa de Fischer presenta diferencia significativa entre los elementos químicos. El porcentaje de átomos por la diferencia mínima significativa de Fischer no presenta diferencia significativa entre los factores control, y las dos zonas con sífilis. El porcentaje de átomos por la diferencia mínima significativa de Fischer presenta diferencia significativa entre los elementos químicos

También se realizó un análisis para conocer si existían relaciones entre la procedencia de la muestra y otras variables. La tabla 14 presenta la información de esta comparación.

Tabla 14. Relación de la procedencia con otras variables de estudio

VARIABLES		Valor P	Prueba	Resultado
PROCEDENCIA vs	RX	0,736	Tao deKrendall c	Independencia
	MACRO	0,181	Tao deKrendall c	Independencia
	ULTRA	0,046	Tao deKrendall b	Dependencia
	TIPO HUESO	0,819	Tao deKrendall c	Independencia
	APOSICIÓN	0,999	Tao deKrendall c	Independencia
	TEJIDO	0,361	Tao deKrendall c	Independencia
	SUELO CONTAMINADO	0,535	Tao deKrendall c	Independencia
	CELULA OSEA	0,262	Tao deKrendall c	Independencia
	SUPERFICIE	0,361	Tao deKrendall c	Independencia
	OSTEONES	0,361	Tao deKrendall c	Independencia
	DEMINERALIZACION	0,317	Tao deKrendall c	Independencia
	BIOGENICOS	0,543	Tao deKrendall c	Independencia
	ARTIFICIOS	0,136	Tao deKrendall c	Independencia
	SANGRE	0,000	Tao deKrendall c	Dependencia

Con base en esta información se encuentra que la presencia de la variable Ultraestructura depende de la Procedencia. La presencia de sangre depende de la procedencia. Por otra parte las demás variables son independientes, es decir cualquiera de las variables se presenta en cualquiera de las procedencias.

4.2 DESCRIPCIÓN PALEOHISTOPATOLOGIA DE LAS MUESTRAS

MUESTRA 1

J.V. Rodríguez y colaboradores ⁽¹³⁾ mediante un rescate arqueológico de un cementerio en el Salado, Magdalena describen al individuo T-5 de sexo femenino fechados entre en siglo VII y VIII d.C. Fig. 15

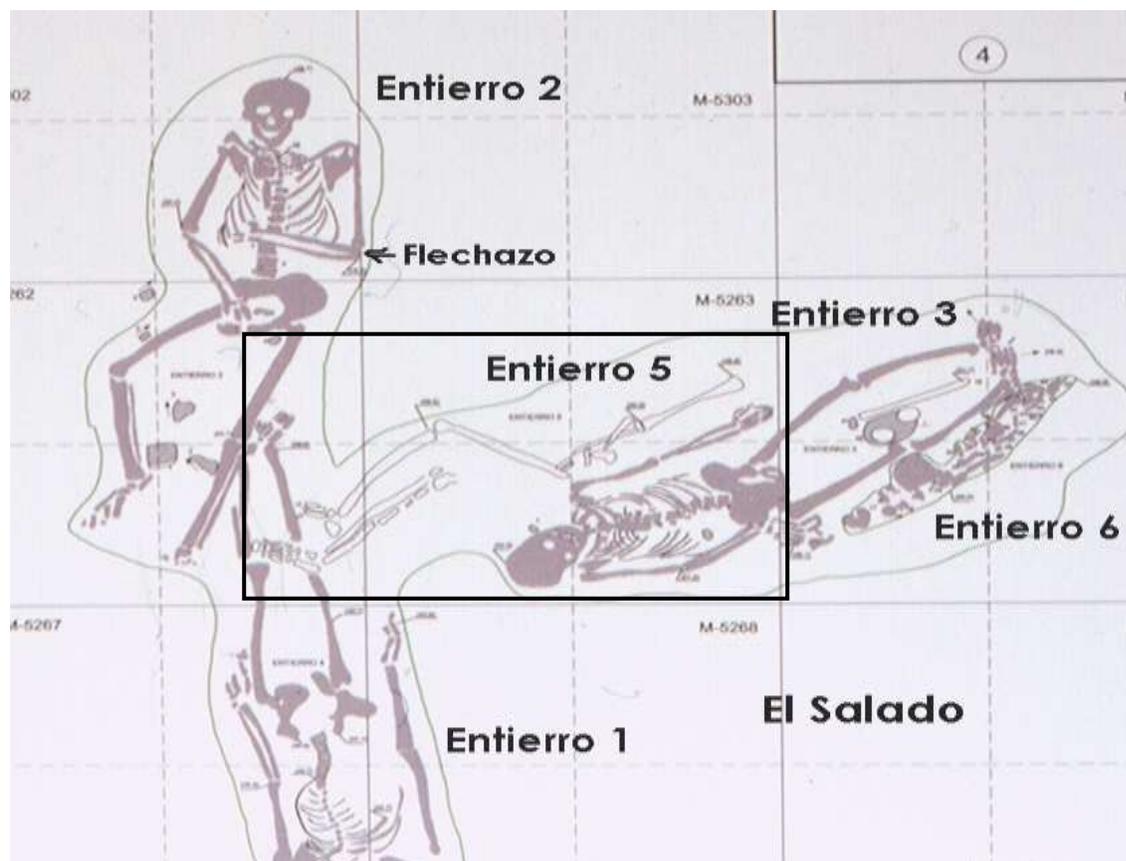


Fig. 15. El esquema muestra la posición del individuo 5, encontrado en el entierro del salado. Tomado de Rodríguez, Rodríguez, 2002:198. Cortesía del Dr. J.V. Rodríguez

La muestra corresponde a la diáfisis de la tibia derecha con un importante incremento en el diámetro central adquiriendo la forma en sable, característica morfológica de la treponematosi. Fig. 16 A y 16 B

MUESTRA 1. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Fig. 16 A

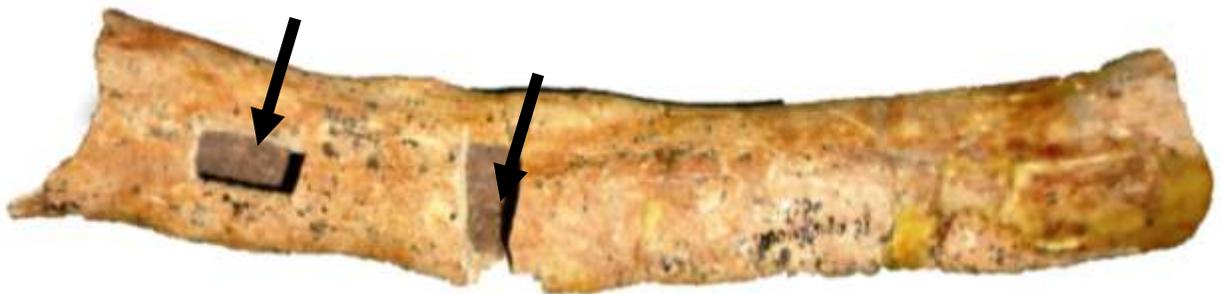


Fig. 16 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 16 A. Proyección lateral de la superficie cortical del cuerpo de la tibia derecha de a muestra 1. Es evidente el engrosamiento central e irregular del cuerpo óseo.

Fig. 16 B. Vista posterior del cuerpo de la diáfisis tibial. La flecha señala la zona de donde fueron tomadas las muestras para el análisis con MEB

La superficie cortical es irregular, presenta zonas de aposición y reabsorción con aéreas poróticas y zonas de cavitación con contaminación superficial. La superficie cortical es irregular, como puede verse en las Fig. 16 A, 16 B y 18 A.

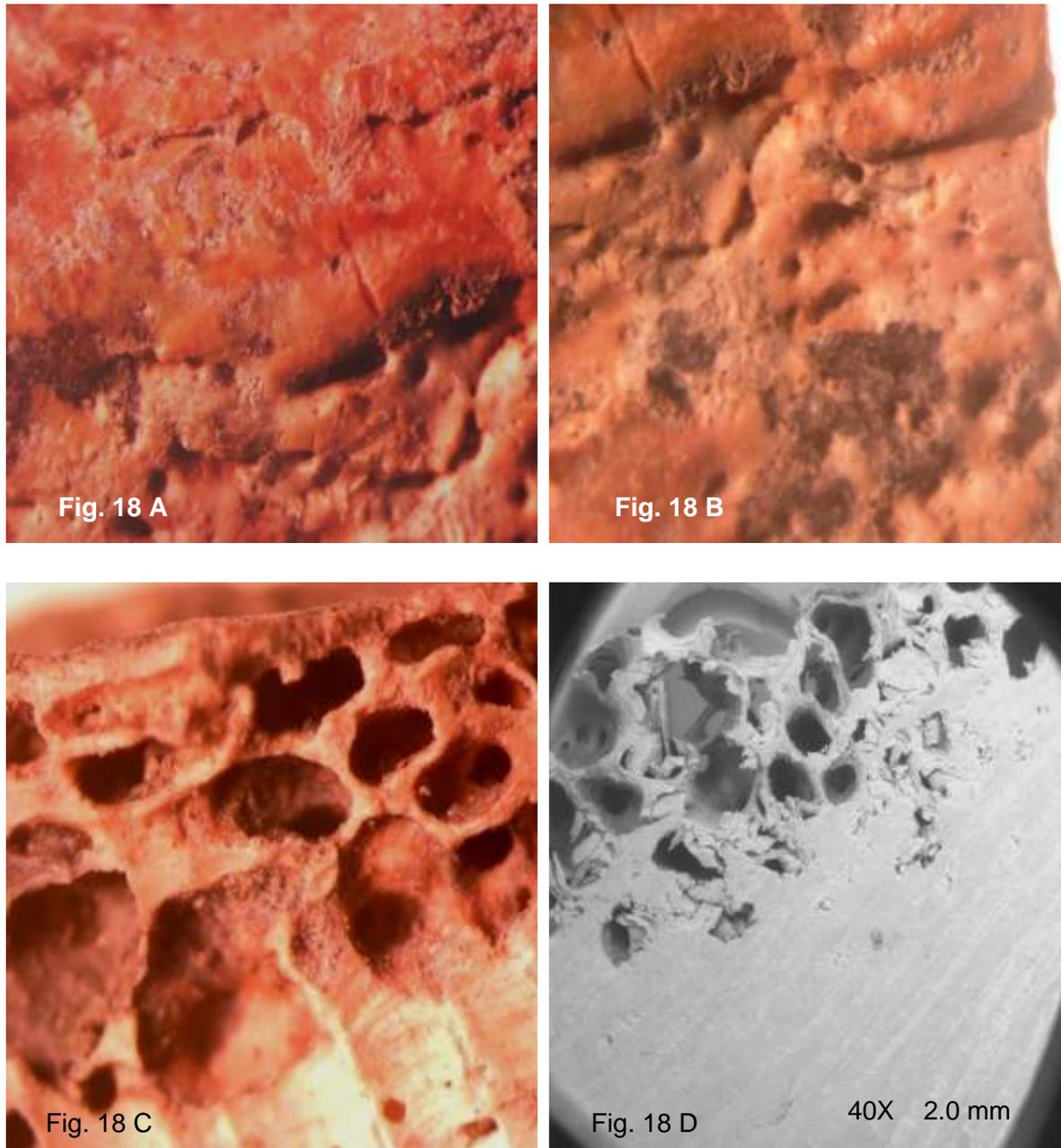
MUESTRA 1. CARACTERISTICAS RADIOGRAFICAS



Rx tomada por Castañeda Z.

Fig. 17. Proyección lateral de la tibia derecha en sable, característica de la treponematosis. La cortical ósea es irregular, con una marcada desviación e incremento de la densidad en la zona central. Se identifican zonas de pérdida de densidad y líneas de fractura

La imagen radiografica convencional (Fig, 17) muestra un engrosamiento de la cortical, con una marcada desviacion en el eje longitudinal, las zonas hipodensas corresponden a los sitios donde se tomaron las biopsias.

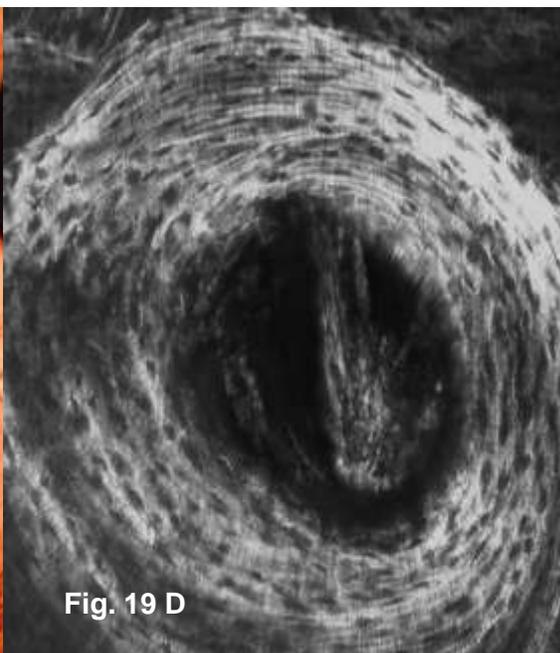
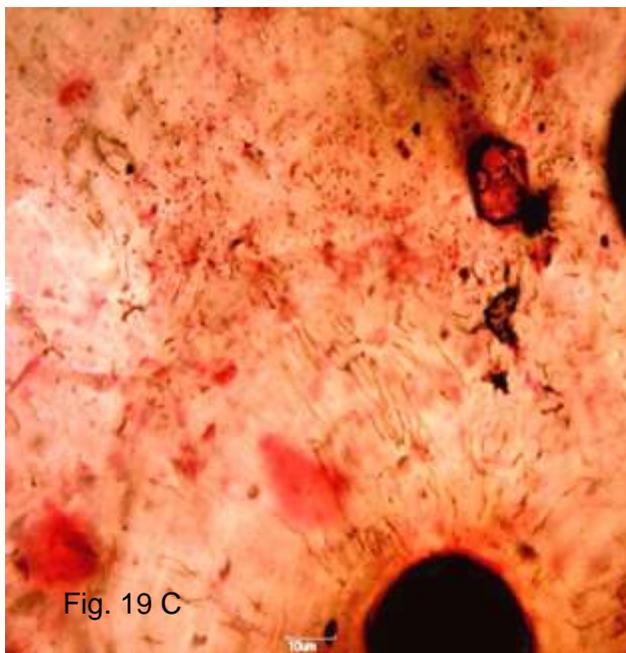
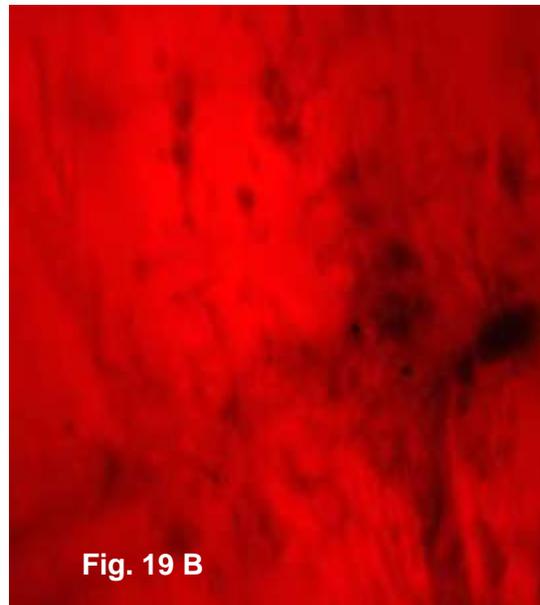
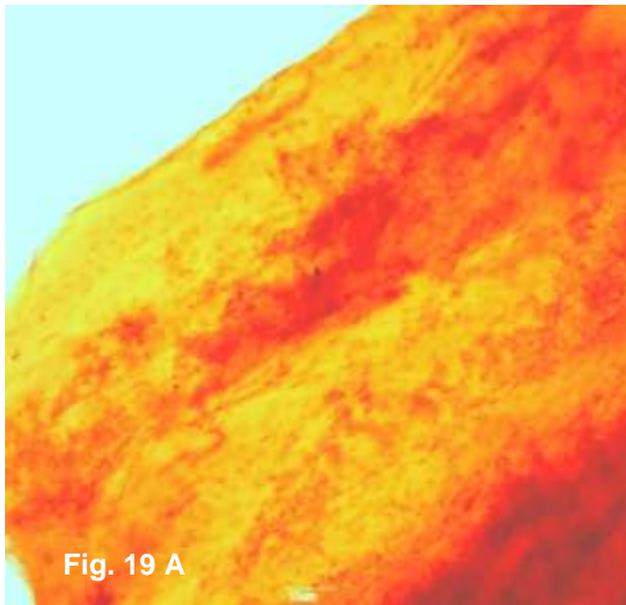
MUESTRA 1. CARACTERÍSTICAS ESTEREOSCÓPICAS DE SUPERFICIE

Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 18 A- B. Microscopio Estereoscópico. La superficie externa de la cortical presenta deformación, depresiones superficiales y zonas de cavitación con artificios propios del enterramiento.

Fig. 18 C. Características macroscópicas de la interfase entre el hueso compacto y el esponjoso, el cual se encuentra aumentado

Fig. 18 D. MEB 40X. Se aprecia una zona cortical de hueso compacto aumentada al igual que el incremento del hueso esponjoso



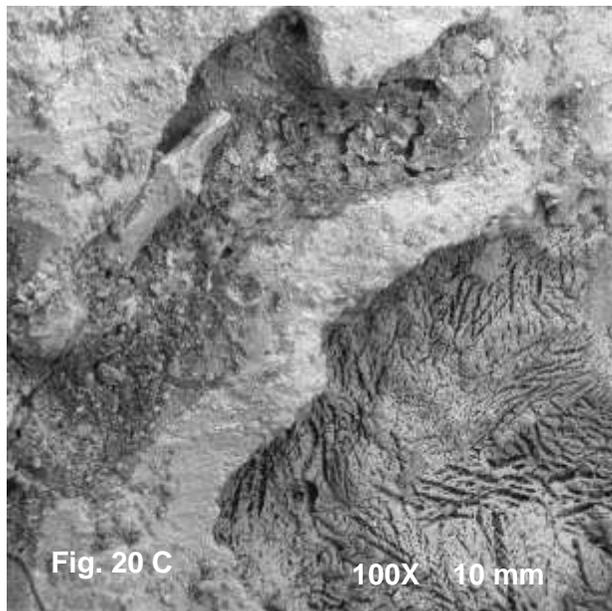
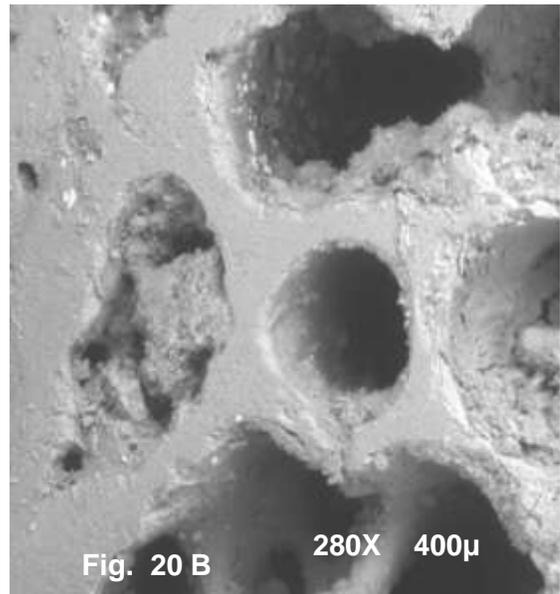
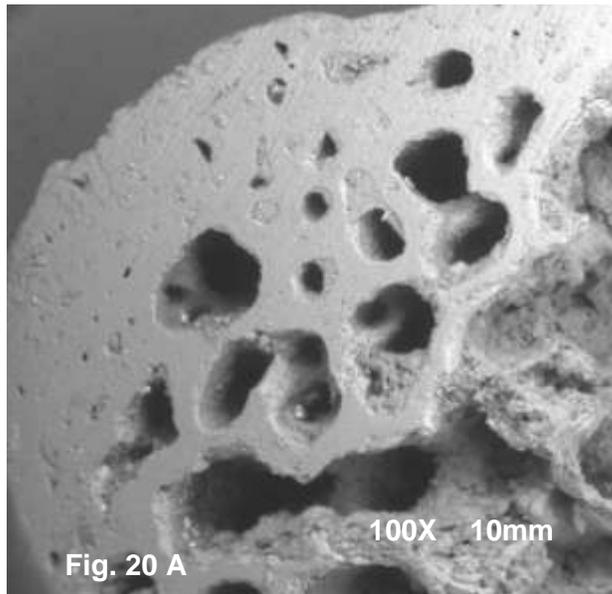
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C.

Fig. 19 A. Preparación por descalcificación. Aunque el contraste no es muy bueno se identifican lagunas óseas

Fig. 19 B. Microscopio Confocal. Lagunas óseas con canalículos RAMIFICADOS

Fig. 19 C. Preparación por desgaste. . Se identifica parte de un ósteon, además se encuentran artificios en la preparación por contaminación y, lagunas con canalículos óseos

Fig. 19 D. Microscopio Confocal. Se observa claramente un ósteon, el sistema laminar concéntrico y el conducto de Havers.

MUESTRA 1. CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES

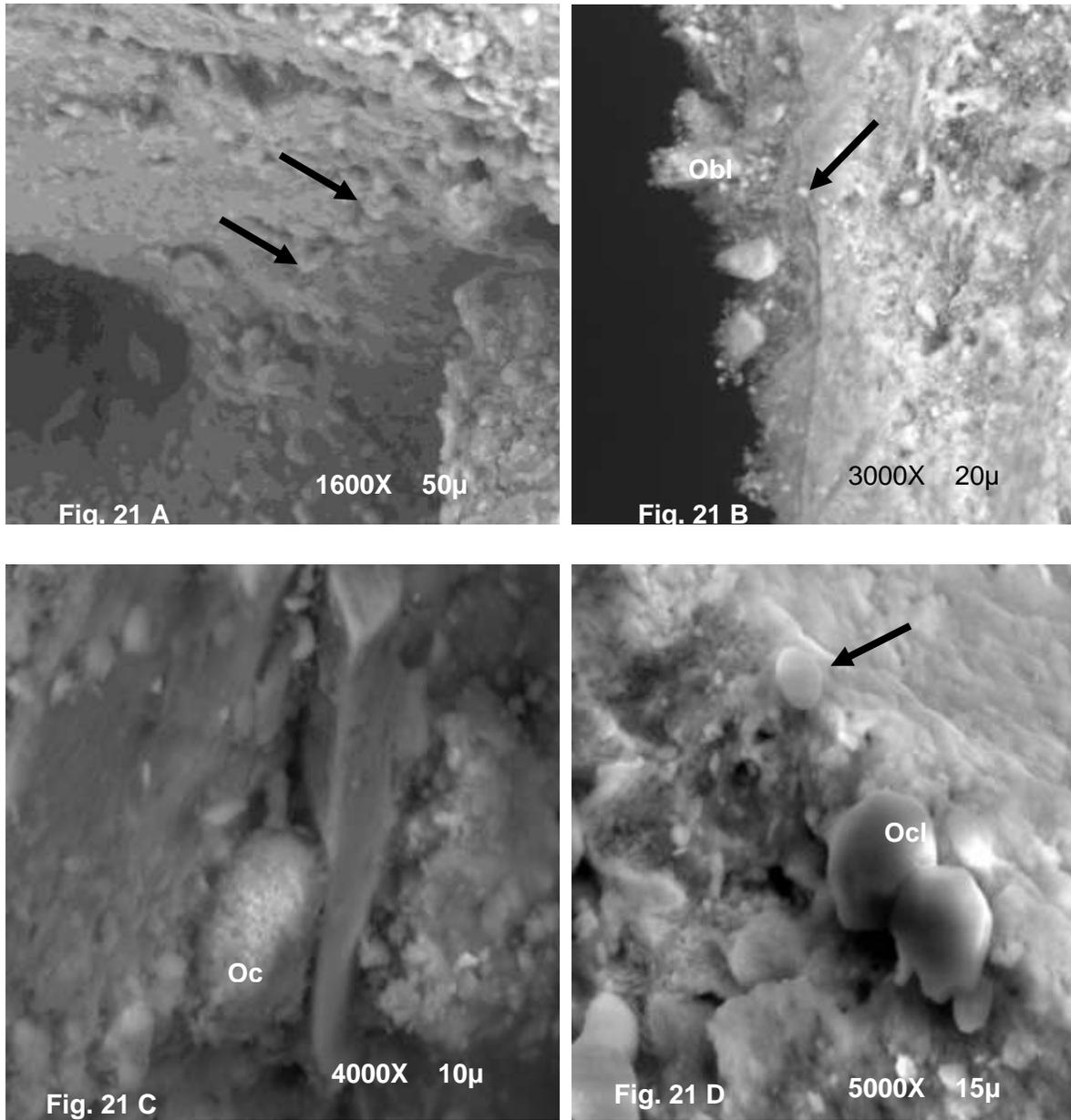
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolínez A.

Fig. 20 A- B. MEB, 40 100X respectivamente. la imagen muestra las características del hueso compacto, trabéculas gruesas producto de una alta actividad del endostio

Fig. 20 C. MEB, 100X. La cortical superficial presenta zonas de decalcificación con una disposición radial, donde son evidentes los patrones de cavitación.

Fig. 20 D. MEB 800X. Al profundizar en las zonas de cavitación, se observan espículas delgadas, sueltas e irregulares.

ML



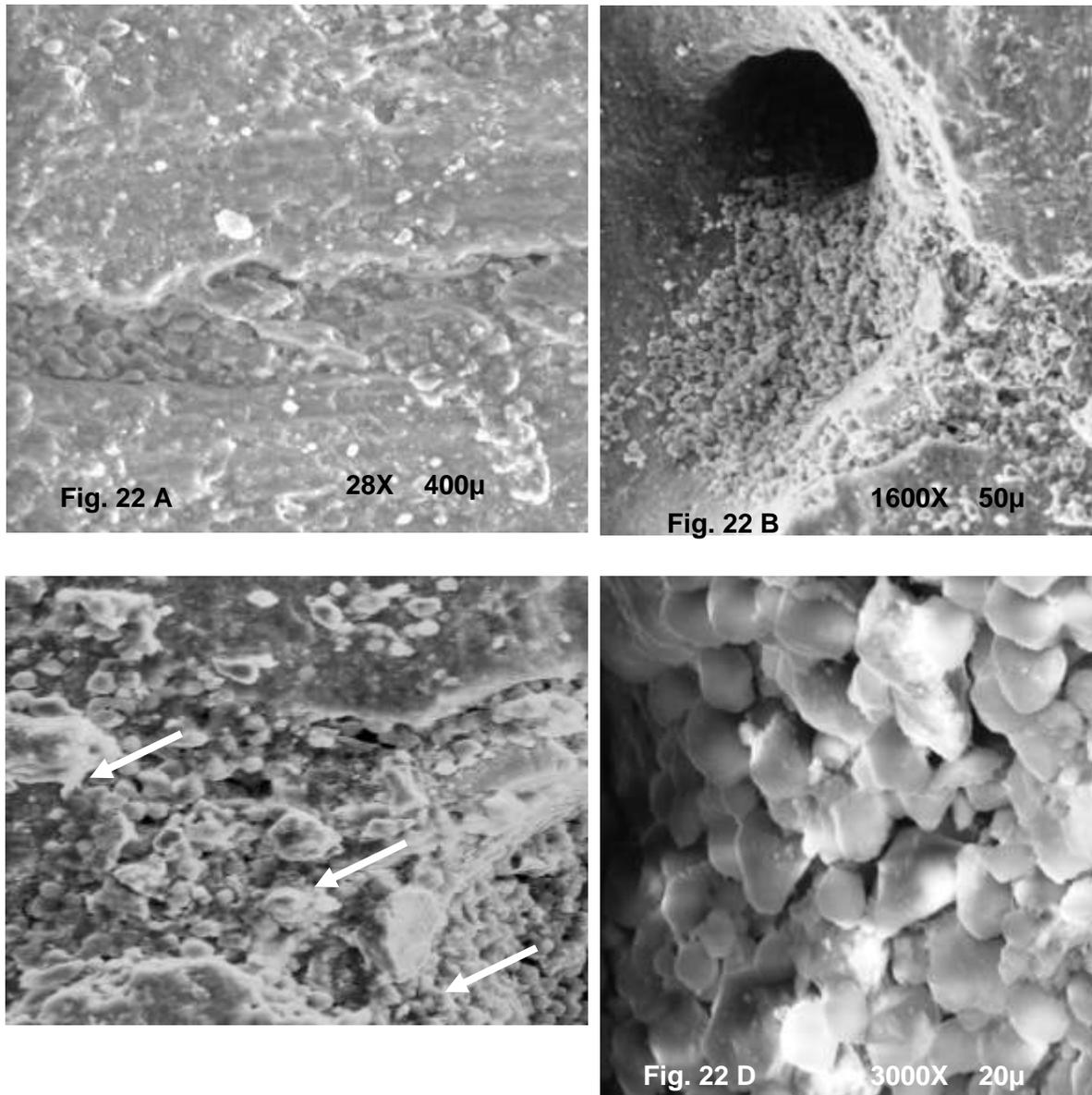
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 21 A. MEB 2000X. Pared de un conducto de Havers. La flecha señala los osteoblastos recubriendo la superficie ósea.

Fig. 21 B. MEB 3600X. La flecha señala la interfase hueso-endostio. Dentro de la matriz orgánica se ubican los osteoblastos. (Obl).

Fig. 21 C. MEB 4000X Laguna ósea donde se localiza un osteocito (Oc) la superficie de la membrana plasmática se observa ligeramente rugosa y en la porción superior es evidente la presencia de una prolongación citoplasmática

Fig. 21 D. MEB 2400X. Se identifican células globulares que corresponden a Osteoclastos (Ocl), en la parte inferior se aprecian los podosomas. La flecha señala un eritrocito



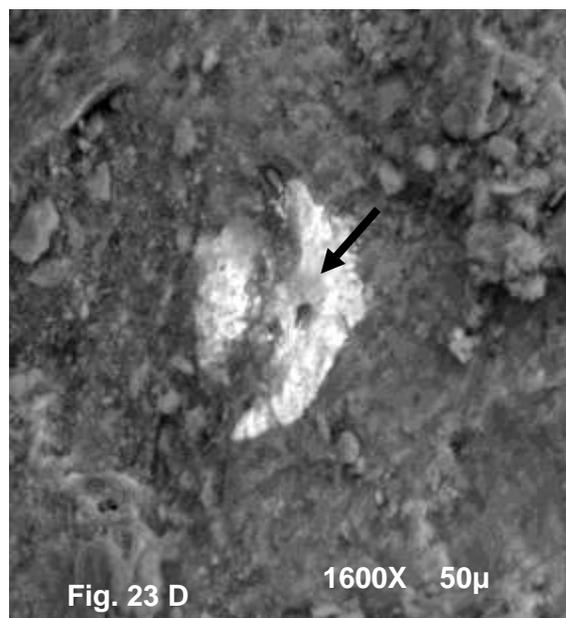
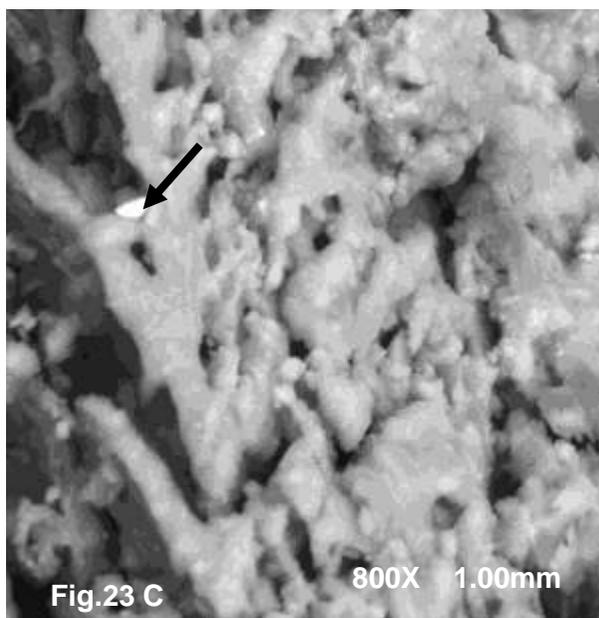
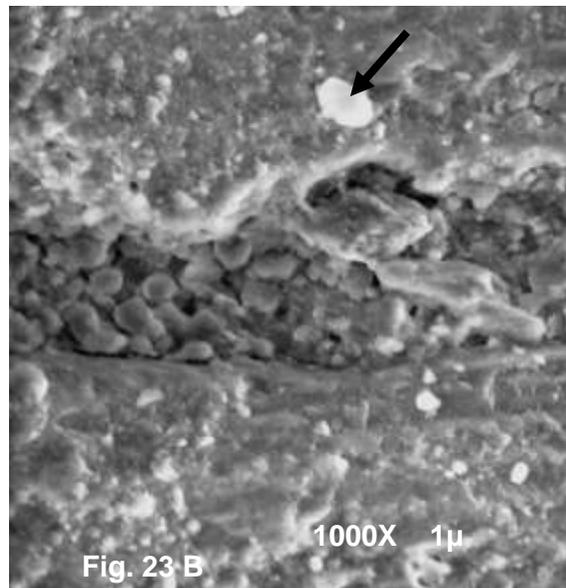
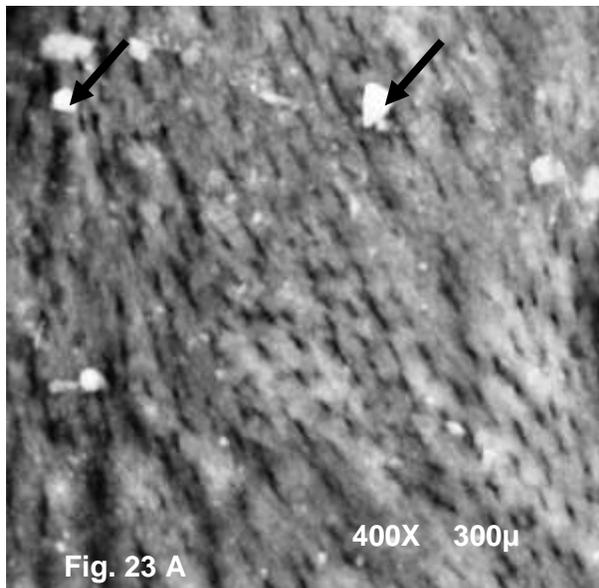
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolínez A.

Fig. 22 A. MEB 300X. El recuadro señala un lecho vascular con muchas células sanguíneas en su interior.

Fig. 22 B. MEB 300X. Hueso esponjoso y en el intersticio se identifican células que pueden hacer parte del tejido mieloide.

Fig. 22 C. MEB 600X. Zona intertrabecular, la fotografía muestra una zona muy laxa que corresponde muy seguramente a tejido mieloide. Es importante resaltar la presencia de células gigantes (flecha)

Fig. 22 D. MEB 1200X. Presencia de células momificadas, de diferente forma y tamaño, debido a los procesos de deshidratación normal por el enterramiento



Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A

Fig. 23 A- B. MEB 1500X. Corte longitudinal de hueso compacto, corresponde a hueso laminar que presenta gran cantidad de lagunas óseas. La flecha muestra un compuesto biogénico

Fig. 23 B. MEB 300X. Las trabeculas oseas laterales al lecho vascular presenta elementos biogenicos

Fig. 23 C. MEB 1600X Área cortical de desmineralización radial. La flecha muestra un elemento biogenico

Fig. 23 D. MEB 1000X. Zona superficial con presencia de elemento biogénico completamente asociado a la matriz

MEB 1000X

J.V. Rodríguez y colaboradores⁽¹³⁾ en un rescate arqueológico de un cementerio en Soacha; referencian el individuo prehispánico como perteneciente a la región de los Andes Orientales, perteneciente al área cultural Chibcha, grupo étnico Muisca tardío, fechados entre en siglo IX y XII d.C. La muestra corresponde a un hueso sin periostitis. Corresponde al grupo control prehispánico.

MUESTRA 2 . CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS



Fig. 24 A



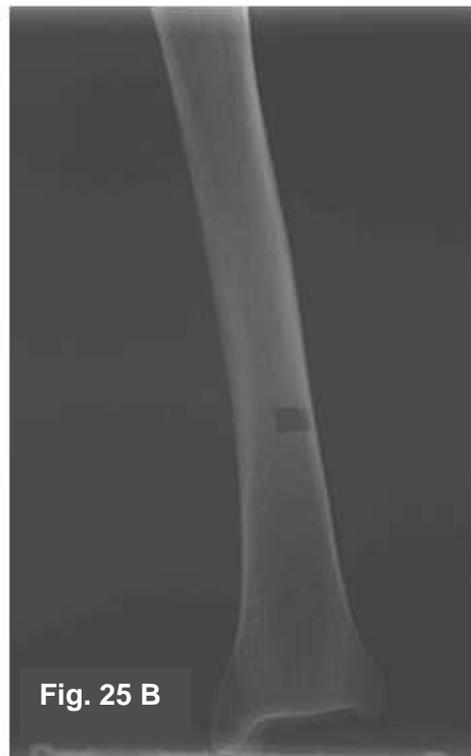
Fig. 24 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 24 A. Tibia completa. Una de las características morfológicas macroscópicas es la presencia de una zona arqueada en la porción superior de la diáfisis, que puede ocasionarse por estrés. El diámetro es regular a todo lo largo del cuerpo óseo sin embargo se encuentra una zona pigmentada en el área de la metáfisis

Fig. 24 B. Solución de continuidad localizada y pigmentada.

MUESTRA 2. CARACTERISTICAS RADIOGRAFICAS



Rx tomadas por Castañeda Z.

Fig. 25 A. Imagen radiográfica convencional de la zona media de la epífisis y diáfisis superior. Se observa una ligera curvatura y zonas de pérdida de la cortical ósea por desmineralización.

Fig. 25 B. La imagen corresponde a la parte inferior de la tibia, se identifica una zona hipodensa regular y bien delimitada correspondiente al área de toma de la muestra

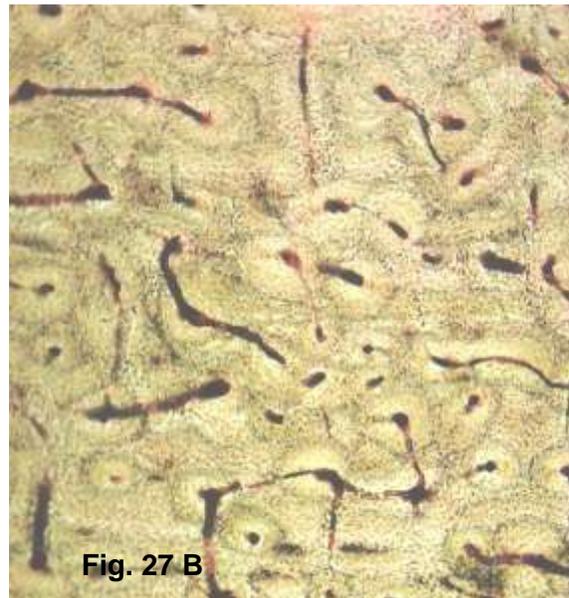
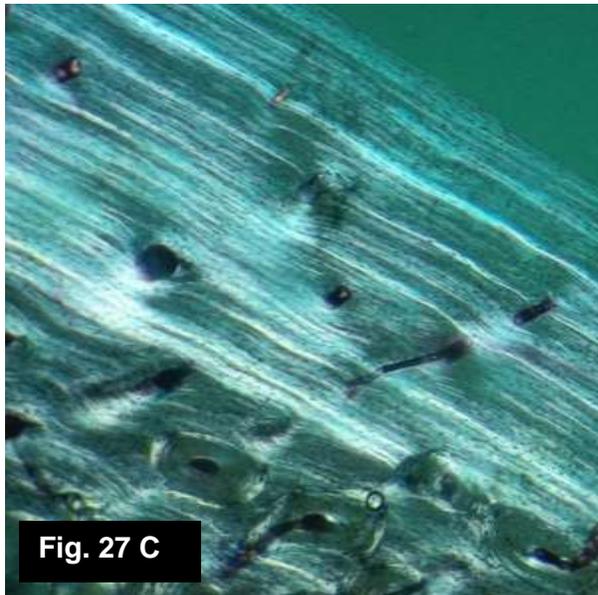
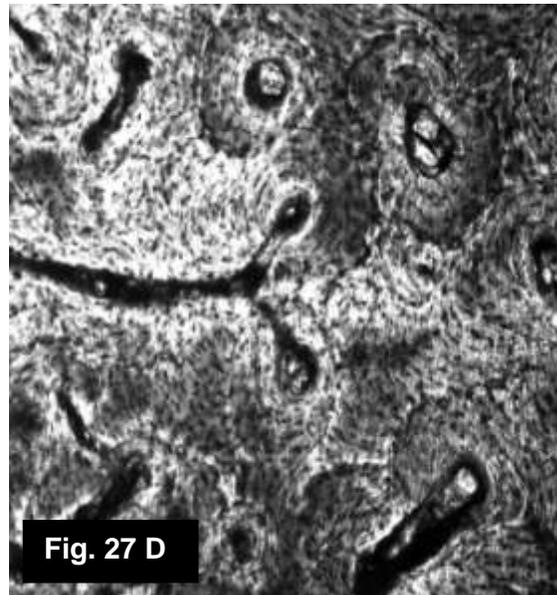
MUESTRA 2. CARACTERISTICAS ESTEREOSCOPICAS DE SUPERFICIE**Fig. 26 A****Fig. 26 B**

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 26 A. Corte transversal de la diáfisis de la muestra 2.

Se observa una cortical ligeramente aumentada de tamaño pero las características morfológicas son normales; llama la atención la pérdida del hueso trabécular con respecto a la muestra del hueso con periostitis.

Fig. 26 B. Zona medular ósea, corresponde a la cara interna de o endostica, se observan pocas trabéculas gruesas cortas y paralelas

MUESTRA 2. CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS**Fig. 27 A****Fig. 27 B****Fig. 27 C****Fig. 27 D**

Fotografías tomadas por Castañeda Z. Contreras D.

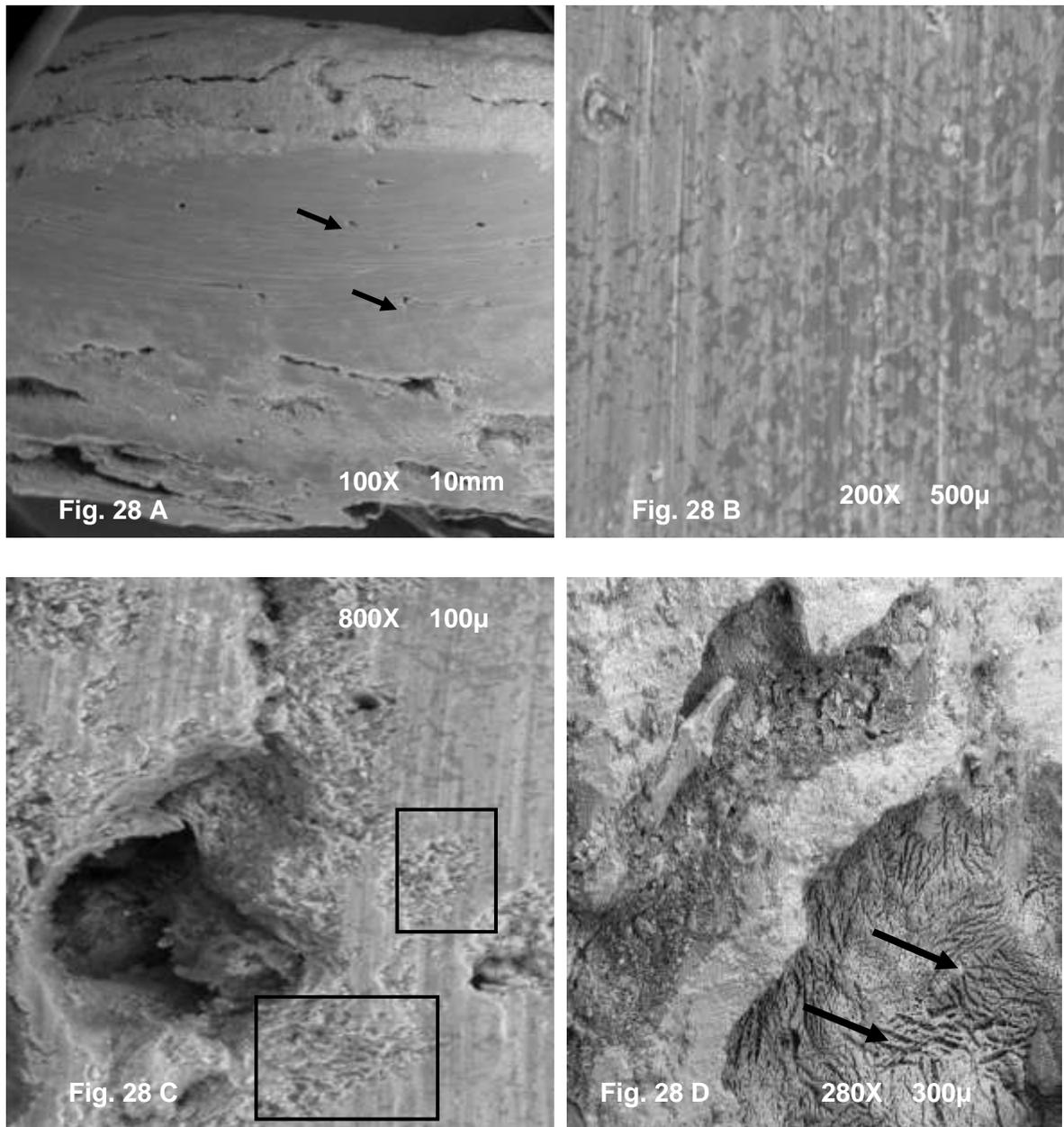
Fig. 27 A Corte por desgaste, vista panorámica, contrastada con Eosina. Se puede definir la arquitectura triangular del cuerpo diafisiario, el hueso compacto y escaso esponjoso.

Fotografía tomada por el Dr. D.D. Contreras

Fig. 27 B. Hueso compacto en una preparación por desgaste, se identifican los osteones y conductos perforantes.

Fig. 27 C. Sistemas laminares. Técnica de polarización. Fotografía tomada por el Dr. D.D. Contreras

Fig. 27 D. DIC. Sistemas laminares organizados densamente



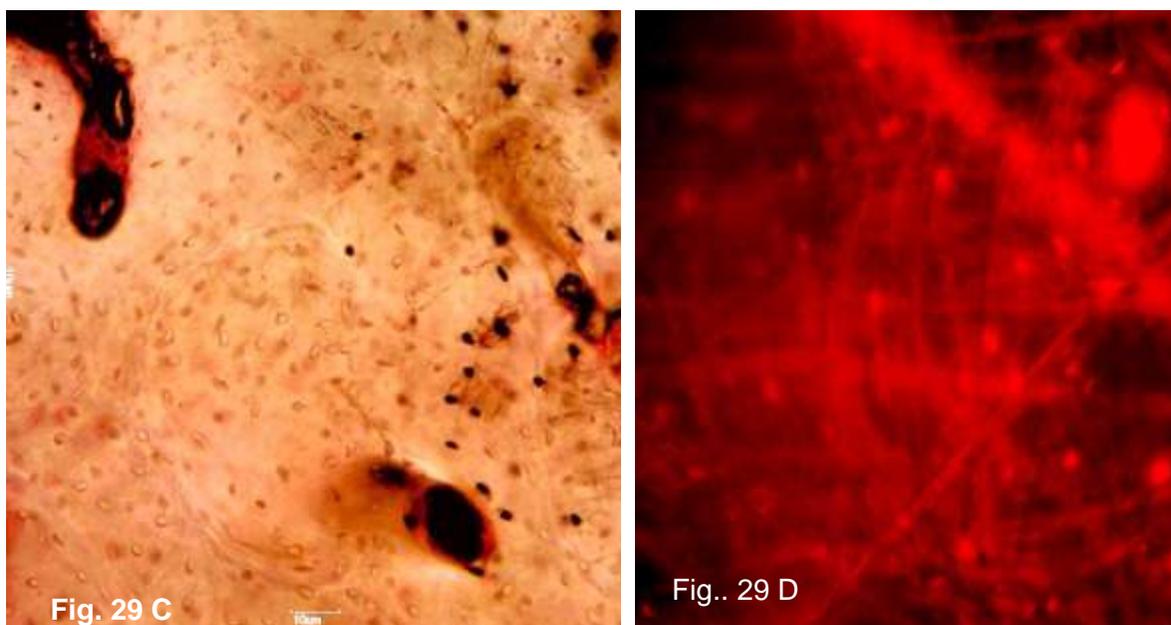
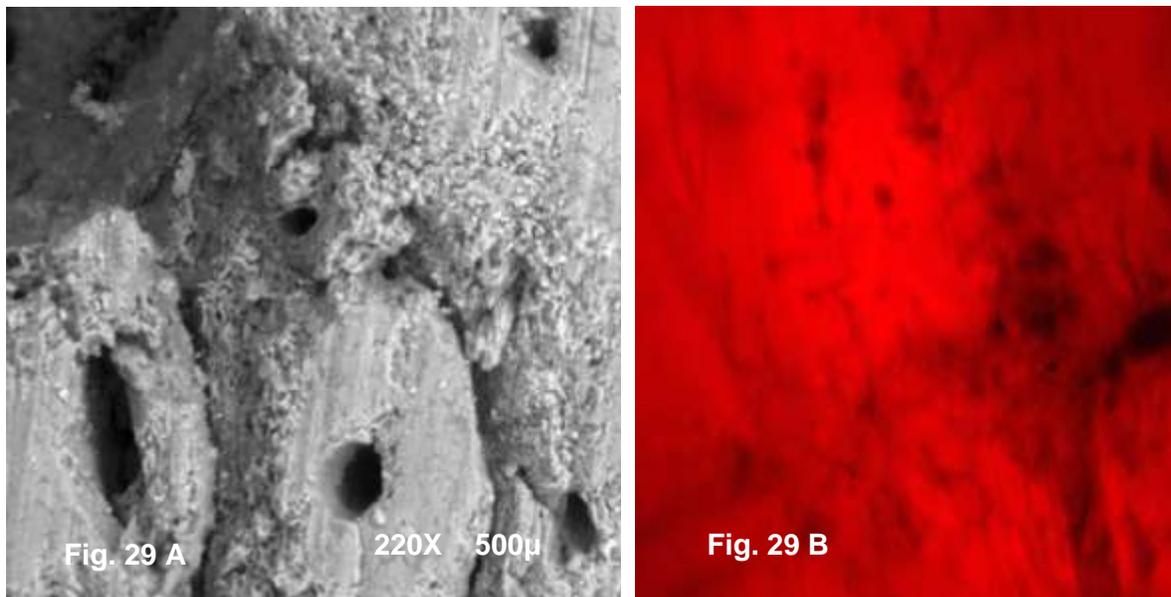
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 28 A. MEB 24X. . Corte transversal de la epífisis. Se observa un aumento en el tamaño de la cortical ósea, debido a un proceso de aposición perióstica, se observan conductos de Havers alejados. (Flechas)

Fig. 28 B. MEB 400X. El aspecto del hueso es moteado, debido a la desmineralización

Fig. 28 C. MEB 600X. El campo muestra zonas decalcificadas localizadas (recuadro)

Fig. 28 D. MEB 700X. Se observa la disposición lineal de tipo radial de la pérdida ósea



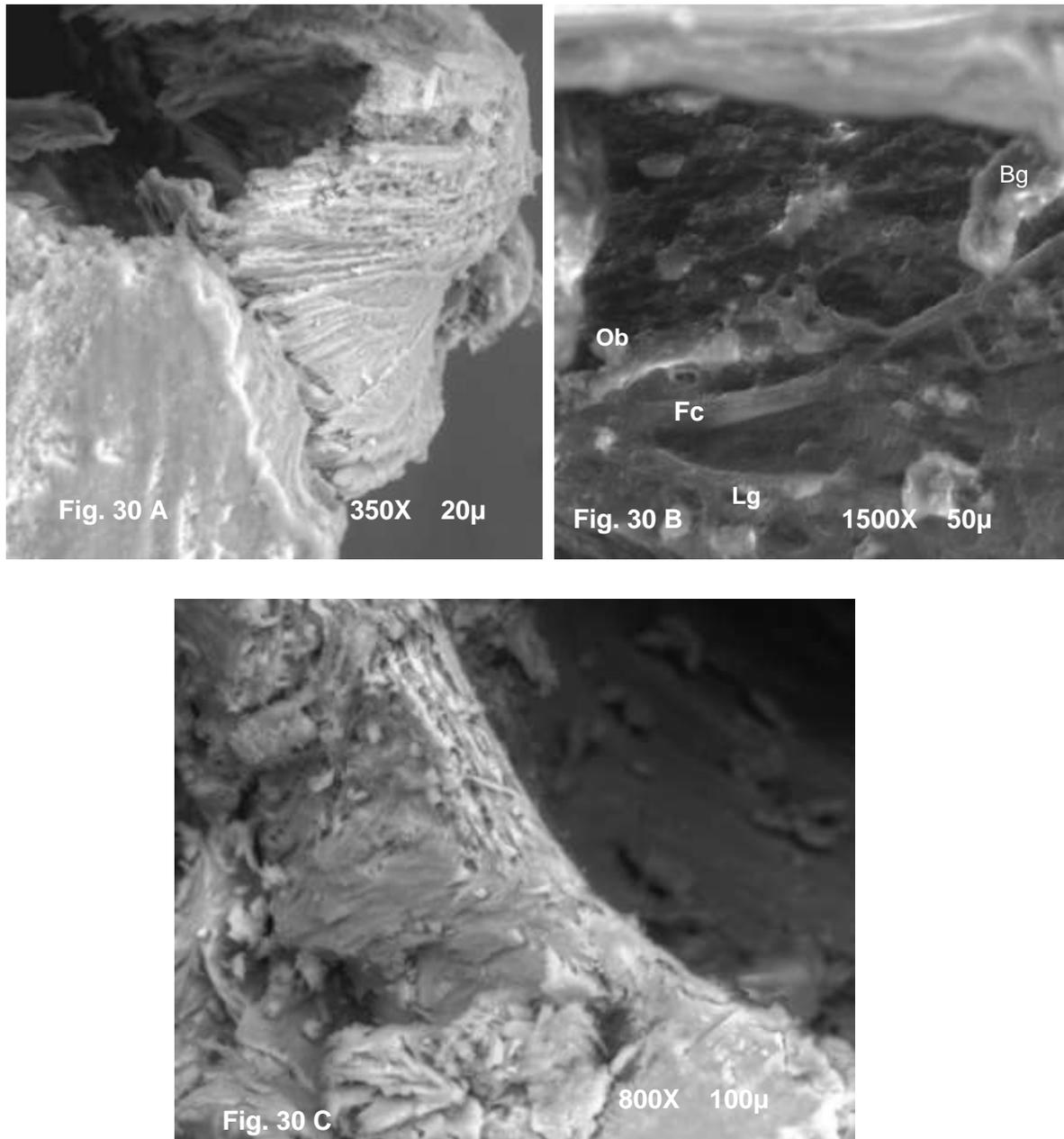
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C. Antolinez A.

Fig. 29 A. MEB 380X. El campo es específico para ubicar osteones maduros y jóvenes.

Fig. 29 B. M. Confocal. Se identifican las lagunas óseas con sus respectivos canaliculos.

Fig. 29 C. Preparación de hueso por desgaste. Observe el conducto de Havers y de Volkmann.

Fig. 29 D. M. Confocal. La fluorescencia de la Eosina hace evidente lagunas óseas y fibras de colágenos.



Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 30 A.. MEB 600X. Se observa una pérdida ósea superficial en una zona de ruptura del tejido. Es interesante observar la presencia de fibras colágenas regulares y organizadas.

Fig. 30 B. Características ultramicroscópicas de restos deshidratados del endostio, donde se identifican lagunas óseas, fibras colágenas, osteoblastos y elementos biogénicos

Fig. 30 C. MEB 800X. Se aprecia una organización regular de fibras colágenas

ML

Muestra de individuo prehispánico sin periostitis, codificado como TC-X ubicado en la región de andes orientales, cultura chibcha grupo étnico Muisca-Herrera de poblamiento en la zona de Sogamoso, en el centro del país siglos XI- XVI d.C.

MUESTRA 3. CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS



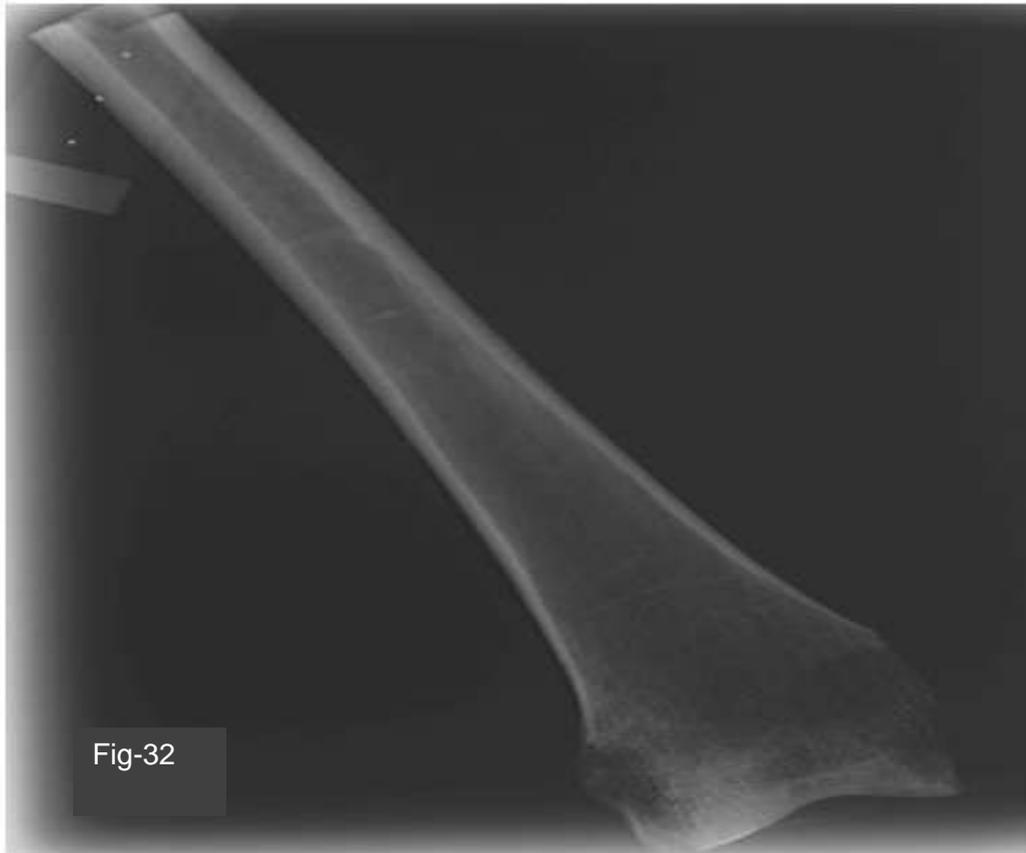
Fig. 31 A



Fig. 31 b

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 31 A-B. Segmento de tibia de un individuo adulto. Presenta pérdida ósea marcada en la zona e los cóndilos, con exposición del hueso esponjoso

MUESTRA 3. CARACTERÍSTICAS RADIOGRAFICAS

Rx. tomada por Castañeda Z.

Fig. 32. Radiografía convencional del segmento inferior de una tibia derecha. Presenta cortical ósea regular y definida con canal medular amplio; existe una pérdida ósea masiva a nivel condilar

MUESTRA 3. CARACTERÍSTICAS ESTEREOOSCÓPICAS DE SUPERFICIE

Fig. 33 A.

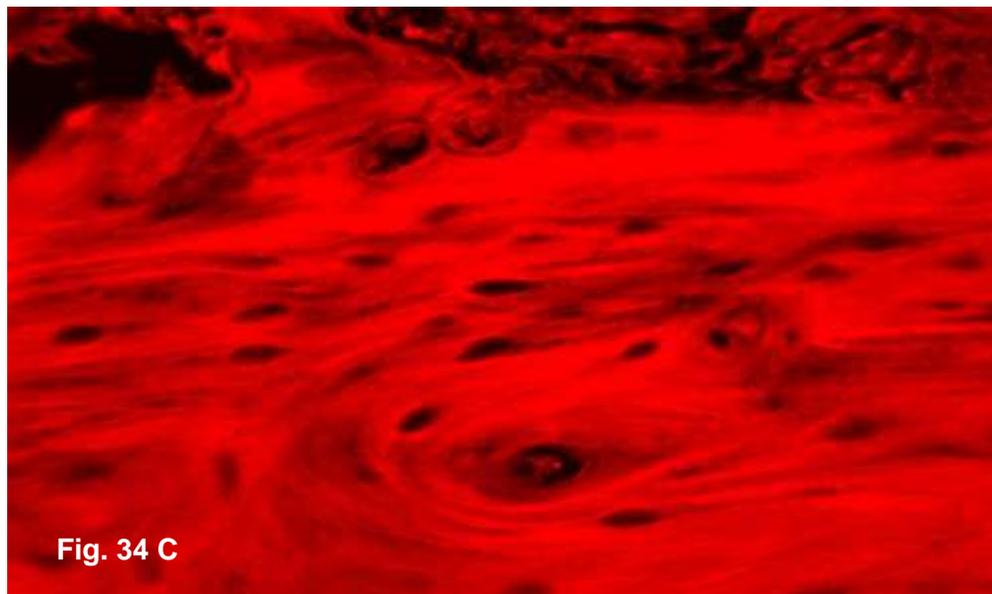
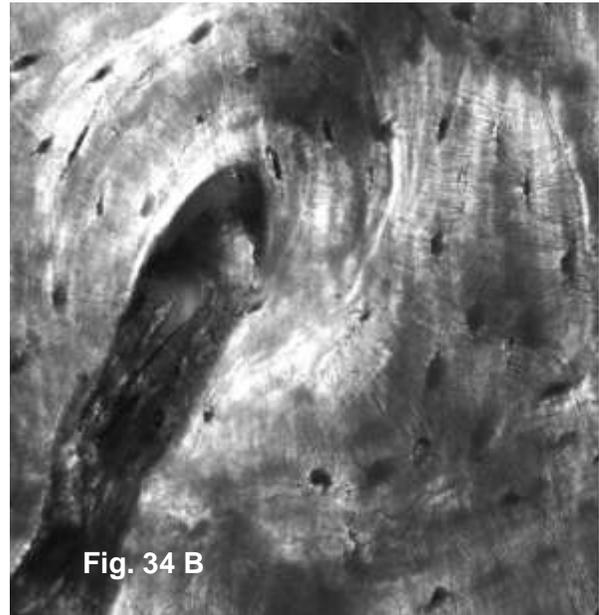


Fig. 33 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 33 A. Corte longitudinal de un segmento medial de la diáfisis de la tibia. La flecha señala el hueso compacto de la cortical de apariencia homogénea, regular y definida.

Fig. 33 B. La cara interna de la muestra presenta espículas óseas cortas, gruesas y anastomosadas

MUESTRA 3. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

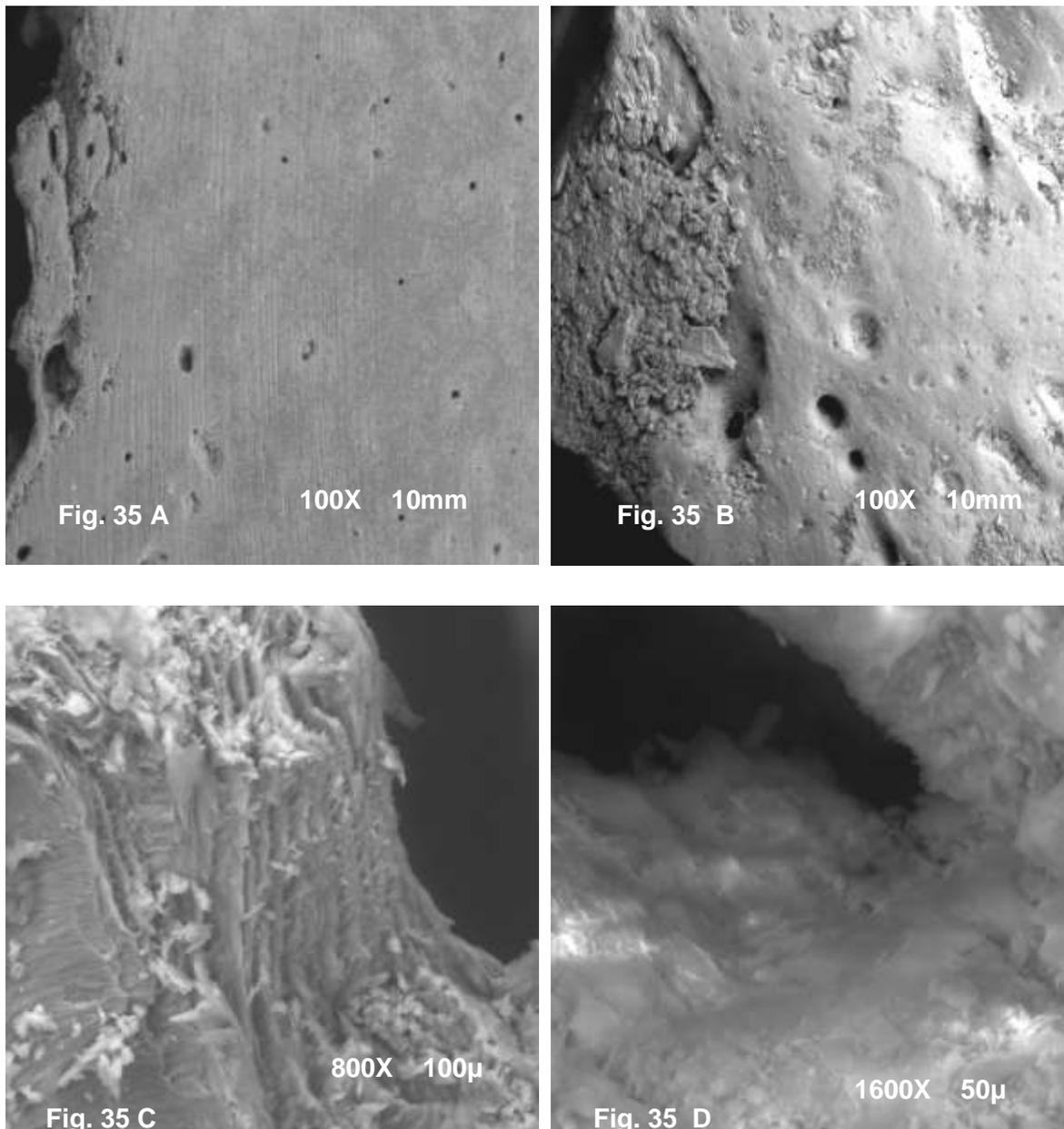
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C.

Fig. 34 A. Preparación por desgaste, contrastada con Eosina, se observa una cortical bien preservada con presencia de sistemas laminares periosticos y conductos perforantes.

Fig. 34 B. DIC. La imagen muestra conductos de Havers y perforantes, sistemas laminares y la ubicación de lagunas óseas intercomunicadas por canaliculos o conductillos óseos.

Fig. 34 C. M. Confocal. Perfecta disposición de los conductos de Havers, lagunas óseas y sistemas laminares. Hacia la periferia se observa una zona de aposición de matriz calcificada

MUESTRA 3. CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES



Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 35 A. MEB. 50X. Corte transversal de la diáfisis de un segmento de fémur, presenta una cortical gruesa definida y regular, con presencia de osteones y de identifican los conductos de Havers

Fig. 35 B. MEB. 50X. La muestra la superficial externa de la corteza del fémur donde se identifican algunas depresiones y cavitaciones independientes y bien definidas.

Fig. 35 C. MEB. 400X. la imagen presenta una organización regular y paralela del colágeno.

Fig. 35 D. MEB 800X. Se identifican pequeños cuerpos celulares de osteoblastos, sobre la superficie ósea

MUESTRA 4

Fémur de individuo joven entre los 8 a 12 años, considerado dentro del grupo contemporáneo de mitad del siglo X; sin periostitis, sin codificar, ubicado en el anfiteatro de la facultad de medicina,

MUESTRA 4. CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS

Fig. 36 A



Fig. 36 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 36 A y B. Características macroscópicas de un individuo adolescente donde la arquitectura morfológica está completamente preservada, los cóndilos no se encuentran completamente desarrollados, se ubica la metafisis, con una ligera pérdida de la cortical de la cabeza articular

MUESTRA 4. CARACTERÍSTICAS RADIOGRAFICAS

Rx. Tomada por Castañeda Z.

Fig. 37. Radiografía convencional del segmento inferior del fémur. La imagen es característica de un hueso joven, presenta un canal medular amplio y cortical definido con una buena densidad ósea

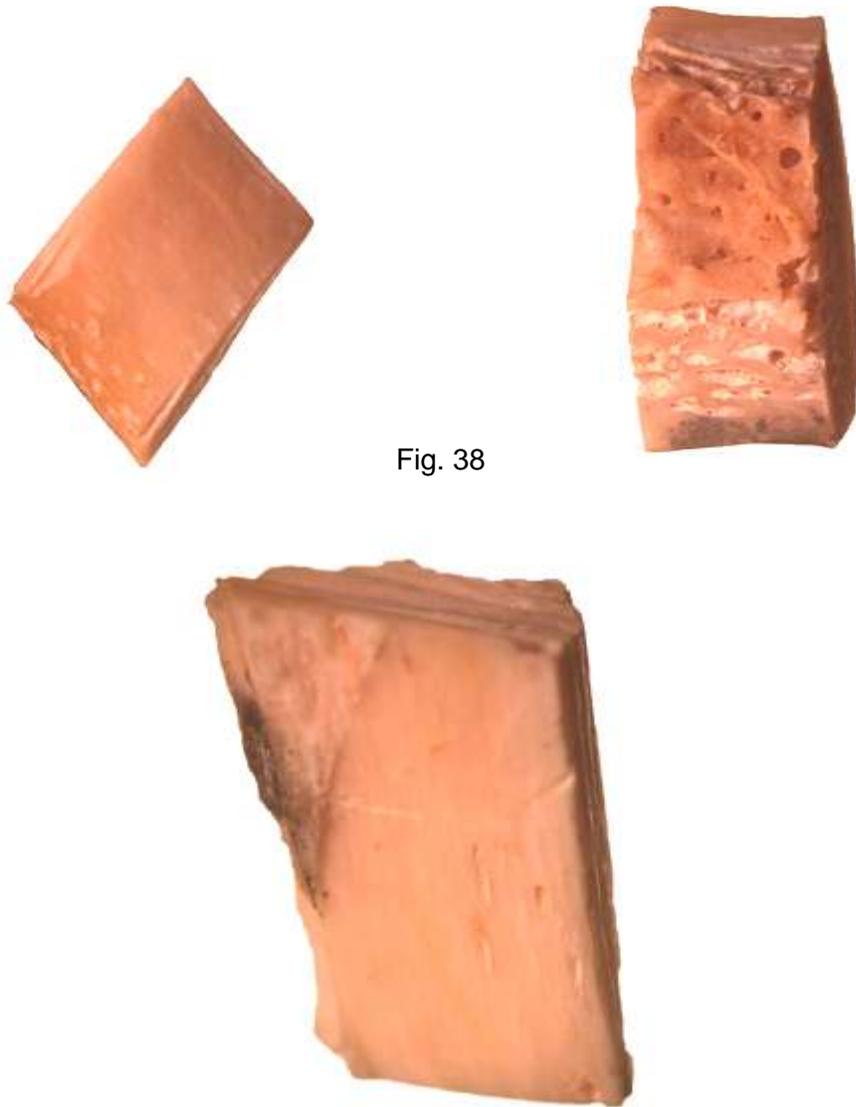
MUESTRA 4. CARACTERÍSTICAS ESTEREOSCOPICAS DE SUPERFICIE

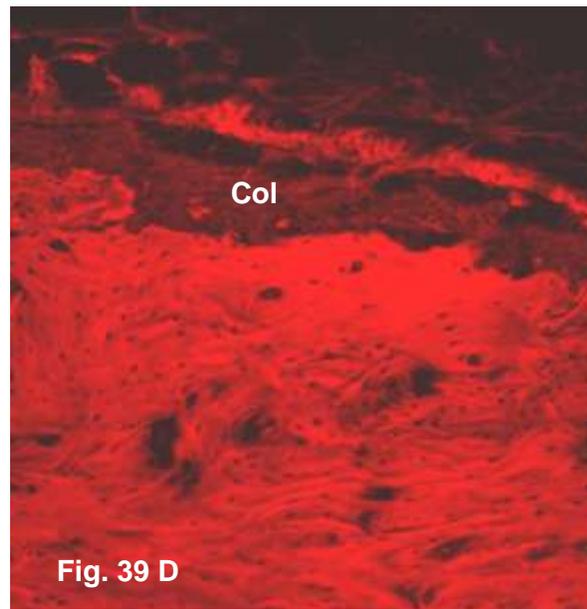
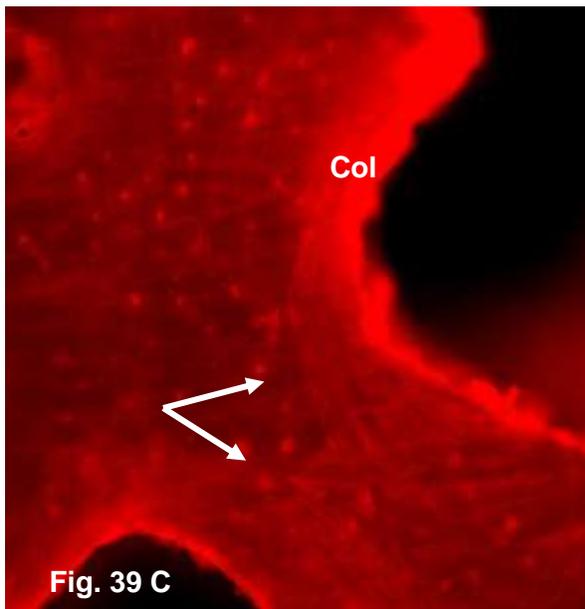
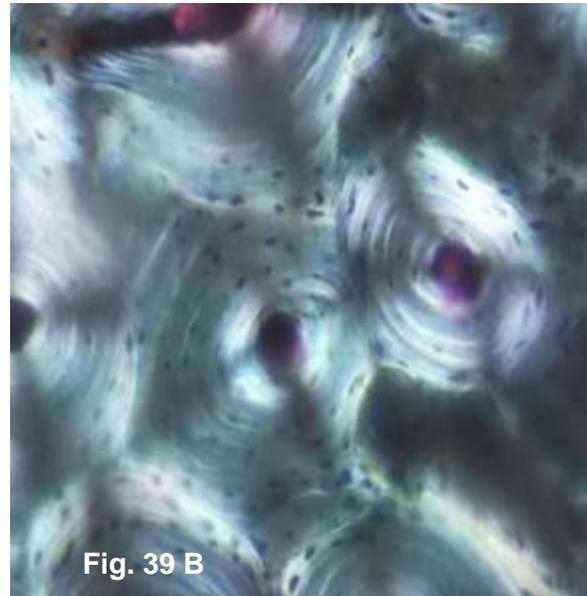
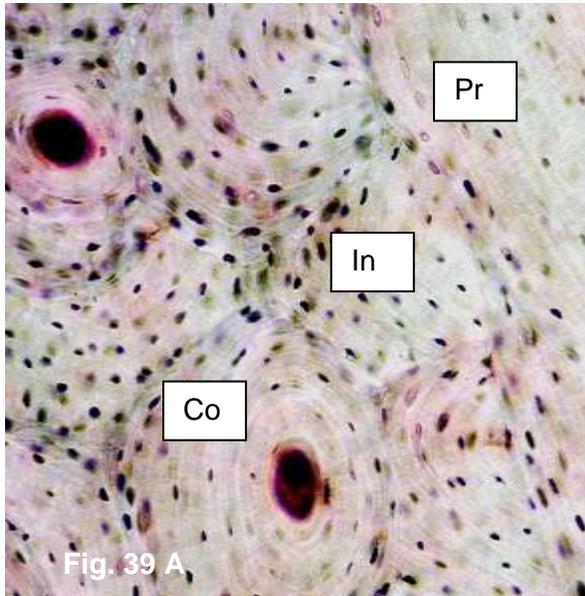
Fig. 38

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 38, Diferentes proyecciones de la superficie interna y externa de una muestra de un femar joven. La superficie externa es lisa y regular, la cara interna presenta una pequeña zona fibrosa correspondiente a endostio deshidratado.

Nota. La mancha oscura corresponde a un artificio durante la preparación

MUESTRA 4. CARACTERÍSTICAS HISTOLOGICAS



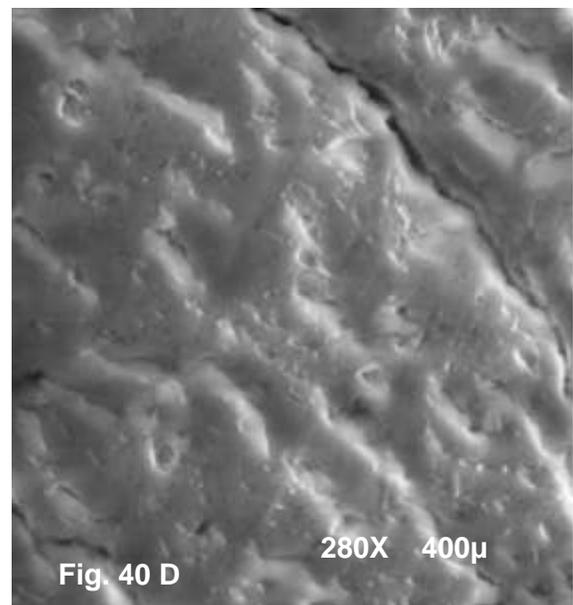
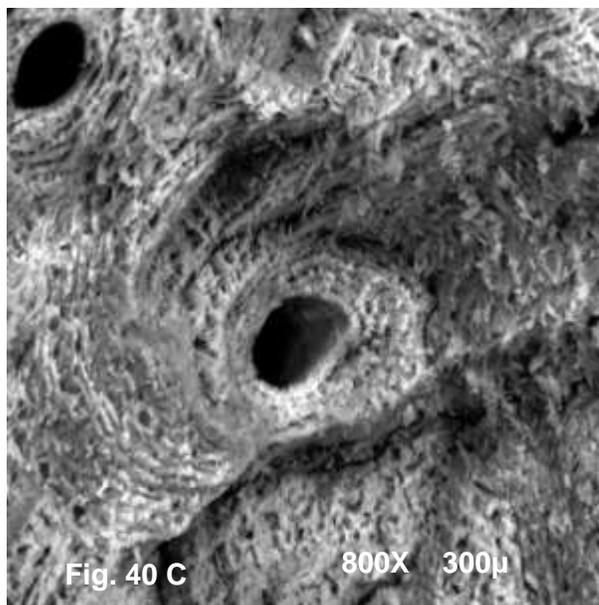
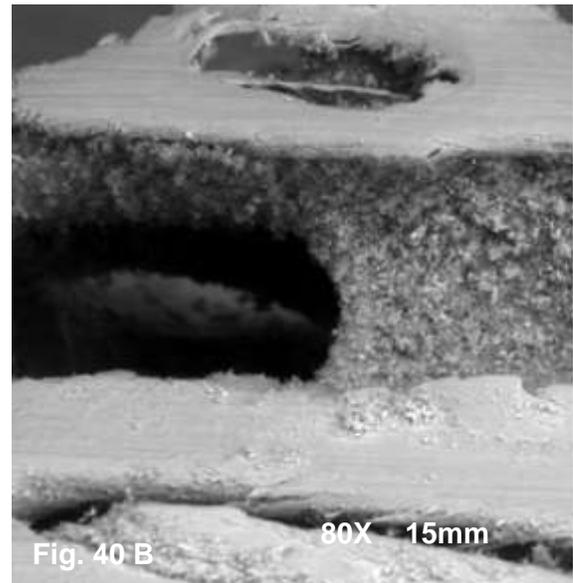
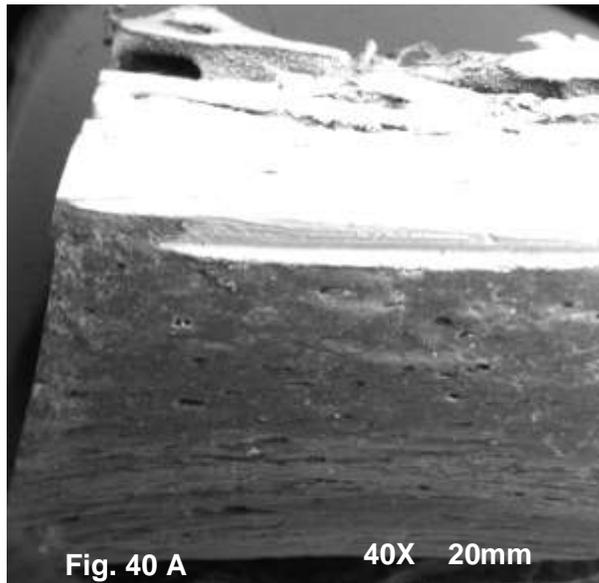
Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C

Fig. 39 A. Técnica de desgaste contrastada con Eosina. Se observan sistemas laminares concéntricos (Co), intersticiales (In) y periósticos (Pr),

Fig. 39 B, Polarización, Osteones. Fotografía tomada por el Dr. D.D. Contreras

Fig. 39 C. M. Confocal. Trabécula joven se identifican llas fibras colagenas (Col) y la ubicación de las lagunas (Flechas).

Fig. 39 D. M. Confocal. Zona interna ósea con presencia de una interfase de colágeno, el cual se ubica de forma envolvente. .

MUESTRA 4. CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES

Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 40 A. MEB 37X Angulo superficial de la muestra, donde es posible identificar la cara externa o periostica, donde se disponen los sistemas laminares paralelos y entre ellos se ubican las lagunas. En la porción superior se aprecia el grosor de la cortical, al fondo se desprenden las trabéculas de hueso esponjoso

Fig. 40 B. MEB. 220X. Hueso esponjoso intercomunicado

Fig. 40 C. MEB. 600X. La imagen muestra la regularidad y secuencia de los sistemas laminares que constituyen el osteón.

Fig. 40 D. MEB 800X. Lagunas en la superficie externa del tejido óseo.

MUESTRA 5.

Fémur de individuo prehispánico sin periostitis, codificado como F-17 Purnia reportado como parte de comunidad de poblamiento del centro del país;, perteneciente los Guane, considerado lingüísticamente perteneciente a los Chibchas del tiempo del Guane Tardío siglos XIV- XVI d.C.

MUESTRA 5. CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICA



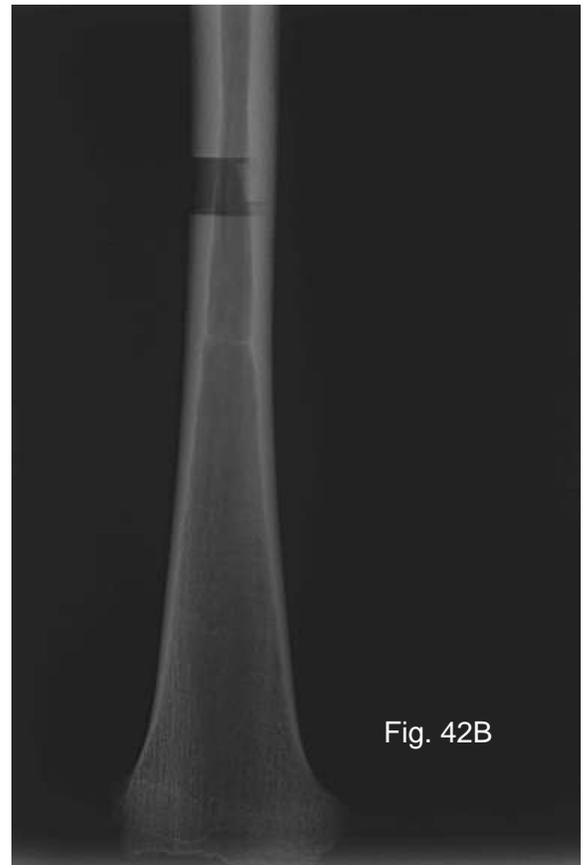
Fig. 41 A



Fig., 41 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 41 A – B. Las imágenes muestran un fémur de un hombre adulto, que presenta un cuerpo o diáfisis regular, homogéneo y sano, las cabezas articulares o epífisis, junto con los cóndilos y facetas articulares presentan zonas de decalcificación

MUESTRA 5. CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS

Rx tomadas por Castañeda Z.

Fig. 42 A-B. Imagen radiográfica de un fémur. Técnica convencional. Se observa osteopenia epifisiaria, canal medular amplio, corticales bien definidas sin presencia de alteraciones.

MUESTRA 5. CARACTERÍSTICAS ESTEREOSCOPIAS DE SUPERFICIE

Fig., 43 A

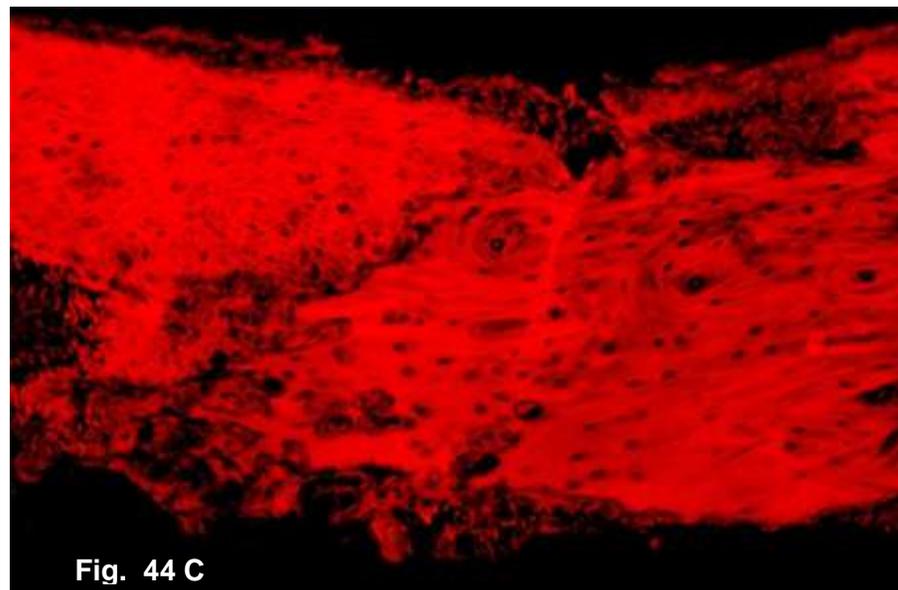
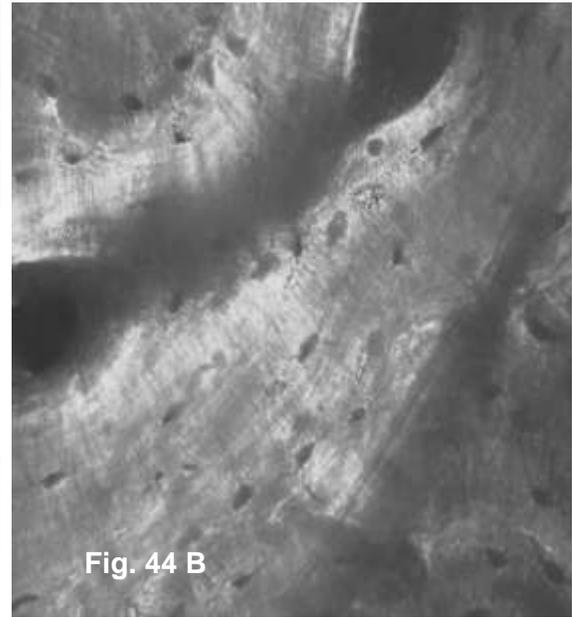


Fig. 43 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 43 A. Microscopio Estereoscópico. La superficie externa de la cortical es homogénea de un grosor regular, con presencia de pequeñas fisuras lineales...

Fig. 43 B. Características macroscópicas de la interfase entre el hueso compacto y el esponjoso, el cual se encuentra aumentado

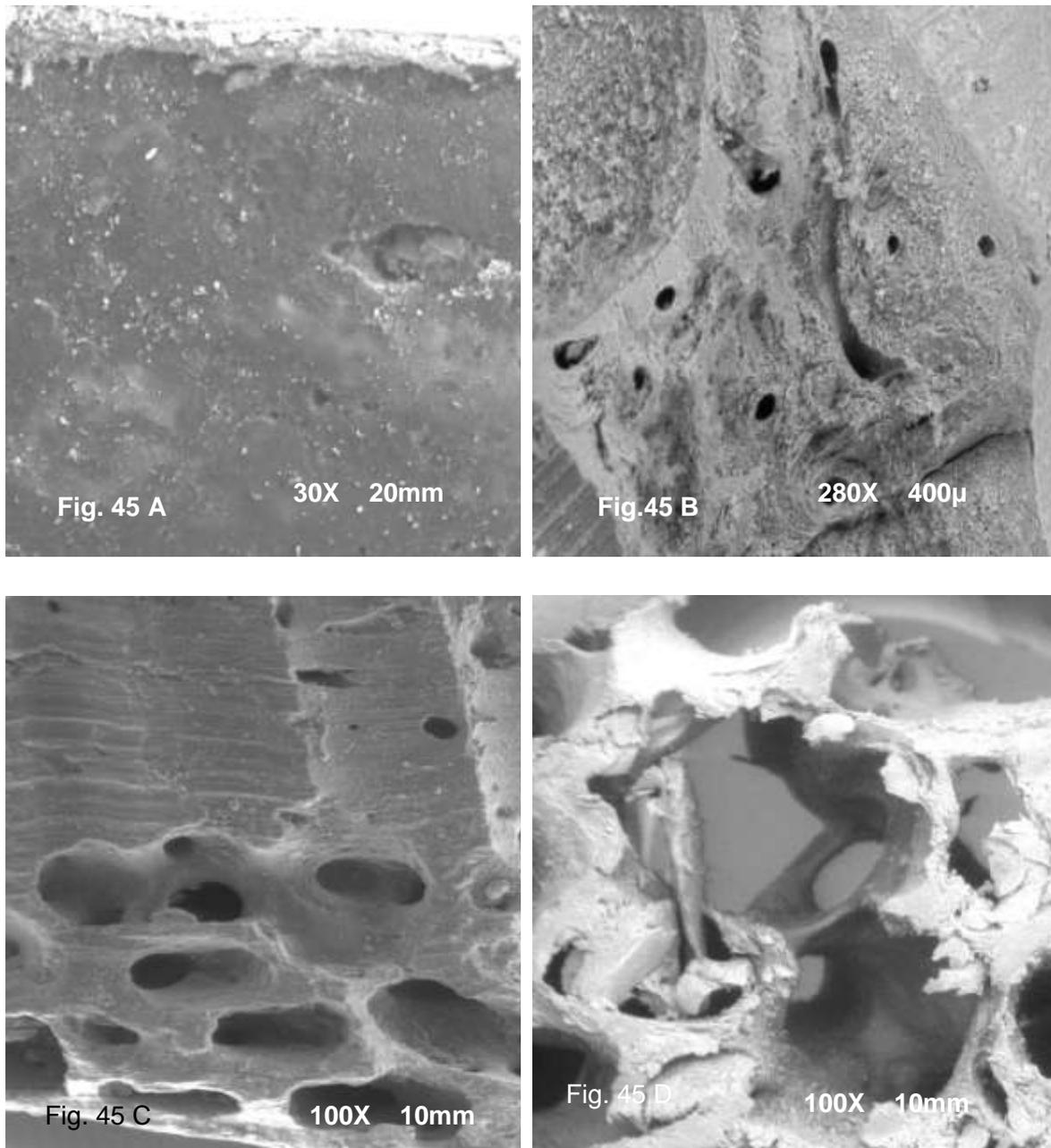
MUESTRA 5. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C

Fig. 44 A. Preparación por desgaste contrastada con Eosina, se diferencia la arquitectura de hueso compacto y las trabéculas óseas del esponjoso.

Fig. 44 B. BIC. Sistemas laminares alrededor de dos conductos de Havers. De identifican muy bien las lagunas y los canaliculos óseos.

Fig. 44 C. M Confocal. Sistemas laminares con presencia de lagunas e interfases de remodelación.



Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 45 A... MEB 60X... La superficie externa de la cortical es lisa pero presenta zonas de desmineralización con presencia de algunos elementos biogénicos.

Fig. 45. B. MEB 200X. Segmento de cortical ósea donde se diferencian los osteones conductos de Havers y perforantes,

Fig. 45 C. 150X. Hueso medular definido por medio de las trabéculas interconectadas.

Fig. 45 D. MEB 160X. Zona interna de hueso compacto, recubierta por células osteoblasticas.

MUESTRA 6.

Tibia de individuo ciudadano contemporáneo sano sin tipificar, de mediados del siglo XX d.C. Restos óseos ubicados en el anfiteatro de la facultad de medicina. La muestra fue preparada con KOH, para su preservación, lo que le da la apariencia de estructura opaca y con zonas blancas. L hacer un análisis minucioso de encuentran zonas ásperas, irregulares y con cavitaciones.

MUESTRA 6. CARACTERÍSTICAS MORFOLOGICAS



Fig. 46 A

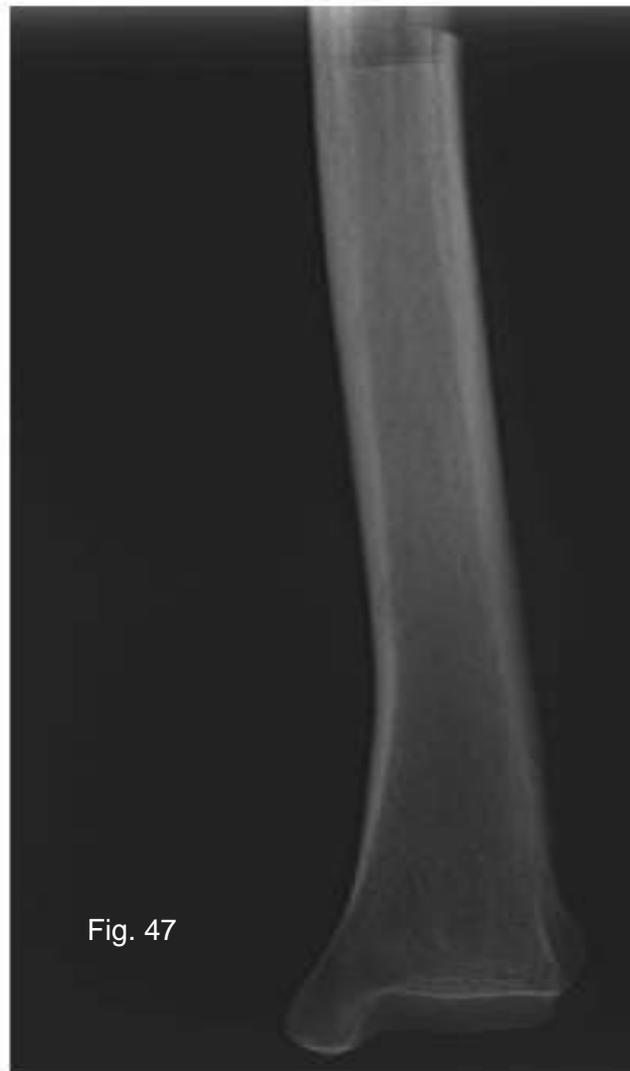


Fig. 46 B

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

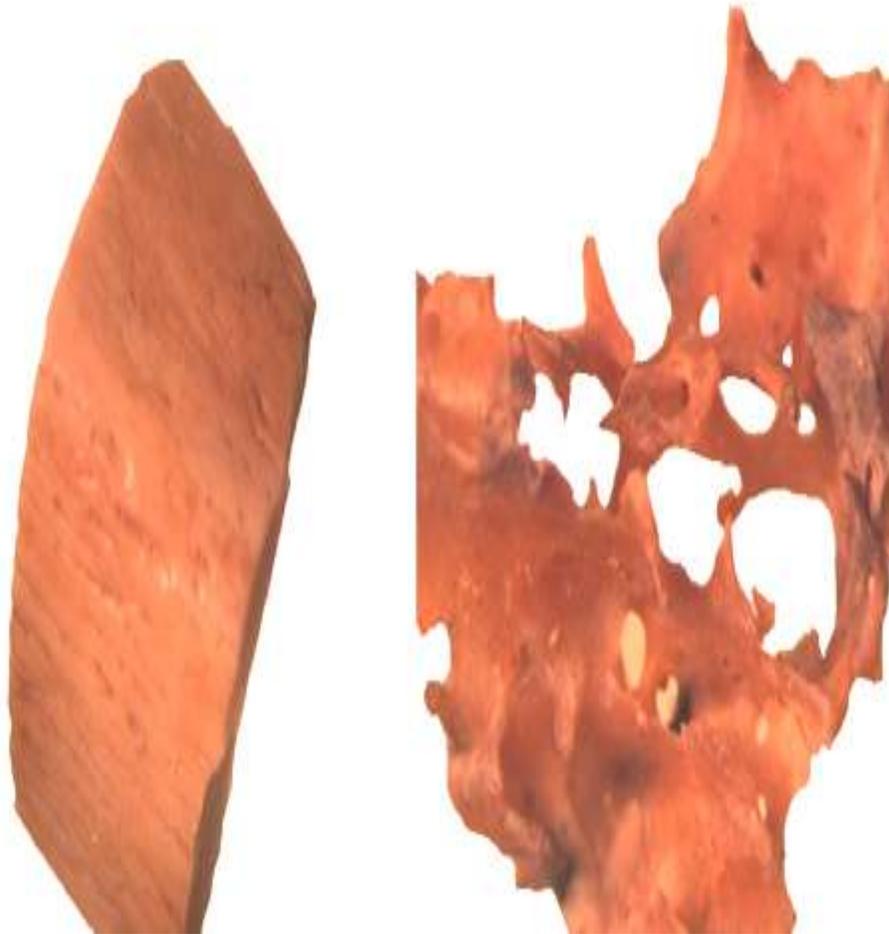
Fig. 46 A-B. Las características macroscópicas de la tibia de un individuo contemporáneo, mantienen todos los accidentes anatómicos normales. El color blanco muy característica obedece a la utilización de químicos para su preservación, sin embargo llama la atención la irregularidad y alteración de la superficie. Presenta zonas de pérdida tisular en la epífisis.

MUESTRA 6. CARACTERÍSTICAS RADIOGRAFICAS



Rx tomada por Castañeda Z.

Fig. 47 Radiografía convencional del segmento inferior de la tibia. La imagen muestra una estructura ósea normal

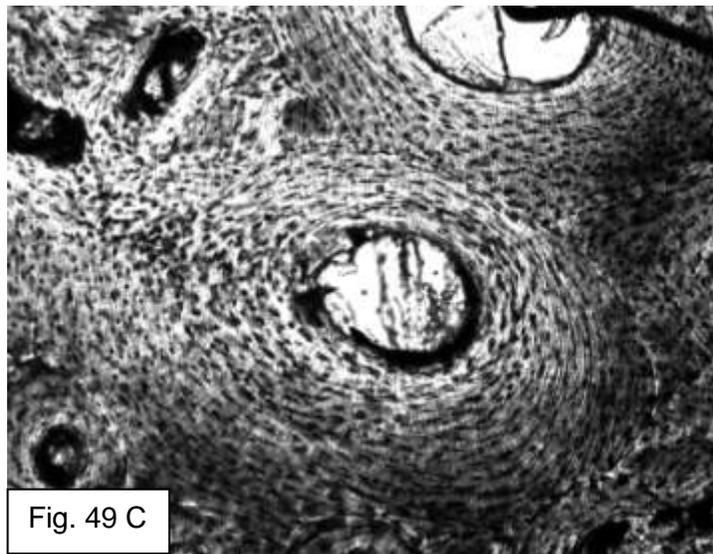
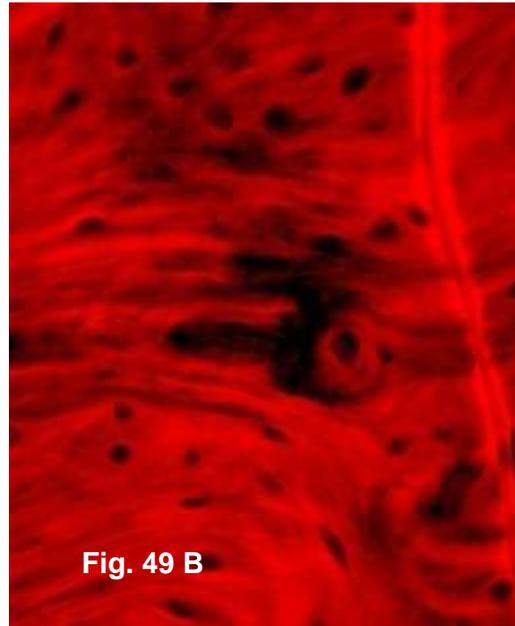
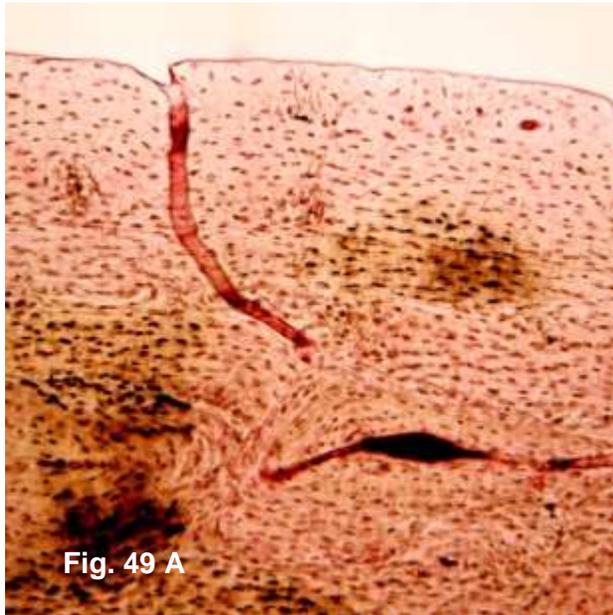
MUESTRA 6. CARACTERÍSTICAS ESTEREOSCÓPICAS DE SUPERFICIE

Fotografías tomadas por Castañeda Z.

Fig. 48 A. Imagen superficial de la zona subperiostica, donde son evidentes la presencia de pequeñas aéreas de cavitación y depresiones de tipo lineal,

Fig. 48 B Segmento de hueso medular, constituido pro trabéculas y espículas óseas entrelazadas, formando un armazón tridimensional

MUESTRA 6. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

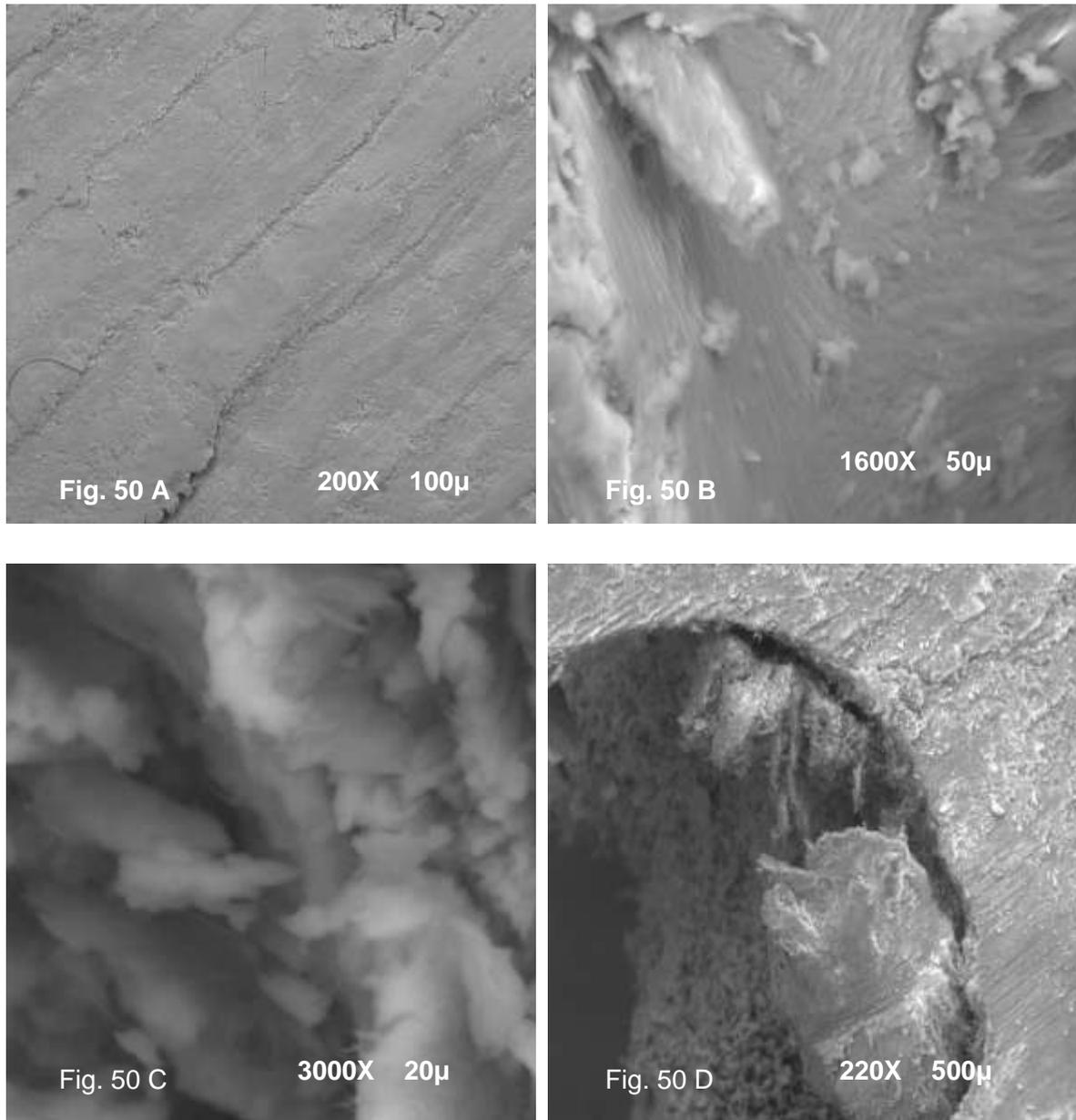


Fotografías tomadas por Castañeda Z. Morales L.C.

Fig. 49 A. H

Fig. 49 B. M. Confocal. Se identifica un cambio importante en la conformación de las lagunas, hacia la periferia están aumentadas de diámetro y muy cercanas entre sí, hacia el centro de organizan normalmente asociadas con sistemas laminares.

Fig. 49 C. DIB. Observe la regularidad y organización de los sistemas laminares.

MUESTRA 6. CARACTERÍSTICAS ULTRAESTRUCTURALES

Fotografías tomadas por Castañeda Z. Antolinez A.

Fig. 50 A MEB100X. . Características normales de las zonas de aposición ósea.

Fig. 50 B. MEB, 1600X. Se observa la regularidad de los sistemas laminares intersticiales con presencia de células óseas.

Fig. 50 C. MEB 1500X Interior de la zona trabécular, con presencia de fibras y cuerpos celulares.

Fig. 50 D. MEB 300X. Se aprecia la regularidad y características de la zona cortical superficial.

5. Capítulo 5

Análisis de Resultados y Discusión

Una vez definido el problema a investigar, la formulación de objetivos, establecer los criterios de selección de las muestras, utilizar las técnicas de MEB y MCLB para el análisis estructural y ultra estructural de las muestras, se inicio la descripción y análisis de resultados.

El diseño metodológico compete al campo de la investigación cuantitativa observacional de tipo descriptivo, dentro de este marco de referencia se evalúan los resultados obtenidos de las características anatómicas, histológicas, ultra estructurales y contenido químico de las muestras óseas de individuos prehispánicos, teniendo como controles normales muestras de individuos contemporáneos.

El análisis estadístico está centrado en la descripción y cuantificación de cada una de las variables, para poder establecer la relación de las características tisulares frente a la utilización de tecnología de punta en el diagnostico paleohisto-patológico.

5.1 Descripción general de los resultados

Las muestras óseas utilizadas pudieron manipularse mediante los protocolos establecidos para esta investigación (protocolos anexos) utilizados como elemento de estudio en cada una de las técnicas:

- Morfológicas macroscópicas.
- Morfológicas con estéreo-microscopio.

- Morfológicas radiográficas,
- Histológicas mediante técnicas de desgaste, descalcificación, polarización.
- Ultramicroscópicas mediante la utilización de MCLB y MEB.

Permitiendo establecer las características generales del tipo de hueso, poblaciones celulares, cambios histo-patológicos y su impacto frente al nuevo conocimiento en antropología física y paleo patología.

5.1.1 Variables óseas evaluadas

5.1.1.1 Tecnología de punta como herramienta de identificación

PALEOPATOLOGICA ÓSEA. La utilización de MEB permite hacer una identificación de las características ultraestructurales del tejido óseo más cercanas a la realidad orgánica de los individuos prehispánicos, de tal forma que se pueden identificar en la mayoría de los casos rasgos típicos como la organización del colágeno, el incremento en el tamaño de la cortical de hueso compacto en casos de periostitis, así como la presencia o ausencia del hueso esponjoso. Resulta de gran ayuda para el antropólogo, la utilización de tecnología de avanzada al diagnosticar las lesiones superficiales de tipo cavitario.

Contrario a lo encontrado por L. S. Bell ⁽⁹⁰⁾ y colaboradores en el 89, quienes reportan múltiples fracturas en las muestras de tejido óseo con técnicas de barrido, este trabajo muestra que las fracturas se aumentan con el alto vacío, por lo tanto es recomendable utilizar la técnica de bajo vacío y sin metalizar la muestra para poder disminuir al máximo este tipo de artefacto en la preparación. No sucede igual con la utilización del MCBL, ya que en todas las muestras no se preservó la matriz orgánica, sin embargo y gracias a la experiencia del operador del microscopio, se obtuvieron avances positivos en cuanto a la utilización de muestras por desgaste contrastadas con Eosina, colorante utilizado en técnicas

de histoquímica pero que en este caso funciona como un marcador fluorescente. Es importante destacar el marcaje que se hace de los remanentes de material orgánico localizado dentro de los conductos de Havers, perforantes, endostio y periostio, el cual puede ser evaluado mediante esta técnica. Con la dispersión secundaria de laser se establece la técnica BIC, mejorando considerablemente la resolución y se da tridimensionalidad a la arquitectura de la matriz calcificada, siendo mejor el resultado que con la técnica de polarización convencional.

5.1.1.2 Hueso largo como modelo de estudio. La tibia de individuos prehispánicos y contemporáneos es un buen modelo de estudio debido que es el hueso que más se preserva a lo largo del tiempo, además de mantener en la mayor parte de los casos su textura y características estructurales. Es el segundo hueso más largo del cuerpo, tiene una función prioritaria en el desarrollo evolutivo de la bipedestación junto con el fémur y muestra unos puntos de reparo relacionados como el aumento en el volumen de los cóndilos por incremento de la masa calcificada para soportar el peso del cuerpo y descargas de fuerzas adicionales, además de amortiguar las fuerzas relacionadas con la bipedestación. Es un referente importante en la paleopatología por presentar forma en sable, criterio de diagnóstico de la periostitis.

5.1.1.3 Características morfológicas y microscópicas de la tibia.

De acuerdo a las características macroscópicas tibiales, se observó que el hueso se preserva a pesar de los cambios geofísicos relacionados con el enterramiento en el caso de las muestras de individuos prehispánicos y las de individuos contemporáneos la estructura anatómica se mantienen en un alto porcentaje, siendo evidente en la mayoría de las muestras, un significativo desgaste de la cortical epifisiaria; en todos los casos incluyendo las muestras de individuos contemporáneos. En algunos casos se debe hacer una limpieza exhaustiva de las muestras ya que los huesos arqueológicos exhiben restos de material propio de la contaminación por la tierra en que estaban depositados; la MEB muestra la

presencia de contaminantes incluidos dentro de fisuras e incluso dentro de los diferentes conductos normales del tejido, Al igual que en algunos casos existen abrasiones superficiales de la cortical debido al desgaste normal por el paso del tiempo. En la muestra del individuo con periostitis (muestra 1) y la muestra del individuo cuyo asentamiento se encontró en Soacha (muestra 2) se pueden observar zonas de cavitación con hiperpigmentación en estas áreas la microestructura muestra una serie de fisuras y zonas cavitarias de disposición radial con espículas sueltas, pero asociadas a osteoblastos, lo que muy seguramente se relacionaba con una fase cicatrizal activa. Existe una buena proporción de hueso compacto y disminución en algunos casos del esponjoso a excepción de la muestra con treponematosi la cual se observó un aumento significativo de la cortical ósea a expensas de la activación periostica, pero es evidente el incremento de la masa trabecular interna a partir del endostio, hecho no reportado aun en la literatura científica. El aumento es significativo siendo evidente tanto en las imágenes de RX, microscopio estereoscópico y el MEB a bajos aumentos., lo cual es concordante con el aspecto macroscópico de esta muestra. En todas las muestras se reportaron osteones lo cual confirma la preservación del tejido a lo largo del tiempo. Las zonas de desmineralización o pérdida de los niveles de Calcio son reconocibles en bajos aumentos por la apariencia moteada de la muestra. Con respecto a la presencia y preservación de células momificadas, es importante anotar que la muestra que mayor número de células y mayor diversidad de las mismas corresponde a la muestra con periostitis por treponematosi, las cuales por el proceso inflamatorio crónico mostraron varios linajes celulares reconocibles como: osteoblastos, osteocitos, osteoclastos, eritrocitos y gran cantidad de células mieloides localizadas en el intersticio de las trabéculas, área donde se aloja el tejido linfocitopoyético. Comparativamente las muestras de los individuos contemporáneos presentaron menor cantidad o ausencia de estos linajes celulares. El tejido mieloides se observo exclusivamente en la muestra con treponematosi. Estos hallazgos no se han encontrado reportados en la literatura científica.

5.1.2 Análisis del contenido químico de las muestras. Al evaluar el componente químico de las muestras es de resaltar que el carbón y el oxígeno son elementos permanentes y aseguran que el material analizado corresponde a material biológico. El calcio se encuentra altamente concentrado en todas las muestras, siendo más marcado en el caso de treponematosi debido al incremento de matriz calcificada, lo que corrobora el aumento de la densidad ósea por aposición tanto periótica como endostica, encontrado tanto en las técnicas radiográficas como de MEB, en este sitio no hay reportes de elementos traza como si. Aparecen en las lecturas hechas en el centro de los elementos biogénicos, reportados más adelante

5.1.3 Componentes biogénicos. Los elementos biogénicos cuya agregación conlleva la activación de procesos diagénicos se dan como respuesta a los cambios taxonómicos que en el caso del hueso están relacionados con mecanismos de re cristalización de la matriz orgánica. La riqueza de estos hallazgos es crucial para el antropólogo, pues permite conocer las características paleo ambientales de las muestras. Las evidencias de contenidos biogénicos se observan en microscopio estereoscópico como unos puntos brillantes dispersos por todas las muestras procedentes de enterramientos, tales imágenes se pueden confundir en un inicio con material contaminante. En la MEB se diferencian mucho mejor y se puede comprobar por su contenido químico que no son elementos agregados superpuestos al tejido, sino que hacen parte integral de él, presentando bordes nítidos e interacciones con la matriz calcificada. Esta re-cristalización fue identificada por L. S. Bel⁽⁹⁰⁾ mediante microscopía electrónica de barrido, mostrando que la mayor concentración está ubicada en grietas, lo cual no corresponde a los hallazgos de este trabajo, donde el material biogénico está presente tanto en zonas de fisura y grietas como en la superficie homogénea de la matriz, tanto en el hueso compacto como en

el esponjoso. La lectura de la sonda de electrones retro-dispersados expresados en kilo-voltio electrón muestra que el centro de este material biogenico presenta una concentración significativa de C, Ca, P y presencia de elementos traza como el Si, material propio de los lechos donde se encontraron las muestras, además de elemento traza representados por el Ba y el Ti, presentes en los elementos biogenicos de la muestra número 2. En este estudio, los elementos biogenicos no generaron ningún obstáculo en la lectura y diagnostico histopaleopatologico.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

La técnica de microscopía electrónica de barrido es altamente recomendable para hacer identificación de la micro-estructura y constitución química de la matriz calcificada. La forma optima de utilizar esta técnica con muestras tan delicadas como el tejido óseo de individuos prehispánicos, debe ser en condiciones de bajo vacío para evitar que la muestra se fracture.

Mediante la utilización de bajos aumentos se puede hacer un minucioso análisis de las características de la cortical ósea y su relación directa con el hueso trabécular. Al utilizar aumentos por encima de 1000X se identifican elementos momificados de la matriz orgánica como estructura tridimensionales deshidratadas que sirven de sustrato a algunos tipos celulares como son los osteoblastos los cuales fueron fácilmente identificables por estar recubriendo el hueso y su típica forma cuboide. Los osteocitos no fueron proporcionalmente tan evidentes, pero se identificaron por su localización dentro de las lagunas ósea. Los osteoclastos, células globulares de mayor tamaño, se identifican por su forma y la presencia de podosomas en su cara osteoclastogénica. Siendo el componente celular óseo muy interesante de identificar, lo que más llamó la atención en la fase diagnóstica es la preservación de las fibras colágenas, las cuales mantienen su orientación y regularidad característica de la matriz laminar ósea.

El uso de los electrones secundarios retrodispersados dio una información supremamente importante en la investigación, determinando los niveles de Oxígeno y Carbón, elementos propios de los sistemas orgánicos, además de

demostrar los niveles de calcificación o desmineralización que puede tener la matriz ósea, representada por la alta densidad de los iones Calcio y Fosforo en la periostitis por aumento del tamaño de la cortical, versus las bajas sensibles frente a los procesos de descalcificación.

Es recomendable propiciar el mejoramiento de los procesos de manipulación de las muestras, el mantenimiento y rehidratación de las muestras, para poder optimizar los resultados de la microscopia Confocal, técnica novedosa que permite hacer una relación real y cuantificable del sustrato orgánico de una muestra, además de mostrar de una forma más aproximada la presencia de lagunas canalículos y conductos, los cuales no son fácilmente identificables con las técnica de MEB.

Es de destacar, la preservación de material óseo proveniente de enterramientos pues su matriz orgánica se momifica y es altamente identificable, lo cual es representativo como criterios de diagnóstico desde la paleohistología; lo mismo no sucede con el material utilizado proveniente del anfiteatro, que si bien es cierto conserva ampliamente su topografía y arquitectura morfológica no sucede igual con su matriz orgánica, la cual es más difícil de identificar.

Existe concordancia entre las características morfológicas macroscópicas y el micro-estructura óseo observable con la tecnología de punta, brindando al antropólogo una amplia posibilidad de identificación paleopatológica, generando la construcción de nuevas líneas de investigación pertinentes con la paleodieta, relación con el medio ambiente y desarrollo cultural de estas poblaciones extintas.

6.2 LIMITACIONES DEL TRABAJO

Dentro de las limitaciones propias de este trabajo de investigaciones debo resaltar la fragilidad de las muestras de los individuos prehispánicos y las dificultades de manipulación con respecto a las técnicas histológicas convencionales, lo que incentivo el poder establecer unos protocolos de manipulación de la muestra que no se habían reportado en trabajos anteriores.

El tamaño de la muestra se debe aumentar para investigaciones futuras, además de ampliar los sitios de asentamiento de las diferentes culturas indígenas para tener un panorama más representativo de la paleohistología de los diferentes grupos étnicos de nuestro país.

Los costos de la investigación fueron bastante altos.

6.3 PROSPECTIVA

La utilización de la tecnología de punta amplia el horizonte en la investigación en paleopatología, permitiendo identificar, cuantificar y establecer las características ultraestructurales de las condiciones nutricionales de individuos prehispánicos, siendo esta característica un elemento indispensable para determinar las condiciones nutricionales de los diferentes culturas y asentamientos prehispánicos de nuestro país

A su vez genera líneas de investigación que permitan comparar las diferentes enfermedades que sufrieron nuestros antecesores como son la tuberculosis, osteoartritis, enfermedades degenerativas, enfermedades circulatorias y trastornos metabólicos entre otros.

La riqueza de material humano preservado en el anfiteatro de la facultad de medicina, fortalece a corto plazo la creación de líneas de investigación relacionadas con la antropometría biológica de individuos contemporáneos y de esta forma consolidar el proyecto de evolución direccionado por nuestro director el Dr. LUIS ENRIQUE CARO

Incentiva a los docentes de histología para incursionar en nuevas técnicas de diagnóstico fortaleciendo líneas de investigación en nuevas tecnologías de avanzada en el contexto de la investigación histopatología del siglo XXI

Permite establecer una línea de investigación multidisciplinar conjunta entre los departamentos de morfología de la facultad de medicina, el grupo de investigación Gimad de la facultad de odontología y el laboratorio de antropología forense de la universidad.

Sería muy interesante incursionar en la identificación de células momificadas como un sustrato de diferenciación y caracterización filogenética y ontogenética.

A. Anexo: Protocolo manejo de muestras paleopatológicas

Protocolo 1. MANEJO MPRELIMINAR DE LAS MUESTRAS

1. Recolección laboratorio de antropología humana o anfiteatro facultad de medicina
2. Cuidado en el transporte
 - Ubicación en cajas de cartón individuales
 - Protección con icopor y plástico
3. Limpieza con pelo de marta y jeringa de aire
4. Descripción macroscópica de la muestra
5. Referente fotográfico
6. Obtención de muestras, con instrumentos de corte fino: discos de diamante de seguridad y fresar de diamante
7. Normas de bioseguridad: usos de guantes de lates, tapaboca y gafas de seguridad
8. Ubicación de las muestras en cajas individuales y rotuladas de acuerdo a la muestra
9. Análisis con el microscopio estereoscópico, utilizando material estéril;
 - Laminas de vidrio.
 - Guantes de latex, tapabocas
 - Pinzas algodonerias
 - Formulario de descripción
10. Toma de fotografías con lentes 10x, 20 x y 25x

B. Anexo: Protocolo de manejo de muestras paleopatológicas

Protocolo 2. MEB

1. Obtención de la muestra
2. Limpieza con pincel pelo de marta
3. Ubicación de las muestras de acuerdo a grupo control sano contemporáneo, treponematosi y prehispanicos control
4. Fijación con alcohol etílico
5. Fijación posterior por desecación
6. Ubicación en los pozos en la cámara porta-muestra y fijación con plastilina de carbón
7. Activación de bajo vacio
8. Utilización de haz de electrones secundarios para la obtención de imágenes tridimensionales
9. Utilización de haz de electrones reto dispersados para análisis químico de la muestra
10. Captura de las imágenes a diferentes aumentos
11. Captura del histograma de electrones retrodispersados y numero atómico de los elementos
12. Referente fotográfico

c. Anexo. Protocolo de manejo de muestras paleopatológicos

Protocolo 3. MCLB

1. Obtención de la muestra
2. Limpieza con pincel pelo de marta
3. Fijación con alcohol etílico
4. Fijación posterior por desecación
5. Preparación por desgaste, utilizando lija de agua de grano fino
6. Coloración contrastación con eosina
7. Montaje
8. Ubicación de la muestra en el carro
9. Determinar el aumento
10. Activar el laser argón – helio - neón
11. Velocidad de barrido
12. Captura de la imagen
13. Reconstrucción tridimensional

Bibliografía

1. Ruffer, M. A. (1909) Notes on the histology of Egyptian mummies, Brit. med. J.,1 - 1005.
2. Rodríguez, J.V. (1999) *Los Chibchas: pobladores antiguos de los Andes Orientales. Adaptaciones bioculturales.* Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales. Banco de La República..Cap. I:17-31
3. Silva, E. (1945) Sobre Antropología Chibcha. Boletín Arqueológico., 1: 531-552
4. Correal, G. 1(990). "Evidencias culturales durante el Pleistoceno y Holoceno de Colombia". *Rev. de Arqueología Americana.* 1: 69-89
5. Polanco, H. (2008). Paleopatología Dental en Cráneos Prehispánicos del Valle del Cauca. IV a. C. -IV d. C. trabajo de grado Magister en Epidemiología. Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia
6. Vargas, M.C (2010) Rasgos morfológicos y morfométricos en poblaciones prehispánicas de Colombia Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires.
7. Pate, F. D. Brown, K. A. (1985). The stability of bone strontium in the geochemical environment. *J. Human Evolution* 14,483-491.
8. Isidro, A. Malagosa A. (2.003) Paleopatología la enfermedad no descrita. Barcelona. España. Editorial Masson.
9. Subirana, M. Galtes, I. (2.008). Lesiones costales en antropología forense, en Cuadernos de medicina. forense 53:53-57

10. Arenas, J. Latorre, A. (2.008). Aplicaciones técnicas de microscopia electrónica, al estudio del material de origen arqueológico y obras de arte” Méjico UNAM
11. Lewin, P. Horne, P. (1.977). Electron microscopy of mummified tissue. J.CMA 117:472-476
12. Hino, H. Ammitzball, T. (1.982). Ultraestructure of skin and hair of an egyptian mummy. J. Cutaneous Phatology 9 : 25-32
13. Caro, L. E. (1.995). La continuidad de la vida: una reflexión sobre nuestra historia biológica. TEA Fundación Auxológica. Universidad nacional de Colombia Bogotá.
14. Wallace, A. (1843) Las ventajas de los variados conocimientos. Editor Charles H. Smith 's
15. Solla, H. (1.994). Antropología forense, estudio de casos. Ediciones populares para América latina Buenos Aires, Argentina.
16. Cuezva, S. Elez, J. (2.000). Reconocimiento del estudio de desarrollo de la microestructura de los huesos fósiles de mamíferos somosaguas y layna Coloquios de Paleontología, 51 : 159 – 173.
17. Aguirre, E. (1.997) La tafonomía como ciencia epistemológica. Museo nacional de Ciencias Naturales Madrid España. E-2806.
18. Campillo, D. (2.001) Introducción a la Paleopatología. Editorial. Bellaterra Madrid. España.
19. Ruffer, M. Sandison, A. (1957), Preparation of large histological sections of mummified tissues', Nature 179, 1309-1310.
20. Rodríguez. J.V. 2.006. “Las enfermedades en las condiciones de la vida

prehispánica de Colombia” Editorial Universidad Nacional de Colombia.

21. Hudson, E.H. (1965), Treponematosi in perspective. Bulletin of the world Health organization 32: 735-748
22. López de Gomara, F. (1985) Historia general de las indias. I. Ed. Iberia Barcelona,
23. Rodríguez J.V. Rodríguez C.A. (1998). Dos posibles casos de treponematosi en restos prehistóricos del Valle del Cauca. Rev. Maguaré, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá 13:85-98
24. Aldana Sayra. (2.006). La treponematosi en la historia de Colombia. Rev. Inmersa. 1: 2 : 2-28.
25. Cisneros, H. De la Peña, R. (2.006). Estudio bioarqueológico de la población prehistórica lacustre del Valle de Yoluca. Rev. Ciencia Ergo Sum. 13 #002: 165 – 175
26. Martínez, A. (2003). Técnicas de imagen en biología. Servicio de procesamiento de imágenes Universidad de Oviedo.
27. Rothschild, B. (2.000). Preconceived notions and hypothesis testing: holes in the blue hole. *Chungará (Arica)* 32: 2
28. Standen, V. Arriaza, B. (2.000). La treponematosi en las poblaciones prehistóricas del desierto de Atacama. Rev. Antropología Chilena. 35: n.2
29. Guerra, F. (1990) Las enfermedades del hombre americano. Rev. U. Complutense de Madrid.16:1-35
30. Burgos, J. Correal, G. (1994) Treponematosi en restos óseos precerámicos de Colombia. Rev. Academia Col. de C. E. Bogotá 19:73: 237
31. Allison, M. (1982) La sífilis, una enfermedad Americana. Rev. Chilena Chungara

9:275-293

32. Maseman, S. (1.987). Enfermedades cutáneas e infecciones venéreas. Editorial Científico técnica. La Habana. Cuba.
33. Rubin, M. Paris, C. (1.974). Patterns of occurrence of cutaneous disease. I. J. of dermatology. 132: 36-40
34. Cockburn, T.A. (1961). The origin of the treponematoses. Bulletin of the World Health Organization 24:221-228
35. Kolman, Co. Centurion, A. (1.999). Identification of *Treponema pallidum* Subspecies *pallidum* in a 200-Year-Old Skeletal Specimen J. of Infectious Diseases 180:2060–3
36. Herman, J. Abril R. (1.978). Syphilis and gonorrhoea are one disease: John Hunter I. J. of dermatology. Vol. 17
37. Hackett, C.J. (1976) Diagnostic Criteria of Syphilis, Yaws and Treponarid (Treponematoses) and Some other Diseases in Dry Bones (for use in osteoarchaeology). Springer-Verlag, Berlin.
38. Salas, M.E. (1982) La Población de México-Tenochtitlan. Estudio de Osteología Antropológica. Rev.Instituto Nacional de Antropología e Historia, México.6:26-30
39. Baker, B. G. Armelagos (1988) The Origin and Antiquity of Syphilis. Current Anthropology, 29: 703-737.
40. Mansilla, J. Pijoan, C. (1995) A Case of Congenital Syphilis During the Colonial Period in Mexico City. A.J. of Physical Anthropology, 97: 187-195.
41. 7. Noguchi, H. (1910) Serum diagnosis of syphilis : and the butyric acid test for syphilis. Philadelphia : Lippincot. [Harvard medicine preservation microfilm](#)

[project](#)

8.

42. Katz, R. Stefanie L. (2006). [The Tuskegee Legacy Project: Willingness of Minorities to Participate in Biomedical Research](#). *J Health Care Poor Underserved* 17 (4): 698–715

43. Costa E.F. (1977) Historia de la Sífilis y de los hombres que lucharon contra ella. Editorial Eudeba. Buenos Aires. Argentina.; 22-25.

44. Zimmermann, E. L. (1937), An Early English Manuscript of Syphilis. A Fragmentary Translation from the Second Edition of Gaspar Torrella's *Tractatus cum consiliis contra pudendagram seu morbum gallicum*", *Bulletin of the History of Medicine* 5: 461-482.

45. Lansing M. Prescott, J. (2004). «Breve historia de la sífilis». *Microbiología*. McGraw-Hill-Interamericana España

46. Ledermann, D. Walter, (2003) John Hunter y el gonococo. *Rev. chil. infectol.* [20:24-55.

47. Gilbert, S. (2.003). Biología del desarrollo. Editorial panamericana Buenos Aires, Argentina. 560-579

48. Sadler, T. W. (2.010). Embriología medica. Editorial panamericana Barcelona, España.
49. Eynard, A. Valentich M. (2.008). Histología y embriología del ser humano. Bases celulares y moleculares. Argentina. Editorial medica Panamericana.

50. Fawcett, D.W. (2.000). Tratado de Histología. Editorial McGraw-Hill. Madrid. España.

51. Shapiro F, Forriol F. (2005). El cartílago de crecimiento: biología y biomecánica del desarrollo. *Rev Ortop Traumatol* 2;49:55-67.

52. Lacroix P. (1981) The organization of bone. New York, McGraw-Hill Book

53. Latarjet, M. Ruiz, A. (1.999). Anatomía Humana. Editorial Panamericana Madrid España.
54. [Ferreira, L. Teragni, E.](#) (1988). Anatomía Humana: eje vertebral y miembro inferior. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
55. Williams, P. Warwick R. (1.996). Anatomía de Gray. Editorial Churchill Livingstone Edimburgo.
56. Chung, K. Chung H. (2.008). Temas claves de anatomía. Editorial Lippincott Barcelona España.
57. Watson, D. (2010) Lo esencial de la anatomía McGraw-Hill. Madrid España.
58. Kierszenbaum, A. (2.008). Histología y Biología Celular. Introducción a la anatomía patológica. Editorial Elsevier. Barcelona. España.
59. Ross, M. Kaye, G. (2.005). Histología. Texto y atlas en color con Biología Celular y Molecular. Editorial Panamericana. Buenos Aires Argentina.
60. Eynard, A. Valentich M. (2.008). Histología y embriología del ser humano. Bases celulares y moleculares. Editorial medica Panamericana. Argentina.
61. Kardon, K. (1.999). Vertebrados. Anatomía comparada, función y evolución. McGraw Hill Madrid. España.
62. Welch, U. Sobotta, J. (2009). Histología. Editorial panamericana Madrid
63. Gartner L. Hiatt J. (2007) Biología celular e histología Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA
64. Cui D. (2011). Histología con correlaciones funcionales y clínicas. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA

65. Serrano S. (2006). Estructura y función del hueso. ponencia II Congreso hispanoamericano de anatomía patológica
66. Fitzgerald R. (2002). Ortopedia. Editorial Panamericana. Buenos Aires. Argentina
67. Alberts, B. Bray, D. (2.010). Introducción a la biología molecular. Editorial panamericana. México.
68. Stenberg S. (1997). Histology for Pathologist 2^a Editions, Lippincott-Raven Publisher, Philadephia, USA,.
69. Kumar V. Abbas N. (2004) Patología estructural y funcional de Robbins. Editorial Elsevier
70. Poirier, J. Cohen, I. (1.995). Cuadernos de Histología. Editorial Marban. Madrid. España.
71. Fuentes, A. (2000) Bioquímica clínica y patología molecular. Editorial Reverté Barcelona. España
72. García, A. (2011) ¿Cómo se renueva el hueso? Rev. Lab. de metabolismo mineral y óseo. 2:15-15
73. Parfitt, A.M. (1994) Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. J. Cell. Biochem. 55:273–286
74. Caulfield, M.P. (1995) Biochemical markers of bone resorption. AACC Endo, 2:30-35.
75. Deschaseaux, F. Sensébé, L. Heymann, D. (2009) Mechanisms of bone repair and regeneration. Trends Mol Med 15:417-429.

76. Martínez, C. Ballesteros J. (2006). Radiología en paleopatología. Rev. Hospital general universitario de alicante 6:40-44
77. Vila, S. (1997). Diagnostico por la imagen en paleopatología, recomendaciones para su obtención e interpretación. Actas del IV Congreso nacional de paleopatología. San Fernando España
78. García, E. Fontaine, V. (2009) Estudio antropológico, paleopatológico y radiológico de las momias localizadas en el almacén número 4 de la casa americana (el asasif, luxor, egypt): proyecto monthemhat
Rev. Museu d'Arqueologia de Catalunya 2:20-36
79. [Schultz, M.](#) (2001). Paleohistopathology de hueso: un nuevo enfoque para el estudio de las enfermedades antiguas. [Am J Phys. Antropología.](#); 33:106-47
80. Chester, A. (1944) A Heterosporous Species of Bowmanites from the Michigan Coal Basin. A.J. of Botany 31 8: 466-470
81. Amos W.B. (2003). How the Confocal Laser Scanning Microscope entered Biological Research. Biology of the cell. 6: 335 – 342
82. Martínez, A. (2003). Técnicas de imagen en biología. Servicio de procesamiento de imágenes universidad de Oviedo. En cuadernos lab.
83. Joy David C. (1981) "Low Voltage Scanning Electron Microscopy", Hitachi Instrument News.
84. Hafner Bob. (2007) Scanning Electron Microscopy Primer. Characterization Facility, University of Minnesota. En: Lab. protocol I
85. Arenas, J. (2005), Contribuciones de la física en la historia de la microscopía. Rev. Universitaria Unam 6:7-15.
86. Fernández, P. Tortosa, M. (2002) Técnicas de estudio histopatológico de partes

- blandas en especímenes momificados. En actas UCM 36:56-58
87. Ruffer, A. (1921) *Studies in the Palaeopathology of Egypt*, The University of Chicago, Illinois, En *Forenses historical archives* 21(6)
88. Tealdi [J. C.](#), (2006) *Ética de la Investigación en seres humanos y políticas de salud pública*, UNESCO-Universidad Nacional de Colombia, , págs.33-62
89. Ministerio de salud. Resolución 008430 de 1993. República de Colombia..
90. Bell L. (1990) *Palaeopathology and Diagenesis: An SEM Evaluation of Structural Changes Using Backscattered Electron Imaging* *J. of Archaeological Science* 17:85-102