

# Embryogenese van de wervelkolom en correlatie met foetale afwijkingen

---

*Docenten Mw. drs. P.C. Schut, mw. dr. T.E. Cohen-Overbeek en dr. D. Jaarsma*

## 1 Toelichting

### 1.1 Achtergrondinformatie

Aangeboren afwijkingen kunnen vanuit verschillende invalshoeken worden bekeken: Hoe vaak komen ze voor? Hoe ontstaan ze? Kun je ze tijdens de zwangerschap detecteren? Is er een relatie met andere afwijkingen? In dit VO bestudeer je deze verschillende benaderingen aan de hand van afwijkingen aan de wervelkolom. De nadruk ligt op extra of afwezige ribben als gevolg van verschuivingen van de overgangen tussen de verschillende wervelkolom regio's. Verschuivingen in de overgang van borst (thoracale) naar lende (lumbale) wervels komen veel voor en zijn doorgaans onschuldig. Verschuivingen in de overgang van hals (cervicaal) naar thoracale wervels zijn zeldzaam, maar gaan vaak met ernstiger problemen gepaard. Recent onderzoek laat zien dat een 'halsrib' (i.e. een rib bij de laatste cervicale wervel duidend op een verstoorde ontwikkeling van de cervico-thoracale overgang) zeer veel voorkomt bij overleden foetussen en baby's, vaak in samenhang met ernstige aangeboren afwijkingen. Dit wijst erop dat ribafwijkingen en vooral het hebben van een 'halsrib' samengaat met een verstoorde ontwikkeling van veel andere structuren in het embryo.

Aan de hand van een aantal casus wordt in dit VO de ontwikkeling van de normale en afwijkende foetale wervelkolom doorgenomen en worden de consequenties voor de ontwikkeling van andere orgaansystemen geanalyseerd. Voorbeelden van beeldvormende technieken, zoals microscopie, echoscopie en radiologie waarmee deze ontwikkelingen kunnen worden gevolgd, worden geïllustreerd. Dit VO sluit hiermee aan op het VO 'Prenatale screening op structurele afwijkingen'. Verder worden mogelijke mechanismen die van belang zijn bij het ontstaan van wervelkolom afwijkingen besproken. Een van de mogelijkheden is een verstoorde functie of regulatie van Hox genen, die een essentiële rol spelen bij het vastleggen van de cranio-caudale identiteit van wervels.

## 1.2 Leerdoelen

Na het volgen van dit vaardigheidsonderwijs ben je op de hoogte van:

- de normale embryonale ontwikkeling en anatomie van de wervelkolom en het voorkomen en de detectie van enkele aangeboren afwijkingen die samenhangen met de ontwikkeling van de wervelkolom
- de interactie tussen de vorming van verschillende structuren tijdens de embryogenese
- de rol van Hox genen in het bepalen van de identiteit van de wervels

## 1.3 Literatuur

### Verdieping

- Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology. 4th. ed. St.Louis: Elsevier Ltd; 2008. Hoofdstuk 6, p. 109 - 116, hoofdstuk 8, p. 153 - 166, hoofdstuk 9, p. 187 - 194.
- <http://www.volkskrant.nl/archief/haal-je-geen-extra-rib-op-de-hals~a3306089/>
- <http://www.bionieuws.nl/artikel.php?id=6923&print=1>

## 1.4 Overige informatie

### Studiebelasting

Dit vaardigheidsonderwijs neemt twee uur in beslag (exclusief voorbereidingstijd).

### Vorbereiding

Lees bovenstaande literatuur ter voorbereiding.

Fris je kennis over de anatomie en embryologie van de wervelkolom uit thema 1A5 op.

Mocht er bij jezelf ooit een X-thorax gemaakt zijn, probeer deze dan mee te nemen naar het onderwijs.

# 2 Handleiding

Open Digimic via de snelkoppeling op de 'S' schijf of vanuit het pdf-document.

Username en Password zijn beide VO3162. Maak de vragen en opdrachten en stel zo nodig vragen aan de docenten.

## 2.1 Wervelkolom afwijkingen

### Casus 1

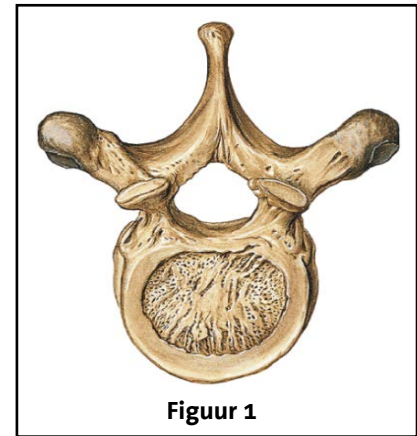
Een 27-jarige zwangere vrouw is voor de tweede maal zwanger; de eerste zwangerschap eindigde in een miskraam. De vrouw zelf is gezond en heeft nooit een operatie ondergaan. Uitgebreid echoscopisch onderzoek wordt verricht bij een amenorroeduur van 20 weken. De indicatie voor dit echoscopische onderzoek is het feit dat haar partner een congenitale thoracale scoliose heeft. Hij is hier twee maal aan geopereerd, op twee- en op achtjarige leeftijd.

1. Fris je kennis betreffende de normale anatomie van de wervelkolom op (Thema 1A1, Thema 2C, Carlson Fig 9.17 en 9.18).

Hoeveel cervicale, thoracale, lumbale wervels zijn er normaliter bij de mens, uit hoeveel wervels is het heiligbeen (os sacrum) opgebouwd, en hoeveel staart (coccygeale) wervels zijn er meestal?

2. Van welk deel van de wervelkolom is de in **figuur 1** getoonde wervel? Benoem belangrijke verschillen tussen cervicale, thoracale en lumbale wervels.

3. [Afbeelding 1](#) toont een mogelijke oorzaak van scoliose. In [afbeelding 1b](#) zie je een voorbeeld van een echoscopisch beeld bij een foetus met dezelfde afwijking. Wat is hier aan de hand?



4. [Afbeelding 2a](#) toont een MRI opname van een neonaat met een andere afwijking aan de wervelkolom en ruggenmerg: een meningomyelocele, een vorm van spina bifida (Carlson, p. 275). Welk deel van de wervel is hierbij niet goed ontwikkeld? Wat is het snijvlak van de MRI opname? Bepaal de plaats van de thoraco-lumbale en lumbo-sacrale overgangen. Op welk niveau van het ruggenmerg bevindt zich de cele?

5 [Afbeelding 2b](#) toont een echoscopische opname van dezelfde afwijking bij de 30 weken oude foetus. Zoek de meningomyelocele op in Afbeelding 2b. Bepaal hoeveel wervels er te zien zijn in de echoscopische opname.

De afbeelding [casus 1](#) toont een 3D-reconstructie van een echoscopische opname van de wervelkolom en ribben van de foetus van mevrouw T.

6. Bepaal welke structuren de ribben zijn. Welke structuur wordt aangegeven met de blauwe pijl? Kun je afzonderlijke wervels herkennen in de echogrammen? Zijn er meerdere botkernen per wervel? Zijn er aanwijzingen voor een congenitale scoliose?

7. Wanneer begint de botvorming van de wervels?

8. Vergelijk het aantal ribben tussen [casus 1](#) en [controle-casus 1](#). Wat valt op?

### **Casus 2**

Mevrouw K, 29-jaar is voor het eerst zwanger. In de familie komen geen aangeboren afwijkingen voor. Echoscopisch onderzoek wijst op een ernstige aangeboren afwijking.

9. De afbeelding [casus 2](#) toont een 3D-echoscopische opname van het aangezicht bij een amenorroeduur van 20 weken. Om welke afwijking gaat het?

De zwangerschap wordt beëindigd bij een amenorroeduur van 21 weken. Bij obductie werden er afgezien van een aantal afwijkingen aan het gelaat geen andere afwijkingen gevonden, en is er een babygram gemaakt.

10. Benoem en nummer de wervels in [babygram-casus 2](#) en bepaal of er afwijkingen aan de wervels of ribben zijn (bekijk zo nodig de [vergroting babygram-casus 2](#)).

Uit recent onderzoek ([ten Broek et al. , 2012, Evol. Biol 39:456-471](#); voor samenvatting zie [artikel Volkskrant](#)) blijkt dat bijna 80% van een grote groep foetussen aangeboden voor obductie (zwangerschapsafbrekingen en doodgeboren of overleden kinderen) afwijkingen van de wervelkolom vertoonde bij de

overgangen tussen de verschillende delen (cervico-thoracaal, thoraco-lumbaal, lumbo-sacraal). Dit uit zich in extra ribben cervicaal en lumbaal of ontbrekende ribben. Als een wervel de identiteit heeft aangenomen van een meer anterior gelegen wervel (e.g. lumbale wervel met een rib), spreken we van een anterieure homeotische transformatie. Als de wervel de identiteit heeft aangenomen van een meer posterior gelegen wervel (e.g. cervicale rib), spreken we van een posterieure homeotische transformatie.

**11. [Figuur 1-tenBroek](#)** toont een schematische indeling van de verschillende gradaties van rib/wervel afwijkingen die in deze studie zijn onderzocht. Benoem de afwijkingen bij de scores CT, CT-TL en CT-TL-LS. Bepaal het aantal ribben en presacrale wervels bij de verschillende scores, en ga na of er sprake is van anterieure of posterieure homeotische transformaties.

### Casus 3 en 4

**12.** Bekijk met de echoscopische opname, c.q. babygram, van de wervelkolom van [casus 3](#) en [casus 4](#), en bepaal of er sprake is van extra cervicale dan wel lumbale ribben? Bepaal ook of er sprake is van een posterieure of anterieure homeotische transformatie.

Casus	Afwijking(en)	Cervicaal/lumbaal	Posterieur/anterieur
<a href="#">casus 3</a>	Nierafwijkingen, ambigue genitaal, anorectale atresie		
<a href="#">casus 4</a>	Turnersyndroom		

[Figuur 2-tenBroek](#) toont opnieuw een figuur uit eerder genoemde studie waarin op de x-as is aangegeven hoeveel orgaansystemen een afwijking vertonen, en op y-as de relatieve frequenties van de gescoorde wervelkolomafwijkingen (R = geen duidelijke afwijking, en de overige afkortingen staan voor het niveau waarop een transformatie heeft plaatsgevonden (CT = cervicothoracaal, TL = thoracolumbaal en LS = lumbosacraal).

**13.** Wat is de frequentie van CT-transformaties in de onderzochte groep? Welke afwijking of combinatie van wervelkolomafwijkingen correleert het best met de hoeveelheid aangedane orgaansystemen?

**14.** Lees de [samenvatting](#) van de studie in de Volkskrant. Hoe kunnen volgens de onderzoeksleidster Frietson Galis de resultaten van haar studies bijdragen aan de prenatale diagnostiek van aangeboren afwijkingen?

**15.** Zoogdieren hebben in het algemeen 7 cervicale wervels onafhankelijk van de lengte van de nek (zie ook afbeelding [giraffe](#)). Is hiervoor een verklaring?

## 2.2 Embryogenese van de wervelkolom

Om inzicht te krijgen in het ontstaansmechanisme van de wervelkolom afwijkingen van de bovenstaande casus, wordt in het tweede deel van dit VO de embryogenese van de wervelkolom besproken. Hierbij komen de volgende vragen aan bod: uit welke structuur ontstaat de wervelkolom, wanneer begint dit proces, hoe hangt de ontwikkeling van de wervelkolom samen met die van andere organen, welke mechanismen spelen een rol bij het bepalen van de positionele identiteit van de individuele wervels?

### Van somiet tot wervel

De wervelkolom ontstaat uit gesegmenteerd mesodermaal weefsel: de somieten. De vorming van somieten begint in de 3<sup>e</sup> week na de conceptie. De figuur [embryo's week 3](#) toont menselijke embryo's in dit stadium. Je kijkt tegen de rug(dorsale)zijde van het embryo aan. Het embryo transformeert van een ellipsvormige schijf tot een cilindervormige structuur.

**16.** Bepaal in [embryo's week 3](#) aan welke zijde het hoofd (craniale zijde) zal ontstaan, en zoek vervolgens de plaats van de primitiefstreek en primitiefknop (node), de somieten, en de neurale plaat/groeve op (maak zo nodig gebruik van Figs. 5.3 en 6.1 in Carlson). Hoeveel somietparen zijn er in ieder embryo te zien?

De figuur [embryo's week 3-4](#) toont de transformatie van het embryo in een cilindervormig minimensje met een duidelijke herkenbare hoofdregio, het hart, en de ledemaatknoopjes.

**17.** Tel het aantal somietparen in de verschillende stadia in [embryo's week 3-4](#) en vergelijk deze gegevens met die in de tabel op p. xiii in Carlson. Wat is de relatie tussen het aantal somietparen en Carnegie ontwikkelingsstadia?

In de figuur [grafiekO'Rahilly](#) staat aangegeven in welke ontwikkelingsstadia specifieke somieten ontstaan, en welk deel van de wervelkolom ontstaat uit deze somieten: de eerste 4 somieten zijn 'occipitaal' en dragen niet bij aan de wervelkolom, dan volgen 8 cervicale, 12 thoracale, 5 lumbale, 5 sacrale en 3-6 coccygeale somieten.

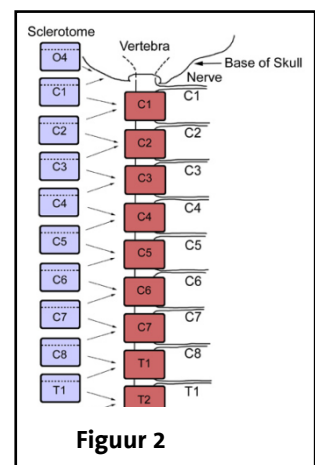
**18.** Bepaal in de figuren [embryo's week 3](#) en [embryo's week 3-4](#) de posities van de eerste cervicale (s5) en de eerste thoracale somiet (s13). Vergelijk de craniocaudale posities van occipitale en cervicale somieten met die van de 4<sup>e</sup> kieuwboog en armknoopje. Vergelijk [embryo's week 3-4](#) ook met Figs. 6-21 en Fig. 9-15. N.B. de figuur [embryo's week 3-4](#) geeft een schematische van de embryo's en dus slechts een globale weergave van de posities van de somieten.

Al snel na hun ontstaan, splitsen somieten in verschillende delen, sclerotoom, myotoom en dermatoom waaruit respectievelijk bot, spier en onderhuidsheefsel zal ontstaan (zie animatie [somet](#), Carlson p.113-114; Fig. 6-10 en 6-12). De figuur [sometentransversaal](#) toont microscopische opnames van doorsnedes door menselijk embryo's (oriëntatie: dwars op notochord en neurale buis).

**19.** Geef in de figuur [sometentransversaal](#) ongedifferentieerde somieten en gedifferentieerde somieten met dermatoom, myotoom en sclerotoom aan. Wijs daarnaast ook de neurale buis, notochord, ectoderm, endoderm, intermediair mesoderm, dorsale aorta en de neurale lijst (neural crest) aan.

In het transversale vlak kunnen sclerotomen worden opgedeeld in verschillende delen waaruit resp. het corpus, de arcus en andere delen van de wervel ontstaan (Carlson Fig. 6-12 en Box 6-1). Ook in het lengte vlak worden sclerotomen van individuele somieten gesplitst in een voorste deel met een relatief lage cel dichtheid en achterste deel met hoge cel dichtheid (zie Figuur 6-13 Carlson). Het voorste deel zal samen met het compact deel van de voorliggende somiet een wervel vormen.

In de ruimte tussen het voorste en achterste deel zal een tussenwervelschijf ontstaan en ontwikkelen zich



de spinale zenuwen (zie **figuur 2**, de animatie [vertebra](#) en Carlson Figuur 6-13).

### **Somitogenese**

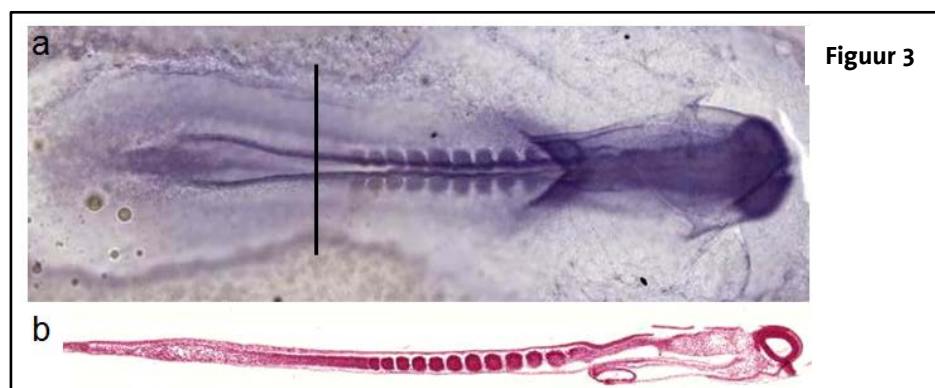
Veel van wat we weten over de vorming van somieten is afkomstig van onderzoek met kippenembryo's. De cellen die de somieten vormen zijn afkomstig uit de primitiefstreek.

**20.** Bepaal in de histologische preparaten van vroege kippenembryo's in figuur [kip 18-36 uur](#) de plaats van de primitiefstreek, primitiefknoop (node = knoop van Hensen), de notochord en de daarboven liggende neurale plaat/groeve/buis, en de hartbuis. Vergelijk de embryo's met de vroege menselijke embryo's in figuur [embryo's week3](#).

Tel het aantal somieten in de kippenembryo en schat op grond van de leeftijd van de embryo's hoe lang de vorming van een nieuw somietpaar duurt. Hoe lang duurt dit bij de mens?

**21.** Welk proces vindt plaats in de primitiefstreek? Hoe wordt het mesoderm genoemd waaruit de somieten ontstaan?

**22.** Bekijk de digimic preparaten met in serie gesneden sagittale ([sag33h](#)) en transversale ([trans33h](#)) coupes van een 33 uur oud kippenembryo. Geef de positie van de sagittale coupe in **figuur 3b** aan in **figuur 3a** (= bovenaanzicht embryo) en wijs in 3b het ongesegmenteerde presomitisch mesoderm aan. Zoek in [trans33h](#) een coupe op die overeenkomt met doorsnede aangegeven in 3a. Maak een ruwe schets van de coupe met daarin aangegeven ectoderm, neuroectoderm, endoderm, notochord, en het presomitische mesoderm.



De transformatie van presomitisch mesoderm tot somieten is een complex multifactorieel proces, waarbij gradienten van specifieke signaalmoleculen, oscillerende expressie van eiwitten en cel-cel interactie eiwitten zoals ephrin receptors en delta-notch een belangrijke rol spelen.

**23.** Bekijk de animatie [somitogenesis](#). Benoem 2 signaal moleculen die in een gradiënt aanwezig zijn in het paraxiale mesoderm en betrokken zijn bij somitogenese.

### **Hox genen en de positionele identiteit van somieten**

Hox eiwitten zijn transcriptiefactoren die een belangrijke rol spelen bij het bepalen van de anterior-posterior identiteit van weefsels en cellen in het embryo.

Zoogdieren hebben 39 Hox genen met 13 functioneel en structureel overlappende subtypes (Hox1, Hox2 ... Hox 13) die in 4 clusters (A, B, C en D) op 4 chromosomen liggen.

**24.** Bekijk de figuur [Hoxkip-muis](#), en bepaal de relatie tussen Hox genexpressie en

de verschillende delen van de wervelkolom..

**25.** De spatio-temporele expressie van 2 Hox-genen, Hoxb1 en Hoxb4 in vroege kippen embryo's is schematisch weergegeven in de figuur [Hoxb1b4kip](#). Wat is opvallend aan het tijdstip van expressie van deze Hox-genen in de prietiefstreek versus somieten.

Om naar de functie van Hox-genen te kijken wordt ook onderzoek gedaan met mutante muizen. De figuur [Hoxa10muis](#) toont een mutante muis waarbij het Hoxa10 gen te vroeg is aangezet met als gevolg een muis zonder ribben.

**26.** Wat voor conclusie kun je trekken met betrekking tot de functie van het Hoxa10. Kan Hoxa10 de afwezigheid van ribben bij halsribben verklaren? Hou zou je door verstoring van Hox gen functie een halsrib kunnen veroorzaken?