

# Estudio histomorfométrico del hueso diafisario en la rata

S. HAZAÑAS RUIZ\*\* L. I. MÉNDEZ PEREZ\* A. SOLANO GARCIA\*\* y M. J. MORA HUZMAN\*\*

\*// Cátedra de Patología Quirúrgica. \*\* Cátedra de Anatomía Humana. Facultad de Medicina de Málaga.

**Resumen.**—Se ha realizado un estudio histomorfométrico de la diálisis femoral en la rata blanca cepa «Wistar» calculando las dimensiones del endostio y periostio, así como las modificaciones de las áreas de la corteza, cavidad medular y hueso total en relación a la actividad endóstica y perióstica del hueso durante el primer año de vida. Los resultados demuestran un crecimiento discontinuo con una fase de enlentecimiento entre los 25 y 45 días de vida. La evolución de los cambios diafisarios en la rata es superponible a la del hombre, considerándola un animal de experimentación válido para estudiar los fenómenos de remodelación ósea durante el crecimiento.

## HISTOMORPHOMETRIC STUDY OF FEMORAL DIAPHYSEAL RONE IN RAT

**Summary.**—A histomorphometric study of the femoral diaphyseal bone was undertaken in «Wistar» albino rat. Measurements of the endosteal and periosteal thickness as well as variations in cortical, medular and total bone areas in relation to the endosteal and periosteal bone activity during the first year of life were analyzed. The results showed a continuous growth increase with a phase of lower growth rate from the 25th to the 45th day of life. The pattern of diaphyseal growing changes resembled that found in humans. The rat can therefore be considered as a suitable experimental animal for the study of bone remodeling during growth.

## INTRODUCCIÓN

El análisis histomorfométrico ha permitido en los últimos años, un conocimiento más profundo del tejido óseo y el hueso como pieza esquelética. Mediante el análisis histomorfométrico se puede obtener importante información sobre aspectos tan trascendentales como la remodelación ósea.

El objeto de este trabajo es estudiar, mediante este método, los cambios que sufre el endostio y periostio en el desarrollo de las diáfisis de los huesos largos de la rata cepa Wistar. Lo que, sin duda, debería contribuir a una mejor interpretación de los resultados en los modelos experimentales en los que se utiliza este animal en crecimiento.

### Correspondencia:

Dra. SYLVIA HAZAÑAS RUIZ  
Chariot, 11, Cañada del Limonar  
29016 Málaga

## MATERIAL Y MÉTODO

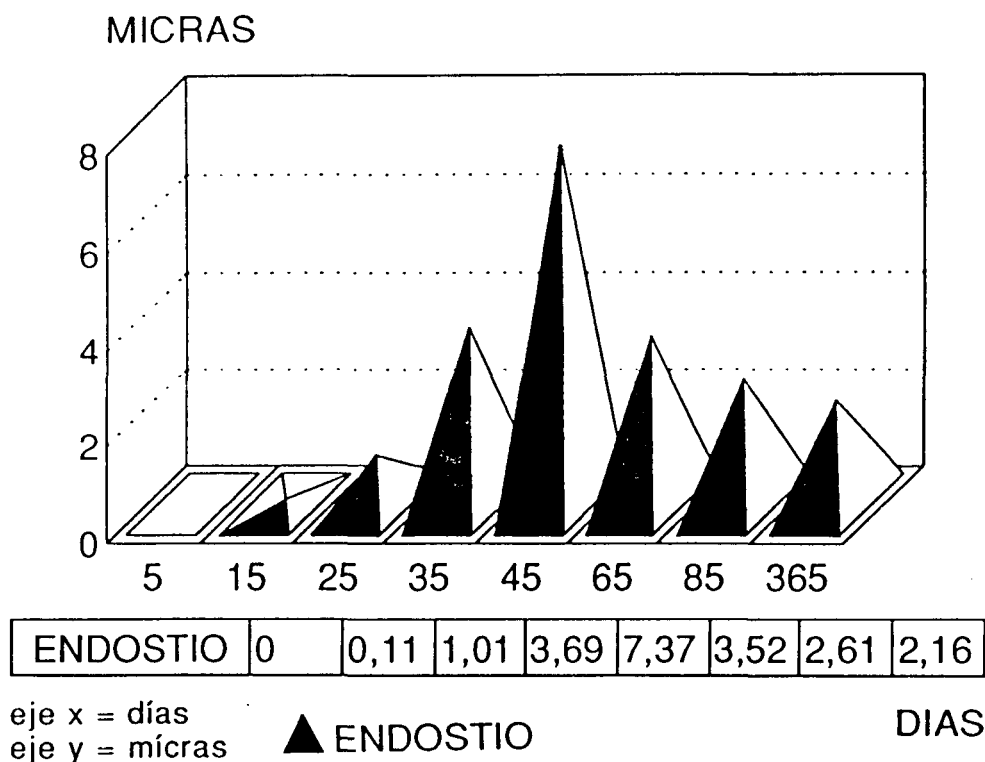
Como animal de experimentación se ha utilizado la rata blanca cepa Wistar, mantenida en cautividad a temperatura constante de 20° C, alimentada con lactancia materna durante los primeros 21 días de vida y posteriormente con piensos «Panlab».

Se utilizaron 60 animales en edades comprendidas entre 5 días y un año. Fueron sacrificados para estudio a los 5, 15, 25, 35, 45, 65, 85 y 365 días de vida.

Previo pesado, se procedió en todos los casos al sacrificio mediante sobredosis de éter por inhalación. En posición de decúbito prono se procedió a la extracción de ambos fémures, eliminando totalmente las partes blandas, pero conservando todo el periostio.

Inmediatamente a la extracción, las piezas fueron procesadas para estudio histológico mediante microscopía óptica y posterior análisis histomorfométrico. La primera etapa de fijación se realizó con formaldehído al 15%, siguiendo la rutina de deshidratación hasta su inclusión en parafina. Mediante microtomo Leitz 1512 se realizaron cortes longitudinales en unos fémures, y cortes transversales en

TABLA I  
ENDOSTIO



otros, en ambos casos de 4 micras de espesor. Las tinciones utilizadas fueron: Hematoxilina-Eosina y Tricrómico de Masson-Golner.

El análisis histomorfométrico se realizó mediante cálculo por ordenador IBAS KONTRON 2000. En los cortes longitudinales se midió el grosor del periostio, cortical, endostio y cavidad medular, así como el grosor total de la diáfisis. En los cortes transversales se midió el área total, el área de la cortical y el área de la medular; asimismo, se calcularon los diámetros de los círculos equivalentes a estas áreas. Teniendo en cuenta que el hueso y la cavidad medular no son círculos perfectos, y que los cortes transversales no eran totalmente perpendiculares al eje diafisario, el diámetro se calculó considerándolos como círculos concéntricos.

## RESULTADOS

### 1. Cortes longitudinales

El grosor del *endostio* no pudo valorarse en los animales de 5 días al estar el endostio poco desarrollado. A partir de los 15 días pudo observarse un aumento progresivo del grosor del endostio, desde 0,1175 micras (a los 15 días), hasta un máximo de 7,37 micras (a los 45 días) para posteriormente disminuir de forma progresiva hasta

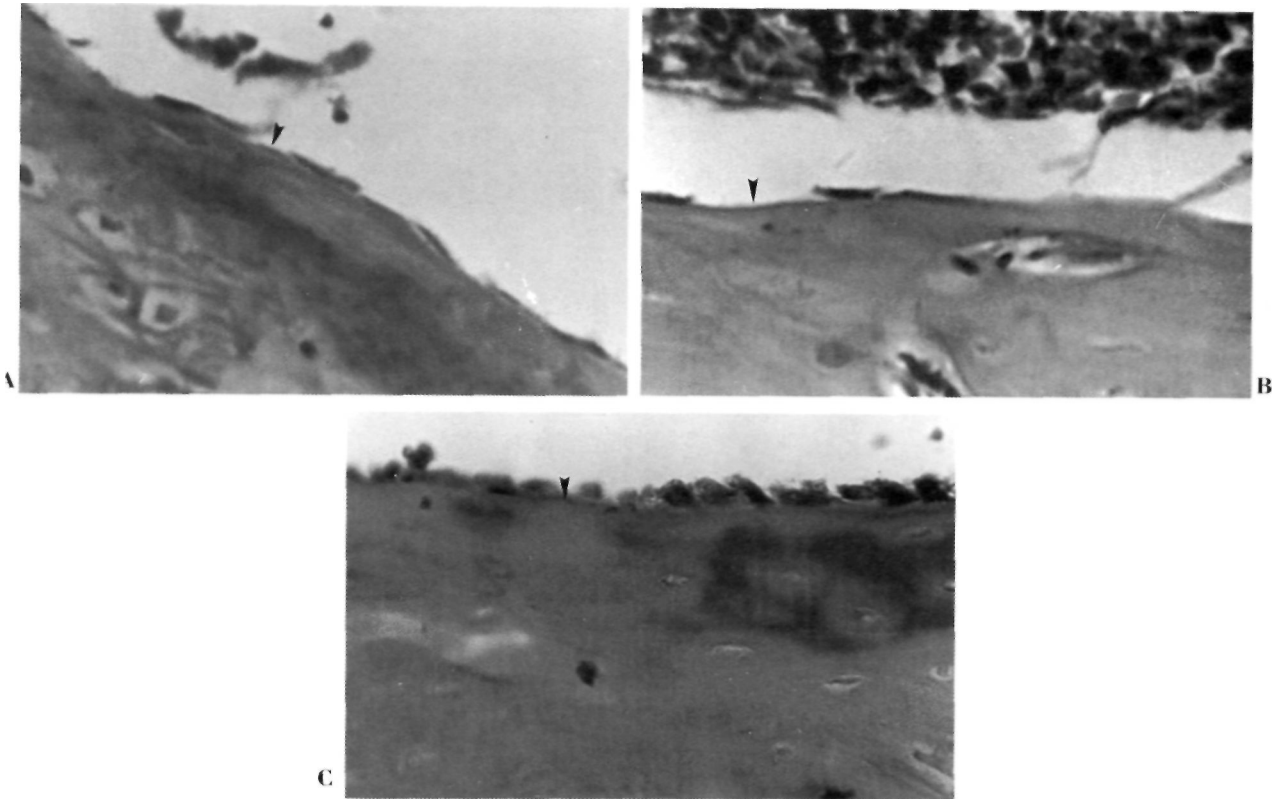
alcanzar una media de 2,16 micras a los 365 días (tabla I) (fig. 1).

El *periostio* aumentó progresivamente de grosor a lo largo de toda la experiencia, especialmente en los primeros 45 días. A los 5 días tenía un grosor medio de 1,987 micras, a los 45 días 21,34 micras y a los 365 días 22.009 micras (tabla II) (fig. 2).

La *anchura total del hueso* aumentó progresivamente desde 0,746 mm. a los 5 días hasta 4,24 mm. a los 365 días, sin embargo, ese aumento se detuvo entre los 25 y 45 días, con cifras semejantes a los 25, 35 y 45 días [1,682, 1,666 y 1,645 mm. respectivamente (tabla III)].

La *anchura de la cortical* creció desde los 0,116 mm. a los 0,8 mm. a los 365 días. Entre los 5 y 15 días el crecimiento fue rápido pero en los animales de 25 días se observó una menor anchura de la cortical (0,29 mm. frente a 0,33 mm. a los 15 días), manteniéndose entre los 25 y 45 días un crecimiento muy lento (tabla III).

La *anchura de la medular* aumentó de 0,524 mm. a los 5 días, hasta 2,10 mm. a los 365 días. Igualmente hubo una detención del crecimiento entre los 25 y 45 días (tabla III).



**Figura 1.** Endostio. a) Animal de 15 días. Aumentos 2 x 40. b) Animal de 45 días. Aumentos 2 x 40. c) Animal de 365 días. Aumentos 2 x 40.

## 2. Cortes transversales

El *área total del hueso* aumentó con una progresión constante. El valor medio en los cortes transversales de los animales de 5 días fue de 1,19 mm<sup>2</sup> hasta alcanzar una media de 11,45 mm<sup>2</sup> a los 365 días (tabla IV).

El *área de la cortical* también mostró un aumento progresivo proporcional al aumento de la cortical, pero con estancamiento entre los 25 y 35 días, en los que se obtuvo valores similares 1,68 mm<sup>2</sup> y 1,69 mm<sup>2</sup> respectivamente.

El *área medular* también sufrió un aumento de tamaño desde 0,57 mm<sup>2</sup> a los 5 días, hasta 3,28 mm<sup>2</sup> a los 365 días. Sin embargo, este aumento fue discontinuo siendo los valores semejantes a los 35 y 65 días (2,33 y 2,35 mm<sup>2</sup>) con un claro descenso a los 45 días (1,74 mm<sup>2</sup>) (tabla IV).

El *diámetro de los círculos equivalentes* presentó cambios superponibles a los obtenidos en los óseos.

El *diámetro del círculo equivalente al grosor total del hueso* aumentó progresivamente desde 1,222 mm. a los 5 días, hasta 3,804 mm. a los 365 días (tabla V).

El *diámetro del círculo equivalente a la cortical* fue aumentando desde 0,193 mm. a los 5 días, hasta 0,886 mm. a los 365 días, pero sufriendo una clara detención del desarrollo entre los 15 y 35 días con cifras semejantes entre 0,27 y 0,29 mm (tabla V).

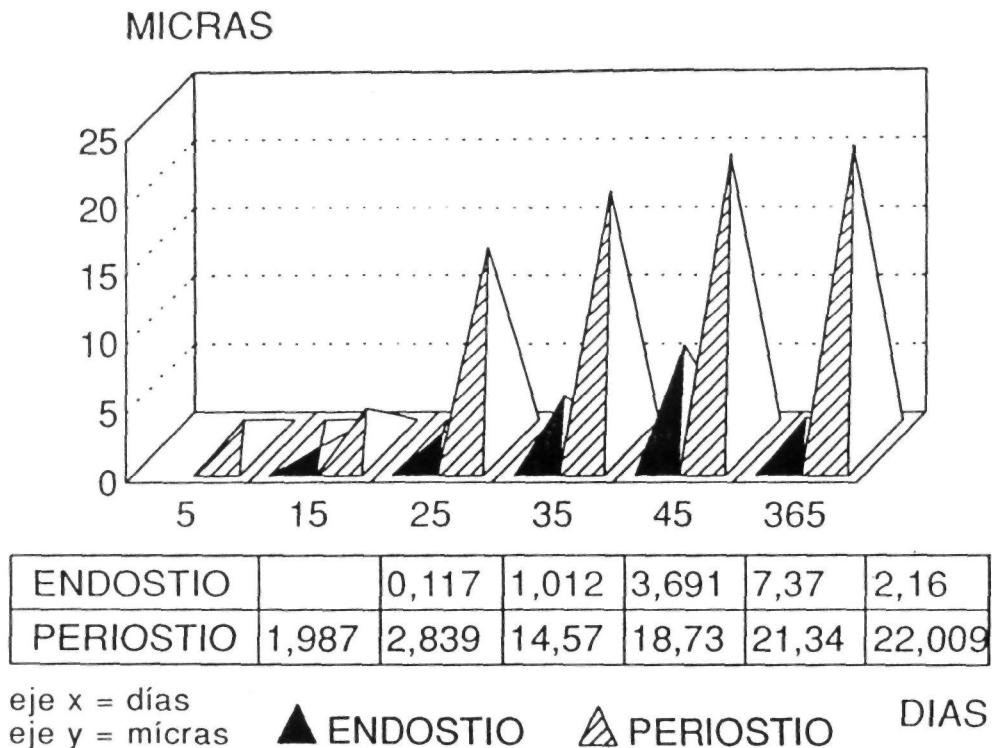
El *diámetro del círculo equivalente a la médula* aumentó de forma constante desde 0,834 mm. a los 5 días, hasta 1,714 mm. a los 35 días. Sin embargo, a los 45 días se obtuvieron cifras menores (1.452 mm), y a partir de los 65 días se estabilizó en 2 ó 3 mm. (tabla V).

## DISCUSIÓN

Los huesos largos del esqueleto humano crecen en anchura mediante un proceso de formación ósea subperióstica y reabsorción endóstica, continuando la remodelación de los mismos a lo largo de la vida, aún cuando cese el crecimiento longitudinal al alcanzarse la maduración esquelética.

El crecimiento en anchura de un hueso largo se debe principalmente a la formación subperióstica de hueso nuevo, comenzando antes del nacimiento y continuando a lo largo de la vida. En conjunción con

TABLA II  
ENDOSTIO / PERIOSTIO



la aposición ósea subperióstica específica para cada edad, en la superficie endóstica tiene lugar una alternancia de fase de reabsorción y aposición. Mientras que la actividad subperióstica determina la anchura del hueso, la actividad endóstica determina el calibre de la cavidad medular (1).

En nuestro estudio morfométrico los cambios en la geometría ósea relacionados con la edad, son comparables a los observados por Netter (1) en el ser humano. Así, para este autor, en los primeros años de vida hay una actividad considerable de ambas superficies subperióstica y endóstica del hueso cortical, incrementándose de forma extraordinaria la anchura del hueso y de la cavidad medular. Esto ocurre en nuestro estudio desde los 5 días, hasta los 35 días. Después, según Netter (1), durante los años siguientes, la actividad subperióstica continua a ritmo más lento acompañada por una notable disminución de la resorción endóstica y un breve período de aposición, estos procesos aumentan el diámetro del hueso y reducen el calibre de la cavidad medular. En nuestros animales esto ocurre a los 35-45 días. Después, según Netter (1), nuevamente se reanuda la reabsorción endóstica con el consiguiente ensanchamiento de la cavidad medular y a partir de los 40 años, esta reabsorción per-

siste de forma lenta pero continua. En nuestro estudio ocurre a partir de los 65 días.

Luk S.C., Nopajaroonsri C. y Simmon G. T. (2), estudiando el endostio en conejos adultos jóvenes, vieron que está limitado por un lado, por hueso, y por otro, por un plexo de capilares grandes, formando diferentes áreas colocadas en un patrón en mosaico las cuales podían ser, formativas, reabsortivas y en reposo. Las áreas formativas están integradas principalmente por osteoblastos activos, muchos estratos de preosteoblastos y ausencia de osteoclastos. Las

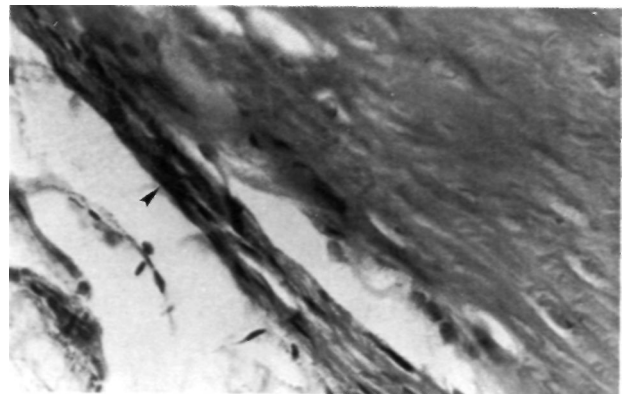
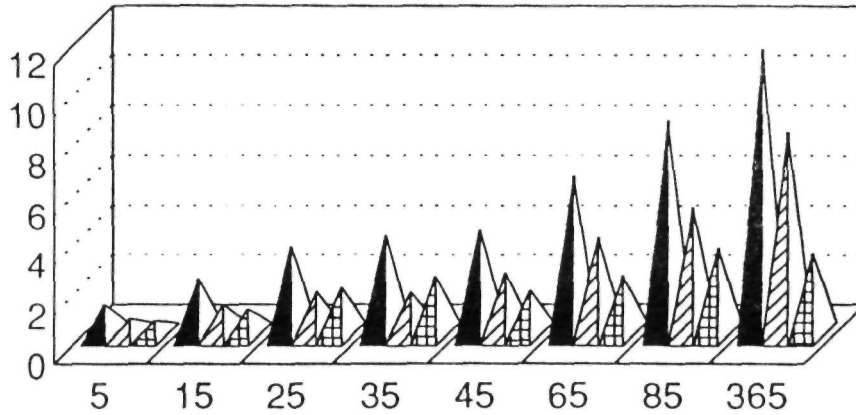


Figura 2. Periostio. Animal de 85 días. Aumentos 2x40.

TABLA III  
CORTES LONGITUDINALES

MM2



TOTAL	1,19	2,21	3,57	4,02	4,22	6,39	8,59	11,45
CORTICAL	0,62	1,19	1,69	1,68	2,47	3,94	5,14	8,16
MEDULAR	0,57	1,01	1,88	2,33	1,75	2,35	3,49	3,28

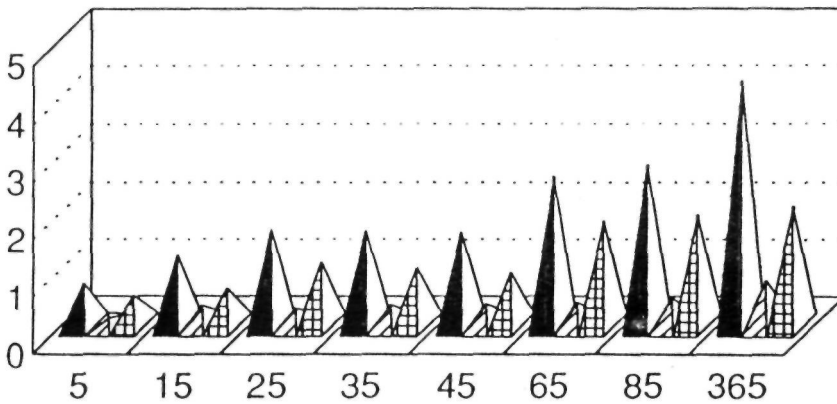
eje x = días  
eje y = mm2  
 ▲ TOTAL    ▨ MEDULAR    ▩ CORTICAL    DIAS

áreas en reposo, están formadas por osteoblastos en reposo y un extracto único de preosteoblastos. Las áreas reabsortivas están caracterizadas por la

presencia de osteoclastos. La presencia de estas distintas áreas, permite la remodelación medular con el crecimiento. Nosotros hemos observado cómo el

TABLA IV  
AREAS CORTES TRANSVERSALES

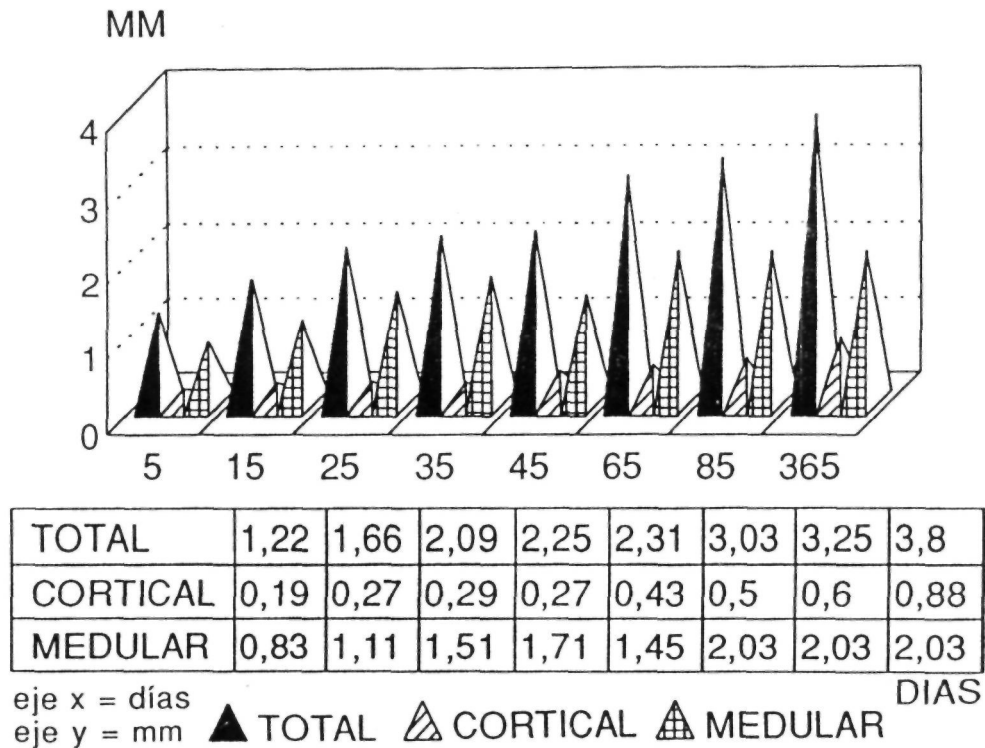
MM



TOTAL	0,74	1,24	1,68	1,66	1,64	2,61	2,79	4,24
CORTICAL	0,11	0,33	0,29	0,35	0,36	0,4	0,48	0,8
MEDULAR	0,52	0,65	1,12	1,02	0,94	1,84	1,94	2,1

eje x = días  
eje y = mm    ▲ TOTAL    ▨ MEDULAR    ▩ CORTICAL    DIAS

TABLA V  
DIAMETROS CIRCULOS EQUIVALENTES



endostio aumenta progresivamente hasta los 365 días. También hemos visto cómo a partir de los 45 días empieza a aumentar progresivamente la cavidad medular, lo cual puede estar en relación con la capacidad reabsortiva del endostio, siendo ésta más grande a partir de los 45 días. Así podemos considerar que antes de los 45 días el endostio tiene más capacidad formativa ósea, y que entre los 25 y los 45 días es una época de equilibrio de remodelación o fase de reposo.

Frost y cols, (3), observaron en el ser humano cómo la superficie perióstica aumenta entre el nacimiento y la muerte, creciendo en longitud por osificación endocranal hasta la edad de los 20 años, siendo esto importante en el momento de la madurez para determinar el tamaño de la superficie perióstica. La superficie endóstica en las costillas, así como la perióstica, cambian en el área de sección transversa con la edad y aumentan durante toda la vida pero con ritmo distinto. Así, después de los 25 años, la superficie endóstica aumenta más rápidamente que la superficie perióstica causando una pérdida neta de hueso cortical. Los aumentos relativos de ambas superficies son tales que la cantidad de hueso cortical aumenta durante el crecimiento de una persona y disminuye después de que se detiene el crecimiento lon-

gitudinal. La superficie perióstica aumenta durante toda la vida, causando un aumento de hueso. En nuestro estudio hemos apreciado endostio a partir de los 15 días y vemos como aumenta progresivamente hasta los 45 días y después disminuye hasta los 365 días, no apreciándose endostio a los 5 días. El periostio por contra aumenta desde los 5 días hasta los 365 días, de forma que a los 45 días triplica el valor del endostio.

Meema H.E. y Meema S. (4), realizaron comparaciones longitudinales microrradioscópicas de la pérdida de hueso endóstico y yuxtaendóstico en mujeres premenopáusicas y con enfermedad renal terminal siendo la reabsorción de hueso endóstico el mecanismo principal de pérdida de hueso en todos los casos, acompañándose frecuentemente el hueso cortical de reabsorción de hueso yuxtaendóstico. Nosotros hemos podido comprobar cómo existe en las ratas un aumento progresivo de la cavidad medular desde los 5 días hasta los 365 días, lo cual pensamos que pueda ser debido a la capacidad reabsortiva del endostio, aunque a los 25 y 45 días la cavidad medular permanece prácticamente igual; en estos días es la época en que estos animales alcanzan el equilibrio en su actividad de remodelación. Esto nos ayudaría a comprender lo anteriormente dicho por Meema H.E.

y Meema S., acerca del mecanismo de producción endóstico y yuxtaendóstico son los principales mecanismos de pérdida de hueso de la osteoporosis, donde la reabsorción de hueso

### **Bibliografía**

1. **Netter HF.** Sistema musculoesquelético. Anatomía fisiología y enfermedades metabólicas. Barcelona: Ed. Salvat, 1990.
2. **Luk SC, Nopajaroonsri C, Simon GT.** The ultrastructure of endosteum: A topographic study in young adult rabbits. *J Ultrastructures* 1974; 46: 165-83.
3. **Frost HM, Detroit MD, Michigan.** Dynamique osseuse et maladie metabolique de l'os. *J Bone Joint Surg* 1966; 48A: 1192-201.
4. **Meema HE, Meema S.** Longitudinal microradioscopic comparisons on endosteal and juxtaendosteal bone loss in premenopausal and postmenopausal women, and in those with end-stage renal disease. *Bone* 1987; 8: 343-50.