

Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar

Francisco H Velásquez-Forero*

RESUMEN

El análisis histomorfométrico de la biopsia ósea tomada previo doble marcaje con tetraciclina y procesada sin descalcificar es el patrón de referencia para el estudio de las enfermedades metabólicas óseas. La biopsia ósea metabólica transiliaca es un procedimiento diagnóstico inocuo. En la biopsia se estudian la modelación y la remodelación. La primera actúa sobre la forma, el tamaño y la masa ósea. La segunda renueva el hueso obsoleto. Esta revisión se enfocó en la remodelación. El remodelamiento óseo se limita al hueso trabecular y es efectuado por las URO (unidades de remodelamiento óseo), constituidas por grupos multicelulares cuya función es resorber el tejido óseo y reemplazarlo por nuevo. El número de URO es constante y su actividad es asincrónica. El hueso resorbido se reemplaza en igual cantidad (equilibrio de la remodelación); la mineralización es cronológicamente homogénea y el tiempo de actividad individual es constante. Cualquier modificación de estas funciones altera el metabolismo óseo; por ejemplo: si aumenta el número de las URO y se acorta su tiempo de actividad, se trata de una enfermedad metabólica ósea de alto remodelamiento; por el contrario, si disminuye la cantidad de URO y se alarga su tiempo de actividad y su superficie trabecular mineralizando es escasa, indica una enfermedad metabólica ósea de bajo remodelamiento. Los parámetros histomorfométricos de remodelación ósea se dividen en: estructurales (tamaño y cantidad de hueso), de resorción (porcentaje de osteoclastos, erosión ósea y fibrosis peritrabecular), estáticos de formación ósea (porcentaje de osteoblastos, grosor y cantidad de osteoide peritrabecular) y dinámicos de formación ósea, que indican función celular ósea *in vivo* (superficie trabecular mineralizando y velocidad de agregación del mineral, y otras derivadas de las dos anteriores). No hay que olvidar que algunos parámetros de la remodelación ósea cambian con la edad, en especial durante el crecimiento. Se conoce poco sobre las cifras bioquímicas normales, deficientes o tóxicas de metales en el tejido óseo; sin embargo, la biopsia ósea metabólica permite determinarlas mediante espectrofotometría de absorción atómica de flama, con horno de grafito y equipo generador de hidruros. Las indicaciones de la biopsia ósea metabólica son: establecer el diagnóstico específico y el tratamiento y dilucidar el pronóstico. Se sugiere hacerla cuando se estudian las osteodistrofias renales, osteogénesis imperfecta, osteoporosis juvenil idiopática, displasia fibrosa polioestósica, raquitismo resistente a vitamina D, hipofosfatemias, atresia de vías biliares, hiperparatiroidismo primario, fracturas patológicas, enfermedades gastrointestinales que ocasionan malabsorción, dolor óseo inexplicable, alteraciones óseas previas al trasplante de órganos, así como seguir protocolos terapéuticos óseos para corroborar su eficiencia e inocuidad en la determinación de toxicidad o deficiencia de metales.

Palabras clave: biopsia ósea metabólica, histomorfometría ósea, metales en hueso, modelación y remodelación ósea.

ABSTRACT

The histomorphometric bone biopsy study obtained previous double tetracycline labeled, today is the "golden key" for the study of the mineral metabolic bone diseases. The transiliac bone biopsy is a safe proceeding. In the biopsy we analyzed the modeling and remodeling bone activity, both processes are performed by the same cells, but differ in the way that they are arranged. The main effect of modeling is to lead to changes in bone shape size and mass, whereas remodeling is to renew bone due to the few data on the modeling process, the following discussion will be focuses on remodeling. The bone remodeling is located mainly in the trabecular bone through a basic multicellular unit (BRU), which its main action consists of successive cycles of bone resorption and formation on the same trabecular surface. The BRU number is constant, its activity is asynchronous, the amount of bone removed is replaced (remodeling balance), the mineralizing surface is homogeneous and its individual time activity is constant. Any alteration of these qualities, leading to metabolic bone disease. Example: If the BRU increased in number, if their time of activity shortens and their mineralization surface increases, it means that there is a high remodeling bone disease. On the other hand, if the number of BRU diminished, if its time of activity enlarges and if its mineralizing surface is scanty, it shows the image of a low remodeling bone disease. The histomorphometric parameters are classified as structural parameters (amount of bone and size), resorption parameters (percentage osteoclasts, eroded surface and peritrabecular fibrosis), static formation parameters (percentage osteoblast, osteoid surface and osteoid thickness) and dynamic bone formation parameters, that show information about *in vivo* bone cell function (mineralizing surface, mineral apposition rate and others derived from these primary measures). We must take into account that the remodeling activity changes markedly with aging. We had few information about the metals bone levels; the bone biopsy allows us to know biochemical metals levels. Metabolic bone biopsy is indicated to establish specific diagnosis to prescribe treatments and some times to dilucidate prognosis. It is recommended to performed bone metabolic biopsy in renal osteodystrophies, osteogenesis imperfecta, idiopathic juvenile osteoporosis, polyostotic fibrous dysplasia, vitamin D dependent rickets, hypophosphatemic syndromes, chronic gastrointestinal conditions with bone disease, biliary atresia, primary hyperparathyroidism, pathological fractures, before any organ transplantation, in therapeutic protocols and toxicity or depletion of trace elements.

Key words: metabolic bone biopsy, bone histomorphometric, bone trace elements, bone modeling and remodeling.

Frost^{1,2} (1960), Merz³ (1970) y Parfitt⁴ (1987) fueron los precursores en la valoración histomorfométrica de las lesiones metabólicas óseas.

Esta herramienta indispensable permite obtener información cuantitativa del tejido óseo con base en parámetros estructurales estáticos y de formación ósea, en tanto que el marcaje con tetraciclina revela los valores de la función celular ósea *in vivo* con los parámetros dinámicos de formación del hueso.² En el laboratorio de metabolismo mineral óseo del Hospital, la mitad de la biopsia se destina para el análisis histomorfométrico y la otra para estudiar el contenido de metales. La biopsia ósea metabólica se ha usado poco debido a que se trata de un procedimiento invasor y complicado que requiere equipo especial y personal altamente capacitado, quizá también porque no se conoce su papel en el diagnóstico de las enfermedades metabólicas óseas o porque se sobrevaloran los estudios de gabinete no invasores. El propósito de este artículo es hacer más comprensible la interpretación de los resultados obtenidos en el estudio histomorfométrico de la biopsia ósea metabólica, con el fin de que se utilice más esta técnica.

CONCEPTOS BÁSICOS DEL METABOLISMO ÓSEO

En los niños se distinguen tres tipos de actividad metabólica ósea: crecimiento longitudinal, cambios en anchura y forma (modelación) y reemplazo de hueso viejo por nuevo (remodelación). En los adultos predomina el remodelamiento óseo (reemplazo del tejido óseo). El crecimiento longitudinal ocurre en una estructura cartilaginosa altamente especializada, localizada en la unión de la epífisis con la metáfisis de los huesos largos, conocida como placa de crecimiento. Esto se lleva a cabo por medio de la transformación de la placa cartilaginosa de crecimiento a hueso a través de una serie de cambios celulares y de la

matriz, denominada osificación endcondral.⁵ Este proceso se conoce poco, porque es difícil obtener muestras de la placa de crecimiento; sin embargo, Jamshidi estudió dicha placa en la cresta ilíaca y sugirió tomar las biopsias en sentido vertical. No obstante, en este sitio el remodelamiento óseo es muy alto y la cortical que está debajo de la placa de crecimiento es delgada, lo que no la hace representativa.^{6,7}

En la modelación ósea, se modifican la forma y la anchura de los huesos, principalmente en el área cortical. En esta zona, los huesos largos crecen en anchura cuando los osteoblastos de la superficie de la cortical externa (subperióstica) depositan matriz ósea que se mineraliza. Al mismo tiempo, los osteoclastos se localizan en la parte interna de la cortical externa (endocortical), resorbiendo hueso. En la cortical interna se invierte la actividad celular, por lo que se colocan los osteoblastos en la superficie interna de la cortical interna (endocortical), y producen matriz ósea que se mineraliza en esta zona. Los osteoclastos se ubican en la superficie externa (subperiostial) de la cortical interna y resorben hueso en esta área.⁶

En la modelación, la masa ósea generalmente aumenta, ya que los osteoclastos remueven menos tejido óseo que el que depositan los osteoblastos,¹ y las células óseas se activan sin depender unas de las otras (activación individual), lo que hace efectivo este proceso. En el estudio histomorfométrico de la biopsia ósea metabólica comienza a tomarse en cuenta la modelación.^{7,8}

La remodelación ósea consiste en sucesivos ciclos de resorción y formación en la misma superficie; su función principal es renovar el tejido óseo, previniendo la acumulación de material obsoleto. En la remodelación, un grupo de osteoclastos cava un surco en la superficie trabecular o un túnel en la cortical ósea, que luego es rellenado por los osteoblastos.^{9,10} Todas las células implicadas en este proceso se denominan “unidad de remodelación” (URO) (figura 1). En el remodelamiento óseo, la activación de los osteoclastos y la de los osteoblastos se inhiben mutuamente. En el hueso cortical existen 15 URO/m³ y 40 URO/mm³ en el hueso trabecular.^{8,9} Por lo general, un aumento en el número de URO expresa un alto remodelamiento óseo (figura 2a). Cuando se utiliza la marcación previa con tetraciclina y se pone bajo luz ultravioleta se aprecian dos líneas fluorescentes separadas (figura 2b). Por el contrario, una disminución en el número de URO casi siempre expresa un bajo remodelamiento óseo (figura 2c),

* Laboratorio de Metabolismo Mineral Óseo, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Correspondencia: Dr. Francisco H Velásquez Forero. Laboratorio de Metabolismo Mineral Óseo, Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez 162, colonia Doctores, CP 06720, México, DF. Correo electrónico: fvelforero@hotmail.com
Recibido: octubre, 2008. Aceptado: diciembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Velásquez-Forero FH. Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patología Rev Latinoam* 2009;47(2):108-17. La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

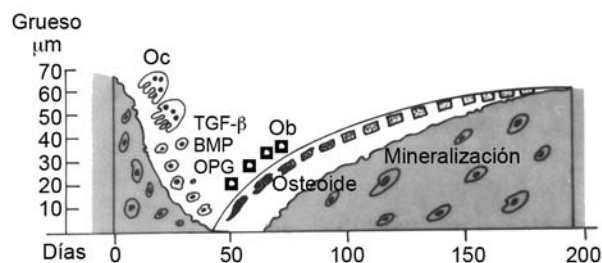


Figura 1. Esta figura representa la vista lateral de la actividad de una unidad de remodelamiento óseo (URO) en la periferia de una trabécula ósea. A la izquierda los osteoclastos (Oc) resorben hueso formando una cavidad y erosionando la superficie peritrabecular, hasta alcanzar una profundidad de 65 µm en 43 días aproximadamente. En el fondo de la cavidad varios factores locales (TGF-β, BMP y OPG, etc.) inhiben la actividad de los osteoclastos atrayendo los osteoblastos (Ob) que llegan a sintetizar osteoide durante los siguientes 15 días, mismo que continúa produciéndose y mineralizándose durante los siguientes 130 días, completándose la formación del nuevo hueso. Cuando la resorción es igual a la formación de hueso nuevo, se habla de equilibrio en la actividad de las URO. La actividad osteoclástica y la osteoblástica dependen una de otra y se inhiben mutuamente.^{3,5,31} TGF-β: factor de crecimiento tumoral β; BMP: proteína morfogénica ósea; OPG: osteoprotegerina.

y con la marcación con tetraciclina sólo se observa una línea fluorescente interrumpida (figura 2d). El hecho de que la acción de los osteoclastos esté ligada con la de los osteoblastos se denomina “acoplamiento”. En el ciclo de la URO se designa como “remodelación equilibrada” a una resorción igual a la formación ósea.⁸⁻¹⁰ El equilibrio de la remodelación generalmente es igual a cero, de tal manera que hay poca o ninguna diferencia entre la resorción y la formación ósea. El desequilibrio en la remodelación ósea es la causa de varias alteraciones del metabolismo óseo, como en la osteoporosis posmenopáusica.⁹⁻¹¹ Casi todos los estudios histomorfométricos óseos se limitan al hueso trabecular, en donde se expresa, si no toda la actividad metabólica, sí la remodelación ósea.

BIOPSIA TRANSILÍACA

Se considera que la biopsia ósea metabólica para estudio histomorfométrico puede realizarse en cualquier hueso; sin embargo, algunas investigaciones detalladas mencionan que son mejores las muestras obtenidas del ilion, a 2 cm de la cresta ilíaca anterior y superior (transilíaca), previo doble marcaje con tetraciclina. La muestra se obtiene con

un trocar tipo Bordier de 0.7 a 0.8 cm de diámetro, que debe colocarse perpendicularmente a la superficie del ilion para obtener corteza externa e interna en la muestra.¹⁰

En este laboratorio se divide el tejido óseo en dos partes iguales, siguiendo su eje longitudinal con una sierra de carburo de tungsteno de alta velocidad (25,000 a 30,000 rpm), para no alterar la arquitectura trabecular.^{10,11} El fragmento para valoración histomorfométrica se coloca en alcohol del 70% para su fijación, y el destinado al estudio de metales en un tubo de poliestireno. El primero se procesa sin decalcificar y se obtienen cortes de 3 a 5 micras de espesor, que se tiñen con tricrómico de Goldner;^{12,13} otros cortes se tiñen con ácido aurintricarboxílico (figura 2e) para determinar el contenido de aluminio,^{13,14} con tinción de Perls (figura 2f) para averiguar los depósitos de hierro,¹⁵ y con rojo congo para el amiloide.¹⁶ En la biopsia ósea metabólica con técnica de hibridación *in situ* se pueden utilizar estudios de biología molecular e inmunohistoquímica para identificar la localización, intensidad de expresión y capacidad de síntesis de varios factores celulares en el microambiente óseo.^{17,18}

PARÁMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS

La nomenclatura histomorfométrica fue elaborada por un comité de trabajo designado por la Sociedad Americana para la Investigación del Tejido Óseo y sus Minerales.⁴ Se definió como *hueso* la matriz ósea mineralizada; como *osteoide* a la no mineralizada; y como *tejido* a ambos huesos y a los tejidos blandos concomitantes, como la médula ósea. Histomorfométricamente, las medidas son bidimensionales (longitud y anchura), aunque el comité sugirió que se utilizara la nomenclatura tridimensional (superficie, área y volumen) por cuestiones convencionales, por lo que no deben considerarse como medidas tridimensionales verdaderas. Antes se obtenían las medidas con la rejilla de Merz,³ pero hoy se recomienda usar un sistema digitalizado con un programa de cómputo para medidas óseas (Osteometrics, Inc, Atlanta, Georgia).

Los parámetros histomorfométricos óseos se ordenan en cuatro categorías (cuadro 1):¹⁹ estructurales, de resorción, estáticos de formación y dinámicos de formación.¹⁸ Los parámetros estructurales señalan el tamaño y la cantidad de hueso; los principales son: anchura de la biopsia, grosor de la cortical, área trabecular total del tejido analizado, porcentaje de hueso trabecular mineralizado en el área

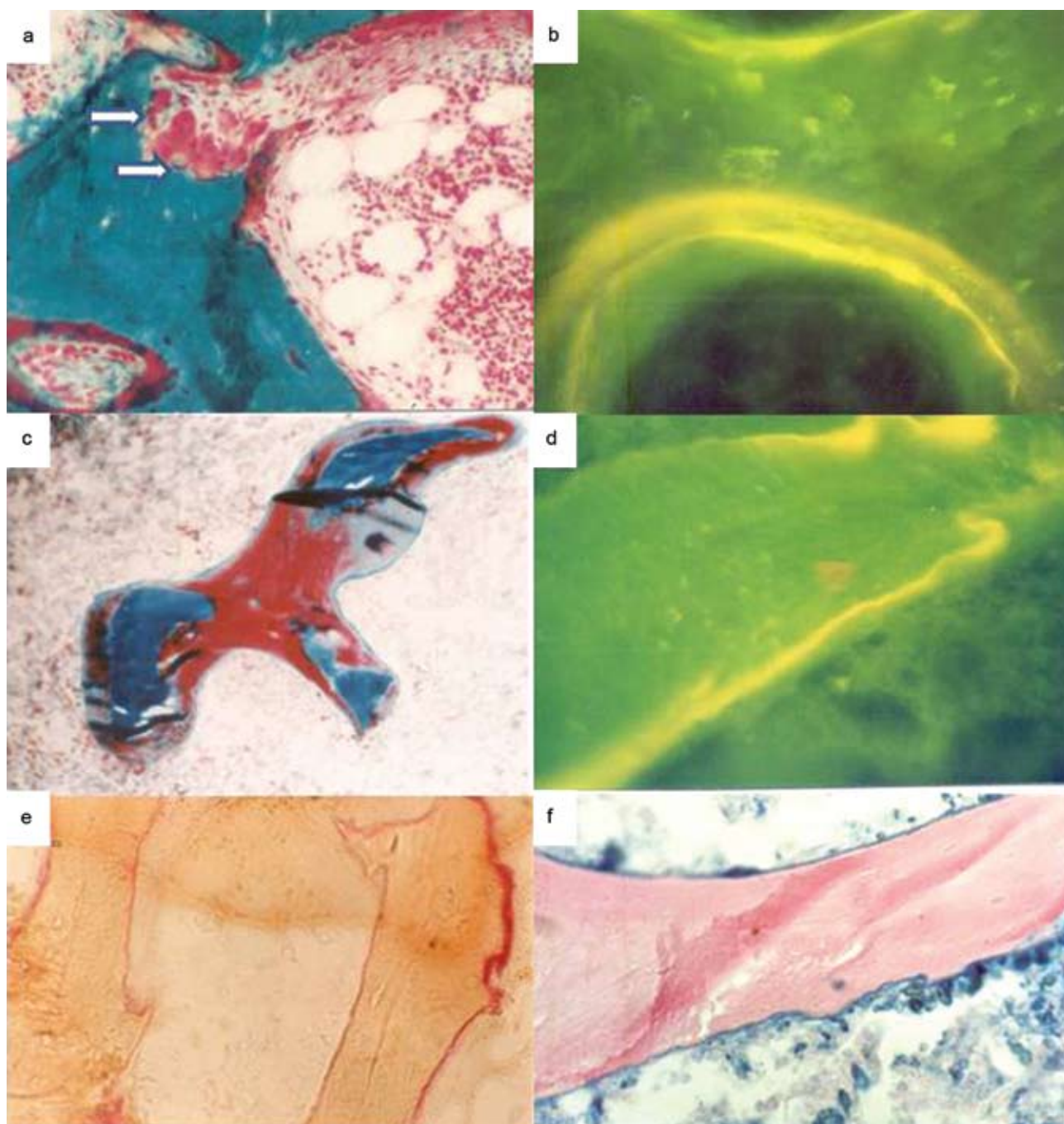


Figura 2. El panel **a** exhibe una trabécula ósea con una imagen de alto remodelamiento óseo; en la periferia de la trabécula hay una superficie erosionada por la resorción de osteoclastos y tunelización (flecha), donde los osteoblastos empiezan a sintetizar osteoide (rojo); en la médula ósea hay fibrosis peritrabecular (tricrómico de Goldner x 220). En **b**, bajo luz fluorescente se encuentran líneas dobles y simples en el frente de mineralización que corresponden a las marcas de tetraciclina en un caso de mineralización acelerada (x 230). Una trabécula ósea con abundante osteoide (rojo) por un defecto en la mineralización se aprecia en el panel **c**; nótese la ausencia de células óseas y de fibrosis peritrabecular (tricrómico de Goldner x 220). El panel **d** presenta, bajo la luz fluorescente, líneas simples escasas e interrumpidas en el frente de mineralización ósea en la periferia de una trabécula que corresponde a escasa mineralización por bajo remodelamiento (x 230). En el panel **e** se observan dos trabéculas óseas con depósitos de aluminio (líneas rojas) en el frente de mineralización ósea (ácido urintricarboxílico x 220). En el panel **f** se muestran una trabécula ósea con depósitos de hierro sobre el frente de mineralización ósea y algunos siderófagos en la médula ósea (tricrómico de Mallory x 240).

Cuadro 1. Parámetros histomorfométricos de la remodelación ósea (continúa en la siguiente página)

Abreviatura	Unidad	Significado	Fórmula
Parámetros estructurales			
C. W. i	μm	Anchura de la biopsia	Explicación por sí misma (O.m.)
Ct. Wi	μm	Grosor de las corticales	Suma promedio de distancias entre superficies periosteal y endo-corticales (O.m.)
MdAr	%	Porcentaje de hueso mineralizado en el área total del hueso trabecular analizado	$P(100)/N.C (36)$ (r. M.)
TTAr	mm ²	Area trabecular total del tejido analizado (hueso mineralizado más no mineralizado, más tejidos blandos)	$N. C. \times 0.1516$ (area de r.M.)=mm ² (S.O.)
TbWi	μm	Ancho de la trabécula: la media del ancho de trabéculas en 10 campos	(O.m.)
Tb.Th	μm	Grosor medio de las trabéculas	$(TbWi) \times 0.833^*$ (O.m.)F.C.
Parámetros estáticos de resorción			
Oc.Pm	%	Osteoclastos en el perímetro trabecular: porcentaje de osteoclastos que cubren el perímetro de las trabéculas óseas	$N(100)/N.T$ (r.M.)
E.Pm	%	Perímetro erosionado: porcentaje perimetral de las trabéculas óseas que presentan erosión o melladura con o sin osteoclastos	$N(100)/N.T.$ (r.M.)
Fb.Ar	%	Area de fibrosis peritrabecular: porcentaje total de fibrosis peritrabecular	$P(100)/N. C (36)$ (r.M.)
Parámetros estáticos de formación			
OS	%	Superficie de osteoide: suma de líneas dobles y simples relacionadas con el perímetro trabecular	$100(dLPm + sLPm)/TPm$ (SO)
BS	%	Porcentaje de superficie ósea: suma de porcentajes de hueso trabecular mineralizado y no mineralizado	$MdAr + OAr$ (r. M)
BS	mm ²	Superficie ósea trabecular en milímetros cuadrados	$(BS\%) TTAr/100$ (r. M)
OAr	%	Porcentaje de osteoide presente en el área total del hueso trabecular	$P(100)/(N. F \times 36)$ (r.M.)
OS/BS	%	Superficie de osteoide mineralizado en relación con la superficie de hueso trabecular	$\frac{OS \%}{BS \%}$ (SO)
O.Wi	μm	Anchura del osteoide: distancia media entre el depósito de osteoide y la interfase de hueso mineralizado	Explicación por sí misma O.m
OTh	μm	Grosor medio del osteoide en el perímetro del hueso trabecular	$O.Wi (0.833^*)$ O.m con FC
TPm	N.T.	Perímetro total trabecular	Explicación por sí misma (SO)
O.Pm/TPm	%	Porcentaje de osteoide en el perímetro trabecular	$N(100)/N.T (r. M.)$ (SO)
ObPm/TPm	%	Porcentaje perimetral de la trabécula ósea cubierta por osteoblastos relacionado con el perímetro total trabecular	$N(100)/N.T$ (SO)
Ov/Bv	%	Relación del volumen de osteoide con el volumen del hueso. Porcentaje de relación entre el área del osteoide y el área total del hueso trabecular (la relación de áreas y la de volúmenes son equivalentes)	$OAr/BS\%$ (SO)
$\frac{OAr}{BS}$	%		

Cuadro 1. Parámetros histomorfométricos de la remodelación ósea (continuación)

Abreviatura	Unidad	Significado	Fórmula	
Parámetros dinámicos de formación				
MS	μm	Superficie mineralizando: extensión del perímetro trabecular cubierto por dobles líneas de tetraciclina, más de la mitad de la extensión de las líneas simples. Esto indica actividad de mineralización	$dLPm + sLPm/2 = esp.$	(O.m)
MS/BS	%	Superficie mineralizando relacionada con el porcentaje de superficie ósea. Actividad de mineralización	$(Esp) \times MS/BS$	(S.O.)
OAR	μm/día	Velocidad de agregación del osteoide: es la relación entre el grosor del osteoide y el intervalo de tiempo de las marcas	$Oth/Ir.Lt$	(r. M.)
MAR	μm/día	Velocidad de agregación del mineral: Distancia media entre las dos líneas de tetraciclina dividida por el intervalo de tiempo del marcador	$Ir.LTh/Ir.L.t$	(r. M.)
OMR	%/día	Velocidad de mineralización del osteoide: es el porcentaje de osteoide que mineraliza en la unidad de tiempo. Es la relación entre la superficie mineralizando y la superficie de osteoide divididas por el intervalo de tiempo entre las marcas de tetraciclina	$MS/OS / Ir.Lt$	(r. M.)
Aj.Ar	μm/día	Ajuste de la velocidad de agregación: es la relación entre la superficie mineralizando y la superficie de osteoide usando MAR como factor de corrección	$(MAR)(MS)/OS$	(rM)
Omt	días	Tiempo de maduración del osteoide: intervalo de tiempo entre la síntesis de osteoide y su preparación para ser mineralizado	Oth/MAR	(rM)
Mlt	días	Tiempo que dura la mineralización: es el promedio de tiempo entre el depósito del osteoide y su mineralización	$Oth/Aj.AR$	(rM)
IM	unidades	Índice de mineralización: índice matemático que facilita el diagnóstico de osteomalacia. Se aplica para medir la velocidad de mineralización del osteoide	$[O.Th (\mu m) + OV/BV(\%)] \times 1.15 - OMR(\%/D) - BFR/BS \times 0.15 = U$	
$\frac{BFR}{BS}$	$\mu m^3/(\mu m^2 \times \text{año})$	Velocidad de formación del hueso: indica principalmente la actividad del remodelamiento óseo. Algunas veces puede indicar ganancia o pérdida ósea	$\frac{MAR \times MS \times 4(\text{grosor corte}) \times 365}{BS}$	

rM: rejilla de Merz; área de rejilla: 0.1516 mm²; P: puntos que tocan áreas localizadas en la intersección de los semicírculos de la rejilla de Merz; 36: número de puntos y semicírculos de las líneas de análisis de la rejilla de Merz; SO: *software* osteométrico; Om: ocular osteométrico; N.C.: número de campos; N: intersección entre el perímetro y las líneas semicirculares de análisis de la rejilla de Merz; N.T.: número de semicírculos de la rejilla que tocan todas las estructuras; dLPm: dobles líneas peritrabeculares de tetraciclina; sLPm: líneas simples peritrabeculares de tetraciclina; IrLt: intervalo de tiempo entre las marcas de tetraciclina; DirLt: distancia media entre las marcas de tetraciclina; spa: espacios micrométricos que se deben transformar a micras con el factor de corrección del ocular. FC: factor de corrección del grosor. *0.833: $\pi/4$.

trabecular y grosor de las trabéculas. Los parámetros de resorción indican la resorción ósea y son: porcentaje de osteoclastos y de fibrosis peritrabecular, y la erosión o melladura en el perímetro de las trabéculas óseas. Los parámetros estáticos de formación ósea muestran el porcentaje de osteoblastos y el grosor del osteoide localizados

en el perímetro de las trabéculas óseas; los más importantes son: grosor medio del osteoide en el perímetro trabecular, porcentaje del volumen de osteoide relacionado con el volumen óseo, porcentaje de osteoblastos en el volumen de las trabéculas óseas vinculado con la superficie ósea, y grosor de la pared ósea nueva. Los parámetros dinámicos

de formación ósea señalan la función celular ósea *in vivo*, y sólo pueden evaluarse cuando el paciente recibe doble marcaje con tetraciclina previo a la toma de la biopsia; los principales son: la extensión de la superficie perimetral trabecular cubierta por las marcas de tetraciclina (superficie mineralizando) y la distancia media entre las dos líneas de tetraciclina relacionada con el intervalo de tiempo entre ellas (velocidad de agregación del mineral). El tiempo de preparación del osteoide para ser mineralizado, la velocidad promedio de la mineralización y la velocidad de formación ósea son parámetros derivados matemáticamente de las dos primeras medidas.

INTERPRETACIÓN HISTOMORFOMÉTRICA DE LA REMODELACIÓN ÓSEA

Una situación ideal es que cada laboratorio dedicado al estudio histomorfométrico óseo cuente con sus propios valores normales de referencia, por edades y sexo; sin embargo, no existen muchos reportes al respecto. Hace poco, el grupo pediátrico de Montreal publicó los valores de referencia de la remodelación en niños de diferentes edades sin alteraciones aparentes del metabolismo óseo.¹⁹ De acuerdo con sus resultados, hubo un aumento significativo en la anchura de la cortical y el volumen trabecular dependiente de la edad; además, los parámetros histomorfométricos que indican formación ósea y velocidad de agregación del mineral (MAR) mostraron una continua disminución con el envejecimiento. En cambio, el grosor del osteoide y los parámetros de resorción ósea no variaron significativamente con la edad. Se han realizado más estudios en adultos; entre ellos destacan los trabajos de Sherrard y Malluche. Este último mencionó que en 84 especímenes óseos de una población estadounidense sana no se observaron variaciones histomorfométricas conspicuas en las biopsias tomadas de diferentes sitios.²⁰ En 28 pacientes normales con biopsias recolectadas previo marcaje con tetraciclina, los parámetros dinámicos fueron normales.²¹ Sherrard reportó parámetros histomorfométricos estáticos y dinámicos normales en las biopsias óseas transilíacas de 42 adultos sanos previo doble marcaje con tetraciclina y declomicina.²² En el laboratorio del hospital se obtuvo la biopsia ósea transilíaca, previo doble marcaje con tetraciclina, de 10 adultos sanos, y los valores de referencia fueron normales en los índices estáticos y dinámicos de remodelamiento óseo.²³

Para facilitar la interpretación histológica de la biopsia ósea metabólica, se puede hacer alusión a los hallazgos morfológicos en dos lesiones histomorfométricamente extremas: las alteraciones metabólicas óseas caracterizadas por alto remodelamiento óseo, cuyo ejemplo clásico es la osteítis fibrosa quística observada en el hiperparatiroidismo secundario, y la imagen histológica de bajo remodelamiento óseo, cuyo ejemplo clásico es el raquitismo-osteomalacia.

La osteítis fibrosa o enfermedad ósea paratiroidea predominante se distingue por su alto remodelamiento óseo. El perímetro trabecular muestra hiperplasia de osteoblastos de aspecto poligonal con nucléolos prominentes e hiperplasia de osteoclastos multinucleados que ocasionan erosión y túneles trabeculares por su actividad resorptiva, fibroplasia peritrabecular conspicua (característica de alto remodelamiento) (figura 2a), con numerosas líneas dobles de tetraciclina (figura 2b) y una velocidad de agregación del mineral acelerada (MAR). Con luz polarizada, las fibras colágenas se notan onduladas en las trabéculas.^{10,24}

El raquitismo-osteomalacia se debe a un defecto en el proceso de mineralización de la matriz ósea (osteoide). En el esqueleto en crecimiento, la mineralización se lleva a efecto principalmente en tres tipos diferentes de tejido: *a*) en la suturas craneanas (sindesmosis), *b*) en la placa cartilaginosa de crecimiento y *c*) en la matriz ósea. La mineralización ósea en la sindesmosis se ha estudiado poco, pero tiene lugar en las suturas craneanas, en donde se forman centros separados de osificación, agregándose osteoide como un mecanismo de crecimiento. El raquitismo se debe a falta de mineralización en la placa de crecimiento; en tanto que la osteomalacia es consecuencia de la deficiencia de la mineralización en la matriz ósea. Ambos ocurren simultáneamente, siempre que las placas de crecimiento se mantengan abiertas (niños y adolescentes); sólo se observa osteomalacia cuando se han cerrado (adultos).^{7,10}

La osteomalacia se distingue histomorfométricamente por ser un padecimiento de bajo remodelamiento óseo, con un área de osteoide trabecular mayor de 12% (figura 2c), disminución en el número de células de remodelamiento, ausencia de fibrosis peritrabecular, reducción de dobles y simples líneas de tetraciclina (figura 2d), prolongación en el promedio de tiempo entre el depósito del osteoide y su mineralización (MLT: mayor de 25 días), índice de mineralización mayor de 30 unidades,²⁵ menoscabo en la

velocidad de formación ósea y predominio de colágena laminar en las trabéculas.^{7,10,25}

Estas dos alteraciones del metabolismo óseo son ejemplos de actividad en la remodelación. En la osteítis fibrosa se incrementa el número de unidades del remodelamiento (URO), mientras que en la segunda (raquitismo-osteomalacia) disminuye el número de URO vinculadas con un defecto grave de la mineralización ósea.

METALES EN EL TEJIDO ÓSEO

La mayor parte de los metales que llegan al organismo se depositan en varios tejidos, pero se acumulan principalmente en el óseo. Hasta hoy los clínicos se han preocupado poco por conocer las cifras normales, las deficiencias o la toxicidad de los metales. El aluminio es uno de los más estudiados, ya que en la década de 1980 se descubrió que causaba alteraciones metabólicas óseas en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal por su aparente participación en la patogénesis de las osteodistrofias renales.^{22,26,27} El valor de referencia del aluminio en el plasma en los seres humanos es $<10 \mu\text{g/L}$ y en los huesos de niños aparentemente sanos en el material de autopsias de este hospital fue de $11.5 \pm 2.26 \mu\text{g/g}$ de tejido, valorados ambos con espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito.²⁸ En una población adulta latinoamericana estudiada con la misma técnica mencionada, fue de $12.6 \pm 2.9 \mu\text{g/g}$ de tejido óseo.²⁹ La investigación microscópica de aluminio se hace por histoquímica (ácido aurintricarboxílico),¹⁴ y debe ser de 0% en el frente de mineralización ósea (figura 2e). Otro metal que comienza a estudiarse en la biopsia ósea metabólica es el hierro. En este laboratorio, y mediante histoquímica con la técnica de Perls¹⁵ y Mallory,³⁰ se encontró que 61.4% de los pacientes adultos que recibían terapia sustitutiva de diálisis tenían depósitos de hierro en el frente de mineralización ósea de las biopsias óseas metabólicas (figura 2f) y que sólo 11.4% tenía acumulación de aluminio.³¹ Estos resultados son significativamente altos con respecto al hierro y significativamente bajos para el aluminio cuando se comparan con lo reportado en otras series^{27,32,33} (figura 2d). Esta elevada frecuencia de siderosis en los pacientes con osteodistrofias renales es un hallazgo interesante de patología geográfica, cuya causa requiere ser estudiada.

En este hospital se procesa la mitad de la biopsia transiláica para histomorfometría con estudios de histoquímica

para metales. La otra mitad se procesa para el estudio bioquímico de metales por el método de digestión ácida, y se cuantifica con espectrofotometría de absorción atómica. Se ha encontrado que la cantidad de aluminio y hierro necesaria en el tejido óseo para que las técnicas de histoquímica sean positivas es, en el primer caso, más de $50 \mu\text{g/g}$, y en el segundo, más de $100 \mu\text{g/g}$ (cuadros 2 y 3).

INDICACIONES DE LA BIOPSIA ÓSEA METABÓLICA

En la práctica, la biopsia ósea metabólica permite establecer un diagnóstico específico, normar conductas terapéuticas y obtener información pronóstica.

Cuadro 2. Cantidad de aluminio en el hueso necesaria para que la histoquímica sea positiva

$\mu\text{g/g}$	Tinción
21.7	(-)
23.1	(-)
26.3	(-)
29.6	6.9%
41.0	(-)
48.8	(-)
50.0	(-)
66.6	32.1%
77.2	7.8%
79.2	(-)
108.8	3.7 %

La histoquímica empieza a ser positiva cuando hay valores de aluminio aproximadamente mayores de $50 \mu\text{g/g}$ de tejido óseo.

Cuadro 3. Cantidad de hierro en el hueso necesaria para que la histoquímica sea positiva

Fe $\mu\text{g/g}$	Tinción
80	(-)
88	(-)
112	17.6%
118	(-)
133	12%
160	11.8%
259	37.3%
522	43.2%
587	29.6%
700	48.2%
786	28.2%

La histoquímica empieza a ser positiva cuando hay valores de hierro mayores de $100 \mu\text{g/g}$ de tejido óseo.

La mayor parte de las afecciones metabólicas óseas se clasifican según su origen o de acuerdo con las alteraciones histológicas. En la actualidad, sólo se conoce el origen de muy pocas enfermedades óseas, por lo que la biopsia ósea metabólica es fundamental en su estudio. La biopsia transiliaca aclara las causas de la fragilidad ósea. Por ejemplo, es difícil distinguir una osteoporosis juvenil idiopática de una osteogénesis imperfecta o de una displasia fibrosa poliostróica si sólo se cuenta con indicios clínicos, mientras que el diagnóstico es más fácil con los hallazgos histológicos.^{7,8,34} El estudio histológico permite averiguar la estructura cortical y trabecular, el proceso de mineralización, las células óseas y la laminización de la colágena. Toda esta información es fundamental en el análisis de las enfermedades metabólicas óseas y generalmente sólo se obtiene con la biopsia ósea metabólica. Debe hacerse biopsia a todos los niños o adultos con fracturas patológicas vertebrales o de huesos largos, a menos que el diagnóstico sea evidente.^{7,11}

Se ha indicado este procedimiento en el análisis de las enfermedades metabólicas óseas ocasionadas por insuficiencia renal crónica terminal (osteodistrofias renales). Estos pacientes, además, padecen calcificaciones cardiovasculares debido a un mal control del hiperparatiroidismo secundario a la insuficiencia renal. La biopsia ósea metabólica ayuda a mejorar la terapia de las alteraciones óseas y, en ocasiones, a reducir los daños orgánicos extraesqueléticos.^{35,36}

Otras indicaciones de la biopsia ósea metabólica son: el estudio de las alteraciones óseas secundarias a enfermedades hiperbilirrubinémicas; la osteopenia en la atresia de vías biliares;³⁷ los padecimientos gastrointestinales que ocasionan malabsorción intestinal; las hipofosfatemias; el hiperparatiroidismo primario; el raquitismo resistente a la vitamina D; el dolor óseo no explicable, análisis previos al trasplante de órganos; protocolos terapéuticos para corroborar la eficiencia y la inocuidad, y en la sospecha de toxicidad o deficiencia de metales. Las indicaciones de la biopsia ósea metabólica aumentarán al tiempo que la experiencia en el tratamiento de las diferentes enfermedades metabólicas óseas las hará necesarias.

CONCLUSIONES

La biopsia ósea metabólica es un estudio prácticamente inocuo y el más confiable para el diagnóstico de las enfermedades metabólicas óseas.

En la biopsia ósea metabólica generalmente se valoran parámetros histomorfométricos de remodelación ósea. La modelación ha sido poco estudiada.

En algunos parámetros de los estudios histomorfométricos óseos realizados en niños y adolescentes es importante tener en cuenta la edad.

Asimismo, la biopsia permite corroborar la eficacia y la inocuidad de un medicamento nuevo elaborado para tratar cualquier enfermedad metabólica ósea.

La introducción de técnicas de patología molecular (hibridación *in situ* e inmunohistoquímica) en el estudio de la biopsia metabólica ampliará el conocimiento de la fisiopatología de estas enfermedades.

REFERENCIAS

1. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage. Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. *Anat Rec* 1990;226:403-13.
2. Frost HM. Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calcif Tissue Res* 1969;3:211-37.
3. Merz WA, Schenk RK. Quantitative structural analysis of human cancellous bone. *Acta Anat* 1970;75:54-66.
4. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbol and units. *J Bone Miner Res* 1987;2:595-610.
5. Byers S, Moore AJ, Byard RW. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone* 2000;4:495-501.
6. Malluche HH, Monier-Faugere MC. The role of bone biopsy in the management of patients with renal osteodystrophy. *J Am Soc Nephrol* 1994;4(9):1631-42.
7. Rauch F. Watching bone cells at work: what we can see from bone biopsies. *Pediatr Nephrol* 2006;21:457-62.
8. Rauch F, Travers R, Norman M, Taylor A, et al. The bone formation defect in idiopathic juvenile osteoporosis is surface-specific. *Bone* 2002;31:85-89.
9. Eriksen EF, Axelrod DW, Melsen F. Bone histomorphometry an official publication of the American Society for Bone and Mineral Research. New York: Raven Press, 1994.
10. Velásquez-Forero F. La biopsia ósea metabólica en el diagnóstico de las osteodistrofias renales. 2ª ed. Barcelona: Norma, 1997;pp:403-21.
11. Velásquez-Forero F. La biopsia ósea metabólica en pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex Federico Gómez* 2002;59:183-98.
12. Baron R, Vigney A, Neff L. Processing of undecalcified bone specimens for bone histomorphometry. In: Recker RR, editor. *Bone histomorphometry: techniques and interpretation*. Boca Ratón: CRC Press, 1982;pp:13-36.
13. Goldner J. A modification of the Masson trichrome technique for routine laboratory purposes. *Am J Pathol* 1938;14:237-43.
14. Maloney NA, Ott SM, Alfrey AC. Histologic quantitation of

- aluminum in iliac bone from patients with renal failure. J Lab Clin Med 1982;99:202-16.
15. Perls M. Nachweis von eisenoxyd in gewissen pigment. Virchows Arch 1967;39:42.
16. Congo RED. Bennhold's method for amyloid: laboratory methods in histotechnology, prepared by the Armed Forces Institute of Pathology Washington DC, 1967.
17. Basle MF, Fournier JG, Rozenblatt S, Rebel A, Bouteille M. Measles virus RNA detected in Paget's disease bone tissue by *in situ* hybridization. J Gen Virol 1986;67:907-13.
18. Langub MC, Faugere MC, Malluche HH. Molecular bone morphometry. Pediatr Nephrol 2000;14:629-35.
19. Glorieux FH, Travers R, Taylor A. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. Bone 2000;26:103-9.
20. Malluche HH, Wolfgang M, Sherman D. Quantitative bone histology in 84 normal American subjects; micromorphometric analysis and evaluation of variance in iliac bone. Calcif Tissue Int 1982;34:449-55.
21. Malluche HH, Faugere MC. Bone biopsies: histology and histomorphometry of bone. In: Avioli LV, Krane SM, editors. Philadelphia: WB Saunders Co., 1990;pp:283-328.
22. Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, Manuel A, et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure an evolving disorder. Kidney Int 1993;43:436-42.
23. Velásquez-Forero F, Mondragón A, Herrero B, Peña JC. Adynamic bone lesion in renal transplant recipients with normal renal function. Nephrol Dial Transplant 1996;11(Suppl. 3):58-64.
24. Llach F, Velásquez-Forero. Secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure: pathogenic and clinical aspects. Am J Kidney Dis 2001;38(5):S20-S33.
25. Parfitt AM, Qiu S, Rao DS. The mineralization index-A new approach to the histomorphometric appraisal of osteomalacia. Bone 2004;35:320-5.
26. Maloney NA, Ott SM, Miller N. Histological quantization of aluminum in iliac bone from patients with renal failure. J Lab Clin Med 1982;99:206-16.
27. Llach F, Felsenfeld AJ, Coleman MD. The natural course of dialysis osteomalacia. Kidney Int 1986;29:S74-S79.
28. Velásquez-Forero F, Terán PE, Valencia MP. Determinación histoquímica y espectrofotométrica de aluminio óseo en niños con osteodistrofia renal. Bol Med Hosp Infant Mex Federico Gómez 1998;55:551-62.
29. Navarro JA, Granadillo VA, Salgado O. Bone metal content in patients with chronic renal failure. Clin Chim Acta 1992;211:133-42.
30. Mallory FB, Wright JH. Pathological technique. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Co., 1924;p:207.
31. Velásquez-Forero F, Altamirano E, Trinidad RP. High frequency of iron bone deposits in a Mexican population with renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 1998;13:46-50.
32. Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, Manuel A, et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure an evolving disorder. Kidney Int 1993;43:436-42.
33. Malluche HH, Monier-Faugere MC. The role of bone biopsy in the management of patients with renal osteodystrophy. J Am Soc Nephrol 1994;4:1631-42.
34. Rauch F, Glorieux F. Osteogenesis imperfecta. Lancet 2004;363:1377-85.
35. Hruska KA, Saab G, Mathew S, Lund R. Renal osteodystrophy, phosphate homeostasis, and vascular calcification. Semin Dial 2007;20(4):309-15.
36. Jokihaara J, Pörsti IH, Kööbi P, Jolma PM, et al. Treatment of experimental renal osteodystrophy with pamidronate. Kidney Int 2008;74(3):319-27.
37. Katz IA, Epstein S. Perspectives postransplantation bone disease. J Bone Miner Res 1992;7(2):123-6.