



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“REABSORCIÓN ÓSEA EN MAXILARES: ESTUDIO
HISTOMORFOMÉTRICO EN RATAS”**

TESISTA:

OD. RUTH S. FERREYRA

DIRECTOR:

DR. ROMULO LUIS CABRINI

CÓRDOBA, 1993

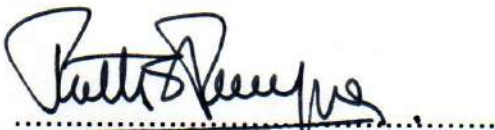


Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

**Universidad Nacional
de Córdoba**

Facultad de Odontología

Reabsorción Osea en Maxilares



Tesis de doctorado
Ruth S. Ferreyra

Reabsorción Osea en Maxilares

Estudio Histomorfométrico en ratas



7890

T
D634
F415

TESIS DE LA ODONTOLOGA RUTH SALOME FERREYRA
PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN ODONTOLOGIA
DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA.
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA.

DIRECTOR DE TESIS

Dr. ROMULO LUIS CABRINI

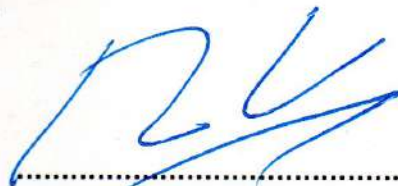
Doctor en Medicina

Profesor Titular de la Cátedra de Anatomía Patológica UBA

Académico de la Academia Nacional de Medicina

Académico Correspondiente Nacional de la Academia de Ciencias Médicas

Gerente Coordinador de Gerentes de CNEA



.....
DIRECTOR DE TESIS

Consejeros de Tesis

Dr. Héctor Gendelman

Doctor en Odontología

Profesor Titular Plenario de la Cátedra de Anatomía Patológica "A" de la
Facultad de Odontología - Universidad Nacional de Córdoba -

Académico Titular de la Academia de Ciencias Médicas



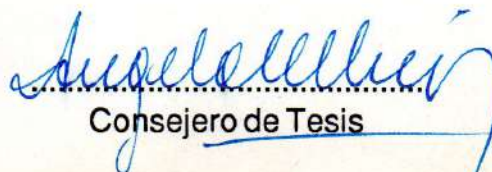
.....
Consejero de Tesis

Dra. Angela Matilde Ubios

Doctora en Odontología

Profesora Adjunta de la Cátedra de Anatomía Patológica UBA

Investigadora Independiente del CONICET



.....
Consejero de Tesis

Dedicatorias

A mis Padres

Al Creador de todas las cosas

Agradecimientos

Expreso mi reconocimiento a todas las personas que hicieron posible esta tesis.

En especial por la disposición para orientarme, exigirme y guiarme que me brindó en todo momento el señor Académico Rómulo L. Cabrini.

Al Profesor Héctor Gendelman por haber sembrado en mí el interés por la patología y la investigación, por haberme apoyado para lograr mi formación y por la ayuda prestada como consejero de esta tesis.

A la Profesora Angela M. Ubios por brindarme su desinteresado apoyo en cada obstáculo como consejera de esta tesis.

A la memoria del Profesor Fritz Schajowicz por su aporte de experiencia, su enseñanza y su ejemplo.

A la Licenciada Patricia Mandalunis por su empeño y dedicación en el procesamiento del material para microscopía óptica.

A Díaz-Marín Producciones por el desempeño esmerado y minucioso en la compaginación y diagramación del presente trabajo.

A SECyT (Universidad Nacional de Córdoba) por cuyo intermedio obtuve una beca para el doctorado que me permitió dedicar mi tiempo durante el año 1987 a éste fin.

A todo el personal de la cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

Al Departamento de Radiobiología de CNEA y su personal.

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN

Biología Osea	1
Reabsorción Osea (Actualización Bibliográfica)	8
Materiales y Métodos	15
Resultados	25
Experiencia I: Movimientos ortodóncicos	25
Experiencia II: Envejecimiento	42
Experiencia III: Lagunas vacías	53
Discusión	60
Conclusiones	66
Resumen	67
Summary	69
Bibliografía	71

INTRODUCCION

BIOLOGIA OSEA

El estudio del tejido óseo ha sido motivo inspirador para estudiosos de siglos anteriores tanto para el anatomista, el patólogo, el fisiólogo y el bioquímico ya que se trata de un importante reservorio de electrolitos que controlan muchas funciones vitales en el organismo.

Ha contribuido aun a el antropólogo, el paleontólogo y el sociólogo para el conocimiento de la nutrición, costumbres y enfermedades de la raza humana.

El tejido óseo está constituido por células y un material intercelular calcificado.

Recientemente se ha traído luz en la fascinante historia del origen de las células que intervienen en el tejido óseo.

Desde el punto de vista macroscópico podemos clasificar al hueso en compacto y esponjoso pero poseen la misma estructura histológica básica (24).

El hueso adulto compacto o esponjoso histológicamente son idénticos siendo la unidad estructural las "laminillas óseas" (24), que en el caso del hueso compacto las laminillas pueden ser: a) concéntricas, constituyendo el osteon (unidad básica y funcional); b) intersticiales (restos de antiguos osteones) y c) circunferencias, que rodean todo el hueso maduro formando su perímetro (sistema circunferencial externo o interno del hueso)

En el esponjoso las laminillas óseas se disponen en trabéculas óseas, dejando cavidades ocupadas por la médula ósea. Los espacios conocidos como cavidades medulares contienen médula ósea roja o hematopoyética que

a lo largo de la vida es reemplazada en parte por médula amarilla grasa.

Histológicamente se puede clasificar en: tejido óseo 1) Inmaduro, primario o reticular, 2) Maduro, secundario o laminar. Ambos tipos poseen las mismas células y los constituyentes de la matriz; las fibras colagenas en el primario están dispuestas irregularmente; mientras que en el secundario se organizan en láminas que adoptan una disposición particular.

Tejido óseo primario: es el que se forma primero y es sustituido gradualmente por el tejido óseo secundario. Persiste en el adulto a nivel de las suturas de los huesos del cráneo en puntos de inserción de tendones y en alveolos dentarios. El osteon primario es pequeño y sus laminillas no son numerosas ni bien delimitadas, siendo sustituido gradualmente por tejido óseo secundario.

Tejido óseo secundario: Es el hueso adulto. La principal característica son las fibras colagenas organizadas en laminillas de 3 a 7 μm de espesor que pueden disponerse en forma paralela o concéntrica (osteones secundarios (24).

El proceso de remodelación se debe a la necesidad de reemplazo constante, sea por deficiencia en las condiciones nutricias, cambios funcionales mecánicos, o para renovar células que cumplen su ciclo. Este recambio o "turnover" (activación de la reabsorción y formación) tiene lugar tanto en el hueso compacto como en el hueso esponjoso que determina que desde el punto de vista histológico encontremos zonas en formación, en reabsorción y en reposo.

El hueso se forma por la acción de los osteoblastos que segregan una matriz proteica, el osteoide. Estas células quedan incluidas dentro de la matriz que formaron. En estas condiciones se denominan osteocitos, cuando el hueso necesita ser modificado intervienen los osteoblastos, células

mononucleares (llamadas "osteoblast-like") luego los osteoclastos, células gigantes multinucleadas.

La reabsorción que se lleva a cabo en el hueso compacto produce túneles de remodelación por donde penetran osteoclastos, seguidos de vasos sanguíneos y células mesenquimáticas que luego se diferencian en osteoblastos que depositan nuevas sucesiones de capas concéntricas formando osteones y determinando otros sistemas haversianos. (29)

En el caso puntual de las apófisis alveolares, ellas se forman acompañando la formación y la erupción de los dientes y se reabsorben gradualmente ante su pérdida. Son formaciones dependientes de los dientes, constituyendo las estructuras de sostén de los elementos dentarios que distribuyen y resuelven las fuerzas generadas por la masticación y otros contactos dentarios.

El hueso alveolar presenta radiográficamente, una lámina dura que recubre el alvéolo dentario perforado por los conductos de Volkman por donde transcurren los vasos desde el hueso alveolar hacia el ligamento periodontal.

La capa de hueso vecino al ligamento periodontal donde se insertan las fibras de Sharpey, se denomina "hueso fasciculado".(29)

Estas fibras están incluidas en el hueso con cristales minerales orientados más o menos paralelamente al eje longitudinal de la raíz donde se realiza la mineralización:

- 1º dentro de las fibras
- 2º en la superficie de las fibras.
- 3º en la matriz interfibrilar

Algunas veces sólo se calcifican en la periferia de las fibras de Sharpey y queda un núcleo sin calcificar. (29)

En la superficie periodontal de la apófisis alveolares coexisten zonas de

reabsorción donde microscópicamente se observan como bordes en sacabocados con lagunas de Howship, que presentan generalmente osteoclastos en la superficie. También encontramos zonas de reposo tapizadas por osteoblastos acintados con una delgada capa de 1 μm de osteoide que es más notoria en las zonas de neoformación con osteoblastos hipertróficos.

El osteoide esta compuesto por fibras colágenas y proteínas no colágenas, glicoproteínas y proteoglicanos que van a constituir la matriz ósea que paulatinamente por el depósito de minerales (hidroxiapatita: $\text{PO}_4 \text{Ca} - \text{CO}_3$) se transforma en hueso calcificado.

En él quedan atrapados osteoblastos que entonces reciben el nombre de osteocitos. Estos residen dentro de lagunas elipsoidales cuyo tamaño promedio es de 20 x 10 x 4 μm (5), se encuentran unidas entre sí por medio de prolongaciones que pasan a través de conductillos, que a su vez se interconectan con los osteoblastos por medio de uniones estrechas. El osteocito forma parte como nexo del sistema canalicular interconectada. Se ha calculado que la interfase entre las células y la matriz es de 250 μm^2 en 10 cm^3 de hueso.

Esta enorme superficie es considerada por distintos autores (10) como reguladoras de los niveles de calcio y fósforo mediante un control hormonal (29). Según Baud existen aproximadamente 26.000 osteocitos por milímetro cúbico de hueso (4). La densidad de estas células varía de acuerdo a la velocidad de proliferación y a la síntesis de colágeno, existiendo una mayor concentración en el hueso laminar que en el hueso reticular (4).

Los osteocitos sufren alteraciones morfológicas evidenciadas a nivel ultraestructural en respuesta a estímulos hormonales como por ejemplo a la PTH y la calcitonina (8, 9,27).

En el hueso laminar los ejes mayores de las lagunas osteocíticas están

orientadas en la dirección de las fibras colágenas según Marotti (36) , mientras que en el hueso reticular de formación rápida, hay un desorden en la orientación de las fibras colágenas que rodean la laguna osteocítica, en cuanto al origen de las células óseas hoy se acepta que el osteoblasto deriva de una célula osteoprogenitora, a partir de la cual se originan dos líneas de diferenciación una condroblástica y otra osteoblástica, (35, 43) y de él derivaría el osteocito cuando se incorpora al hueso calcificado (14).

El osteoblasto tiene características propias, es cuboidal, basófilo, presenta una reacción positiva a la fosfatasa alcalina, además se encuentran receptores para la hormona paratiroidea en la superficie celular, secretan macromoléculas como osteocalcina y colágeno tipo I, observados en superficies oseas en reposo (48)

Ultimamente se ha comprobado la participación del osteoblasto inactivo en el mecanismo de la reabsorción ósea. Esta célula sintetiza osteocalcina que se incrementa en presencia de PTH. (47)

Kahn y Patridge han descripto a nivel experimental "in vitro" que producirían una disminución en la síntesis de matriz osteoide. Los osteoblastos serían activados por sustancias reguladoras de la reabsorción ósea, como la hormona paratiroidea (PTH), prostaglandina, Vitamina D3, interleukina-1, factor de crecimiento endodimial, tiroxina y fuerzas mecánicas entre otras (25).

Existen evidencias del potencial de degradación del osteoblasto sobre la matriz osteoide, es decir sobre el colágeno tipo I, que constituye el 65% de la matriz ósea y sobre proteínas no colágenas como osteocalcina (gla-proteína) (18), y a 2 H.S. glicoproteína, que son sustancias quimiotacticas de los monocitos (precursores de los osteoclastos) y aumentan la respuesta reabsortiva del osteoclasto (42).

Se admite que el osteoclasto no actuaría en la reabsorción de la matriz osteoide sino en el tejido calcificado (13).

El osteoclasto es una célula multinucleada comprometida con el proceso de reabsorción, se originan a partir de 2 líneas celulares: una proveniente del "Stem Cell", célula progenitora de la sangre: monocitos. (Fosfatasa ácida negativa) y de precursores mononucleares de la línea osteoprogenitora (Fosfatasa ácida positiva). Ambas se fusionan estimuladas por la PTH, la prostaglandina E y 1 - 25 dehidroxivitamina D3. La calcitonina actuaría inhibiendo a la hormona paratiroidea (21) e inhibiendo al osteoclasto (42).

Estas células multinucleadas se encuentran en las lagunas de Howship de las superficies óseas erosivas y por medio de la acidificación producen la solubilización del calcio y fósforo, liberado en forma cristalina, los osteoclastos poseen invaginaciones del ribete en cepillo del extremo activo de la célula donde se produce la endocitosis de cristales en el interior del citoplasma. Probablemente luego pasarían a lisosomas secundarios que completarían su disolución (28).

En 1972, Ubios en un estudio longitudinal con timidina tritiada en ratas, con estímulos ortodóncicos encontró un incremento del porcentaje de reabsorción previo al incremento del número de osteoclastos. Además demostró que los osteoclastos se formaban por la confluencia de células pertenecientes a poblaciones asincrónicas (54).

La década del '80 es una etapa revolucionaria con respecto al concepto clásico de la reabsorción osteoclástica, aceptada hasta esa fecha. Fundamentalmente en el entendimiento del origen y protagonismo del osteoclasto en la reabsorción, así como de la participación de otras células involucradas en este proceso (14).

En 1980, Ash, Coccia y col. (2-14) confirmaron "in vivo", a los monocitos de la médula ósea como uno de los precursores del osteoclasto (35).

En 1982, Malone, Teitelbaum, Griffin, Senior y Kahn demostraron "in vitro" el quimiotactismo de monocitos precursores de osteoclastos que se realiza en presencia de proteínas óseas no colágenas como la osteocalcina y colágeno Tipo I, que serían producidas directamente por los osteoblastos. ("osteoblast-like") (35)

En 1986, Nijweide P.J. y Muldr J.P. identificaron una pequeña proporción de "osteoblast-like" en la población osteocítica mediante marcación con anticuerpos monoclonales en un modelo de embriones de pollo. Estas células tendrían actividad colagenolítica (45).



ACTUALIZACION BIBLIOGRAFICA

La remodelación ósea ha sido objeto de estudio debido a la importante función que cumple en la homeostasis del calcio y del fósforo en el organismo, y como mecanismo de renovación del tejido óseo. Las modificaciones producidas por la remodelación se detectan morfológicamente a nivel de la superficie ósea como zonas de reabsorción, de neoformación y zonas de reposo. La reabsorción ósea fue atribuida desde hace tiempo a la actividad osteoclástica y se encuentra descrita en la literatura del siglo anterior (10).

En los últimos años se ha estado revisando el rol que cumplen las células involucradas en este proceso y sus probables interrelaciones, entre ellas: el osteocito.

La probable participación del osteocito en la reabsorción ósea ha dado lugar a diferentes hipótesis.

Rigal y Vignal ya en 1881 hacen referencia a la posible acción lítica de los osteocitos (10).

En 1910, Von Recklinghausen describió lagunas osteocíticas incrementadas de tamaño en pacientes afectados de osteomalacia y raquitismo. Autores de la época no aceptaron esta posibilidad como reabsorción ya que las lagunas se encontraban inmersas en tejido osteoide o sea sin calcificar.

Kind, en 1951, introduce el término "osteolisis periosteocitaria" ("Periosteocytäre osteolyse") considerándolo comparable a la disolución de la matriz ósea por la acción del osteoclasto (10).

Lipp, en 1959 describió la actividad colagenolítica de los osteocitos en pollos por medios histoquímicos (30).

En 1969, Belanger utiliza el término "reabsorción osteocítica" para

denominar a las lagunas osteocíticas incrementadas en tamaño por la acción de la hormona parotiroidea. Este estudio fue realizado a nivel de microscopía óptica y por medio de microradiografías y alfaradiografías, en una investigación realizada en pollos con dietas pobres en calcio (10).

El mismo autor encontró osteocitos que pueden considerarse activos ya que adquieren abundantes mitocondrias y lisosomas. Ellos liberarían su contenido al tejido circundante perilacunar aportando minerales al torrente circulatorio, al mismo tiempo que se acompañaría de la degradación del colágeno (10).

Baud, en publicaciones de 1968 y 1971 atribuye al osteocito una participación activa en la reabsorción y en la formación óseas, describiendo una población osteocitaria de células con las siguientes características:

- osteocitos pequeños: aquéllos cuya laguna no exceda las 4 μm en su diámetro menor, de contornos lisos y de conformación elipsoidal.
- osteocitos grandes: aquéllos que exceden las 4 μm de diámetro menor, de contornos irregulares y forma oval. En ellos se distinguen 2 fases:
 - osteolítica: donde se observa una reducción del retículo endoplásmico rugoso, un aparato de Golgi muy desarrollado, abundantes mitocondrias con gránulos densos y abundantes lisosomas.
 - osteoplástica: rodeados de matriz mineralizada secundariamente, el osteocito presenta abundante retículo endoplásmico rugoso y muy desarrollado aparato de Golgi.

Este estudio abarcaba diferentes grupos etarios y se hizo una distinción entre hueso cortical denso y hueso intersticial. En el hueso cortical se observó que en los sujetos jóvenes el 50% de los osteocitos eran pequeños y que este porcentaje aumentaba con la edad. En el hueso intersticial el predominio

observado era de los osteocitos grandes, siendo de menos del 33% el porcentaje de osteocitos pequeños. Estas proporciones variaban significativamente con la edad.(4 y 5)

Otro aporte de Baud y col. fue la reconstrucción tridimensional de la laguna osteocítica obteniéndose un volumen promedio de $20 \times 10 \times 4 \mu\text{m}$ (5).

En el presente análisis bibliográfico se tuvieron en cuenta estudios cuantitativos, especialmente histomorfométricos, relacionados con diferentes aspectos funcionales del osteocito en distintos modelos experimentales de reabsorción. En muchos de ellos se pudo observar el agrandamiento de la laguna osteocítica, favoreciendo la hipótesis de la reabsorción osteocítica.

Los estudios que a continuación se describirán fueron realizados con diferentes metodologías: microradiografías, histoquímica, alfaradiografías, porosimetría con mercurio y microscopía electrónica.

Hiperparatiroidismo

En 1971, Meunier y Bernard realizaron un fundamentado estudio en ratones y en pacientes hiperparatiroideos a nivel de la cresta ilíaca y mediante histomorfometría, por métodos manuales y automáticos a nivel de microscopía óptica observando lagunas osteocíticas incrementadas de tamaño en relación a los controles. (39)

En 1973, Lok y Jaworski observaron en perros adultos hiperparatiroideos y también en animales con dietas pobres en calcio, lagunas agrandadas de tamaño $62,7 \pm 6 \mu\text{m}^2$ con respecto a los controles $50,9 \pm 0,7 \mu\text{m}^2$. (34)

En 1978 Mosekilde y Melsen encontraron en pacientes hiperparatiroideos lagunas osteocíticas incrementadas significativamente de tamaño $63 \pm 15 \mu\text{m}^2$ con respecto a los controles $51,2 \pm 0,4 \mu\text{m}^2$ y atribuyeron a la estimulación de la

hormona paratiroidea (PTH) el incremento de la reabsorción osteocítica y también de la osteoclástica. (41)

Hay una serie de estudios "in vitro" (17, 21, 23, 27, 37, 52) que confirman la acción de la PTH en la reabsorción.

En 1985 Forest y col. describen una caracterización clonal de una célula tipo osteoblástica respondiendo de idéntica manera a PTH y calcitonina de salmón (SCT). La primera produce una estimulación de la reabsorción mientras que la SCT es un potente inhibidor de la reabsorción ósea. (17)

Mc Sheehy, en 1986 describe "in vitro" la reabsorción osteoclástica mediada por células osteoclásticas inducidas por PTH (37).

Calcitonina

En 1974, Whalen y col. observaron un retardo en la reabsorción ósea por efecto de la calcitonina acompañado por una disminución de la actividad reabsortiva del osteocito en ratas jóvenes (60).

En 1976 Horwith y col. describieron reabsorción osteocítica y escasos osteoclastos en pacientes con displasia ósea familiar (19).

En 1979 los mismos autores observaron a nivel ultraestructural en pacientes con displasia ósea familiar, tratados con calcitonina que los osteocitos presentaban abundante retículo endoplásmico rugoso (RER), depósitos de cristales intramitocondriales e incremento periosteocitario de fibras elásticas (44).

Ubios y col. en 1987 presentaron un trabajo en el cual se inyectó calcitonina en dosis terapéuticas a ratas intactas. Se observó un incremento de las áreas de reabsorción de la cortical periodóntica asociada al incremento del volumen de las lagunas osteocíticas del hueso esponjoso. Esta acción se

atribuyó al efecto de un hiperparatiroidismo secundario causado por la calcitonina. (56)

Vitaminas

En experimentos realizados en ratas tratadas con altas dosis de vitamina D, Liu y col. en 1974 observaron el incremento del volumen de las lagunas osteocíticas que a su vez mostraban bordes irregulares y un aumento del diámetro del poro del conductillo. Este estudio fue llevado a cabo por medio de porosimetría con mercurio introducido a una presión de 800 psi (1.5 Psi equivalen a 10 mm de mercurio a presión atmosférica que producen una tensión superficial con un -ángulo de contacto de 153° , aumentando la presión llegan a 8000 psi). También observaron un incremento en el volumen de los canales vasculares asociados a los osteoclastos, que además mostraban una reacción positiva a la fosfatasa ácida. Estos autores postularon así una probable relación osteocito-osteoclasto (32).

La actividad de la fosfatasa ácida fue descrita por primera vez en los osteoclastos por Schajowicz y Cabrini en 1959 (53). En los osteocitos la fosfatasa ácida fue observada por Baylink y Wergedal en 1974 en animales tratados con vitamina D2. En el mismo trabajo se menciona también un incremento del 15% del volumen de la laguna osteocítica. (6)

Lactancia

Rasmussen, en 1977, estudió el hueso de ratas en período de lactancia observando osteoporosis y signos de osteólisis osteocítica a nivel del hueso esponjoso interradicular de la mandíbula y no así en la cortical. Estos estudios fueron realizados por medio de microscopía óptica y microradiografías (49).

Sin embargo Mercer y Crenshaw, en 1985, en un trabajo en ratas maduras en lactancia no observaron reabsorción osteocítica en este período, a nivel del fémur (38).

Insuficiencias Renales

Krempien y col. en 1972 demostraron que pacientes insuficientes renales crónicos tratados con PTH presentaban una disminución de osteocitos pequeños y un aumento de osteocitos grandes y de lagunas vacías (28). La presencia de lagunas sin contenido han sido interpretadas mayoritariamente por los autores como osteocitos muertos con pérdida del mismo.

También describen la presencia de lagunas vacías en otras condiciones patológicas, como por ejemplo por radiaciones.

Dambrain Rand Dhem observaron en mandíbulas irradiadas una mayor destrucción en pacientes de edad mediana (15)

Rayan y col. en 1991 (48) describen a nivel de Corticales afectadas por Rayos Laser-CO₂: lagunas vacías en una zona superficial de 200µm.

En 1976 Bonucci, en un estudio de la ultraestructura del hueso de la cresta ilíaca de pacientes con osteodistrofias renales, observó la presencia de lagunas osteocíticas elongadas, irregulares y coalescentes, que presentaban osteomalacia, sin observar reabsorción osteocítica (11).

Colagenolisis

En 1982 Sakamoto y Sakamoto en un estudio ultraestructural describen la actividad colagenolítica en osteocitos "in vitro" (52).

Calcio en la dieta

En 1960 Frost y Jowsey, mediante estudios histomorfométricos, describieron fenómenos formativos en ratas, con dietas libres en Ca, observando aposición ósea y micropetrosis (16) a nivel del espacio periosteocitario.

En el mencionado trabajo de Belanger (10) la reabsorción osteocítica fue observada en pollos sometidos a dietas pobres en calcio.

En 1973 Lok y Jaworski observaron lagunas agrandadas en perros sometidos a dietas pobres en calcio con respecto a los controles determinados histomorfométricamente (34).

Se desprende de este análisis bibliográfico que algunas observaciones favorecen la hipótesis de la reabsorción osteocítica, pero debido a los dispares resultados obtenidos, ésta se encuentra aún en discusión.

Debido a que en el proceso de remodelación no sólo participan los osteoclastos sino que los osteocitos además de ser esenciales para el mantenimiento de la matriz ósea, jugarían una función en el mecanismo de reabsorción.

Con el objeto de esclarecer el rol del osteocito en la reabsorción ósea, se emprendió este trabajo de investigación bajo distintas condiciones fisiológicas y bajo un estímulo mecánico (fuerzas ortodóncicas) de la reabsorción ósea, a nivel de maxilares.

MATERIALES Y METODOS

CAPITULO I: METODOLOGIA GENERAL

En el presente trabajo se utilizaron 68 ratas Wistar machos, a las que se les suministró alimentos balanceados y agua "ad libitum", procedimiento llevado a cabo en el ratario de la Comisión Nacional de Energía Atómica y una pequeña parte en el ratario del Instituto de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

Según los tiempos experimentales estipulados en cada caso los animales fueron sacrificados por inhalación de sobredosis de cloroformo.

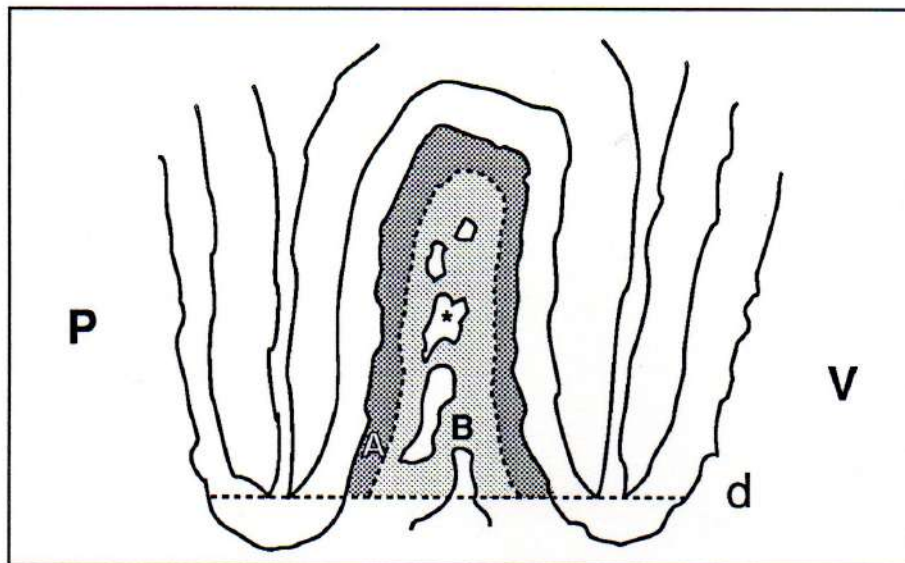
Luego se procedió a la extracción de los maxilares superiores que fueron fijados inmediatamente en formol al 10% durante 24 hs y descalcificados con EDTA 10% a pH 7, en un período promedio de 28 días. Luego la zona de molares de los hemimaxilares fue incluida en parafina. Con la ayuda de una lupa estereoscópica. Los tacos fueron orientados en sentido bucopalatino y se obtuvieron cortes a nivel de las raíces distales del primer molar superior.

Los cortes de aproximadamente 15 μm de espesor fueron procesados y coloreados con hematoxilina -eosina, procedimiento que se llevó a cabo en el laboratorio de Patología experimental de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

Los preparados obtenidos fueron examinados al microscopio eligiéndose el corte más axial para su estudio histométrico.

Las medidas de las lagunas osteocíticas se hicieron empleando un ocular micrométrico que fue calibrado con una escala de magnitud conocida. La escala, una línea de un milímetro dividida en 100 partes está incluida en un vidrio insertada

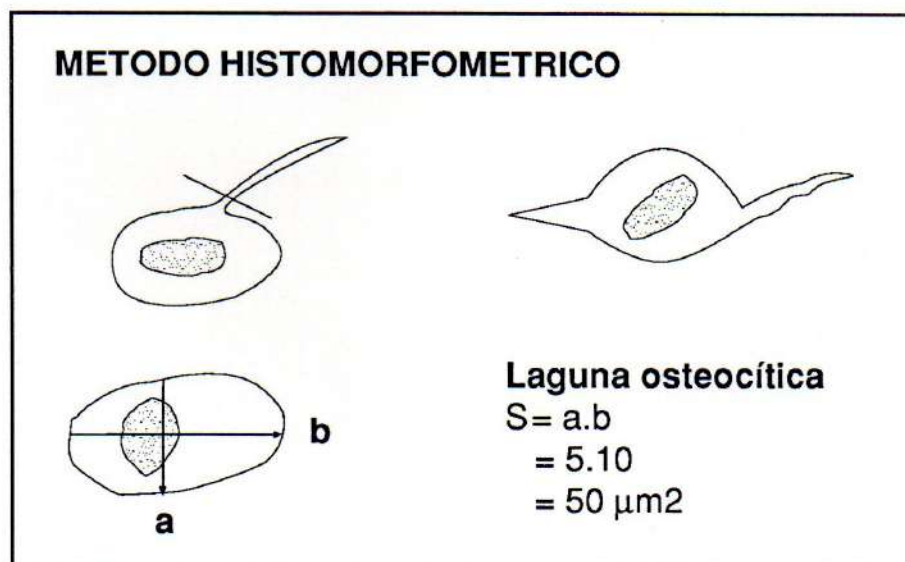
Continúa pág. 19



Esquema 1: Esquema del septum interradicular donde la línea d es la base de la pirámide truncada sombreada correspondiente al septum. Se distinguen 2 zonas A: zona cortical periodóntica y B zona central donde se obviarán los espacios medulares. (*)

V: tabla vestibular

P: tabla palatina



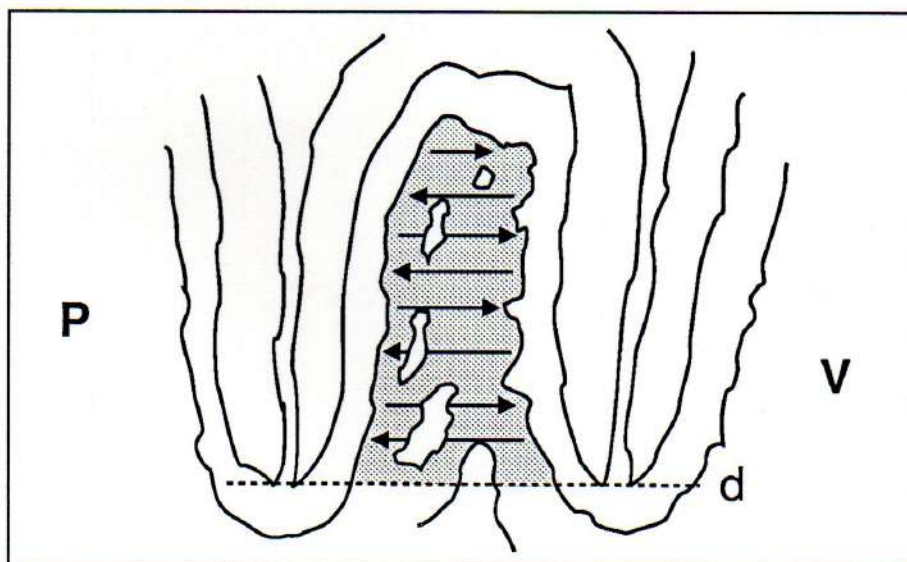
Esquema 2: la línea muestra el criterio seguido para descartar las prolongaciones de las lagunas osteocíticas.

a: diámetro menor

b: diámetro mayor

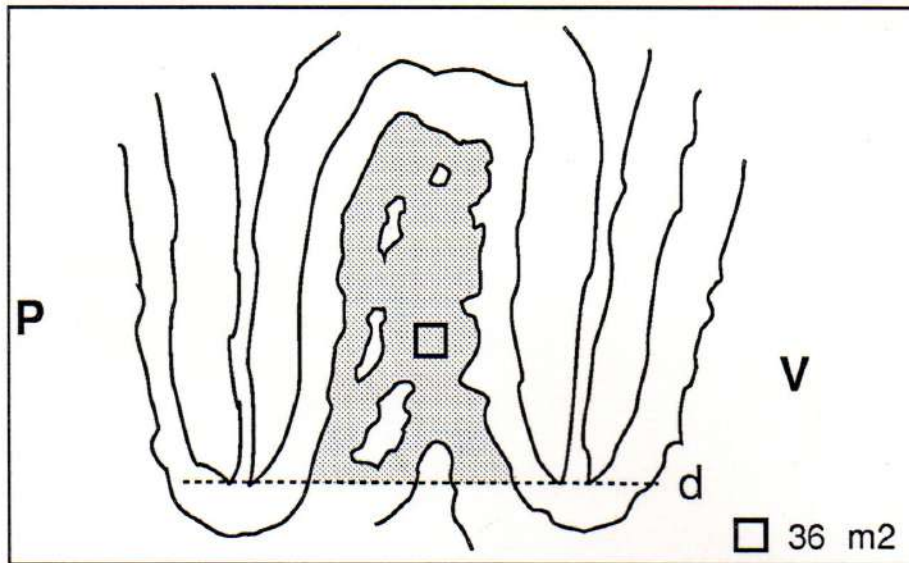


Esquema 3: Esquema de un corte histológico donde observamos que el efecto de corte de la navaja deja lagunas sin contenido (B) que llamamos lagunas falsas ("crack-artefactual"); las lagunas donde se realizarán las determinaciones histométricas fueron las que se encontraban totalmente incluidas en el espesor del corte (C): Lagunas verdaderas fueron consideradas las lagunas incluidas en el espesor del corte.



Esquema 4: Sobre el esquema anteriormente descrito, (Esquema 1) las flechas señalan la forma en que se recorrió el preparado zigzagueante metódicamente.





Esquema 5: Esquema del Septun donde observamos delineado un cuadrado de $36 \mu\text{m}^2$ el área que se realizó para la determinación del : volumen óseo total y la relación mediante el sistema de integración de puntos por medio de un objetivo con retículo.



Fig. 1: Vista panorámica de un corte orientado en sentido vestibulo-palatino de un animal del grupo C. (15 X) Coloración H.E.

a su vez en la perforación de un porta objeto metálica.

Esta escala se coloca sobre la platina iluminada y se la hace coincidir con la del ocular micrométrico. Dicha operación permite obtener datos que por medio de la siguiente ecuación traducía el valor obtenido en μm

$$M: b/a \cdot f$$

Siendo M: el valor micrométrico

b: el número de divisiones del ocular micrométrico

a: el número del valor en micrómetros cuadrados y

f: una constante

Con el objeto de facilitar el estudio se demarcaron las zonas a estudiar, se eligieron el septum interradicular y la tabla palatina.

En el septum interradicular se determinó una zona generalmente triangular cuya base está dada por una línea que pasa por los ápices de las raíces distales del primer molar superior y su vértice como por el punto más extremo de la cresta ósea (ver Esquema 1)

En el septum se procedió a la evaluación cuantitativa de los preparados de cada una de las experiencias de 50 lagunas osteocíticas elegidas al azar (41). Ellas se midieron desplazando la preparación hasta hacer coincidir la línea del ocular micrométrico con el eje mayor del osteoplasto mediante un objetivo de inmersión que permitió observar con nitidez el contorno de la laguna osteocítica contando las líneas que abarca la laguna, descontando sus prolongaciones que interconectan las lagunas entre sí. Luego se cambió de dirección por el eje menor procediendo de idéntica forma (Esquema 2). Sólo fueron tomadas en cuenta aquellas lagunas osteocíticas incluídas totalmente en el espesor del preparado (Esquema 3). Fueron

descartadas todas las lagunas que al no estar totalmente inmersas en el corte histológico como observamos en el esquema 3 podríamos medir parcialmente las lagunas, que pudieran suministrar datos erróneos.

Se obtuvo la superficie osteocítica en μm^2 se midieron 50 lagunas para cada caso, que según Meunier y Bernard (40) es un número estadísticamente significativo.

El procedimiento se realizó en forma zigzagueante recorriendo la preparación de derecha a izquierda toda la superficie del septum. (Esquema 4)

Esta técnica permitió evaluar histométricamente la actividad osteocítica en relación a la superficie ósea periodontal distinguiendo áreas en reposo, en formación y en reabsorción.

Las técnicas morfológicas cuantitativas han sido ampliamente aplicadas al tejido óseo (6, 10, 38, 40, 54). Dichas técnicas fueron utilizadas en modelos biológicos por Weibel 1950 (59) y en hueso alveolar por Itoiz et al en 1963 (22).

Según estos principios estereológicos una línea es expresión de una superficie y a su vez un área es la expresión de un volumen (59).

Microscopía Electrónica:

Nuestro estudio se complementó en forma adicional e ilustrativa con la observación en cortes por microscopía electrónica de transmisión. Con este objetivo se fijaron fracciones de $0,2\text{ cm}^2$ de cortical del septum en solución de Karnovsky (26) por espacio de 2 horas. Luego se colocó en buffer fosfato. Se procedió a la deshidratación en alcoholes crecientes. Se realizaron 2 cambios de 1 hora en oxipropileno, se incluyó en resina Epon 812 con este intermediario en resina a 67°C durante 24 a 48 hs. Luego de incluido el material decalcificado y sin decalcificar se obtuvieron las muestras empleando navajas de diamante y

obteniéndose cortes ultrafinos con un microtomo (Piramitone 11800 LKB), los que se montaron en grillas para la observación en el microscopio electrónico Philips M 300 . Se observaron y fotografiaron las muestras.

CAPITULO II

METODOLOGIA ESPECIFICA

a - Modelos experimentales

I - Movimientos ortodóncicos

II- Envejecimiento

III- Lagunas Vacías

I - MOVIMIENTOS ORTODONCICOS

Un grupo de 18 ratas Wistar de 200 grs de peso, del vivero de la Comisión Nacional de Energía Atómica fueron sometidas a movimientos ortodóncicos, mediante el aparato diseñado por Acostay col.(1). Los animales fueron anestesiados con embutal sódico por vía intraperitoneal, en solución alcoholica (Embutal 0,5 grs, alcohol 50º 20cc) con una dosis de 4 mg/kg de peso.

El aparato utilizado para provocar movimientos ortodóncicos consta de dos bandas de acero inoxidable de 0,10 mm de alto adaptadas a la forma del primer

molar superior de la rata, derecho e izquierdo. Ambas llevan, soldado por palatino, un tubo por el que pasan los brazos de un resorte helicoidal de alambre de acero inoxidable de 0,3 mm de sección circular.

Este aparato produce una fuerza de 70 grs a la distancia intermolar inicial, provocando el desplazamiento de los primeros molares hacia vestibular.

Las bandas fueron adaptadas a los molares bruñendo sus caras y su borde oclusal. De este modo se evita un trauma sobreagregado como lo describieron Parodi, Carranza (h) y Cabrini (1,12,47).

Estos animales fueron sacrificados según el siguiente protocolo:

Un grupo considerado control, al comienzo del experimento (0 hs) y a las 48 hs y otro a las 96 hs de colocado el aparato ortodóncico.

Las muestras fueron obtenidas mediante la técnica de inclusión en parafina previa decalcificación con EDTA y coloreados con H. E. como se detalló en la metodología general.

Las mediciones se realizaron primero en la zona del septum interradicular (Ver Esquema 1). En él se diferenciaron 2 zonas: cortical periodontal y hueso esponjoso o zona central.

La segunda zona que se consideró fue la apófisis palatina, zona alejada de la articulación alveolo-dentaria, en el mismo corte de cada animal experimental.

En el septum interradicular, la zona superficial es considerada una banda limítrofe con el ligamento periodontal que denominamos cortical periodóntica cuyo límite fue marcado a los 25 μ m de todo el contorno de la superficie periodontal.

El periodonto se dividió en varias zonas:

I - Zona cortical en relación a superficies en reposo.

II- Zona cortical en relación con superficies en neoformación.

En la zona central de hueso esponjoso se realizaron las valoraciones histomorfométricas con un ocular micrométrico; con éste sistema (ver Esquema 2) , se determinó el diámetro mayor y el diámetro menor de la manera que se explicó en metodología general.

Los datos fueron debidamente tabulados y procesados para su análisis estadístico.

II - ENVEJECIMIENTO

Se utilizaron 25 ratas Wistar agrupadas según tres edades en los siguientes lotes:

A - Ratitas jóvenes: su peso oscilaba entre 90-100 grs

B - Ratitas adultas-jóvenes: entre 200-250 grs de peso

C - Ratitas adultas: aquéllas cuyo peso era entre 380-480 grs.

A nivel del septum radicular (ver esquema 1) en esta experiencia se diferenciaron dos zonas:

Cortical periodontal y zona central del septum

En la superficie cortical se diferenciaron 3 zonas:

I - Zonas corticales en relación a superficies en reposo

II - Zonas corticales en relación a superficies erosivas

III- Zonas corticales en relación con superficies en neoformación

Se observaron en cada caso 50 lagunas osteocíticas por zona. Por intermedio del ocular micrométrico se obtuvo el diámetro menor y mayor para expresar luego el volumen de la laguna osteocítica.

Los datos fueron tabulados para su estudio estadístico.

III - LAGUNAS VACIAS

Se utilizaron 25 ratas Wistar divididas en 3 grupos.

A - Animales entre 90 - 100 grs de peso

B - Animales entre 200-250 grs de peso

C - Animales entre 380 - 480 grs de peso.

Luego de sacrificarlas se obtuvieron los maxilares superiores, procesados mediante la técnica habitual de inclusión en parafina previa decalcificación en EDTA y coloreados con H.E.

Los cortes se realizaron a nivel del septum interradicular del primer molar superior. Con la ayuda de una grilla ocular en el objetivo de 10 X . Se realizó la determinación del volumen óseo total a nivel del septum interradicular demarcado en el Esquema 5 con la línea d. Observese también el delineado del área de 36 μm^2 en que se realizaron las mediciones mediante el sistema de integración de puntos sin contar los espacios medulares.

Se realizó el rastreo de lagunas considerándose vacías aquéllas encontradas sin contenido y que estuvieran incluidas totalmente en el espesor del preparado (ver Esquema 3) descartando las que no estuviesen completamente inmersas en el corte histológico consideradas como lagunas falsas. ("crack-artefactual") (Esquema 3). Este procedimiento fue realizado con un objetivo de 25X recorriendo el preparado en forma metódica y zigzagueante como lo muestra el Esquema 4, con el fin de no repetir ninguna zona deteniéndose en cada laguna vacía y verificando la ausencia del osteocito en la laguna con objetivo de inmersión (100X).

Se obtuvo el número de lagunas vacías encontradas en cada caso y los datos fueron tabulados para su posterior estudio estadístico.

RESULTADOS

El criterio histológico y el estudio de las determinaciones histomorfométricas fueron considerados en la evaluación de los resultados siguiendo los parámetros descritos en materiales y métodos para cada experiencia.

El criterio histológico seguido para la determinación de las áreas en reposo fue la presencia de una superficie ósea lisa, en la cual los osteoblastos se presentarán inactivos, es decir, adosados a la pared ósea (de aspecto atrófico) (fig. 2). Áreas de reabsorción fueron consideradas aquellas que presentaban una superficie erosiva con o sin osteoclastos (Fig. 3) y como áreas de formación aquellas que presentaban un borde de material osteoide, con osteoblastos hipertróficos adosados a ellas (Fig. 4).

Se ha considerado osteoclastos a aquellas células multinucleadas, ya sea que presenten citoplasma basófilo o ligeramente acidófilo. (Fig. 3)

Experiencia I: Movimientos ortodóncicos.

Hallazgos experimentales:

La observación microscópica de los cortes en los dos tiempos experimentales fue analizado en detalle en los animales a las 48 hs. de colocado el aparato encontrando un incremento de las áreas lacunares osteocíticas de la cortical periodontal en reabsorción.

En las preparaciones correspondientes a las 96 hs. mostraban un mayor incremento del volumen de las lagunas osteocíticas en relación a superficies erosivas, mostrando un mayor número de osteoclastos en estas zonas.

En ambos tiempos experimentales (48 y 96 Hs.) se observó la cortical palatina correspondiente al mismo corte. Mostrando las corticales en relación a zonas en reposo que mostraban un área lacunar osteocítica muy reducida en relación a las observadas en la cortical periodontal en reposo a nivel del septum interradicular.

Análisis histométrico

Las lagunas osteocíticas fueron cuidadosamente medidas a nivel de la zona más ecuatorial de la laguna en sus ejes mayores y menores correspondientes. Se evaluaron las áreas lacunares osteocíticas de los preparados de los animales experimentales y de los animales controles como también los datos obtenidos de los diámetros menores de las lagunas osteocíticas.

Se obtuvo la media con su correspondiente desviación standard (D.S.) de las 50 lagunas tomadas al azar, cumpliendo estrictamente el método histométrico detallado en materiales y métodos.

Los valores correspondientes al parámetro de Area Lacunar osteocítica estudiados en los controles indicó diferencias significativas entre la cortical periodontal erosiva y la cortical periodontal en reposo. (Ver tabla I).

Las diferencias encontradas entre la cortical en reposo de la apófisis palatina y la cortical en reposo del septum interradicular fueron muy notables y pueden verse en la Tabla II. Las apófisis palatinas mostraron corticales en reposo donde presentan un area de 27,19 D.S. 2,3 μm^2 promedio. Esto constituye un hallazgo con respecto a la cortical periodontal 51,7 μm^2 con diferencias significativas ($P < 0,005$). (Ver Figuras 8, 9, 13 y 14).

El área lacunar osteocítica fue expresado en todos los casos en μm^2 mientras que los diámetros menores se tabularon en μm . En el área central del septum interradicular no mostraron variaciones significativas. El incremento de la reabsorción de la superficie ósea periodontal fue muy llamativa a las 48 Hs. y aún más evidente a las 96 Hs. de experiencia. En la tabla I pueden verse los valores de esas diferencias.

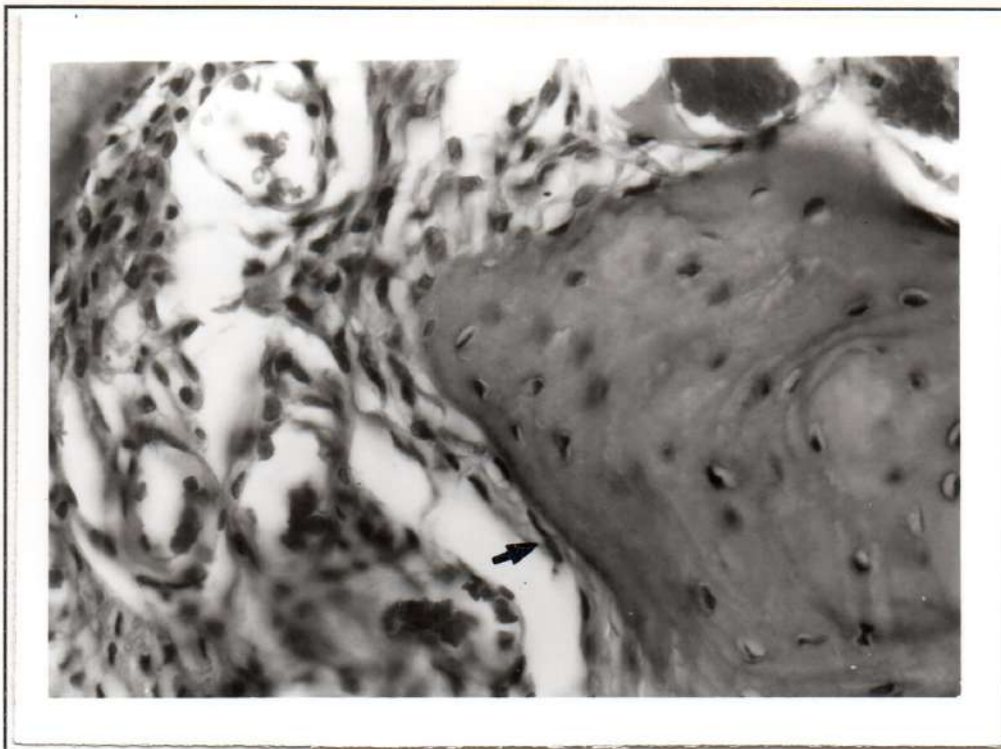


Fig. 2.- Trabécula ósea en reposo. Nótese la presencia de osteoblastos atróficos (flecha) adosados a la pared ósea. Corte de un caso control. Coloración hematoxilina-eosina. 45 X.

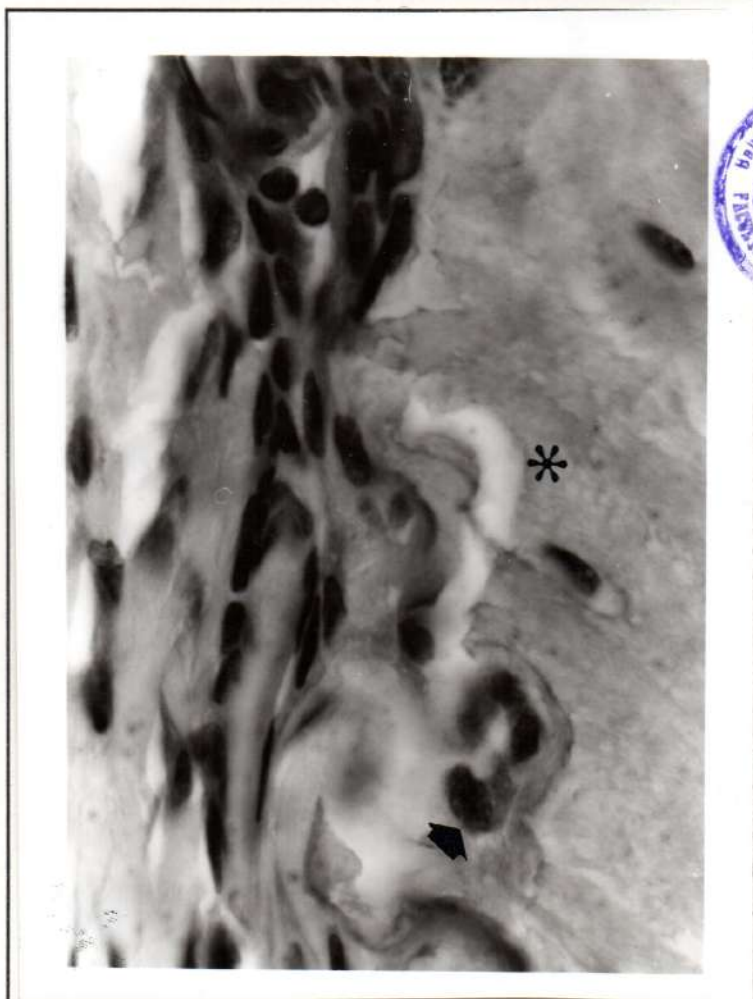


Fig. 3.- Zona del ligamento periodontal donde se ve una parte de la superficie ósea en reabsorción (*). Adosados a ella, osteoclastos como el que indica la flecha. Tomado de un caso de 0 horas de experiencia. 100 X. Coloración hematoxilina-eosina.

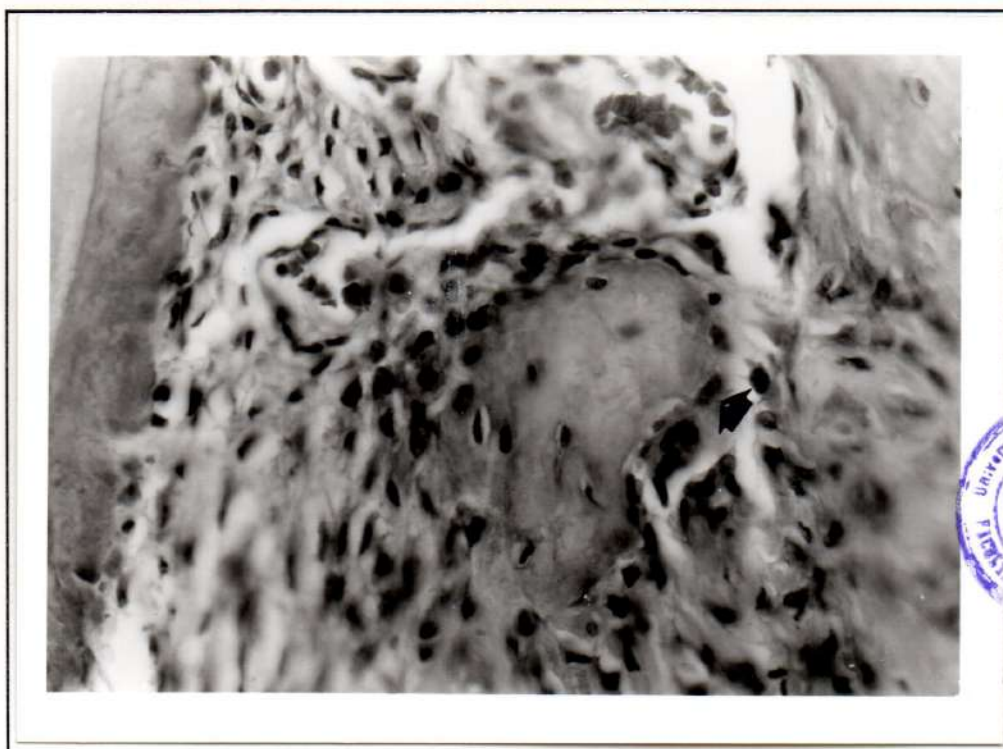


Fig. 4.- Superficie ósea periodontal donde se aprecia una banda de tejido osteoide y adosados a ella osteoblastos hipertróficos (flecha) que indican una activa formación ósea. 40 X. Coloración hematoxilina-eosina.

MICROSCOPIA

En el Grupo Control se observó a nivel del septum interradicular de los molares de rata las siguientes características: En el hueso alveolar pueden apreciarse los osteocitos en sus correspondientes lagunas osteocíticas, espacios medulares. Pueden encontrarse líneas más oscuras que corresponden a líneas en reposo que a nivel de la superficie ósea periodontal. Estas líneas se encuentran interrumpidas presentando el típico aspecto del hueso en reabsorción (ver Fig. 3) donde la presencia de osteoclastos es baja. Las áreas en actividad erosiva alcanzan un 30% (Ubios, 54). Mientras que las zonas en reposo se encontraban en mayor proporción 50% presentando una superficie ósea lisa, en la cual los osteoblastos se mostraban inactivos, es decir, adosados a la pared ósea y de aspecto atrófico (ver Fig. 2).

Las superficies en neoformación fueron las menos acentuadas, aproximadamente un 20% (54), presentaban una superficie ósea donde se aprecia una banda de tejido osteoide y adosados a ella, osteoblastos hipertróficos que indican una activa formación ósea. (ver Fig. 4).

La observación microscópica de los cortes en los animales experimentales a las 48 y 96 hs. de experiencia fue analizada en detalle.

Se encontró un incremento de la superficie ósea periodontal con una mayor área de la laguna osteocítica en relación con estas superficies erosivas (Fig. 5-6) con o sin la presencia de osteoclastos (Fig. 8).

En cortes correspondientes a 48 hs. de experiencia en un área de cortical en reposo vemos sensiblemente aumentada el área lacunar osteocítica, como también el diámetro menor (ver tablas III y IV) que se expresa histológicamente con un mayor redondeamiento de la laguna. (Fig. 8 y 12)

A nivel del septum se encontraron áreas de reabsorción en las zonas de compresión, extendiéndose a lo largo del hueso alveolar (Fig. 11), con escasos osteoclastos a 48 hs. de experiencia, pero su presencia fue muy llamativa a las 96 hs. de provocado el movimiento ortodóncico (Fig. 15 y 16), en este tiempo experimental fue evidente la actividad de formación ósea, y se observa que los fenómenos reabsortivos aumentan a las 48 hs., para luego descender en tanto que el número de osteoclastos comienza a aumentar a las 24 hs., aun cuando el porcentaje ha llegado al 50% del valor máximo de la reabsorción ósea. (Ver Esquema 9)

En esta experiencia se observó a nivel del hueso cortical palatino de los animales experimentales luego de 48 y 96 hs. de colocado el aparato ortodoncico que mostraba lagunas pequeñas acintadas en zonas en reposo como muestra la Figura 9, 10 y 13. Estas lagunas presentan un área lacunar osteocítica muy pequeña comparada a lagunas en áreas de reposo colindantes al ligamento periodontal con una notable diferencia (ver figura 7) de tamaño, encontradas en el septum interradicular. Las Figuras 13 y 14 muestran a mayor aumento lagunas osteocíticas acintadas X: 35, 24 SD: 7,09 con gran número de canaliculos que interrelacionan los osteocitos entre si de zonas alejadas de la articulación alvéolo - dentaria.

La reabsorción en el hueso alveolar abarcaba áreas de hueso cortical en reposo como se observa en la microfotografía (Fig. 6) correspondiente a 48 hs. de experiencia se observan lagunas osteocíticas incrementadas en su tamaño donde los controles muestran lagunas osteocíticas pequeñas y acintadas (Fig. 14).



Fig. 5

Fig. 5 y 6.- Trabécula ósea en reabsorción. El hueso alveolar en el que pueden apreciarse los osteocitos en sus osteoplastos. Se presentan líneas más oscuras que corresponden a líneas de reposo (*). En la superficie ósea periodontal estas líneas de reposo se ven interrumpidas, presentando el típico aspecto de hueso en reabsorción. (Las Flechas señalan osteoclastos). Estas fotos corresponden a casos luego de 48 horas de experiencia. Coloración hematoxilina-eosina. 100 X.



Fig. 6

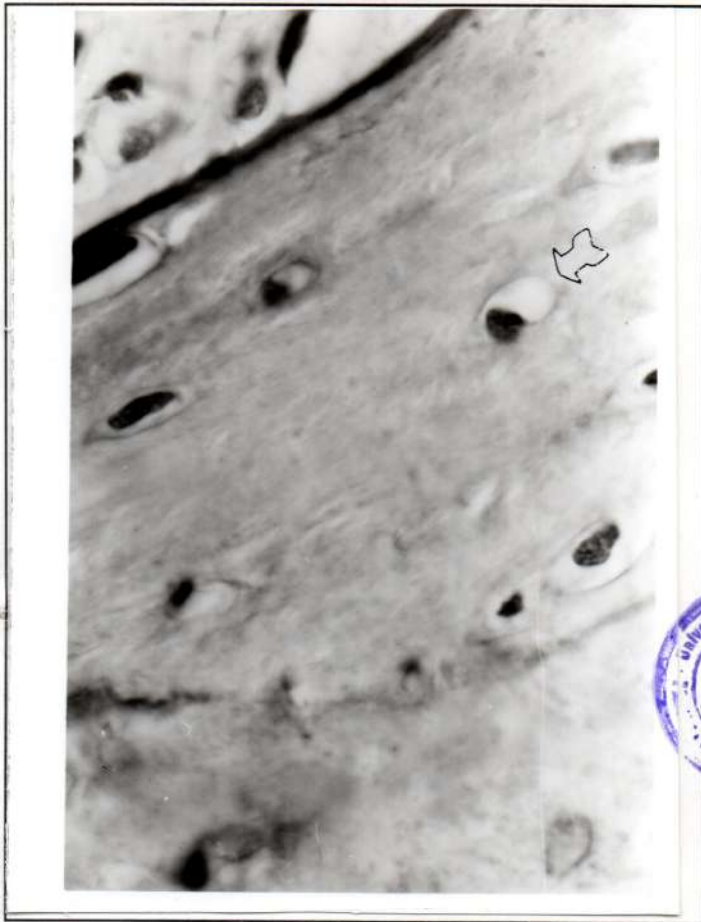


Fig. 7.- Trabécula ósea, cortical en reposo del caso de la experiencia de movimiento ortodoncico a 48 hs. Pueden apreciarse lagunas osteocíticas incrementadas de tamaño. 100 X. H.E.



Fig.8.- Cortical alveolar reabsorción sin la presencia de osteoclastos a 48 hs. de experiencia. 100 X. H.E.



Fig.9.- Foto panorámica de Cortical palatina de animales de la experiencia de movimientos ortodóncicos. 10 X. Coloración H. E.

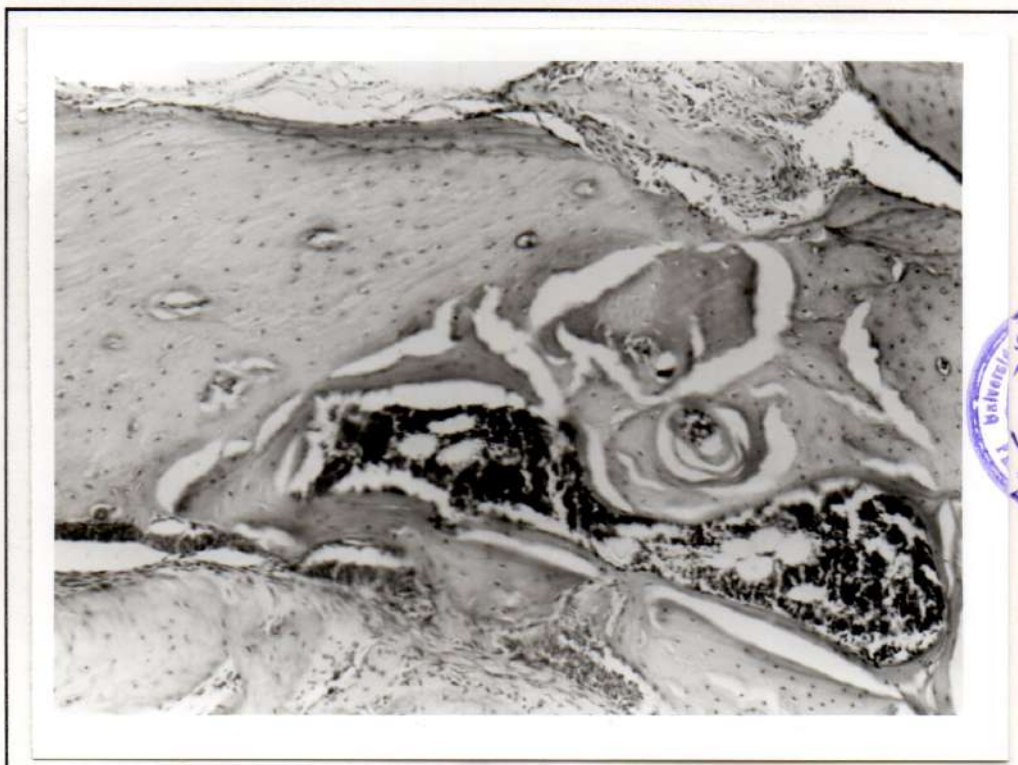


Fig. 10.- Zona cortical palatina donde se observan osteocitos pequeños en reposo. 10 X. Coloración H. E.



Fig. 11.- Hueso alveolar izquierdo que corresponde a la cortical vestibular a la derecha. (*) 25 X. Coloración H. E.

Fig. 12.- Lagunas osteocíticas en relación a superficies erosivas con incremento de las áreas lacunares. Pueden apreciarse lagunas redondeadas. La Flecha señala un osteocito incluido dentro de esas lagunas. 100 X. Coloración H. E.

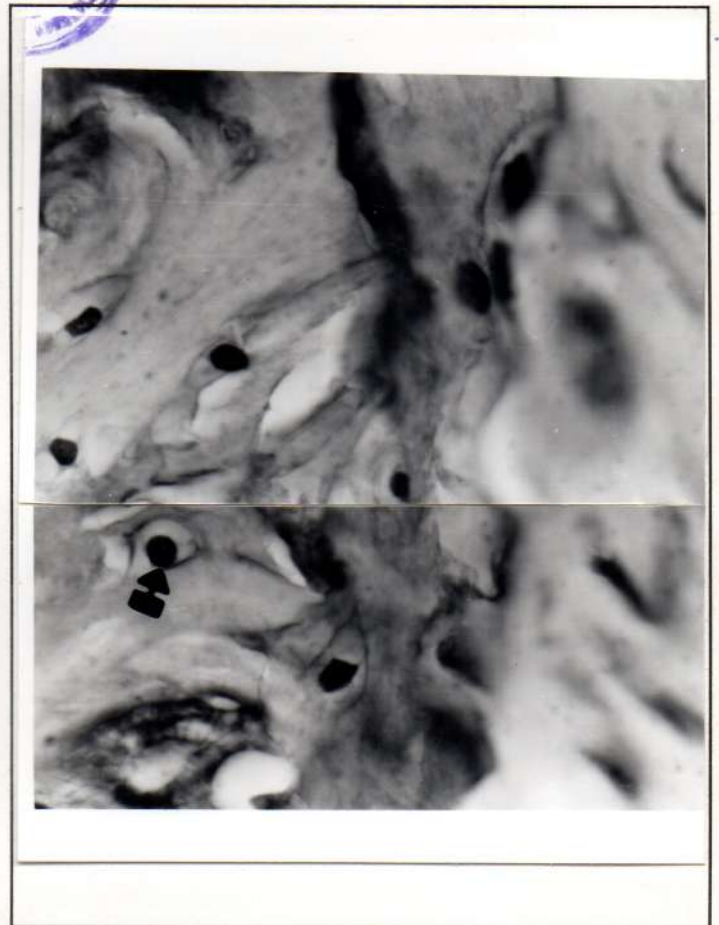


Tabla I
Area Lacunar Osteocítica (μm^2)

	Z. Central	Cortical Periodontal Erosiva	Cortical Periodontal Reposo	Apófisis Palatina Cortical Reposo
Control	59.9 ± 6.7	54.5 ± 10	51.0 ± 7	27.19 ± 2.32
Movimientos Ortodóncicos 48 Hs.	66.22 ± 4.72	55.17 ± 3.19	30.39 ± 5.13	32.90 ± 2.93
Movimientos Ortodóncicos 96 Hs.	64.36 ± 5.15	58.48 ± 6.42	28.20 ± 1.43	24.82 ± 1.86

El área lacunar osteocítica se mantuvo constante en el área central. Las variaciones más notables se observaron en la cortical periodontal erosiva y en reposo. Para los detalles de interpretación véase la Tabla II
± : D.S.

Tabla II
Area Lacunar Osteocítica (μm^2)

	Cortical Periodontal Reposo	Apófisis Palatina Reposo	P<
Control	51.0 \pm 7	27.19 \pm 2.32	0.005

\pm : D.S.

Al considerar la cortical en reposo del hueso alveolar a nivel del Septum interradicular comparándola con la Apófisis palatina fueron muy claras las diferencias observadas significando una mayor actividad ósea a nivel del septum.

Tabla III
Diámetro Menor de la Laguna Osteocítica (μm)

	Esponjoso	Cortical Periodontal Erosiva	Cortical Periodontal Reposo	Apófisis Palatina Cortical Reposo
Control	6.41 \pm 0.95	5.89 \pm 0.58	4.82 \pm 0.4	2.98 \pm 0.19
Movimientos Ortodóncicos 48 Hs.	6.96 \pm 0.93	5.49 \pm 0.70	3.43 \pm 0.40	3.46 \pm 0.46
Movimientos Ortodóncicos 96 Hs.	6.44 \pm 0.21	6.23 \pm 1.6	2.94 \pm 0.22	2.64 \pm 0.6

\pm : D.S.

Los diámetros menores fueron considerados encontrando diferencias significativas ($P < 0.05$) entre cortical periodontal erosiva y en reposo. Las variaciones de los diámetros menores fueron igualmente significativas entre la cortical periodontal en reposo y la cortical palatina en reposo.



Tabla IV
Movimientos Ortodóncicos
Area Lacunar Osteocítica (μm^2)

	Cortical Periodontal Reposo		Cortical Periodontal Erosiva	P<
Control	51.0 \pm 7	(48 Hs.)	55.17 \pm 3.90	0.010
Control	51.0 \pm 7	(96 Hs.)	58.48 \pm 6.42	0.010

Tabla V
Movimientos Ortodóncicos
Area Lacunar Osteocítica (μm^2)

	Apófisis Palatina Cortical Reposo		Cortical Periodontal Erosiva	P<
48 Hs.	32.90 \pm 2.93		55.17 \pm 3.90	0.005
96 Hs.	24.82 \pm 1.86		58.48 \pm 6.42	0.005

En las Tablas IV y V se pueden observar las diferencias que fueron significativas a la prueba "T" en los parámetros elegidos.
 \pm : D.S.



Fig. 13.- Cortical palatina con lagunas osteocíticas (Flecha) en reposo muy acintadas con numerosas canaliculos en animales con movimientos ortodóncicos.
100 X. Coloración H. E.



Fig. 14.- Zona cortical alveolar vestibular en animales de movimientos ortodóncicos en una zona alejada a la articulación alveolo-dentaria.
100 X. Coloración H. E.



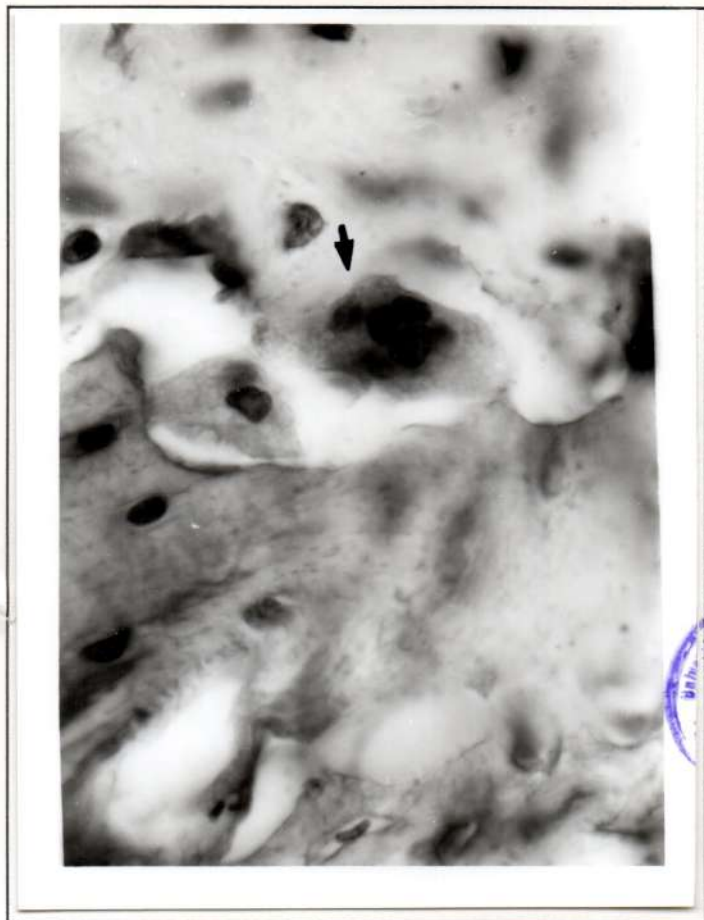
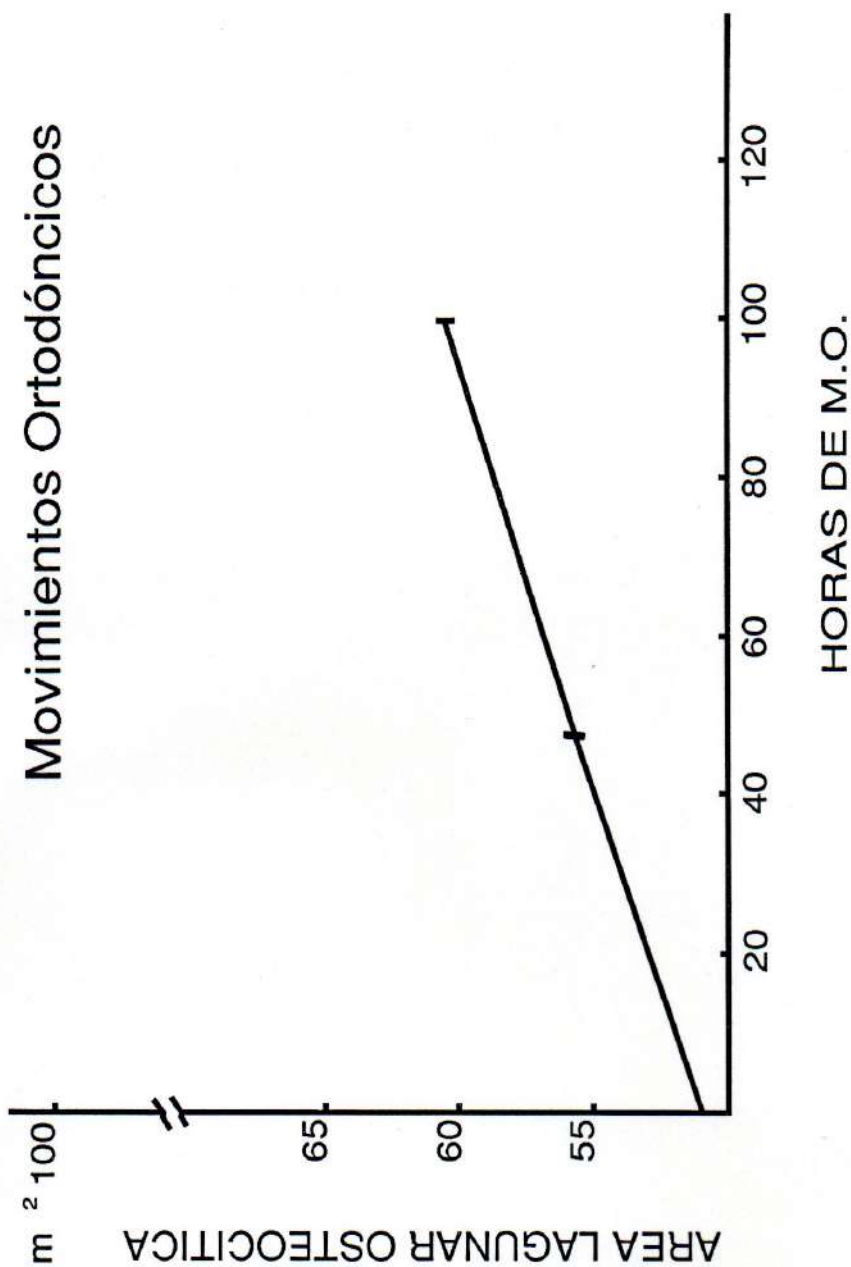


Fig. 15.- Trabécula ósea en reabsorción sobre cuya superficie puede verse un osteoclasto (flecha). Corte correspondiente a un caso de 96 Hs. de experiencia. 100 X. Coloración hematoxilina-eosina.



Fig. 16.- Lagunas osteocíticas en relación a superficies en reabsorción donde pueden apreciarse lagunas incrementadas de tamaño, la flecha indica una laguna a 96 horas de experiencia. 100 X. Coloración hematoxilina-eosina.





Esquema 6: Este gráfico corresponde a los resultados obtenidos con respecto al incremento del volumen de la laguna osteocítica. (Compárese con los valores del gráfico en el esquema 9) En este gráfico el valor o (cero) corresponde al valor normal para cada caso donde la media del área lacunar ($51.0 \mu\text{m}^2$) en relación a superficies erosivas ($P < 0.010$).

Experiencia II: Envejecimiento.

Hallazgos experimentales:

Se observó diferencias en el área lacunarosteocítica en los tres grupos etarios estudiados, en las áreas de reabsorción y reposo de la cortical periodontal, sin mostrar variación en el volúmen de las lagunas en la zona central del septum.

Al analizar desde este punto de vista cada una de las zonas según los parámetros detallados en materiales y métodos para esta experiencia se observó que las zonas en reabsorción con respecto a las zonas en reposo se encontraban incrementadas de tamaño en condiciones fisiológicas. Siendo la zona con mayores cambios de volúmen en relación a las diferentes superficies, la banda de tejido óseo limitante al tejido periodontal.

Análisis histométrico

El área lacunar osteocítica fue metódicamente obtenido según el criterio detallado en materiales y métodos de manera que se evaluaron las áreas lacunares en los Grupos A, B y C. Se obtuvo la media, con su desviación standard de las 50 lagunas tomadas al azar, y cumpliendo rigurosamente cada paso de la técnica.

Al analizar el área lacunar osteocítica (expresada en Mm^2) de los distintos grupos etarios, muestran las modificaciones más importantes entre las zonas en relación a superficies en reposo en relación a las zonas erosivas. Estas últimas mostraron un incremento significativo (ver esquema 7), como se observa en la figura N° 26 donde se señala con la letra A, con respecto a la imagen B que muestra una zona en relación a reposo con lagunas pequeñas

que para el grupo A correspondían a 33,75 D.S.4.5.contrastando con los 51,64 D.S.1.8 ($P<0,05$), obsérvense las diferentes entre el Grupo B y C en el cuadro VI.

Se detecto diferencias significativas entres áreas de reposo en las distintas edades, es decir entre los Grupos A- B y C, encontrando los siguientes valores de las áreas lacunares osteocíticas. Grupo A: 33, 75 D.S. 4.5. Luego en el grupo B mostró un franco aumento en el volúmen de la laguna: 51,00 D.S. 7 y que disminúe en el Grupo C: 26, 70 D.S. 5,7.

Este fenómeno se respeta en las dos zonas: reposo y reabsorción (Ver esquema 7) mientras que el volúmen del área lacunar osteocítica de la zona central se mantuvo dentro de valores similares ($P<0,5$).

MICROSCOPIA

La observación microscópica de los cortes histológicos en los distintos grupos etarios fue analizada en detalle.

En relación a las zonas de superficies en reposo (Ver figura 26) las lagunas se presentaban estructuralmente pequeñas acintadas, de contornos generalmente lisos, con osteocitos picnoticos en su interior, y en relación a superficies erosivas estaban incrementadas de tamaño (Fig. 22). Los osteocitos que se encontraban en su interior, presentaban núcleos con cromatina laxa o finamente granular, ligeramente basofilos en la coloración común (H.E).

En el Grupo A se observó zonas en neoformación en mayor proporción que en los grupos B y C (Fig. 18), en las zonas en relación a superficies erosivas las lagunas osteocíticas presentaban una conformación más redondeada como se observa en la Figura 19.

Los preparados histológicos del Grupo B mostraban en las zonas de

neoformación (Fig. 21), reposo (Fig. 20) y en zonas erosivas (Fig. 22) donde se observan lagunas incrementadas de tamaño con respecto a zonas en reposo.

En los animales seniles (Grupo C) las zonas en neoformación eran escasas (Fig. 24). Las lagunas osteocíticas se presentaban acintadas a nivel de cortical periodontal en reposo (fig. 25) con respecto a las zonas erosivas (fig. 23).

La Figura 27 muestra un aspecto del osteocito al microscopio de transmisión (obsérvese Fig. 26 A) correspondieran a lagunas osteocíticas incrementadas de tamaño en zonas erosivas. Mientras que la Figura 28 se refería a lagunas acintadas pequeñas en la cortical periódonal en reposo.

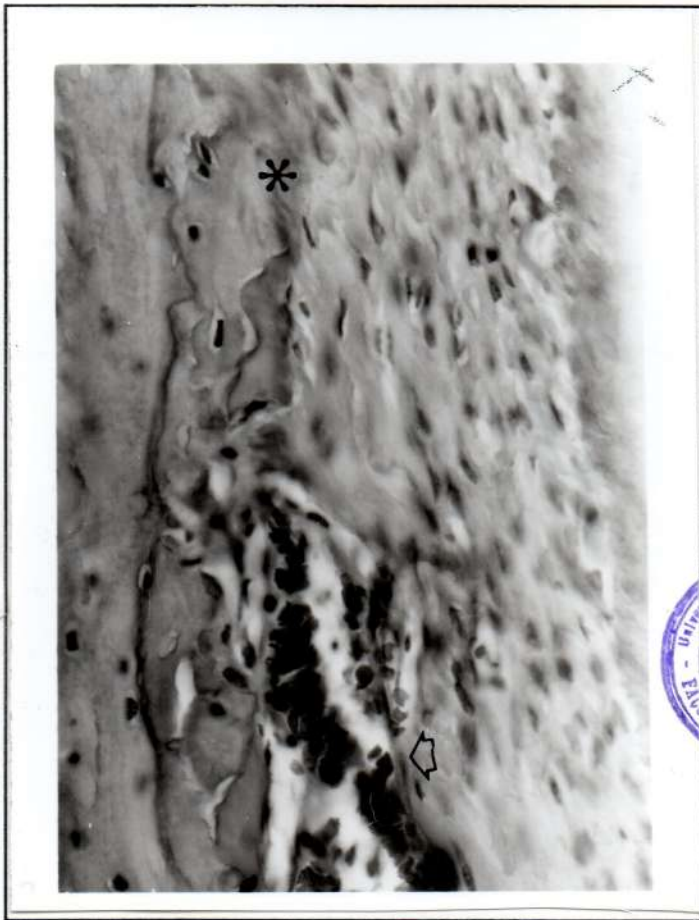


Fig.18.- Microfotografía donde se observa una zona en neoforación(*). En la mitad inferior se observa un trayecto de un vaso sanguíneo (Flecha)
40X. Coloración H.E.

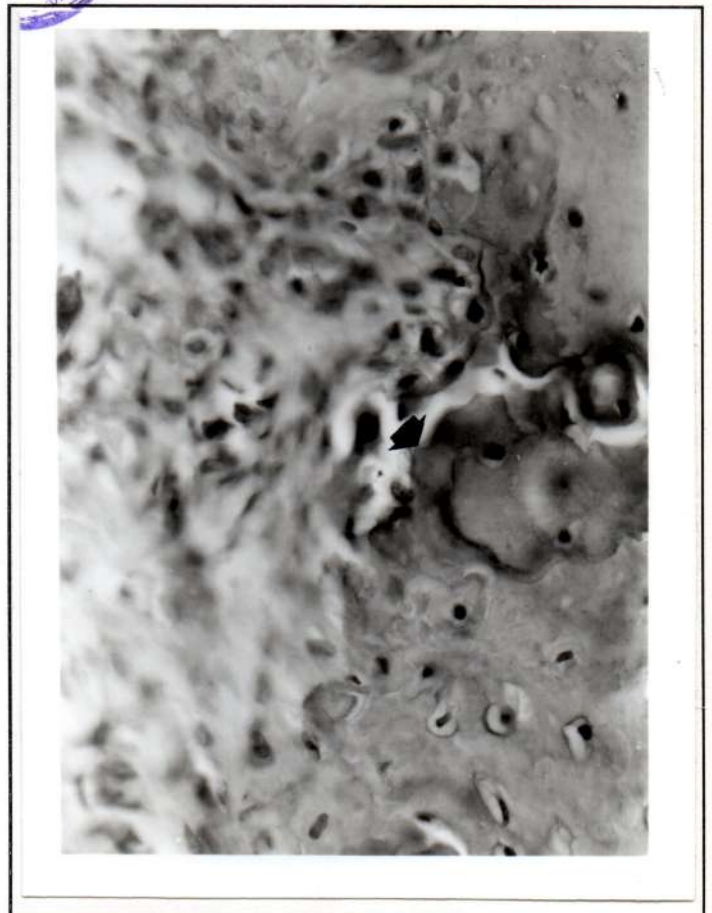


Fig. 19.- Zona en reabsorción (Flecha) donde se observan sensiblemente agrandados de volumen las lagunas adyacentes.
40X. Coloración H.E.



Fig. 20.- Lagunas osteocíticas presentes en la cortical periodontal en reposo (*) Este corte corresponde al Grupo B. 40X. Coloración H.E.

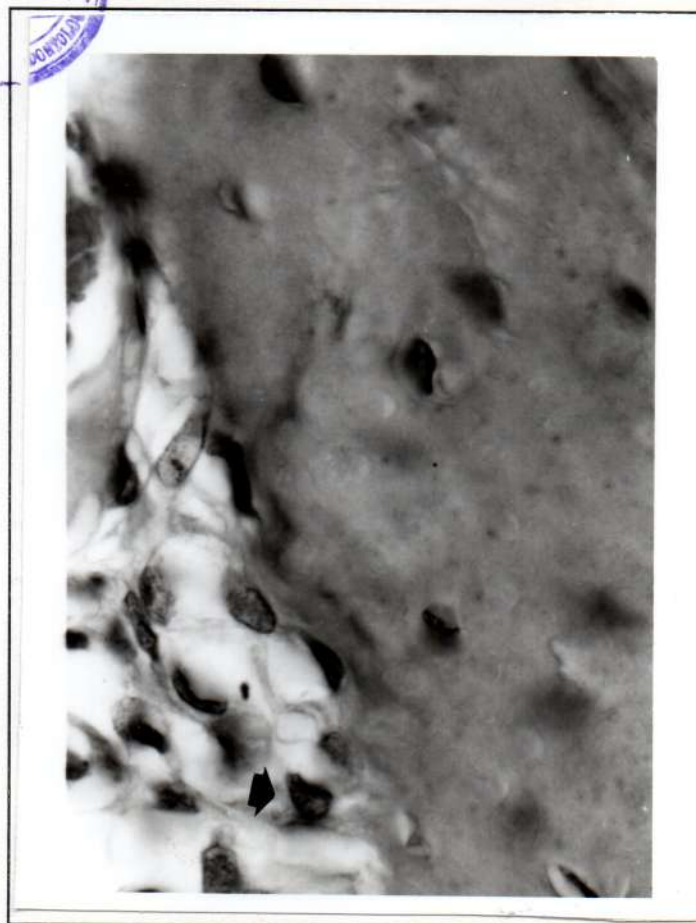


Fig. 21.- Cortical periodontal: en el extremo inferior se observa una zona de neoformación (Flecha) 100X. H.E.



Fig. 22.- Zona en reabsorción, a nivel de la cortical periodontica, se observan osteoclastos (Flecha) y lagunas incrementadas de tamaño 100X. Coloración H.E.

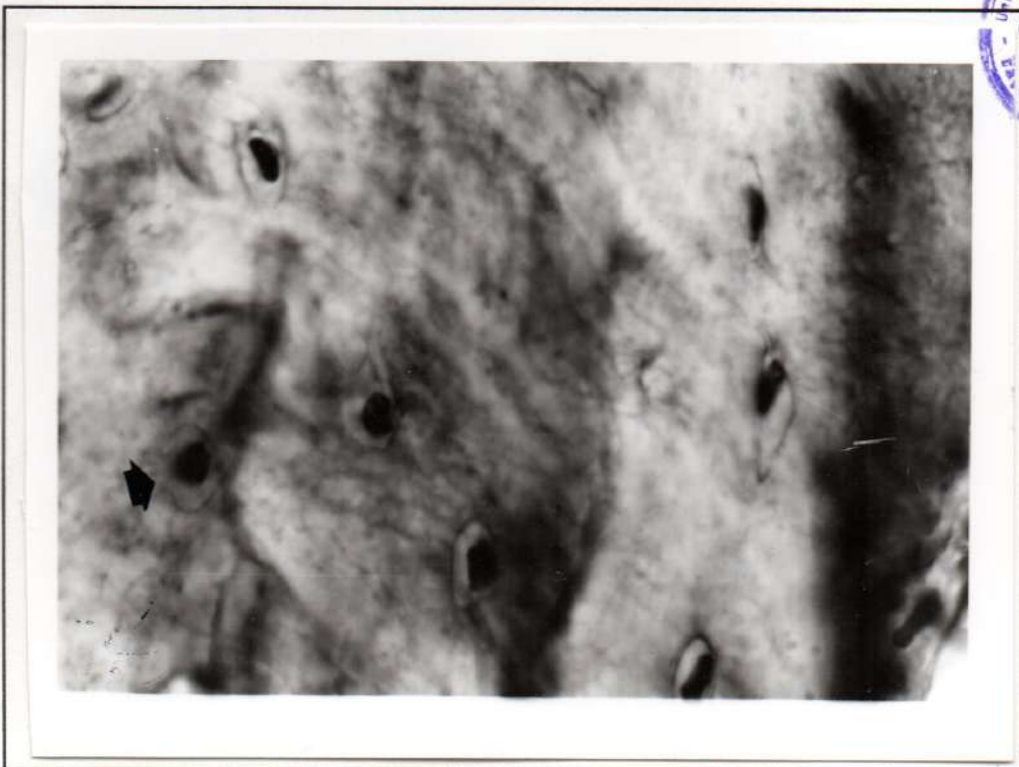


Fig. 23.- Cortical periodontal en relación a una zona en reabsorción donde se observan lagunas osteocíticas incrementadas de volumen (Flecha). 100X. H.E.



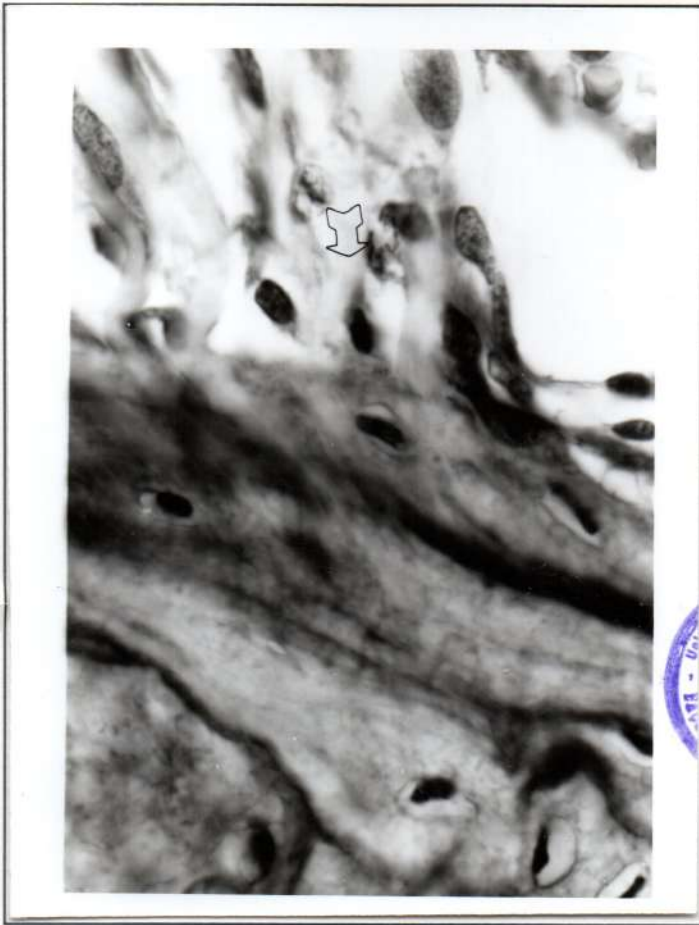


Fig. 24.- Cortical periodontal: área en neoformación ósea (Flecha) 100X. Coloración H.E.



Fig. 25.- Cortical en reposo a nivel del hueso alveolar (c. periodontal), presenta lagunas osteocíticas acintadas. 100X. Coloración H.E.

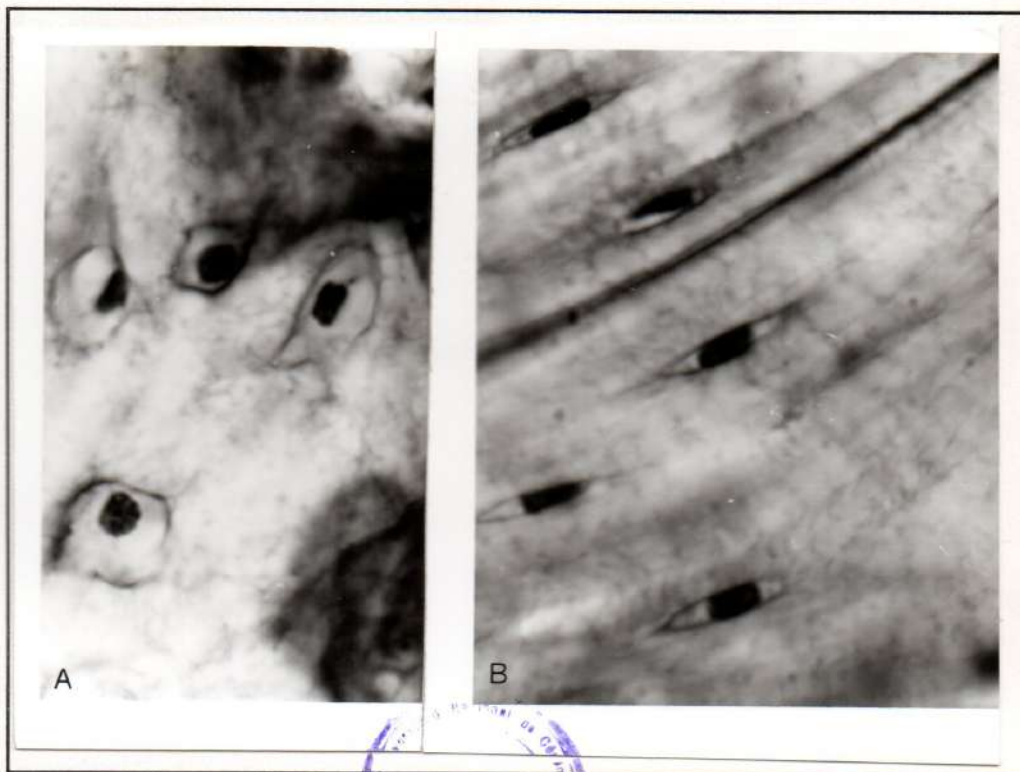


Fig. 26.-

Dos aspectos de la laguna osteocítica a nivel de microscopía óptica. Obsérvese en:

A= el diámetro de las lagunas osteocíticas en relación a una zona en reabsorción se presentan aumentadas en volumen.

B= Lagunas osteocíticas pequeñas, en relación a áreas en reposo de características acintadas.

100X. Coloración H.E.

Microscopía Electrónica

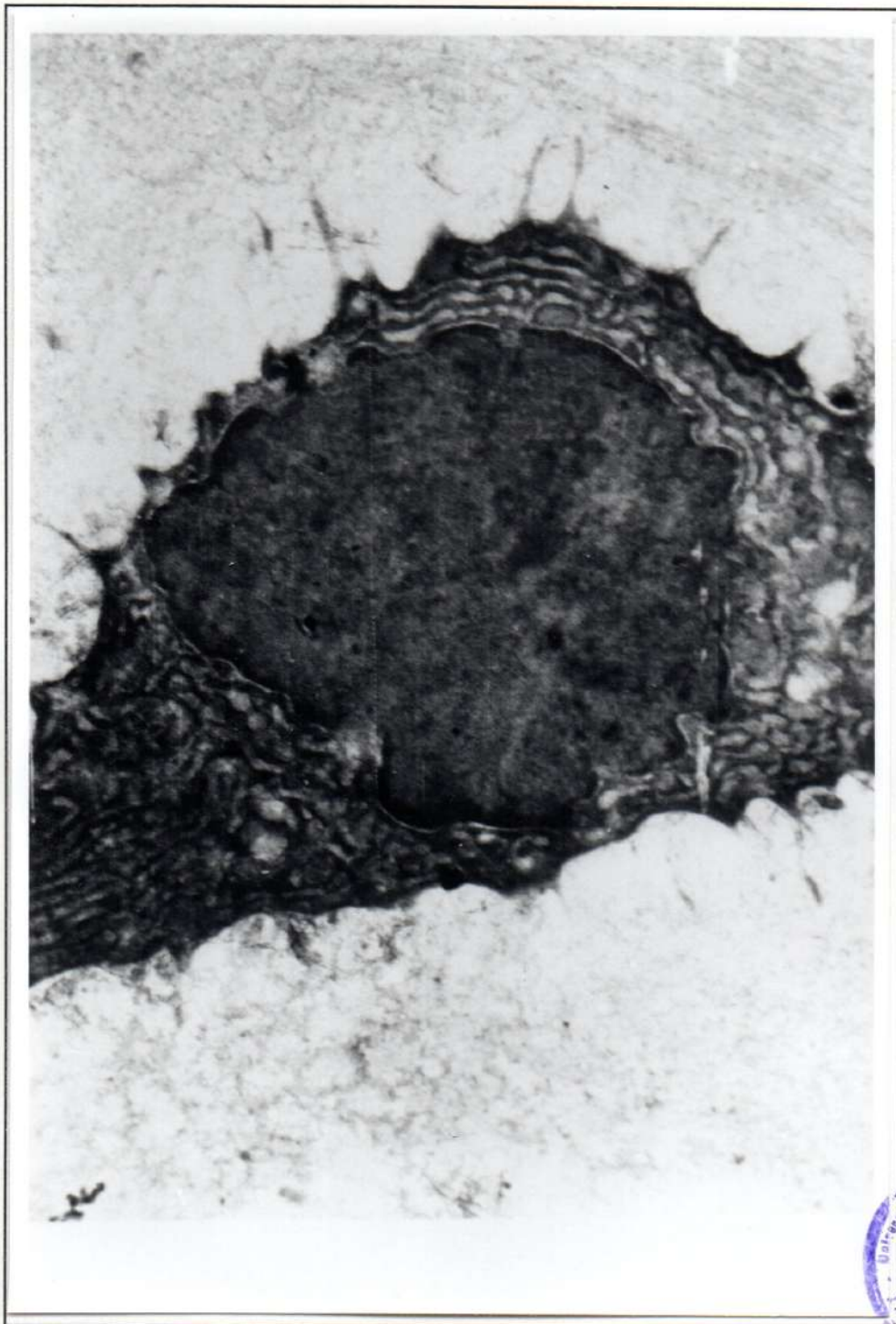


Fig. 27.- Fotomicrografía de una muestra de tejido óseo decalcificado a nivel de hueso alveolar, osteocito dentro de su laguna, compárese con Fig. 28 4000 A. (Foto ampliada).

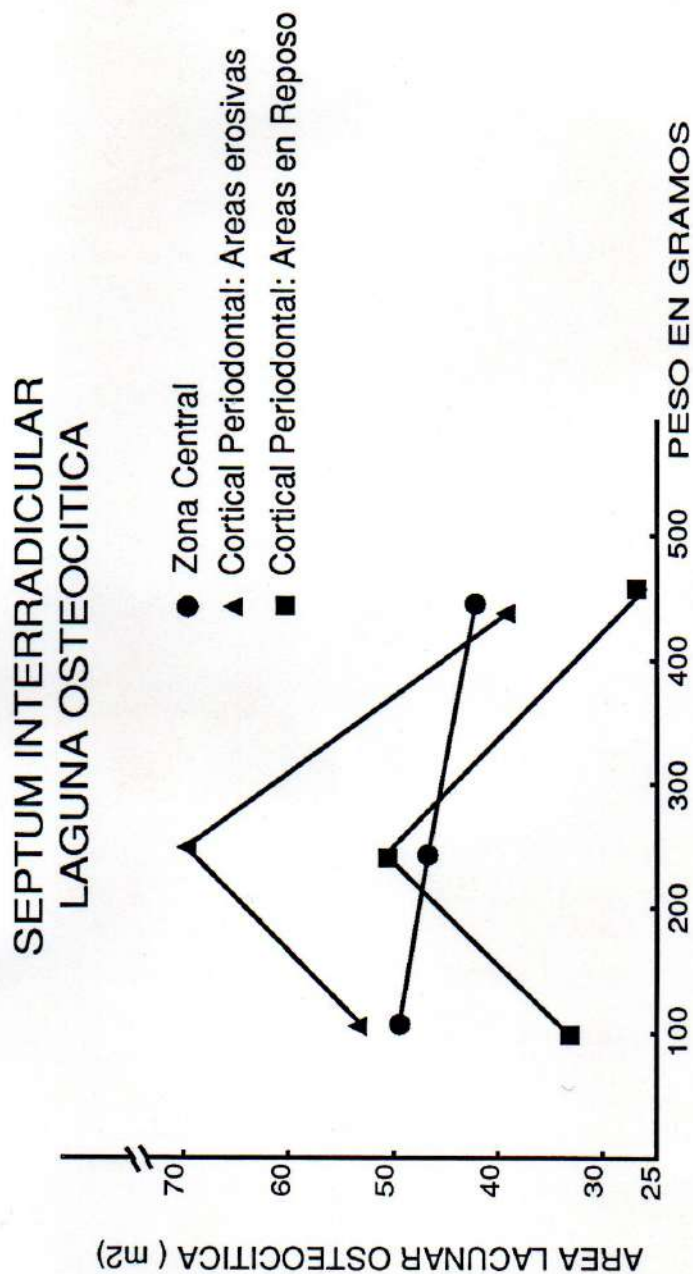




Fig. 28.- Fotomicrografía de una zona con lagunas pequeñas y acintadas a nivel de la cortical periodontal del hueso alveolar.

4000 A. (Foto ampliada)





Esquema 7: En el área lacunar osteocítica de la zona central (●) no hubo diferencias significativas, se mantuvo constante en los tres grupos, mientras que en áreas erosivas (▲) comienza aumentando el volumen en el grupo B y van decreciendo en el grupo C (ver tabla VI) con la misma característica se observa en áreas en reposo (■).

Experiencia III: Lagunas vacías.

Hallazgos experimentales:

La aparición de lagunas vacías fueron un hallazgo frecuente a nivel de zonas alejadas de la superficie de la cortical periodontal del hueso alveolar, en el área del septum en animales adultos (Grupo B) y el porcentaje aumentó aún más en animales seniles (Grupo C). Los animales jóvenes (Grupo A) no mostraron la presencia de lagunas vacías.

Análisis histométrico

El recuento de lagunas vacías fue realizado con el mayor rigor metodológico. En cada grupo etario se obtuvo la media con la correspondiente desviación standard. Según el sistema de integración de puntos y de la manera descrita en materiales y métodos (Esquema 5), se estimó el número total de lagunas en relación a 100 μm y a la totalidad del volumen óseo.

En el grupo A no se encontraron lagunas vacías (Tabla VIII); según el criterio seguido para la determinación de las lagunas vacías; (la ausencia del osteocito en la laguna osteocítica, que estuviera incluida totalmente en el espesor del preparado, ver Gráfico N° 3).

El grupo B mostró un incremento del 0,31%. Se obtuvo la relación entre el % del hueso con osteocitos en sus lagunas y el % de lagunas vacías. Los valores del % de lagunas vacías correspondiente a los parámetros estudiados pueden verse en la tabla IX fueron significativamente mayores al grupo A según la prueba T

El análisis del grupo C presentó el mayor porcentaje de lagunas vacías (1.45). Estos datos están detallados en la tabla VIII demostrando tener

diferencias (Test de Duncan $P < 0.05$) estadísticamente significativas.

El gráfico 8 muestra claramente los diferentes porcentajes encontrados de lagunas vacías con relación al volumen óseo total.

Al estudiar los valores provenientes del parámetro de nº de osteocitos por $100 \mu\text{m}^2$ mostraron un mayor incremento en el grupo B (0.08%), siendo mayor aun en el grupo C (0.23%).

TABLA IX

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C
Nº	8	8	12
% Lagunas vacías	0	0,31	1,45
Sx	0	0,10	0,75
Sx	0	0,035	0,21
X del nº de lagunas osteocíticas VI	276,2	888,25	467,00
Area media	1620 μm^2	3.025,7 μm^2	1953 μm^2
Nº osteocitos/	13,02	31,3	17,56
Lagunas vacías/100 μm^2	0	0,08	0,23

Pueden observarse en la Tabla IX, evidenciando diferencias significativas (Test de Duncan $P < 0.05$).

MICROSCOPIA

A nivel del hueso alveolar se observó en el grupo de animales jóvenes (Grupo A) un número importante de espacios medulares que contenían médula hematopoyética (Fig, 29)

En el Grupo B comienzan a disminuir estos espacios mientras que en los animales seniles desaparecen casi por completo tornandose el tejido óseo del

septum, más escleroso (Fig. 31) . La presencia de lagunas vacías podían encontrarse cercanas a la superficie periodontal pero más frecuentemente se las encontró en la zona de mayor espesor de la cortical, y alejadas de la superficie cercana al ligamento periodontal, como se presenta en las figuras 30-31.



Fig. 29.- Foto panorámica de un septum interradicular del grupo A (90 grs.) 10 X. Coloración H. E.



Fig. 30.- Foto panorámica de un animal del Grupo B (200 grs.) a nivel del septum interradicular. 25 X. Coloración H. E.

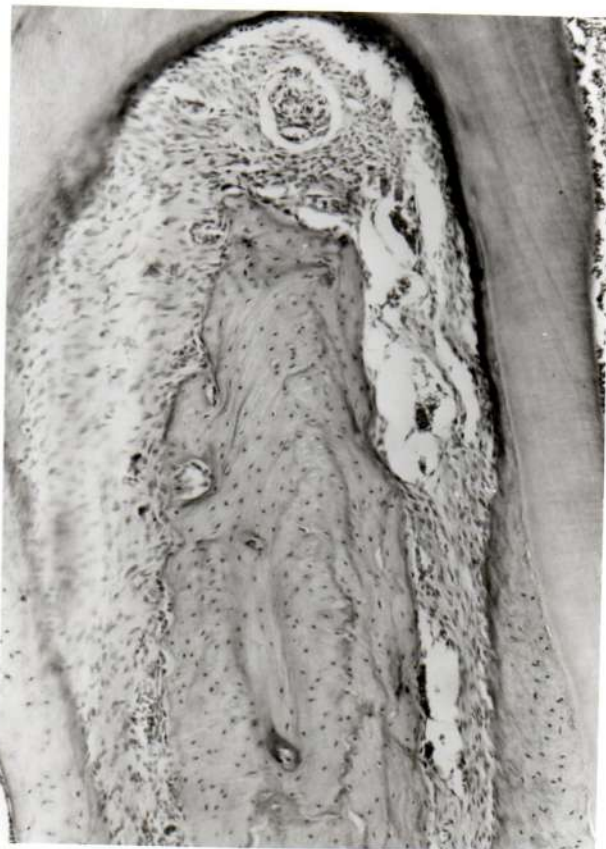


Fig. 31.- Foto panorámica del septum interradicular de una rata senil (Grupo C) obsérvese la ausencia de espacios medulares. 25 X. H.E.

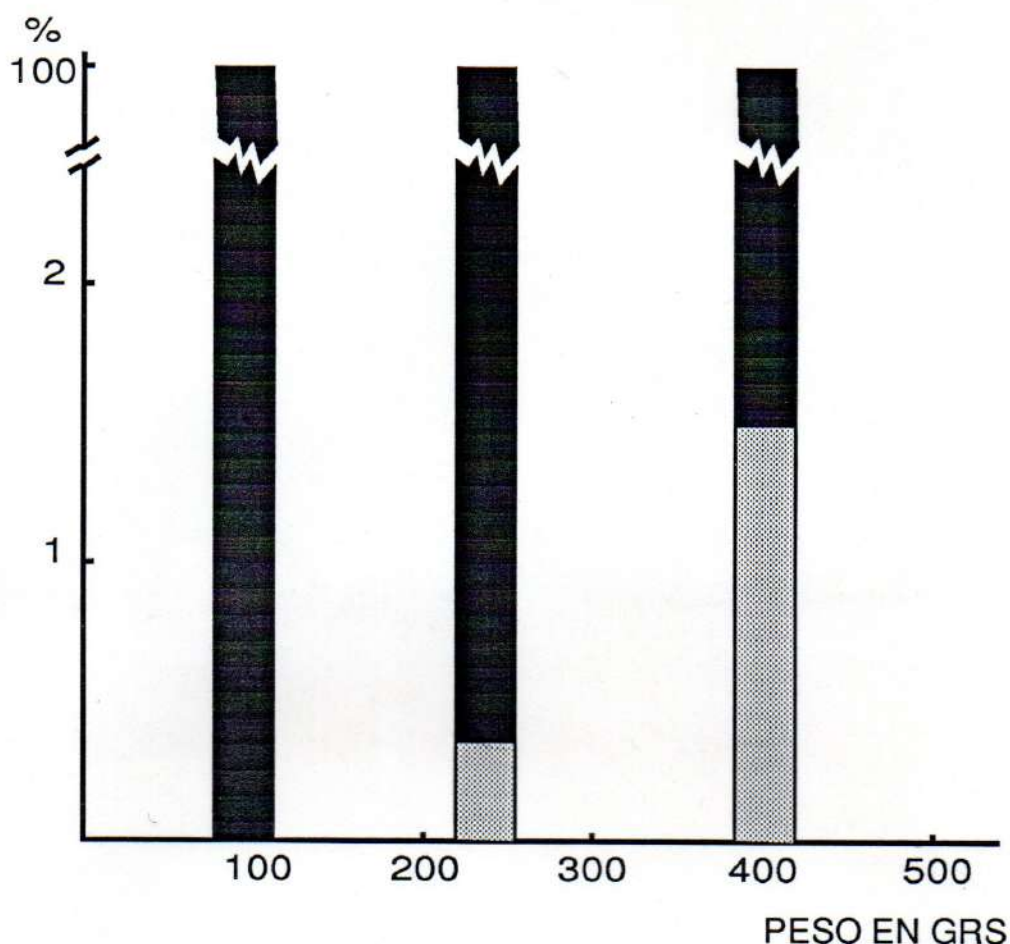


Fig. 32.- Se observa una laguna vacía (Flecha) en una preparación correspondiente al Grupo B. 40 X. Coloración H. E.



Fig. 33.- Se observa con mayor nitidez y acercamiento una laguna vacía. 100 X (Inmersión). Coloración H.E.

GRAFICO: PORCENTAJE DE LAGUNAS VACIAS
(HUESO INTERRADICULAR)



Esquema 8: Gráfico del porcentaje de lagunas vacías a nivel del septum interradicular. En la columna de la derecha se observa el mayor incremento de lagunas vacías representada con gris, la columna central (Grupo B) está ocupado con un 0,31 % con lagunas vacías mientras que en el grupo A, columna izquierda no se las encontró presentes.

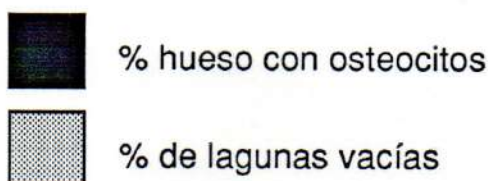


TABLA VIII
PORCENTAJE DE LAGUNAS VACIAS
SEPTUM INTERRADICULAR

GRUPO A (90-110 gr)	GRUPO B (200-250 gr)	GRUPO C (380-480 gr)	
n:	8	8	12
% Lagunas vacías *	0	0,31	1,45
Sx:	0	0,10	0,75
Sx:	0	0,035	0,21
Lagunas vacías/100 μm^2 *	0	0,08	0,23

Las lagunas vacías aumentaron en porcentaje en función de la edad con diferencias significativas al test de DUNCAN con $P < 0,05$ (*) a nivel del Septum interradicular de lavata. El % de lagunas vacías se refiere al volumen total.

DISCUSION

En el presente estudio hemos encontrado una conexión entre el osteocito y la reabsorción ósea bajo diferentes condiciones experimentales:

1) Conectado al frente de reabsorción ósea provocado por fuerzas ortodóncicas (Experimento I)

2) Conectado con frentes de reabsorción en los estudios de envejecimiento (Experimento II)

En ambos casos se observa un incremento del área lacunar osteocítica en la cortical periodontal que permite aseverar la capacidad reabsortiva del osteocito como lo postulara Belanger (10).

La reabsorción osteocítica parece haber sido bien demostrada por Baud (4,5) en huesos largos y por Rasmussen en mandíbula en condiciones patológicas (49), como en el hiperparatiroidismo, descrito por autores como Lok y Jaworski (34), Mosequilde y Melsen (41), Meunier y Colaboradores (39).

Nuñez y Colaboradores (44), lo observa en pacientes con displasia ósea familiar; Liu y Colaboradores (32) lo demostró en un modelo de reabsorción con altas dosis de vitamina D, y Krempien (28) lo encontró en pacientes con insuficiencia renal crónica.

Mercer y Crenshaw (38) han discutido la existencia de la reabsorción osteocítica atribuyendo el aumento de la laguna osteocítica al acelerado "turnover" que se produciría en un tejido óseo con menor grado de mineralización fundamentándola sobre un estudio realizado en ratas maduras en períodos de lactancia. El estudio fue realizado sobre microrradiografías.(9)

Queda claro en situaciones de osteomalacia (11), los osteocitos quedan incluidos en osteoide y no podrían bajo ningún concepto denominarse

reabsorción osteocítica al incremento del volúmen de la laguna osteocítica en esas condiciones.

Distintos autores (4, 5, 7, 10, 32, 34, 45, 51) observaron el aumento de la laguna osteocítica como manifestación de la actividad litica del osteocito.

En este sentido la cortical periodóntica a las 48 hs. de experiencia mostró un marcado incremento del volúmen de la laguna osteocítica a nivel de esta banda de tejido óseo en relación con superficies erosivas, no descripto en la literatura.

Encontramos a 48 hs. de colocado el aparato un incremento de las superficies en reabsorción, al igual que en las preparaciones correspondientes a las 96 hs. de experiencia donde estas áreas eran mayores con un alto número de osteoclastos. (ver Esquema 9).

En este tiempo era muy evidente el incremento de la formación ósea, especialmente a nivel del vértice del septum interradicular. Estas observaciones son coincidentes con los hallazgos de Ubios (54) y Parodi (47).

Las observaciones realizadas sobre el cortical palatina demostraron ser significativamente diferentes en volúmen las lagunas osteocíticas de las encontradas en relación a superficies en reposo de la cortical periodontal del mismo animal. Consideramos a la cortical palatina un hueso de bajo "turnover" siendo el aspecto de sus lagunas, pequeñas y acintadas.

Es interesante destacar que no sólo encontramos la reabsorción osteocítica en las condiciones patológicas antes mencionadas, sino fisiológicamente lo observamos también en la cortical periodontal en relación a superficies erosivas en ratas intactas en función de la edad (Experiencia II).

El hueso alveolar puede catalogarse como un hueso con alto nivel de recambio óseo debido a la presencia de estímulos normales de las fuerzas masticatorias donde los osteocitos pueden contribuir en la reabsorción del

tejido óseo perilacunar que según Mercer y Crenshaw estaría parcialmente mineralizado (38).

En este sentido coincidimos con las observaciones de Lopuzone y Favia (33) que demuestran que todos los huesos no tienen el mismo ritmo de recambio, en un estudio sobre la estructura del hueso esponjoso y cortical de la mastoides, por medio de microradiografías, mostraron un alto grado de recambio, a través de la formación de numerosos osteónes secundarios.

Rasmussen (49) encuentra signos de reabsorción osteocítica en el hueso esponjoso interradicular, no así en la cortical de ratas jóvenes en período de lactancia.

Estos datos serían coincidentes con Ubios y Colaboradores (56) que estudio en ratas jóvenes tratadas con calcitonina en dosis terapéuticas, donde observó un incremento de la laguna osteocítica en la zona central del septum interradicular.

En esta experiencia sobre envejecimiento encontramos lagunas osteocíticas con un incremento de volúmen en relación con superficies en reabsorción, en los tres grupos etarios, aunque con diferente ritmo según se observa en el esquema 6 a nivel de la cortical periodóncica mientras que en la zona central del septum interradicular las lagunas no sufren mayores variaciones ni con la edad, ni entre ellas.

Hemos demostrado también que el osteocito participa en la vida del hueso y cumpliendo su ciclo, se produce un rápido recambio en ratas jóvenes, mientras que en las ratas adultas y seniles, al envejecer mueren, los osteocitos dejando vacías las lagunas que ocuparon.

Esta experiencia de lagunas vacías (Experiencia III) se las encontró en el hueso alveolar como expresión de senilidad fisiológica cuando aparecen

topográficamente en forma aislada en el hueso con porcentajes similares a los obtenidos por diferentes autores en otras regiones del esqueleto (5).

Diferentes autores han encontrado lagunas vacías en condiciones patológicas como por ejemplo en mandíbulas de pacientes con tratamientos radiantes (15), como en modelos de experimentales donde se aplica rayo laser (CO_2) a nivel de corticales oseas (48), en radionecrosis (20).

Usui (57), en 1989 por medio de isquemia experimental demostró la aparición de lagunas vacías a nivel de fémur cuyo número aumentaba significativamente al quinto día de experiencia.

Este autor tipifica la población osteocítica en: Normales, -picnóticos, -pálidos y lagunas vacías a nivel de microscopía óptica y electrónica.

Desde el punto de vista metodológico hay que diferenciar las lagunas vacías totalmente incluídas en el espesor del preparado descritas en el esquema 3 con la letra A (pág. 17) que puede ser confundida con defectos estructurales ("crack-artefactual") que están identificadas en el mismo gráfico con la letra B, para ello se utilizó el método manual sobre cortes gruesos de 15 mm. Varios autores promueven el uso del método automático computarizado. Beigbeder y Colaboradores (7) enfatiza sobre la eficiencia de este método mediante el procesado de imágenes. Sin embargo, no estamos de acuerdo con este autor porque lo realiza sobre cortes finos, lo que no permite aseverar con exactitud, si están totalmente incluídas en el espesor del corte histológico. Idéntica objeción hacemos para las lagunas ocupadas por osteocitos que hemos dado en llamar lagunas verdaderas, las que están identificadas con la letra c en el Esquema 3.

Utilizamos las determinaciones histomorfométricas por estar ampliamente aceptadas y aplicadas a modelos biológicos. Los principios histomorfométricos

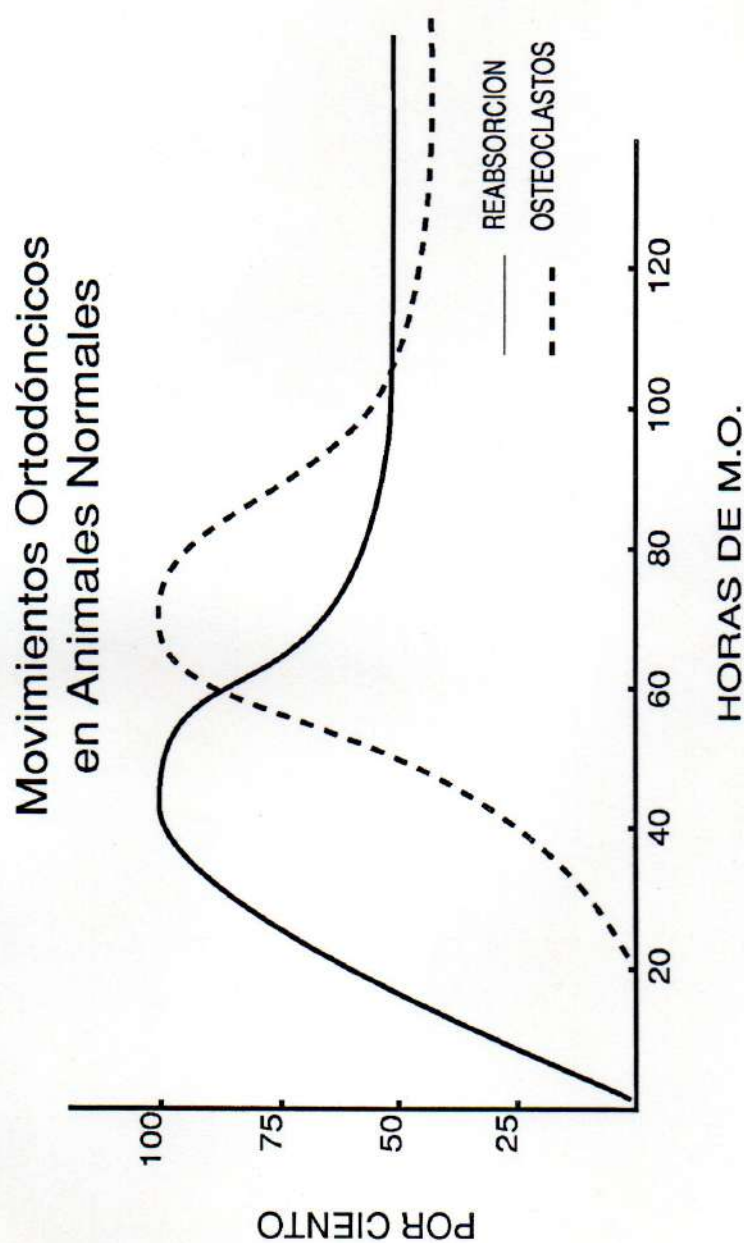
fueron descriptos por Weibel (59) y han sido utilizados por numerosos autores (31, 32, 39, 41, 54 y 56). Se siguió el criterio de Baud (5) para determinar el área lacunar osteocítica (ver esquema 2, pág. 16) eligiendo sólo las incluídas en el espesor del corte. Meunier y Bernard (39) discuten esta metodología por la influencia del plano de corte, pero realizan su estudio en cortes finos (de 5 Mm). En nuestro estudio la selección del modelo del septum interradicular se hizo porque es una zona muy protegida de agentes externos en el hueso alveolar. Estos agentes pueden modificar la respuesta ósea tal como ocurre a nivel de la tabla vestibular o palatina (55).

Existen numerosos modelos de remodelación ósea. La mayoría, referidos a la reabsorción son "in vitro" y los trabajos "in vivo" han sido realizados mayormente en huesos largos (4, 5, 10, 32, 51).

El presente estudio se realizó en ratas Wistar debido a la gran similitud que presenta con respecto a la biología ósea humana, que debemos diferenciar de estudios realizados en diferentes especies con metabolismos muy activos, distintos de la especie humana como el conejo (48) y el pollo (10).

Las evidencias histomorfométricas presentadas en este trabajo permiten establecer la participación del osteocito en la reabsorción ósea.

Estos hallazgos muestran que no se trataría de una función reabsortiva independiente de los osteocitos, sino que éstos actuarían en relación a estímulos de la reabsorción aplicados o evidenciados en las superficies óseas. Es decir que el osteocito sería un colaborador en la reabsorción ósea removiendo tejido óseo en su zona de influencia, agrandando la laguna en el que está alojada y liberando el material eliminado a través de los canalículos donde se alojan los procesos osteocíticos.



Esquema 9: En el gráfico se puede observar el aumento del porcentaje de áreas de reabsorción en función del tiempo, cuando el animal porta un aparato que le provoca una fuerza ortodóncica.

En el mismo gráfico se ha esquematizado el aumento de los osteoclastos, los cuales aparecen más tarde que la reabsorción. Tomado de A.M. Ubios, Tesis UBA, 1972.

CONCLUSIONES

a- Los resultados de nuestro trabajo revelan la existencia de la reabsorción osteocítica a nivel de la cortical periodóntica acompañando a la erosión frontal ante la aplicación de fuerzas ortóncicas, mostrando un sensible aumento del área lacunar osteocítica a las 48 horas (P menor a 0.01) que se incrementó a las 96 horas, al ser comparadas con las lagunas osteocíticas de las áreas en repaso.

b- Las observaciones muestran que en el hueso cortical palatino el área lacunar osteocítica es significativamente menor a las encontradas en la cortical periodóntica en reposo, de los animales estimulados ortodóncicamente.

c- Los hallazgos indican que la zona de mayor recambio fisiológico estaría centrada en la banda de tejido óseo limitante con el ligamento periodontal.

d- Los fenómenos de remodelación se expresan con un incremento del área lacunar osteocítica, independiente de la edad, continuando aun en etapas seniles.

e- Existe un incremento de lagunas vacías en el septum interradicular, en función de la edad constituyendo un índice de senectud.

RESUMEN

Se describen los resultados de la investigación cuyo objetivo principal fue establecer el rol del osteocito en el proceso de reabsorción ósea bajo el estímulo de fuerzas ortodóncicas y en condiciones fisiológicas en función de la edad, en relación con áreas de reabsorción.

Para llevar a cabo este trabajo se utilizaron 68 ratas Wistar machos. Un grupo de ellas fue sometido a movimientos ortodóncicos utilizando un aparato especialmente diseñado para la rata, que consta de dos bandas molares por cuyos tubos soldados en palatino pasan los brazos de un resorte helicoidal que produce una fuerza continua (Paradi, 49)

Los animales fueron sacrificados a las 48 y a las 96 horas (Experiencia I). Este modelo de reabsorción provoca la aparición de fenómenos erosivos en la cortical periodontal cuyo valor máximo se alcanza a las 48 horas (Ubios, 59).

Para estudiar la influencia del envejecimiento se utilizaron ratas de 3 grupos etarios : A= ratas jóvenes, B= ratas adultas y C= ratas seniles (Experiencia II)

También se determinó la presencia de lagunas vacías en función de la edad (Experiencia III)

La investigación se refirió a los cambios producidos en la laguna osteocítica bajo las condiciones nombradas. Se llevaron a cabo estudios histomorfométricos de las lagunas osteocíticas y de la cortical periodontal a nivel del septum interradicular del 1er. molar. Para ello se tomaron los maxilares superiores que luego de descalcificarlos, fueron procesados y se obtuvieron muestras para microscopía electrónica de transmisión. El estudio histológico, el análisis



histométrico de los datos obtenidos permitió establecer las siguientes conclusiones.

a- Los resultados revelan la existencia de reabsorción osteocítica a nivel de la cortical periodontica acompañado a la erosión frontal ante la aplicación de fuerzas ortodóncicas, mostrando un sensible aumento del área lacunar osteocítica a las 48 horas ($P < 0.01$) que se incrementa a las 96 horas, al ser comparadas con lagunas osteocíticas de las áreas en reposo.

b- Las observaciones muestran que en el hueso cortical palatino, el área lacunar osteocítica es significativamente menor a las encontradas en la cortical periodontica en reposo, de los animales estimulados ortodóncicamente.

c- Los hallazgos indican que la zona de mayor recambio fisiológico está centrada en la banda de tejido óseo limitante con el ligamento periodontal.

d- Los fenómenos de remodelación se expresan con un incremento del área lacunar osteocítica, independientemente de la edad continuando aun en etapas seniles.

e- Existe un incremento de lagunas vacías en el septum interradicular en función de la edad, constituyendo un índice de senectud.

Estos hallazgos confirman la participación del osteocito en el proceso de reabsorción ósea y constituyendo un aporte de interés al conocimiento actual del tema.

SUMMARY

We here in report a study mainly conducted to establish the role of the osteocyte in the process of bone resorption induced by orthodontic forces and in physiologic conditions as a function of age.

Sixty-eight male Wistar rats were employed throughout. One group was submitted to orthodontic forces employing a device involves 2 molar band whose tubes welded in palatine house the arms of a helicoidal spring wich exerts a continous force (Parodi, 47). The animals were killed at 48 or 86 hours (Experiment I). This model of bone resorption reveals erosive phenomena in the periodontal cortical which are maximum at 48 hours (Ubios, 54).

The effect of ageing was assessed employing rats of 3 different age groups: A: young rats, B: adult rats and C= senile rats (Experiments II).

In addition, the presence of empty lacunas was evaluated as a function of age (Experiment III).

The alterations in osteocytic lacunas were analyzed by performing histomorphometric measurements of the osteocytic lacunas and the periodontal cortical at level of the interradicular septum of the firth molar. Upper maxillary bones were removed, decalcified, processed and sectioned in a bucco-palatine orientation. In some cases, samples were obtained for electron microscopy.

The histological study and the histometric analysis revealed the following:

a) Osteocytic resorption at the level of the periodontal cortical coupled to frontal erosion induced by orthodontic forces. A market increase in the area of osteocytic lacunas at 48 hours ($P < 0.01$), even grater at 96 hours, was detected as compared to osteocytic lacunas in resting areas.

b) The area of osteocytic lacunae of the palatine cortical bone is significantly smaller than that of the resting periodontic cortical in animals submitted to orthodontic forces.

c) The area of greatest physiologic turnover would be centered in a band of bone tissue which limits the periodontal ligament.

d) The remodelling phenomena are expressed in terms of an increase in osteocytic lacunae, regardless of age, and persist in the senile period.

e) An increase in empty lacunae in the interradicular septum was detected as a function of age. This parameter would be an index of ageing.

These findings confirm the role of the osteocyte as participant in the process of bone resorption and constitute an interesting contribution to present day knowledge on the subject.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Acosta F.A., López Otero R., Carranza F.A.(h), Cabrini R.L.**
Movimientos ortodóncicos experimentales en ratas. Rev. Asoc. Odont. Argentina 55:98, 1967.
2. **Ash P., Loutit J.F. and Townsend K. M.S.**
Osteoclast derived from haematopoietic stemcells. Nature Lond 283:669-670, 1980.
3. **Barengolts E.I., Gajardo H.F., Rosol T.J., D'Ansa S.J., Pena M, Botsis J. and Kurkreja S.C.**
Effects of progesterone on post-ovariectomy bone loos in aged rats. J. Bone Miner. Res. 5:1143-1147, 1990.
4. **Baud C.A.**
The Fine Structure of Normal and parathormone-treated bone cells Exete Medica International Congress. Series N° 120 Fourth European Symposium on calcified Tissues, 1966.
5. **Baud C.A.**
Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte. Clin. Orthop. 56:227, 1968.
6. **Baylink D., Sipe J., Wergedal J., and Whittemore O.**
Vitamin D-enhanced osteoclastic and osteoblastic bone resorption. Am. J. of Phisiology 224:1345-1357, 1973.
7. **Beigheder M., Chappard D., Alexandre C., Vical, Palle S. and Riffat G.**
Improved algorithms for automatic bone histomorphometry on a numerized image analysis system. J. Microsc. 15 (pt 2):151-160, 1988.

8. **Boyde A.**
Evidence against osteocytic osteolysis. In Bone Histomorphometry, third International workshop. Jee W. S. S. and Parfitt A.M. Eds. Amour. Montagu, Paris, 1980 pp. 239-255.
9. **Boyde A. and Jones S.J.**
Early Scanning electron microscopic studies of hard tissue resorption: their relation to current concepts reviewed.
Scanning Microscopy 1:369-381, 1987.
10. **Belanger L.F.**
Osteocytic osteolysis. Calc. Tiss. Res. 4:1-12, 1969.
11. **Bonucci E., Gerardi G. and Faraggiana T.**
Bone changes in hemodialyzed uremic subjects comparative light and electron microscope investigations. Arch. A Path. Anat. Histol. 371:183-193, 1976.
12. **Cabrini R.L., Dotto A.L., López Otero R., Ubios A.M.**
Experimental orthodontics in rats. Orthodontic 37:5-18, 1973.
13. **Chambers T.J. Fullerk**
Bone cells predispose bone surface to resorption by exposure of mineral to osteoclastic contact.
J. Cell. Sci 76:155-165, 1985.
14. **Coccia P.F., Krivit W., Cervenka J., Clawson C., Kersey J.H., Kim T.H., Nesbit M.E., Ramsay N.K.C., Warkentin P.I., Teitelbaum S.L. and Kahn A.J.**
Successful bone-marrow transplantation for infantile malignant osteopetrosis
N Engl. Med. 302:701-708, 1980.

15. **Dambrain Rand Dhem A.**
Bone vitality in induced radionecrosis of mandrile estimated by osteocytic population counting.
Strahlenthera pie 160: 39 - 44, 1984.
16. **Frost H.M.**
Bone dynamic in metabolic bone disease. J. Bone Joint. Surg. 48 A:1192, 1966.
17. **Forrest S.M., Ng K.W., Findlay D.M., Michelangeli V.S., Livesey S.A., Partridge N.C., Zajac J.D. and Martin T.J.**
Characterization of an osteoblast –like clonal cell line which respond to both parathyroid hormone and calcitonin. Calcif. Tissue Int . 37:5-56, 1985.
18. **Heath J.K., Atkinson S.J., Meikle M.C. and Reynolds J.J.**
Mouse osteoblasts syntetize collagenase in response to bone resorbing agents. B. B. Acta 802:151-154, 1984.
19. **Horwith M, Nuñez E. A., Krook L., Viteri L., Torun B., Mena E., Suh S.M., Eisenberg E., Mc Intyre I, Whalen J.P.**
Hereditary bone displasia with hiperphosphatasaemia: Response to synthetic human calcitonin.
Clin. Endocrinol 5:341-352, 1976.
20. **Humphreys S., Spencer J.D., Tighe J.R., Cummingr R.**
The Femoral head in osteonecrosis. A quantitative study of osteocyte population.
J. Bone Joint. 71:205-208, 1989.
21. **Indech M. and Jowsey J.**
Secondary hiperparathyroidism produced in Kkittens repeatedhy given porcine calcitonin. Endicronology 88:1489-1496, 1971.

22. **Itoiz. M.E., Carranza. F.A., Jr. and Cabrini R.L.**
Histologic and histometric study of experimental occlusal trauma in rats.
J. Periodontal 44:305, 1963.
23. **Jilka R. and Jamilton J.**
Evidence for two pathways for stimulation of collagenolysis in bone. Calc.
Tiss. Int. 37:300-306, 1985.
24. **Junqueira L.C. y Carneiro J. II**
Histología Básica. Ed. Salvat. 3ª Edición, Barcelona. 1987. pp 145-154.
25. **Kahn A.J. and Patridge N.C.**
New concepts in bone remodeling: an expanding role for the osteoblast.
Amer. J. Otolaryngology, 1987.
26. **Karnovsky M.J.**
A formaldehyde - glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in
microscopy electronic. J. Cell Biol. 27: 137 A, 1965.
27. **Kitazawa R., Imai Y., Kukuse M. and Fujita T.**
Effects continuous infusion of parathyroid hormone and parathyroid
hormone-related. Bone Miner. 12(3):157-166, 1991.
28. **Krempien B.**
Hardness of bone in various ages and diseases 9th European Symposium
on Calcified tissue, 1972.
29. **Lindhe. J.**
Peridontología clínica. Ed. Medica Panamericana, Bs. As., 1986. pp 45 -
58.
30. **Lipp W.**
Aminopeptidase in bone. J. Histochemical Citochemical 7:205-207, 1959.

31. López Otero R.

Tesis de doctorado en Odontología "Estudio histométrico de hueso maxilar de la rata en relación con la edad", Universidad de Buenos Aires, Argentina, 1967.

32. Liu C., Baylink D. and Wergedal J.

Vitamin D enhanced osteoclast bone resorption at vascular canals. *Endocrinology* 95:1011-1018, 1974.

33. Lozupone E. and Favia A.

The structure of the trabeculae of cancellous bone.2. Long bones and mastoid. *Calcif. Tissue Int* 46:367-372, 1990.

34. Lok E. and Jaworshi Z.F.G.

Morphometry of periosteocytic Lacunae in adult dogs and in experimental conditions. *Clin. Res.* 21:1060, 1973.

35. Malone J.D., Teitelbaum S.L., Griffin G.L., Senior R.M. and Kahn A.

Resumen of osteoclast precursors by punctied bone matrix constituents. *J. Cell Biol.* 92:227-230, 1982.

36. Marotti G.

Osteocyteorientation in human lamellar bone and its relevance to the morphometry of periosteocytic Lacunae. *Metab. Bone. Dis. Rel. Res.* 1:325, 1979.

37. Mc Sheehy P.M.J. and Chamberst J.

Osteoblastic cell mediante osteoclastic responsiveness to parathyroid hormone. *Endocrinology* 118:824-828, 1986.

38. Mercer R.R. and Crenshaw M.A.

The role of osteocytes in bone resortion during lactation. Morphometric observations. *Bone* 6:269-274, 1985.

39. Meunier P. and Bernard J. and Vignon G.

The measurement of periosteocytic enlargement in primary and secondary hiperparathyroidism. J. Med. Sci. 7:482-485, 1971.

40. Meunier P. and Bernard J.

Morphometric analysis of periosteocytic osteolysis. In bone histomorphometry, First Internacional Workshop, 1973. p:278-287, 1973.

41. Mosekilde L. and Melsen F.

A tetracycline based histomorphometric evaluation of bone resorption and bone turnover in hyperthyroidism and hiperparathyroidism. Acta Med. Scand. 204:97-102, 1978.

42. Nijweide P.J., Burger E.H., and Feyen J.H.M.

Cell of bone proliferation, differentiation and hormonal regulation. Amer Physiol. Soc. 66:855-885,1986.

43. Nijweide P.J. and Mulder P.J.

Identification of osteocytes in osteoblast-like cell cultures using a monoclonal antibody. Specifically directed against osteocytes
Histochemistry 84:342-347,1986.

44. Núñez E.A., Horwith M., Krook L. and Whalen J.P.

An electron microscopic investigation of human familial bone dysplasia. Am. J. Pathol. 94:1-18, 1979.

45. Ohno A., Yoshida T., Takematsu H., Nishizawa Y., Amagai H. and Yushikawa S.

A histomorphometric study of normal iliac trabecular bones. Part II Age: changes and values of M.W.T. y related parameters. Nippon Seikeige ka Gakkai Zasshi. 62:943-949, 1988.

46. Page M. and Ashhurst D.E.

The effects of mechanical stability on the macromolecules of the connective tissue matrices produced during fracture healing. II the glycosaminoglycans. Histochemical Journal 19:39-61, 1987.

47. Parodi J.M., Ubios A.M., Mayo J. and Cabrini R.L.

Total body irradiation effects on the bone resorption mechanism rats subjected to orthodontic movements. J. Oral. Path. 2:1-6, 1973.

48. Rayan G.M., Pitha.J.V, Edwards.J.S, Everett. R.B.

Effects of CO₂ Laser beam on cortical bone. Laser. Surg. Med. 11:58-61, 1991.

49. Rasmussen P.

Calcium deficiency, pregnancy and lactation in rat. J. Periodontal Res. 12:491-499, 1977.

50. Rossi J.F., Chappard D., Marcelli C., Lapiante J., Commes T., Baldet P., Janbon C., Jourdan J., Alexandre C. and Battaille R.

Micro-osteoclast-resorption as a characteristic feature of B-cell malignancies other than multiple mieloma. British. J. Haematol, 76:469-475, 1990.

51. Shapiro F.

Cortical bone repair. The relationship of the lacunar-canalicular and inter-cellular gap junction to the repair process. J. Bone Joint Surg. 70:1067-1081, 1988.

52. Sakamoto S. and Sakamoto M.

Biochemical and inmunohistochemical studies on collagenase in resorbing bone in tissue culture. A nove hypothesis for the mechanism of bone resorption. J. Periodont. Res. 17:523, 1982.



53. Schajowicz F and Cabrini R.L.

Histochemical distribution of succinic dehydrogenase in bone and cartilage. Science 131:1043-1044, 1960.

54. Ubios A.M.

Tesis de doctorado en Odontología "Estudio autoradiográfico de la reabsorción ósea en los movimientos ortodóncicos de los molares de la rata". Universidad Nacional de Bs. As. Argentina, 1972.

55. Ubios A.M., Cortes J.T. and López Otero R.

Relaps measurement in experimental tooth movements. Acta Odont. Lat 1:25-30, 1984.

56. Ubios A.M., Jares-Furno G. y Ferreyra R.S.

Histometric study of the effect of calcitonin on alveolar bone remodelling J.Dent. Res. 66:529,1987.

57. Usui Y., Kawai K., and Hirohata K.

An electron microscopic study of the changes observed in osteocytes under ischemic conditions. J. Ortop. Res. 7(1):12-21, 1989.

58. Weisbrode S.E., Capen C.C., Nagode L.A.

Effects of parathyroid hormone on bone of parathyroidectomized rats. Am. J. Pathol. 75:529-542, 1974.

59. Weibel. E.R.

Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. Int. Rev. Cytol. 26:235,1969.

60. Whalen P.J., Krook L., Mac Intyre I. and Nuñez E.A.

Calcitonin, parathyroidectomy and remodelling of bones in the growing rat. J. Endocrinology 66:207-212, 1975.