

ANÁLISIS HISTOMORFOMÉTRICO Y MICROMINERAL DE HUESO PERILESIONAL EN MAXILARES HUMANOS



Autoras:

1. Dra. María Anastasia Baró
2. Dra. Marina Raquel Rocamundi
3. Prof. Dra. Ruth Ferreyra de Prato

1. Doctora en Odontología - Profesora Asistente Cátedra de Anatomía Patológica - Facultad de Odontología - Universidad Nacional de Córdoba.

2. Doctora en Odontología - Profesora Asistente Cátedra de Anatomía Patológica - Facultad de Odontología - Universidad Nacional de Córdoba.

3. Doctora en Odontología - Profesora Titular Cátedra de Anatomía Patológica - Facultad de Odontología - Universidad Nacional de Córdoba.

Coautores: Ramiro Tomasi, Mónica Cisneros, Javier Osmar Viotto, Oscar Servando Corominas, Reina Kaplan, Gabriela Asis Onell.

Lugares de trabajo: Cátedra de Anatomía Patológica - Facultad de Odontología - Universidad Nacional de Córdoba.

Laboratorio de Microscopía Electrónica y Análisis por Rayos X - LAMARX - FaMAF - Universidad Nacional de Córdoba.

Palabras claves:

Hueso perilesional
Lagunas osteocíticas
Análisis micromineral

Keywords:

Perilesional bone
Osteocytic lagoons
Micromineral analysis

RESUMEN

El tejido óseo es dinámico y se va modificando de acuerdo a las demandas fisiológicas y patológicas, entre ellas lesiones osteolíticas maxilares.

Objetivo: Estudiar morfológicamente y cuantificar los efectos sobre la composición mineral producidos por patologías quísticas y tumorales sobre el hueso perilesional de maxilares. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo de material de archivo del Servicio de Anatomía Patológica FO—UNC, con procesamiento de rutina para las muestras de microscopía óptica (MO), y de material en reserva sin descalcificar para microscopía electrónica de barrido. Las muestras para MO fueron clasificadas en 3 grupos; patologías tumorales (n=8), lesiones quísticas (n=12) y casos de control (n=9). Se obtuvieron cortes para evaluar histomorfométricamente las lagunas osteocíticas del hueso perilesional por análisis de imágenes. Del material de reserva sin descalcificar se evaluó el contenido mineral a través de detectores de electrones. Se utilizaron 12 muestras control, 7 muestras experimentales lado lesión y 5 muestras experimentales del lado cortical.

Resultados: Se observó una reducción del tamaño de lagunas osteocíticas en el hueso perilesional ($p < 0,05$). El análisis micromineral expresó una importante caída del contenido mineral (Ca y P) en las muestras analizadas en contacto con la lesión ($p < 0,05$), que al ser comparadas con el lado cortical no mostraron los mismos cambios ($p > 0,05$).

Conclusiones: El hueso perilesional presenta cambios estructurales histomorfométricos y una reducción de su contenido mineral.

SUMMARY

Bone tissue is dynamic and is modified according to physiological and pathological demands, including maxillary osteolytic lesions.

Aim: To study morphologically and quantify the effects on the mineral composition produced by cystic and tumor pathologies in the perilesional bone of the jaws.

Materials and methods: A retrospective study of material footage of the FO—UNC Pathological Anatomy Service was performed, with routine processing for optical microscopy

(OM) samples, and of without calcify reserve material for scanning electron microscopy. The samples for OM were classified into 3 groups; tumor pathologies (n = 8), cystic lesions (n = 12) and control cases (n = 9). Sections were obtained to histomorphometrically evaluate the osteocytic gaps of the perilesional bone by image analysis. From the without calcify reserve material, the mineral content was evaluated through electron detectors. 12 control samples, 7 experimental samples on the lesion side and 5 experimental samples on the cortical side were used.

Results: A reduction in the size of osteocytic lagoons in the perilesional bone was observed ($p < 0.05$). The micromineral analysis expressed a significant drop in mineral content (Ca and P) in the samples analyzed in contact with the lesion ($p < 0.05$), which when compared to the cortical side did not show the same changes ($p > 0, 05$).

Conclusions: The perilesional bone presents histomorphometric structural changes and a reduction of its mineral content.

INTRODUCCIÓN

La patología de los huesos maxilares es compleja y variada. Estas lesiones pueden presentar la expresión local de un trastorno óseo general o ser netamente local. Su etiología es diversa: infecciosa, genética, endócrina, quísticas, displásicas, pseudotumoral y tumoral, benigna o maligna. Están incluidos los tumores odontogénicos, que son de exclusivo asiento en los maxilares, al igual que los quistes del mismo origen (1,2).

El tejido óseo, a pesar de su rigidez, es un tejido muy dinámico, que se va adaptando a nuevas exigencias, más aun en los maxilares. En esta ubicación posee características únicas por su embriología y osificación: tiene cavidades neumáticas cercanas, aloja a los gérmenes dentarios y luego a los dientes erupcionados, que deben recibir y transmitir las fuerzas masticatorias a las que se hallan sometidos. Los restos de epitelio odontogénico que persisten en los maxilares dan origen a los quistes y tumores odontogénicos (3,4). Cuando aparecen lesiones en los maxilares, pueden provocar zonas de resorción, neoformación o esclerosis ósea y afectar las raíces dentarias o desplazar dientes vecinos. Las lesiones osteolíticas, quísticas y tumorales, así como las displásicas o pseudotumorales, alteran la resistencia del hueso, lo que conlleva a una adaptación funcional (5,6). La valoración de la microestructura ósea de regiones aledañas a estas lesiones aún no ha sido descripta, y sus características deberían tomarse en cuenta, ya que son asiento de rehabilitaciones protésicas e implantes.

OBJETIVO GENERAL

- Estudiar morfológicamente y cuantificar los efectos sobre la composición mineral producidos por patologías quísticas y tumorales sobre el hueso perilesional de maxilares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características morfológicas y cualitativas del hueso perilesional a nivel de microscopía óptica.
- Investigar las alteraciones en la composición micromineral del hueso perilesional a través de un detector de electrones (SEM).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de material de archivo del Servicio de Anatomía Patológica (FO—UNC), comprendido entre los años 1993 y 2017, con procesamiento de rutina para las muestras de microscopía óptica y de material en reserva sin descalcificar para microscopía electrónica de barrido (SEM). Las muestras controles fueron obtenidas por desprendimiento accidental u osteotomía durante procedimientos quirúrgicos que así lo requerían, como extracciones de elementos dentarios retenidos o por técnica de alveolectomía. Los cuales se realizaron en Servicios de Cirugía Odontológica de la Cátedra de Cirugía III (FO—UNC) y de consultorios particulares. Las muestras para microscopía óptica fueron clasificadas en 3 grupos; patologías tumorales (n=8), lesiones quísticas (n=12) y casos de control (n=9). Se obtuvieron cortes de 8 a 10 micrómetros con coloración de rutina para evaluar histomorfométricamente el área osteocítica entre los grupos periquístico, peritumoral y controles por análisis de imágenes con programa Image Pro Plus.

A partir de material de reserva sin descalcificar, se evaluó el contenido mineral del mismo a través de detectores de electrones. Se utilizaron 12 muestras control (5 del lado cortical periodontal y 7 del lado cortical perióstica), 7 muestras experimentales lado lesión y 5 muestras experimentales lado cortical.

En primer lugar, se realizó un microanálisis mineral semicuantitativo, trazando líneas que atraviesan las piezas en estudio y realizan un espectro mineral por cada punto de dicha línea, con lo cual se obtiene una visualización de los resultados con alta precisión. Esto permitió identificar los elementos más concentrados en el tejido. Para el análisis cuantitativo, se tomaron 5 registros por cada muestra.

Los espectros de microanálisis mineral fueron visualizados a través de gráficos de coordenadas que nos permitieron comparar la cantidad proporcional de cada elemento en la muestra.

Los valores numéricos fueron recopilados en tablas para su análisis estadístico, y se estudiaron las relaciones entre los elementos principales, ya que el valor absoluto de cada uno no puede considerarse en este tipo de muestra, debido a que su porosidad no permite la exacta calibración del instrumento de análisis.

Las relaciones consideradas para este trabajo fueron: Calcio/ Fósforo (Ca/P), Calcio/Azufre (Ca/S) y Fósforo/Azufre (P/S). Se contrastaron las concentraciones minerales según el lado de la muestra analizado, es decir en contacto con la lesión y lado opuesto. Los datos fueron tabulados y sometidos al análisis estadístico, aceptando un nivel de significación de $p < 0,05$. Se realizaron estudios de acuerdo a la distribución de los datos: ANOVA y DHS de Tukey para microscopía óptica, y Test de Student para microscopía electrónica. Proyecto aprobado por el Comité de Ética (Repis-70/14).

RESULTADOS

Microscopía óptica: Las muestras descalcificadas se sometieron a un estudio histomorfométrico, en el cual se midieron las áreas de las lagunas osteocíticas (Figura 1). En el hueso control se midieron 544 lagunas, en el periúístico 642 y en el peritumoral 706, obteniendo una media de $113,46 \mu\text{m}^2 (\pm 28,9)$, $70,26 \mu\text{m}^2 (\pm 25,57)$ y $66,96 \mu\text{m}^2 (\pm 30,56)$, respectivamente. Las diferencias dimensionales entre los grupos periúístico y peritumoral no resultaron estadísticamente significativas ($p > 0,05$), pero ambos se diferenciaron significativamente del grupo control ($p < 0,05$), presentando una reducción en el tamaño de las lagunas osteocíticas (Figura 2).

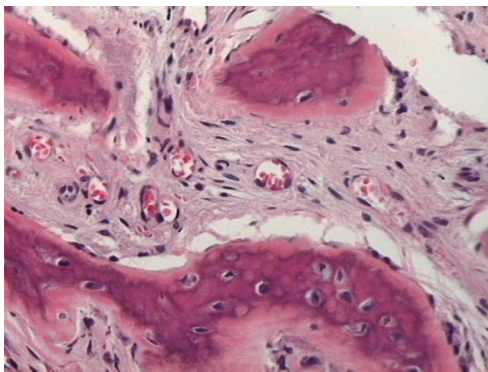


FIG 1. Fotomicrografía de hueso perilesional para análisis histomorfométrico de áreas osteocíticas.

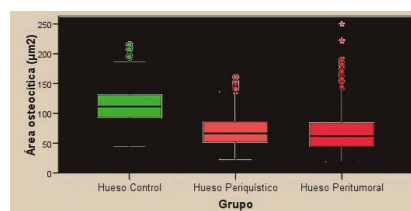


FIG 2. Análisis histomorfométrico de áreas lacunares en hueso periúístico ($n=642$) y peritumoral ($n=706$), comparados con el hueso control ($n=544$).

Microscopía electrónica:

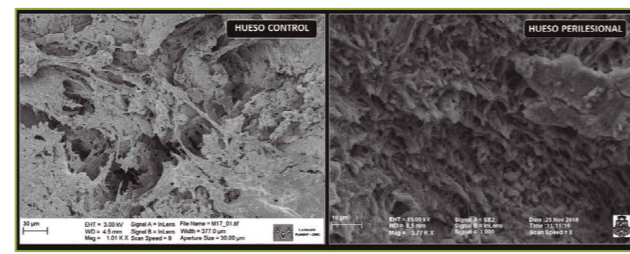


FIG 3. Micrografías de electrones secundarios (SEI) al SEM de hueso control y perilesional.

Se efectuó en un primer momento un análisis semicuantitativo en las muestras sin descalcificar, a través del registro de una línea o perfil de espectros minerales en imágenes de Rayos X. Este estudio de mapeo lineal permitió establecer los principales componentes del hueso, que se manifestaron en los picos de los gráficos de coordenadas. Los elementos prevalentes en las muestras fueron Calcio (Ca), Fósforo (P) y, sólo en muestras de hueso perilesional, Azufre (S) (Figura 4 y 5). Esta aparición de Azufre en los gráficos no se vió reflejada en los perfiles de espectros, por lo que su aumento proporcional se debería a la drástica reducción de Ca y P.

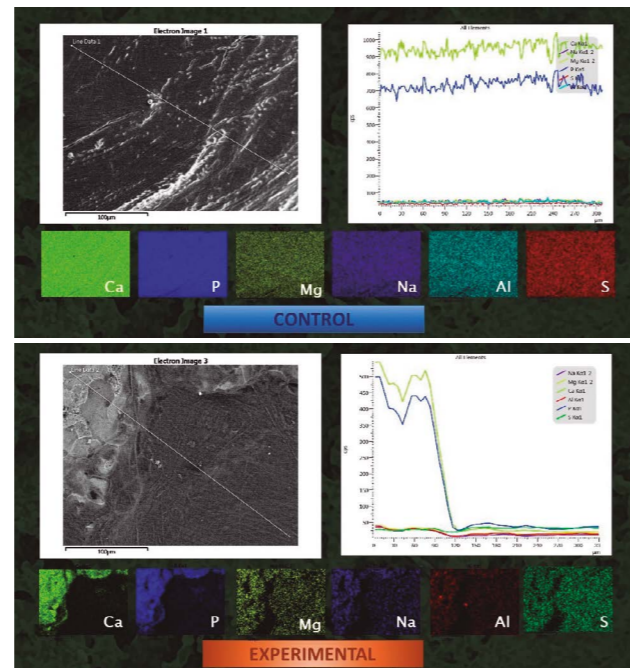


FIG 4. Imágenes de rayos X (XRI). Microanálisis mineral por mapeo lineal de la dispersión de iones en hueso control (4 a) y perilesional (4 b), a través de una microsonda combinada con SEM. Se observa una reducción del contenido de Ca y P en las muestras experimentales. La imagen de la muestra control, registrada con electrones retrodifundidos, nos permite visualizar una composición diferente en la superficie en contacto con la lesión.

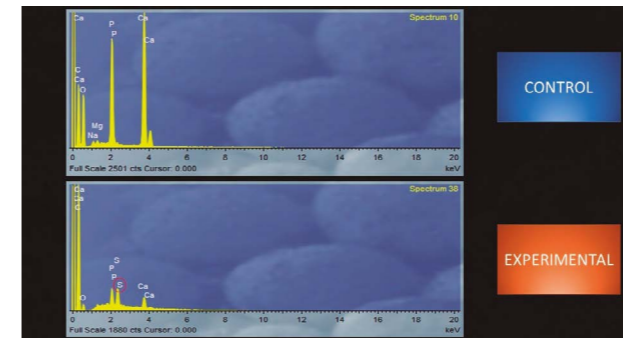


FIG 5. Espectros de composición mineral de muestras control y experimental. Se establecen los componentes principales, Ca, P, y (en muestras de hueso perilesional) S.

Por otro lado, se realizó un análisis micromineral de hueso, comparando lado de la lesión y lado cortical en las muestras de hueso perilesional. Al contrastar las proporciones minerales de ambos lados, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). En las muestras controles, al comparar la cortical periodóntica con la cortical periúística, los valores no arrojaron diferencias significativas (Figura 6).

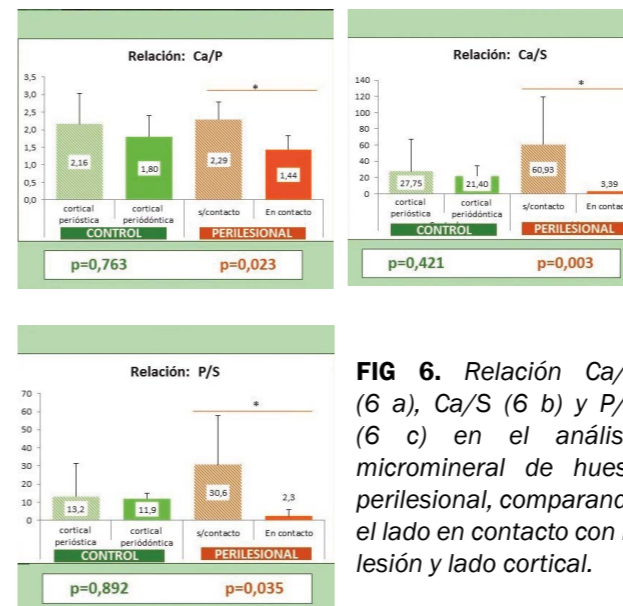


FIG 6. Relación Ca/P (6 a), Ca/S (6 b) y P/S (6 c) en el análisis micromineral de hueso perilesional, comparando el lado en contacto con la lesión y lado cortical.

DISCUSIÓN

El presente trabajo describe los cambios que se producen en el tejido óseo en contacto con quistes o tumores odontogénicos. Se utilizaron técnicas de descalcificación y coloración de rutina para la microscopía óptica y una técnica de análisis en la superficie ósea con SEM, a través de imágenes de rayos X, que captan los electrones secundarios y retrodifundidos. Kolmas et al

(2014) realizaron una determinación de iones de fosfato a través de resonancia magnética nuclear en hueso próximo a lesiones tumorales, pero sin poder analizar en detalle los otros componentes minerales, ni la zona de contacto directo (7,8).

Nuestro estudio muestra una reducción en el tamaño de las lagunas osteocíticas en el hueso perilesional, además de una importante caída de los minerales en las muestras analizadas en contacto con la lesión, que al ser comparadas con el lado cortical no mostraron los mismos cambios.

Los trabajos consultados, entre ellos el de Qing et al (2009), describen el agrandamiento de las lagunas osteocíticas en huesos con diferentes patologías, tales como osteoporosis, falta de vitamina D, enfermedad periodontal (9) que difiere de nuestro trabajo, posiblemente por la compresión de la lesión sobre el hueso periférico. Este incremento en el tamaño del área lacunar asociada a varias enfermedades, se debería a una osteólisis osteocítica, que según Yajima et al (2018) tiene una importante función en la homeostasis del Ca y la reparación de microdefectos óseos (10). El hueso perilesional, al no presentar este tipo de osteólisis, podría ver reducida su capacidad de reparación postquirúrgica. Por otro lado, varios autores, entre ellos Duvina et al (2012) y Tekkesin et al (2011), expresan un aumento de RANK y RANKL en el hueso alveolar afectado por quistes y tumores odontogénicos, lo cual activa la reabsorción ósea a través de los osteoclastos, quienes en primer lugar realizan una captura de sales minerales y posterior proteólisis (11,12,13,14,15); esto podría explicar la caída de calcio y fósforo en el tejido óseo.

CONCLUSIONES

- El hueso perilesional presenta cambios histomorfométricos como la reducción del volumen de las lagunas osteocíticas.
- Las patologías óseas de tipo quístico y tumoral afectan la composición micromineral del hueso en contacto con la lesión, reduciendo la cantidad de minerales.

Estos cambios podrían afectar el resultado de futuros tratamientos rehabilitadores con asiento en huesos maxilares afectados por alguna de estas patologías, por lo que se sugiere considerarlo al momento de la planificación implantológica o protésica.

Correspondencia a:

María Anastasia Baró.
Villarrica 1155 — 5012 — Córdoba — Argentina
natibaro23@gmail.com



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. WHO Head and Neck Classification Tumors. 4^ª Ed. World Health Organization Classification of Tumors IARC. Lyon, 2017.
- 2.Sapp Philip J., Eversole Lewis R., Wysocki George P. Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea. 2^ª Ed. Elsevier. Madrid, 2006.
- 3.Torres D, Infante P, Hernández JM, Gutiérrez JI. Mandibular ameloblastoma. A review of the literatura and presentation of six cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2005;10:231-8.
- 4.Kaplan I, Gal G, Anavi Y, Manor R, Calderon S. Glandular Odontogenic cyst: treatment and recurrence. J Oral Maxillofac Surg 2005;63:435-41.
- 5.Cullinane DM. The role of osteocytes in bone regulation: Mineral homeostasis versus mechanoreception. J Musculoskel Neuron Interact 2002; 2(3):242-244
- 6.Haga M, Nozawa-Inoue K, Li M, Oda K, Yoshie S, Amizuka N, Maeda T. A morphological analysis on the osteocytic lacunar canalicular system in bone surrounding dental implants. Anat Rec (Hoboken) 2011 Jun;294(6):1074-82.
- 7.Kolmas J, Prządka R. Benign odontogenic tumors versus histochemically related tissues: preliminary results from mid-infrared and solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. Appl Spectrosc 2014;68(6):663-71.
- 8.Kolmas J, Marek D, Kolodziejewski W. Near-Infrared (NIR) Spectroscopy of Synthetic Hydroxyapatites and Human Dental Tissues. Appl Spectrosc. 2015 Aug;69(8):902-12.
- 9.Qing H, Bonewald LF. Osteocyte remodeling of the perilacunar and pericanalicular matrix. Int J Oral Sci 2009 Jun;1(2):59-65.
- 10.Yajima A, Tsuchiya K, Burr DB, Minner DE, Condon KW, Miller CA, Satoh S, Inaba M, Nakayama T, Tanizawa T, Ito A, Nitta K. Osteocytic perilacunar/canalicular turnover in hemodialysis patients with high and low serum PTH levels. Bone 2018 Aug;113:68-76.
- 11.Duvina M, Barbato L, Brancato L, Rose GD, Amunni F, Tonelli P. Biochemical markers as predictors of bone remodelling in dental disorders: a narrative description of literature. Clin Cases Miner Bone Metab. 2012 May;9(2):100-6.
- 12.Tekkesin MS, Mutlu S, Olgac V. The role of RANK/RANKL/OPG signaling pathways in osteoclastogenesis in odontogenic keratocysts, radicularcysts, and ameloblastomas. Head Neck Pathol. 2011 Sep;5(3):248-53.
- 13.Andrade FR, Sousa DP, Mendonça EF, Silva TA, Lara VS, Batista AC. Expression of bone resorption regulators (RANK, RANKL, and OPG) in odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008 Oct;106(4):548-55.
- 14.Da Silva TA, Batista AC, Mendonça EF, Leles CR, Fukada S, Cunha FQ. Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008 Mar;105(3):333-41.
- 15.De Moraes M, de Matos FR, de Souza LB, de Almeida Freitas R, de Lisboa Lopes Costa A. Immunoexpression of RANK, RANKL, OPG, VEGF, and vWF in radicular and dentigerous cysts. J Oral Pathol Med. 2013 Jul;42(6):468-73.