

Οστική Ιστομορφομετρία: Γενικές αρχές και εφαρμογές

Χ. Γιαννακόπουλος, Δ. Οικονομόπουλος, Γ.Π. Λυρίτης

Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Περίληψη

Η οστική ιστομορφομετρία αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό μέσο κατά την διερεύνηση των διαφόρων νοσημάτων του οστικού μεταβολισμού τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες. Δευτερευόντως χρησιμεύει στην μελέτη της οστικής μάζας και της επίδρασης των διαφόρων παθήσεων στα οστά. Παρέχει τη δυνατότητα στατικής και δυναμικής μελέτης των οστικών κυττάρων και του οστικού μεταβολισμού δίνοντας πληροφορίες που δεν είναι δυνατό να ληφθούν από άλλες διαγνωστικές μεθόδους.

Λέξεις Κλειδιά: βιοψία, λαγόνιο, ιστομορφομετρία, νεφρική οστεοδυστροφία, οστεομαλακία, οστό

Bone histomorphometry: Principles and applications
C.K. Yiannakopoulos, D. Economopoulos, G.P. Lyritis

**Laboratory for the Research of the Musculoskeletal System, University of
Athens**

Summary

Bone histomorphometry is a valuable diagnostic tool in the evaluation of several bone metabolism disorders in adults and children as well. Its secondary importance relies on the capability to measure bone mass and to study the effects of several disorders on the skeleton. It also provides information on the static and dynamic properties of bone cells and metabolism that cannot be obtained in any other way.

Keywords: biopsy, bone, histomorphometry, iliac bone, osteomalacia, renal osteodystrophy

Κατασκευή, Φυσιολογία και Βιολογία του Οστίτη Ιστού

Ο οστίτης ιστός είναι ένας ιδιαίτερος τύπος συνδετικού ιστού με μεγάλη δυναμική αφού το κάθε οστό προσαρμόζει το σχήμα, το μέγεθος και τις ιδιότητές του ανάλογα με τη μελλοντική λειτουργία του [1,2]. Όταν ένα οστό υποστεί θραύση έχει τη δυνατότητα να επουλωθεί χωρίς να παραμείνει οστική ουλή, δηλαδή επουλωτικός ιστός χωρίς ιδιαίτερη λειτουργία. Καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής ο οστίτης ιστός έχει τη δυνατότητα να ανακατασκευάζεται συνεχώς μεταβάλλοντας τη δομή και το σχήμα του, ανταποκρινόμενο σε ενδογενείς και εξωγενείς επιδράσεις. Κάθε οστό αποτελείται από ένα εξωτερικό περίβλημα από φλοιώδες οστό περίπου κατά 90%, το οποίο περιβάλλει μία κοιλότητα εντός της οποίας υπάρχουν οστικές δοκίδες και μυελός. Το ποσοστό του ιστού εντός ενός οστού που δεν είναι φλοιώδες οστό κυμαίνεται από 2-20%. Το φλοιώδες οστό παρουσιάζει χαρακτηριστική μικροσκοπική κατασκευή απεικόνιση του φλοιώδους οστού σε εγκάρσια διατομή με την παρουσία των αβέρσειων συστημάτων και των σωλήνων Volkmann (Εικόνα 1). Το σπογγώδες οστό παρουσιάζει χαρακτηριστική δοκιδική κατασκευή μεταξύ των οποίων υπάρχει ο μυελός των οστών (Εικόνα 2).

Το κύριο χαρακτηριστικό του οστού είναι το υψηλό επίπεδο οργάνωσής του σε όλα τα επίπεδα. Όπως συμβαίνει σε όλους τους τύπους συνδετικού ιστού, ο οστίτης ιστός αποτελείται από κύτταρα και μη κυτταρικά στοιχεία. Τα κύτταρα του οστού προέρχονται από διάφορα πρόδρομα κύτταρα και διακρίνονται σε οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα, οστεοκλάστες και πρόδρομα, μεσεγχυματικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά εμπλέκονται στην ανάπτυξη του οστού, στην επιδιόρθωσή του και στην ανακατασκευή.

Οστική Ανακατασκευή

Το οστό ανακατασκευάζεται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου προκειμένου να αντεπεξέλθει στις μηχανικές φορτίσεις και σε ποικίλες ενδογενείς και εξωγενείς επιδράσεις [3]. Η λειτουργία αυτή εκπληρώνεται με τη δράση των κυττάρων του οστού τα οποία βρίσκονται σε *σύζευξη*, δηλαδή η λειτουργία του ενός εξαρτάται από τη λειτουργία του άλλου. Η δράση των κυττάρων του οστού εκδηλώνεται με δύο λειτουργίες: την κατασκευή (modeling) και την ανακατασκευή (remodeling) (Πίνακας 1). Η κατασκευή συνίσταται σε απορρόφηση οστού και σε δημιουργία νέου σε άλλη θέση αλλά την ίδια χρονική στιγμή, με τελικό αποτέλεσμα τη μεταβολή του σχήματος του οστού. Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται η αύξηση των οστών και η ανακατανομή της οστικής μάζας στο χώρο, διαδικασία που αποκαλείται από τον Frost «bone modeling by drifts». Με τον ίδιο μηχανισμό, δηλαδή με οστική απορρόφηση σε ορισμένες επιφάνειες και οστική παραγωγή σε άλλες, διορθώνεται η πλημμελής πώρωση ενός κατάγματος. Με τη λειτουργία της ανακατασκευής οι οστεοκλάστες απορροφούν οστό και στη συνέχεια στον ίδιο χώρο οι οστεοβλάστες εναποθέτουν καινούργιο (Εικόνα 3). Η ρυθμός της ανακατασκευής φθάνει το 100% ανά έτος το

πρώτο έτος της ζωής, μειώνεται στο 10% στο τέλος της παιδικής ηλικίας και συνεχίζει με αυτό το ρυθμό ή και μικρότερο κατά την ενήλικη ζωή. Στους ενήλικες παρατηρείται σε περιορισμένο βαθμό περιοστική παραγωγή οστού με τη διαδικασία της κατασκευής (modeling) προκειμένου να αυξηθεί η μηχανική αντοχή των οστών μέσω της αύξησης της διαμέτρου τους. Η ανακατασκευή παρατηρείται ως αντίδραση σε φορτίσεις και ιδίως σε σημαντικές μεταβολές τους.

	ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ	ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ
Θέση	Συσχέτιση θέσης	Διάφορες επιφάνειες
Σύζευξη	A—R—F	A—F, A—R
Χρονισμός	Κυκλική	Συνεχής
Έκταση	Μικρή (<20%)	Ευρεία (>90%)
Ρυθμός Εναπόθεσης	Αργός (0.3-1.0 μm/ημέρα)	Ταχύς (2-10 μm/ημέρα)
Γραμμές Τσιμέντου	Κυματοειδείς	Ομαλές
Ισορροπία	Ουδέτερη ή απώλεια	Αύξηση
Διάρκεια	Σε όλη τη ζωή	Κατά την ανάπτυξη, ήπια σε ενήλικες
Όριο ΕΔΤ	<200 μΕ	>1500 μΕ

Πίνακας 1. Διαφορές μεταξύ των μηχανισμών κατασκευής (modeling) και ανακατασκευής (remodeling).

Σημαντική είναι η ανακατασκευή σε τρεις περιοχές του σώματος: στα σπονδυλικά σώματα, στο περιφερικό άκρο της κερκίδας και στο μηριαίο αυχένα, περιοχές στις οποίες εμφανίζονται κατ'έξοχήν τα οστεοπορωτικά κατάγματα. Τα σπονδυλικά σώματα υφίστανται απώλεια του 40-45% του σπογγώδους οστού με αποτέλεσμα την απώλεια του 80-90% της μηχανικής αντοχής τους. Οι μεταβολές αυτές είναι περισσότερο εκσεσημασμένες εάν μεσολαβήσουν και άλλες καταστάσεις όπως είναι η εμμηνόπαυση, η ακινητοποίηση και η χρήση φαρμάκων.

Η οστική ανακατασκευή πραγματοποιείται με την οργανωμένη δράση μίας ομάδας κυττάρων που αποκαλείται *βασική πολυκυτταρική μονάδα (Basic Multicellular Unit, BMU)* και περιλαμβάνει 4-5 στάδια: την ενεργοποίηση, την οστεοκλαστική απορρόφηση, την αναστροφή, την δημιουργία και την επιμετάλλωση του οστού και την φάση ηρεμίας. Η διαδικασία απορρόφησης και παραγωγής μικρών «πακέτων» οστού διαρκεί 4-6 μήνες και μετά την ολοκλήρωση της παραγωγής οστού επέρχεται η φάση της ηρεμίας. Το αποτέλεσμα της δράσης της BMU είναι η δημιουργία δευτερογενών οστέων στο φλοιώδες οστό. Η διαφορά απορρόφησης-παραγωγής είναι θετική στο ενδόστεο, ουδέτερη στο φλοιό και αρνητική στο περιόστεο. Η αύξηση του αριθμού των BMU αυξάνει τις οπές στο φλοιό και τις διαβρώσεις στις δοκίδες. Ο χώρος που καταλείπεται από τη δράση τους ονομάζεται χώρος ανακατασκευής και φυσιολογικά περιλαμβάνει το 3%-8% ενός οστού, αλλά μπορεί να φθάσει και το 20%.

Η κυκλική φόρτιση *ex vivo* του οστού οδηγεί σε ταχεία κόπωση του υλικού, φαινόμενο που δεν παρατηρείται *in vivo*. Ο Frost πρότεινε την ύπαρξη ενός ρυθμιστικού μηχανισμού που αποκαλείται *μηχανοστάτης*. Με τον όρο αυτό χαρακτήρισε τους βιολογικούς μηχανισμούς που προσαρμόζουν την οστική μάζα και την αρχιτεκτονική του οστού στις ανάγκες που επιβάλλει η φυσική του δραστηριότητα. Ο μηχανοστάτης δε βρίσκεται σε συνεχή δράση, αλλά λειτουργεί σαν τον θερμοστάτη. Όταν η θερμοκρασία κατέλθει ή ανέλθει πάνω από ένα ορισμένο επίπεδο ο θερμοστάτης δραστηριοποιείται και την επαναφέρει στο προκαθορισμένο όριο. Η λειτουργία του μηχανοστάτη παρουσιάζεται από την παρακάτω σχέση:

Οστική Ιστομορφομετρία

Η προτιμώμενη θέση λήψης οστικής βιοψίας είναι το λαγόνιο οστό. Προτιμάται η λήψη διαλαγόνιας βιοψίας που να περιλαμβάνει και τους δύο φλοιούς του λαγονίου και να έχει διάμετρο 7-8 mm. Μετά την λήψη του το οστικό τεμάχιο αφυδατώνεται σε αιθυλική αλκοόλη και εγκυβωτίζεται σε μεθυλμεθακρυλικό ή εναλλακτικά μπορεί να προηγηθεί αφαλάτωση χάνοντας όμως με τον τρόπο αυτό αρκετές πληροφορίες. Στη συνέχεια λαμβάνονται διαδοχικές τομές σε ειδικό μικροτόμο πάχους 5-7 μm . Ακολουθεί χρώση των δειγμάτων με διάφορες τεχνικές όπως είναι η τρίχρωμη χρώση κατά Goldner και έπεται η εξέταση στο μικροσκόπιο (Εικόνα 5).

Με την οστική βιοψία μελετώνται η δομή του φλοιώδους και του σπογγώδους οστού, η διαδικασία επιμετάλλωσης, η παρουσία άωρου ή πεταλιώδους οστίτη ιστού, τα οστικά πετάλια, η παρουσία αποτιτανωμένου χόνδρου, η δραστηριότητα του οστικού μεταβολισμού και η εμφάνιση και η δραστηριότητα των οστικών κυττάρων [4-7].

Η οστική ιστομορφομετρία επιτρέπει τη μελέτη της δομής του οστού σε δύο διαστάσεις και την εκτίμηση της τρισδιάστατης δομής του οστού. Διακρίνεται σε στατική και σε δυναμική [8-11]. Η στατική ιστομορφομετρία αναγνωρίζει και περιγράφει τα κυτταρικά και ιστικά συστατικά μετρώντας μήκος (mm), επιφάνεια (mm^2) και αριθμό κυττάρων ανά μονάδα μήκους ή επιφάνειας ($\#/\text{mm}$ ή $\#/\text{mm}^2$). Η δυναμική ιστομορφομετρία χρησιμοποιεί ειδικές ουσίες που φθορίζουν όπως είναι η τετρακυκλίνη και οι οποίες ενσωματώνονται στο οστό στο μέτωπο επιμετάλλωσης [11-14]. Η εντόπιση αυτών των ουσιών και η δυναμική εικόνα της ενσωμάτωσής τους στο οστό βοηθά στη δυναμική μελέτη του οστικού μεταβολισμού. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατή η μελέτη της κυτταρικής ανταπόκρισης του οστού ως αντίδραση σε διάφορα ερεθίσματα, η μελέτη της τοξικότητας και η διάγνωση των διαταραχών της οστικής ανακατασκευής. Με την ιστομορφομετρία διερευνώνται η εμφάνιση των κυττάρων και η μικροαρχιτεκτονική του οστού, μελετάται η επιμετάλλωση και η οστική παραγωγή σε επίπεδο κυττάρου, βασικής πολυκυτταρικής μονάδας και σε επίπεδο ιστού. Με τον τρόπο αυτό καλύπτεται το κενό που αφήνει η συνδυασμένη χρήση της οστικής πυκνομετρίας και

του βιοχημικού ελέγχου , δίνοντας στοιχεία που αφορούν στην ποιότητα και την αρχιτεκτονική του οστού.

Η ορολογία που χρησιμοποιείται στην ιστομορφομετρία έχει καθοριστεί από την αντίστοιχη επιτροπή της ASBMR [5]. Οι παράμετροι που είναι δυνατό να μετρηθούν κατά την ιστομορφομετρία μπορεί να είναι δομικές, στατικές (απορρόφησης και παραγωγής οστού) και δυναμικές (Πίνακες 2 και 3). Η στατική ιστομορφομετρία πραγματοποιείται στο απλό μικροσκόπιο και η δυναμική στο μικροσκόπιο υπερύθρων ακτίνων. Στους πίνακες 3 και 4 παρουσιάζονται οι διάφορες παράμετροι που προκύπτουν από την ιστομορφομετρική μελέτη του οστού καθώς και οι φυσιολογικές τιμές. Σε αρκετές περιπτώσεις οι ιστομορφομετρικές εικόνες είναι αντιπροσωπευτικές της νόσου και θέτουν απευθείας τη διάγνωση.

Δείκτες οστικής μάζας		
Όγκος σπογγώδους οστού	% που κατέχει το επιμεταλλωμένο η μη επιμεταλλωμένο οστό στην μυελική κοιλότητα	22.5 ± 3.5%
Μέσο εύρος σπογγώδους οστού	Μέσο εύρος όλων των οστικών δοκίδων	213 ± 65 microns
Μέσο εύρος φλοιώδους οστού	Μέσο πάχος των φλοιών	909 ± 98 microns
Χαρακτηριστικά οστεοειδούς		
Επιφάνεια οστεοειδούς σπογγώδους οστού	% της επιφάνειας που καλύπτεται από οστεοειδές	18.9 ± 5%
Όγκος οστεοειδούς σπογγώδους οστού	Η περιοχή του οστεοειδούς εκφραζόμενη ως % της επιφάνειας που καλύπτεται από σπογγώδες οστόν	1.9±5%
Μέσο εύρος της ραφής του οστεοειδούς	Η περιοχή του οστεοειδούς προς την οστική επιφάνεια του οστού που καλύπτεται από οστεοειδές σε mm	9.7±0.4 microns
Δείκτες απορρόφησης		

Επιφάνεια απορρόφησης σπογγώδους οστού	% της οστικής επιφάνειας με κοιλότητες Howship	5.1±0.6%
Επιφάνεια οστεοκλαστικής απορρόφησης	% της οστικής επιφάνειας που έχει οστεοκλάστες	0.13±0.6%
Οστεοκλάστες ανά mm της περιμέτρου του σπογγώδους οστού	Αριθμός οστεοκλαστών ανά χιλιοστόμετρο της περιμέτρου του σπογγώδους οστού	0.11±0.04%
Δείκτες επιμετάλλωσης		
Ρυθμός επιμετάλλωσης	Η απόσταση μεταξύ των 2 σημασμένων επιφανειών δια το χρονικό μεσοδιάστημα ανάμεσα στις 2 χορηγήσεις	0.03±0.01%
Χρόνος μέχρι την έναρξη της επιμετάλλωσης	Μέσο πάχος της ραφής του οστεοειδούς δια το ρυθμό οστικής παραγωγής	0.20±0.04%
Ποσοστό της επιφάνειας του σπογγώδους οστού που έχει σημανθεί	% της οστικής επιφάνειας που έχει σημανθεί με τετρακυκλίνη	12.8±2.3%
Μέτωπο επιμετάλλωσης	Η γραμμή επιμετάλλωσης ανάμεσα στο οστεοειδές και το επιμεταλλωμένο οστούν	74.3±26.5%

Πίνακας 2. Ιστομορφομετρικοί όροι και τιμές αναφοράς

Οι δομικές παράμετροι εκφράζουν το μέγεθος και την ποσότητα του οστού. Αυτές είναι οι διαστάσεις του κυλίνδρου βιοψίας, το μέσος πάχος και των δύο λαγόνιων οστικών φλοιών, ο όγκος οστίτη ιστού (ως προς τη συνολική επιφάνεια, %) και το πάχος και ο αριθμός των δοκίδων. Από τις στατικές παραμέτρους μπορεί να εκτιμηθεί ο σχηματισμός οστού (η επιφάνεια οστεοειδούς ως προς την συνολική επιφάνεια, το πάχος οστεοειδούς, ο όγκος του οστεοειδούς ανά μονάδα όγκου οστού και η επιφάνεια που καλύπτεται από οστεοβλάστες) και η απορρόφηση του οστού (επιφάνεια που καλύπτεται από οστεοκλάστες και αριθμός οστεοκλαστών). Ως πάχος τοιχώματος ορίζεται η ποσότητα οστού που δημιουργείται από μια ομάδα οστεοβλαστών κατά τη διαδικασία της ανακατασκευής. Η παράμετρος αυτή δεν πρέπει να συγχέεται με το πάχος του φλοιώδους οστού. Η δυναμική μελέτη του οστού αναφέρεται στις παραμέτρους που εκφράζουν την in vivo λειτουργικότητα των οστικών κυττάρων. Η μέτρηση αυτών των παραμέτρων είναι δυνατή μόνο σε

ασθενείς που έχουν λάβει δύο δόσεις τετρακυκλίνης προ της βιοψίας. Οι δυναμικές παράμετροι του οστού είναι η επιφανειακή έκταση επιμετάλλωσης (επιφάνεια που παρουσιάζει επιμετάλλωση ως προς την συνολική επιφάνεια) και η ταχύτητα επιμετάλλωσης κάθετα ως προς την επιφάνεια του οστού (ρυθμός εναπόθεσης). Από αυτές τις βασικές παραμέτρους υπολογίζονται ο χρόνος υστέρησης της επιμετάλλωσης και ο ρυθμός σχηματισμού οστού ανά μονάδα οστικής επιφάνειας. Η διαπίστωση υψηλού ρυθμού παραγωγής οστού δεν ισοδυναμεί απαραίτητα με αύξηση της οστικής μάζας αφού το ισοζύγιο οστού από την εκδήλωση του μηχανισμού της ανακατασκευής μπορεί να είναι αρνητικό. Η απορρόφηση του οστού μπορεί να ποσοτικοποιηθεί μόνο από τις στατικές παραμέτρους, γεγονός που καθιστά την ιστομορφομετρία λιγότερο αποτελεσματική για τη μελέτη της απορρόφησης. Είναι δυνατό να μετρηθεί η έκταση της οστικής επιφάνειας που καλύπτεται από οστεοκλάστες ή παρουσιάζει διαβρώσεις αλλά δεν είναι δυνατή η εκτίμηση του μεγέθους της οστικής απορρόφησης. Αυτή η λεπτομέρεια έχει σημασία στις νεφρικές οστεοδυστροφίες αφού η οστεοκλαστική απορρόφηση οστού είναι βραδύτερη από το φυσιολογικό και επομένως η ιστομορφομετρική εξέταση υπερεκτιμά την απορρόφηση.

Παράμετρος	Συντόμηση	Ορισμός
Δομικές Παράμετροι		
Εύρος κυλίνδρου βιοψίας (mm)	C.Wi	Μέγεθος δείγματος βιοψίας
Πάχος φλοιού (μm)	Ct.Wi	Απόσταση μεταξύ της περιοστικής και της ενδοτικής επιφάνειας
Όγκος οστού/συνολικός όγκος (%)	BV/TV	Ο χώρος μεταξύ του επιμεταλλωμένου και μη οστού ως προς το συνολικό μέγεθος του οστικού διαμερίσματος
Πάχος δοκίδων (μm)	Tb.Th	Αυταπόδεικτη έννοια
Αριθμός δοκίδων (/mm)	Tb.N	Αριθμός δοκίδων που συναντά στο σπογγώδες διαμέρισμα μία γραμμή ανά mm μήκους του
Στατικοί παράγοντες σχηματισμού οστού		
Πάχος οστεοειδούς (μm)	O.Th	Απόσταση μεταξύ της επιφάνεια του οστεοειδούς και του επιμεταλλωμένου οστού
Επιφάνεια οστεοειδούς /οστική επιφάνεια (%)	OS/BS	Ποσοστό της οστικής επιφάνειας που καλύπτεται από οστεοειδές
Όγκος οστεοειδούς /οστική επιφάνεια (%)	OV/BV	Ποσοστό του οστικού όγκου που αποτελείται από μη επιμεταλλωμένο οστεοειδές
Επιφάνεια οστεοβλαστών /οστική επιφάνεια (%)	Ob.S/BS	Ποσοστό της οστικής επιφάνειας που καλύπτεται από οστεοβλάστες
Πάχος τοιχώματος (μm)	W.Th	Μέσο πάχος του οστίτη ιστού που έχει εναποτεθεί σε μία θέση ανακατασκευής
Δυναμικοί παράγοντες σχηματισμού οστού		

Επιφάνεια επιμετάλλωσης / οστική επιφάνεια (%)	MS/BS	Ποσοστό της οστικής επιφάνειας που παρουσιάζει δραστηριότητα επιμετάλλωσης
Ρυθμός επιμετάλλωσης (μm/ημέρα)	MAR	Απόσταση μεταξύ δύο γραμμών σήμανσης με τετρακυκλίνη ως προς το μήκος του διαστήματος που μεσολαβεί
Χρόνος υστέρησης της επιμετάλλωσης (ημέρες)	Mlt	Το χρονικό διάστημα μεταξύ της εναπόθεσης και της επιμετάλλωσης της θεμέλιας ουσίας
Ρυθμός παραγωγής οστού / οστική επιφάνεια (μm ³ ×μm ⁻² ×γ-1)	BFR/BS	Ποσότητα του οστού που σχηματίζεται ανά έτος σε μία δεδομένη οστική επιφάνεια
Στατικοί παράγοντες σχηματισμού οστού		
Επιφάνεια με διάβρωση / οστική επιφάνεια (%)	ES/BS	Ποσοστό της οστικής επιφάνειας που παρουσιάζει αυλακωτή επιφάνεια
Επιφάνεια οστεοκλαστών οστική επιφάνεια (%)	Oc.S/BS	Ποσοστό της οστικής επιφάνειας που καλύπτεται από οστεοκλάστες

Πίνακας 3. Ορισμός μερικών συχνά χρησιμοποιούμενων ιστομορφομετρικών παραμέτρων. Από τον Rauch, *Pediatr Nephrol* (2006) 21: 457-462.

Οστεομαλακία /ραχίτιδα	Οστεοπόρωση
<ul style="list-style-type: none"> • Μειωμένη απορρόφηση επιμεταλλωμένου οστού • Αυξημένο ή μειωμένο οστεοειδές • Αυξημένοι δείκτες οστικής απορρόφησης • Μειωμένοι δείκτες επιμετάλλωσης 	<ul style="list-style-type: none"> • Μειωμένος όγκος σπογγώδους οστού • Φυσιολογικό ή αυξημένο μέσο εύρος σπογγώδους οστού • Φυσιολογικό (οστεοπόρωση τύπου I) ή μειωμένο(οστεοπόρωση τύπου II) μέσο εύρος φλοιώδους οστού

Πίνακας 4. Χαρακτηριστικά ιστομορφομετρικά ευρήματα σε οστεομαλακία/ραχίτιδα και σε οστεοπόρωση.

Σήμανση με Τετρακυκλίνη

Η σήμανση (labeling) του οστού πραγματοποιείται πριν την οστική βιοψία με διακεκομμένη χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών (τετρακυκλίνη, δεμεκλοκυκλίνη) οι οποίες δρουν ως δείκτες και χρωματίζουν το οστό λόγω της ιδιότητάς τους να φθορίζουν σε υπέρυθρο φως ή μετά από διέγερση με μπλε φως [11-14]. Η χρώση του οστού μετά από χορήγηση αντιβιοτικών της κατηγορίας των τετρακυκλινών είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος ελέγχου της επιμετάλλωσης του οστού, λόγω της ικανότητάς των τετρακυκλινών να προσκολλώνται σε επιφάνειες όπου υπάρχει ενεργός οστική παραγωγή. Συγκεκριμένα, η τετρακυκλίνη συνδέεται στην περιοχή επαφής του οστού με το

οστεοειδές (μέτωπο επιμετάλλωσης) παρέχοντας γραμμοειδή εμφάνιση (Εικόνα 5). Διαφόρων ειδών χρωστικές ουσίες παρέχουν διαφορετική γραμμοειδή χρώση στο οστό. Μέσω της σήμανσης ελέγχονται μεταβολές ή ανωμαλίες στην επιμετάλλωση και την οστική ανακατασκευή.

Εάν λίγες ημέρες μετά την αρχική χορήγηση τετρακυκλίνης χορηγηθεί νέα δόση τότε δημιουργείται νέα γραμμή στο οστό περιφερικότερα της προηγούμενης. Το μήκος του οστού μεταξύ των δύο γραμμών εκφράζει τον ρυθμό οστικής παραγωγής (Εικόνα 6).

Η μέθοδος της διπλής σήμανσης με τετρακυκλίνη είναι ιδανική γιατί μελετάει ταυτόχρονα τους ρυθμούς οστικής παραγωγής και επιμετάλλωσης. Επίσης δίνει περισσότερες πληροφορίες από άλλες μεθόδους, όπως η σήμανση με τολουιδίνη σε όξινο pH και η παρατεταμένη χρήση μιας χρωστικής. Στην περίπτωση της παρατεταμένης χορήγησης μιας χρωστικής το πρόγραμμα προετοιμασίας του ασθενούς είναι πιο εύκολο αλλά καθίσταται αδύνατη η διαφορική διάγνωση μεταξύ ελαττωματικής και ενεργού επιμετάλλωσης.

Στις περισσότερες περιπτώσεις, η αρχική χορήγηση τετρακυκλίνης (300 mg, 2 φορές ημερησίως) διαρκεί 2 ημέρες και ακολουθείται από περίοδο παύσης 8-15 ημερών. Η χρονική διάρκεια του μεσοδιαστήματος μέχρι τη δεύτερη χορήγηση είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς σε περίπτωση που αυτή είναι βραχεία γίνεται δύσκολος ο διαχωρισμός των χρωματισμένων περιοχών. Στον αντίποδα, εάν το μεσοδιάστημα μεταξύ των δόσεων είναι μεγάλο τα σημεία πρόσληψης χρωστικής ίσως φανούν τεχνητά αυξημένα, γιατί έχει αυξηθεί ο αριθμός των περιοχών στις οποίες έχει σταματήσει ή έχει αρχίσει η οστική παραγωγή. Ο δεύτερος γύρος χορήγησης αντιβίωσης ξεκινάει 2-4 ημέρες μετά την πάροδο της περιόδου παύσης ενώ η βιοψία λαμβάνει χώρα 4-6 ημέρες μετά την τελευταία χορήγηση τετρακυκλίνης. Η περίοδος αυτή είναι σημαντική γιατί έτσι επιτυγχάνεται ο ενταφιασμός του αντιβιοτικού εντός του οστεοειδούς και η μη διαφυγή του στο διάλυμα μέσα στο οποίο τοποθετείται το οστό. Σε περίπτωση που η οστική βιοψία πραγματοποιηθεί 10 ημέρες από την τελευταία χορήγηση τετρακυκλίνης, είναι πιθανό τα αποτελέσματα να μην είναι ικανοποιητικά, καθώς λόγω της ανακατασκευής είναι πιθανό να έχει ήδη απορροφηθεί η πρώτη ζώνη σήμανσης. Όταν επιβάλλεται η άμεση λήψη βιοψίας μπορεί να ακολουθηθεί πρόγραμμα με 1 ημέρα χορήγησης χρωστικής, παύση 4-6 ημερών και μετά χορήγηση χρωστικής και πάλι για μια μέρα.

Ακόμα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται όταν χορηγούνται 2 διαφορετικές χρωστικές. Για παράδειγμα, η υδροχλωρική τετρακυκλίνη χρωματίζει το οστό κίτρινο, ενώ η υδροχλωρική δεμεκλοκυκλίνη το χρωματίζει πορτοκαλί. Οι προτεινόμενες δόσεις των 2 τελευταίων είναι 300 και 500 mg x 3/ημέρα αντίστοιχα, αλλά η συχνότητα χορήγησης τους μπορεί να μειωθεί σε 2 φορές/ημέρα σε άτομα με έκπτωση της νεφρικής τους λειτουργίας.

Η ένταση της χρώσης του οστού αυξάνει ανάλογα με τη δόση της τετρακυκλίνης, εξαρτάται από το χρησιμοποιούμενο σύστημα ανίχνευσης της χρωστικής και επηρεάζεται και από το είδος της τετρακυκλίνης.

Οι επιπλοκές από την χορήγηση τετρακυκλίνης είναι σπάνιες αλλά περιλαμβάνουν την πρόκληση δερματικών εξανθημάτων, φωτοευαισθησίας, ναυτίας και διάρροιας. Η μη συμμόρφωση του ασθενή στο πρόγραμμα λήψης της χρωστικής θα οδηγήσει σε ανεπαρκές αποτέλεσμα. Αυτό συμβαίνει όταν κάποιος αμελεί να πάρει τις προτεινόμενες δόσεις ή λάβει την αγωγή μαζί με τροφή, γάλα ή αντιόξινα, με αποτέλεσμα τη μείωση της εντερικής απορρόφησης τετρακυκλίνης. Σημαντική είναι και η πληροφόρηση του θεράποντος ιατρού για προηγηθείσα λήψη τετρακυκλίνης.

Με την χρήση ειδικού λογισμικού είναι δυνατή η μέτρηση όλων των γεωμετρικών παραμέτρων του οστού καθώς και ο υπολογισμός παραμέτρων που εκφράζουν την τρισδιάστατη κατασκευή του σπογγώδους οστού (Εικόνες 7 και 8).

Ιστομορφομετρικά Ευρήματα σε Διάφορες Μεταβολικές Νόσους των Οστών

Τα ιστομορφομετρικά ευρήματα στις διάφορες μεταβολικές νόσους των οστών διαφέρουν μεταξύ τους και τις χαρακτηρίζουν [12, 13, 14].

Στην περίπτωση της οστεοπόρωσης οι άνδρες παρουσιάζουν συνήθως λεπτές αλλά με φυσιολογικό αριθμό οστικές δοκίδες ενώ οι γυναίκες έχουν δοκίδες με κανονικό πάχος αλλά μειωμένες σε αριθμό (Πίνακας 5). Σε ότι αφορά στον οστικό φλοιό, αυτός έχει πορώδη μορφή με διευρυμένα αβέρσεια κανάλια, ενώ σε περιπτώσεις βαρείας οστεοπόρωσης αποκτά σπογγώδη μορφή ιδίως κατά την ενδοστική του επιφάνεια.

Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της οστεομαλακίας είναι η αύξηση του οστεοειδούς, ο εντοπισμός μη επιμεταλλωμένου οστού σε περιοχές κατά τ'άλλα επιμεταλλωμένες, καθώς και ιστολογικά στοιχεία που θυμίζουν υπερπαραθυροειδισμό (Εικόνα 9). Αυτά τα στοιχεία φαίνεται να υπάρχουν ανεξαρτήτως της αιτιολογίας της οστεομαλακίας, με μοναδικές εξαιρέσεις την οστεομαλακία λόγω κακοήθειας και μετά από χρήση αλουμινίου. Η τελευταία προκαλείται σε περιπτώσεις όπου το αλουμίνιο χρησιμοποιείται ως διαλύτης σε περιτοναϊκή διάλυση ή σε άτομα σε παρεντερική σίτιση. Το αλουμίνιο μετά από χρώση με μπλέ του καθαρού ουρανού εντοπίζεται σε μη επιμεταλλωμένες περιοχές.

Η οστεοπόρωση μετά από χορήγηση γλυκοκορτικοειδών έχει πιο χαρακτηριστική εικόνα, προφανώς λόγω της διαφορετικής παθοφυσιολογίας και χαρακτηρίζεται από μειωμένο πάχος του σπογγώδους οστού και μειωμένο ρυθμό επιμετάλλωσης ύστερα από διπλή σήμανση με τετρακυκλίνη. Σε ότι

αφορά σε ασθενείς με ηπατίτιδα οι οποίοι έχουν λάβει γλυκοκορτικοειδή, παρατηρείται μείωση τόσο του ρυθμού οστικής παραγωγής όσο και του ρυθμού εναπόθεσης.

	Υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής		Χαμηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής	
	Ήπιος β' παθής υπερπαραθυρεοειδισμός	Κυστική οστεΐτιδα	Αδυναμική νόσος	Οστεομαλακία
Σχηματισμός οστού				
Όγκος σπογγώδους οστού	Φυσιολογικός	Φυσιολογικός-υψηλός	Φυσιολογικός-χαμηλός	Ποικίλλει, χαμηλός-φυσιολογικός-υψηλός
Όγκος οστεοειδούς	Φυσιολογικός-υψηλός	Φυσιολογικός-υψηλός	Φυσιολογικός-χαμηλός	Φυσιολογικός-Πολύ υψηλός
Πάχος οστεοειδούς	Φυσιολογικό	Φυσιολογικό-υψηλό	Φυσιολογικό-χαμηλό	Φυσιολογικό-Πολύ υψηλό
Αριθμός οστεοβλαστών	Υψηλός	Πολύ υψηλός	Χαμηλός	Χαμηλός
Ρυθμός σχηματισμού οστού	Υψηλός	Πολύ υψηλός	Χαμηλός-πολύ χαμηλός	Χαμηλός-πολύ χαμηλός
Χρόνος υστέρησης της επιμετάλλωσης	Φυσιολογικός	Φυσιολογικός	Φυσιολογικός	Παρατεταμένος
Απορρόφηση οστού				
Περίμετρος οστού με διάβρωση	Υψηλή	Πολύ υψηλή	Φυσιολογική-χαμηλή	Ποικίλλει, συχνά χαμηλή-μπορεί υψηλή
Αριθμός οστεοκλαστών	Υψηλός	Πολύ υψηλός	Χαμηλός	Χαμηλός, μπορεί να είναι φυσιολογικός ή υψηλός
Ίνωση μυελού	Απούσα	Παρούσα	Απούσα	Απούσα

Πίνακας 5. Ιστομορφομετρικά χαρακτηριστικά της οστικής βλάβης στην νεφρική οστεοδυστροφία με χαμηλό ή υψηλό ρυθμό οστικής εναλλαγής.

Η ιστομορφομετρική εικόνα του υπερπαραθυρεοειδισμού είναι η ίδια είτε πρόκειται για πρωτοπαθή είτε για δευτεροπαθή νόσο [15]. Η πάθηση εντοπίζεται κυρίως στις φάλαγγες, οι οποίες αποκτούν θυσανωτή μορφή και στα μακρά οστά, των οποίων οι φλοιοί παρουσιάζουν λέπτυνση, ενώ το σπογγώδες οστό δεν επηρεάζεται όσο το φλοιώδες, το οποίο παρουσιάζει μείωση του όγκου της πυκνότητάς του (Εικόνα 10). Ο μεγάλος αριθμός οστεοκλαστών οδηγεί σε ταχεία οστική απώλεια και ταυτόχρονα σε ενεργοποίηση των οστεοβλαστών αυξάνοντας την παραγωγή οστεοειδούς. Αυτή η

διαδικασία αυξάνει τον ρυθμό οστικής εναλλαγής, ο οποίος γίνεται αντιληπτός ιστολογικά από τις μεγάλες ποσότητες οστεοειδούς, τον αυξημένο αριθμό των γραμμών τσιμέντου (cement lines) και τις χαρακτηριστικές ραφές οστεοειδούς. Οι τελευταίες αποτελούνται φυσιολογικά από 4 στοιβάδες οι οποίες στο μικροσκόπιο εμφανίζουν διπλή διάθλαση. Όταν αυτός ο αριθμός είναι μεγαλύτερος τότε δημιουργούνται υπόνοιες για συνυπάρχουσα οστεομαλακία, γεγονός που βοηθά στη διαφορική διάγνωση του πρωτοπαθούς από τον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό. Στην περίπτωση των φαιών όγκων παρατηρείται μεγάλη απώλεια οστού, κυρίως λόγω της έντονης οστεοκλαστικής δράσης, ενώ στο μυελό παρουσιάζεται μεγάλος αριθμός οστεοκλαστών και αγγειοβριθής ινώδης ιστός.

Η νεφρική οστεοδυστροφία αναφέρεται σε μια σειρά οστικών αλλοιώσεων σε ασθενείς που πάσχουν από νεφρική ανεπάρκεια με μεικτή ιστολογική εικόνα οστεομαλακίας και υπερπαραθυρεοειδισμού. Η χρήση ιστομορφομετρίας και η διαλαγόνια βιοψία έχουν απόλυτη ένδειξη στη συγκεκριμένη νόσο, γιατί αποσαφηνίζουν αν πρόκειται για διαταραχή με αυξημένο ή μειωμένο οστικό μεταβολισμό, χωρίς να είναι απίθανη η συνύπαρξή τους μετά από χορήγηση αντιοστεοκλαστικής αγωγής σε νόσο με αυξημένο μεταβολισμό [16-19]. Στον πίνακα 6 παρουσιάζονται τα ιστομορφομετρικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα σε έδαφος χρόνιας νεφρικής νόσου.

Η νόσος Paget χαρακτηρίζεται από μεγάλες οστεοκλάστες με περισσότερους από 7 πυρήνες και έντονη φαγοκυτταρική δράση, γεγονός που τη διαχωρίζει από νοσήματα όπως ο υπερπαραθυρεοειδισμός, όπου δεν παρατηρούνται διαφοροποιήσεις στον πληθυσμό των οστεοκλαστών έναντι του φυσιολογικού πληθυσμού. Συνέπεια της αρχικά έντονης οστεοκλαστικής δράσης είναι η ίνωση του μυελού, η υπομετάλλωση του οστού με συνοδό αύξηση του οστεοειδούς και εν κατακλείδι η δομική αποτυχία του οστού. Αντίθετα, η φάση ηρεμίας που ακολουθεί χαρακτηρίζεται από ελάττωση των οστεοκλαστών και δευτερευόντως των οστεοβλαστών και αποδρομή της μυελικής ίνωσης. Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση ανώμαλων γραμμών τσιμέντου σε μικροσκόπια με πολωμένο φως που δίνουν εμφάνιση μωσαϊκού. Ένα ακόμη χαρακτηριστικό στοιχείο της νόσου Paget είναι η μετά την αποδρομή της έντονης μεταβολικής δραστηριότητας εμφάνιση αγγείων με λεπτό τοίχωμα ως αποτέλεσμα της ύφεσης.

Χαρακτηριστική επίσης είναι η ιστολογική εικόνα που παρουσιάζουν ορισμένες παθήσεις της παιδικής ηλικίας (Πίνακας 6).

Πάθηση	Εύρος οστικού δείγματος	Πάχος φλοιώδους οστού	Όγκος οστού/συνολικό όγκο	Πάχος οστεοειδούς	Επιφάνεια οστού που καλύπτεται από οστεοειδές	Ρυθμός επιμετάλλωσης	Οστική επιφάνεια που παρουσιάζει επιμετάλλωση	Ποσό οστού που δημιουργείται ανά έτος σε μία οστική επιφάνεια	Χρόνος υστέρησης επιμετάλλωσης
Σοβαρή οστεομαλακία	↔	↔	↔	↑↑↑	↑↑	↓	↓↓	↓↓	↑↑↑
Υπερπαραθυρεοειδισμός	↔	↔	↔	↑	↑	↑	↑	↑↑	↔
Σημαντική καταστολή παραγωγής παραθορμόνης (δυναμικό οστό)	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↓↓	↓↓	↔
Ατελής οστεογένεση	↓	↓	↓↓	↔	↑	↓	↑	↓	↔
Ιδιοπαθής νεανική οστεοπόρωση	↔	↔	↓↓	↓	↓	↓	↓	↓	↔
Αλλοιώσεις οφειλόμενες στα διφωσφονικά	↔	↑↑	↑	↓	↓	↔	↓↓	↓↓↓	↑↑

Πίνακας 6. Ιστομορφομετρικά ευρήματα σε παθήσεις των οστών στην παιδική ηλικία. ↔, στασιμότητα, ↑, αύξηση, ↓ μείωση.

Συμπέρασμα

Η οστική βιοψία είναι χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο στα χέρια του κλινικού ιατρού, προσφέροντας σημαντικές απαντήσεις σε ερωτήματα στα οποία δεν δύνανται να απαντήσουν ο απεικονιστικός και ο βιοχημικός έλεγχος θέτοντας τη σωστή διάγνωση σε δύσκολες περιπτώσεις. Επίσης είναι εργαλείο στα χέρια του ερευνητή που ασχολείται με τον οστικό μεταβολισμό, προσφέροντας πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα των εκάστοτε θεραπευτικών σκευασμάτων και διευκολύνοντας την σε βάθος κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους. Η οστική βιοψία δεν είναι εύκολα αποδεκτή διαδικασία, λόγω της παρεμβατικής της φύσης, η επιβάρυνση όμως του ασθενή είναι μικρή σε σχέση με τη σημασία των πληροφοριών που παρέχονται.

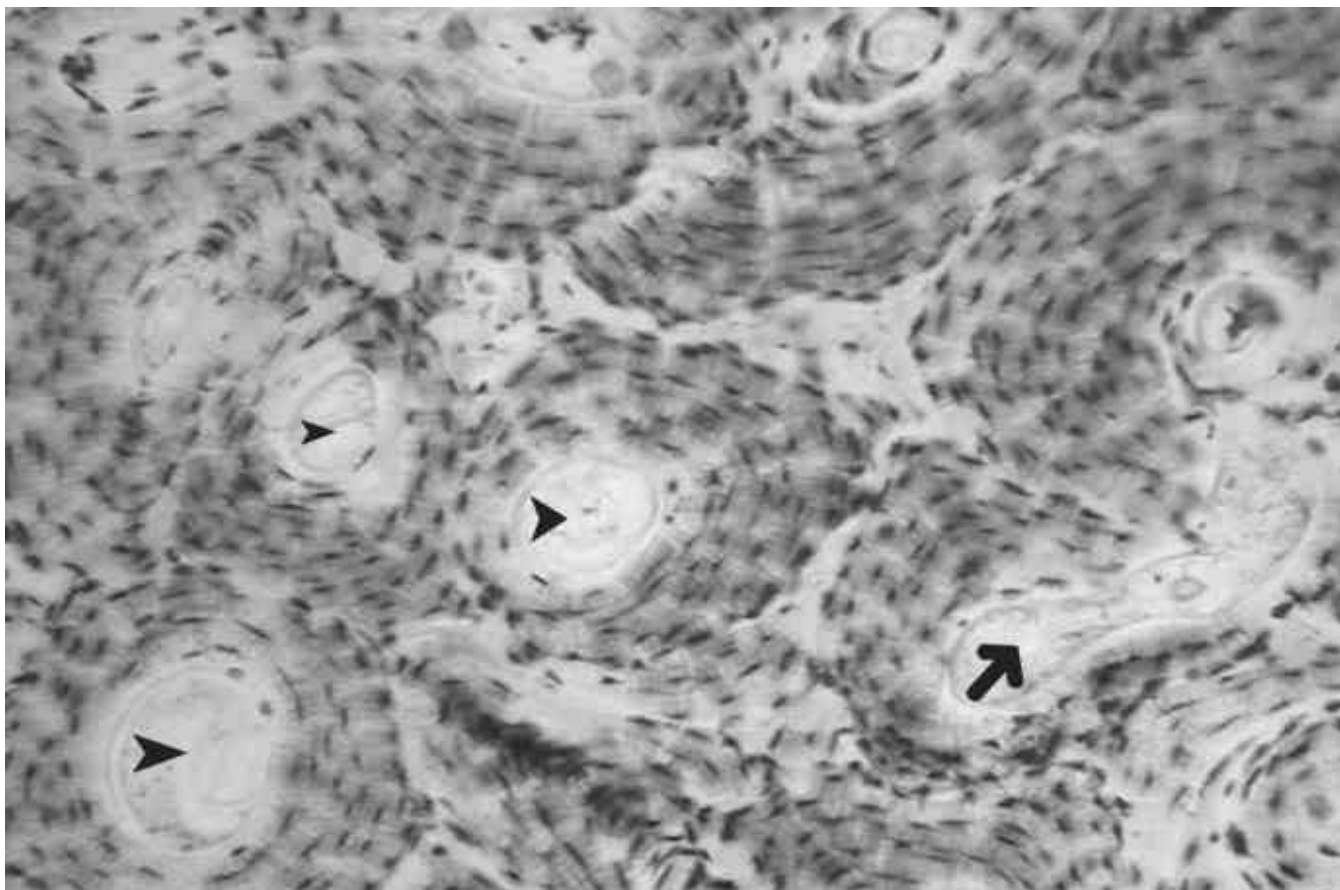
Τα τελευταία χρόνια αποδείχθηκε ότι η οστική αντοχή δεν σχετίζεται μόνο με την οστική μάζα αλλά και με την μικροσκοπική δομή του σπογγώδους οστού η οποία και αποτελεί σημαντικό πεδίο μελέτης. Η μελέτη της οστικής μικροαρχιτεκτονικής μπορεί πλέον να γίνει τόσο σε οστικές βιοψίες όσο και μη επεμβατικά, αξιόπιστα και γρήγορα με την ανάπτυξη νέων τεχνολογιών όπως της micro αξονικής τομογραφίας (micro-CT), της περιφερικής ποσοτικής αξονικής τομογραφίας (p-QCT) και της micro-μαγνητικής τομογραφίας (Εικόνα 11). Μέχρι να αξιολογηθούν και να εφαρμοστούν στην κλινική πράξη οι παραπάνω ερευνητικές μέθοδοι, η βιοψία θα αποτελεί τον χρυσό κανόνα και το αδιαφιλονίκητο μέτρο σύγκρισης για οποιαδήποτε μέθοδο ξετάζει τον οστικό μεταβολισμό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

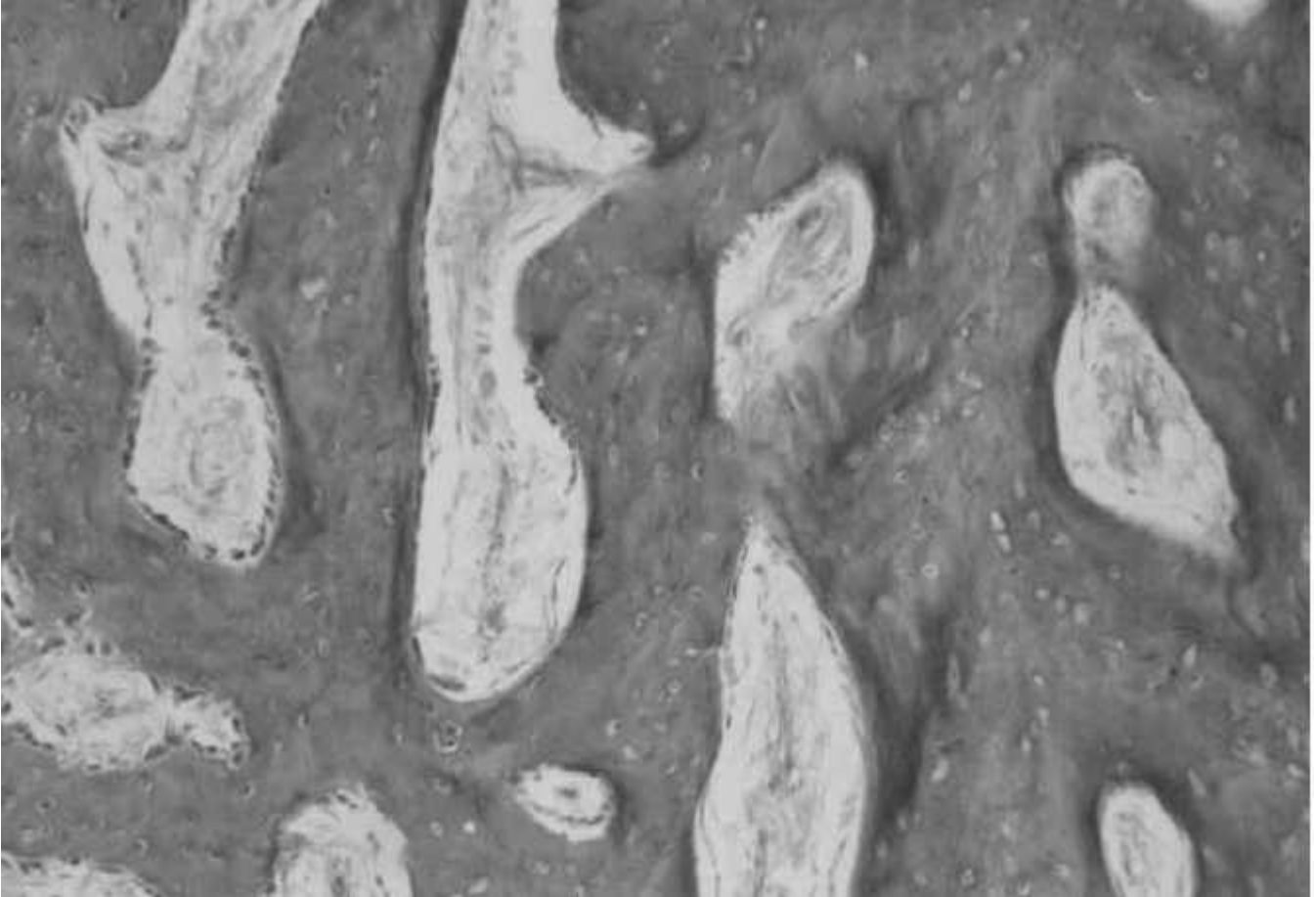
1. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R (1996). Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *Instr Course Lect*, 45:387-399.
2. Dalle Carbonare L, Valenti MT, Bertoldo F et al. (2005). Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. *Micron*, 36(7-8):609-616.
3. Frost HM (2001). From Wolff's law to the Utah paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. *Anat Rec*, 1;262(4):398-419.
4. Rauch F (2006). Watching bone cells at work: what we can see from bone biopsies. *Pediatr Nephrol*, 21(4):457-462.
5. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987). Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*, 2(6):595-610.
6. Recker RR, Kimmel DB, Parfitt AM, Davies KM, Keshawaraz N, Hinders S (1988). Static and tetracycline-based bone histomorphometric data from 34 normal postmenopausal females. *J Bone Miner Res*, 3(2):133-144.
7. Recker RR (1994). Bone biopsy and histomorphometry in clinical practice. *Rheum Dis Clin North Am*, 20(3):609-627.
8. Jee WS (2005). The past, present, and future of bone morphometry: its contribution to an improved understanding of bone biology. *J Bone Miner Metab*, 23 Suppl:1-10.
9. Jowsey J (1977). *The bone biopsy*. New York: Plenum.
10. Rauch F, Travers R, Parfitt AM, Glorieux FH (2000). Static and dynamic bone histomorphometry in children with osteogenesis imperfecta. *Bone*, 26(6):581-589.
11. Frost HM (1969). Tetracycline-based histological analysis of bone remodeling. *Calcif Tissue Res* 1969, 3:211-237.
12. Jackson JA, Kleerekoper M, Parfitt AM, Rao DS, Villanueva AR, Frame B(1987). Bone histomorphometry in hypogonadal and eugonadal men with spinal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 65(1):53-58.
13. Frost HM, Villanueva AR (1960). Tetracycline staining of newly formed bone and mineralized cartilage in vivo. *Stain Technol*, 35:135-138.
14. Faugere MC, Malluche HH (1983). Comparison of different bone-biopsy techniques for qualitative and quantitative diagnosis of metabolic bone diseases. *J Bone Joint Surg Am*, 65:1314-1318.
15. Moore RJ, Durbridge TC, Woods AE, Vernon-Roberts B (1989). Variation in histomorphometric estimates across different sites of the iliac crest. *J Clin Pathol*, 42: 814-816.

16. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, Parfitt AM (2000). Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*, 26(2):103-109.
17. Malluche HH, Monier-Faugere MC (1994). The role of bone biopsy in the management of patients with renal osteodystrophy. *J Am Soc Nephrol*, 4(9):1631-1642.
18. Mondry A, Wang Z, Dhar PK (2005). Bone and the kidney: a systems biology approach to the molecular mechanisms of renal osteodystrophy. *Curr Mol Med*, 5(5):489-496.
19. Freemont T (1999). Histological diagnosis of renal osteodystrophy. *Kidney Int Suppl*, 73:S26-30.

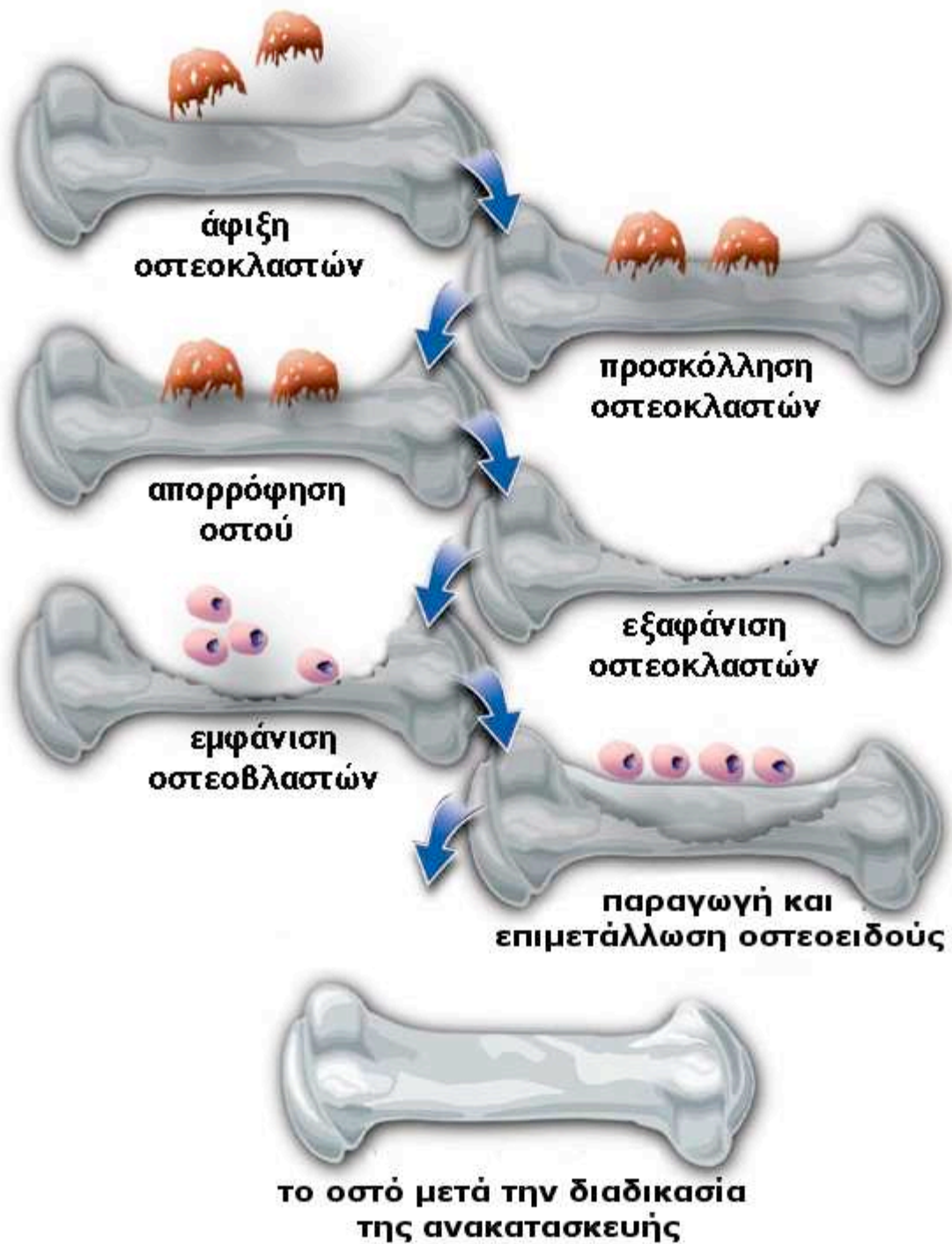
Εικόνες



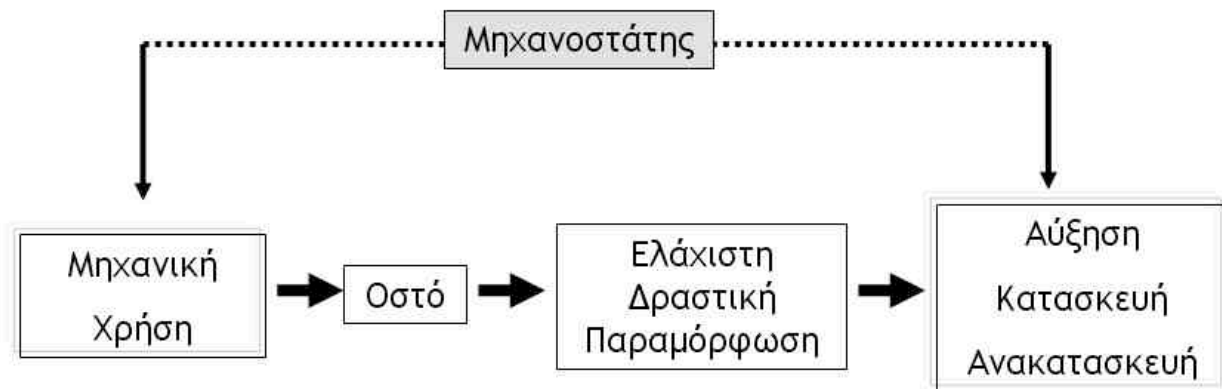
Εικόνα 1. Φυσιολογική απεικόνιση του φλοιώδους οστού σε εγκάρσια διατομή. Διακρίνονται τα αβέρσεια συστήματα. Με τις κεφαλές βελών παρουσιάζονται οι αβέρσειοι σωλήνες ενώ το πλήρες βέλος παρουσιάζει ένα σωλήνα Volkmann.



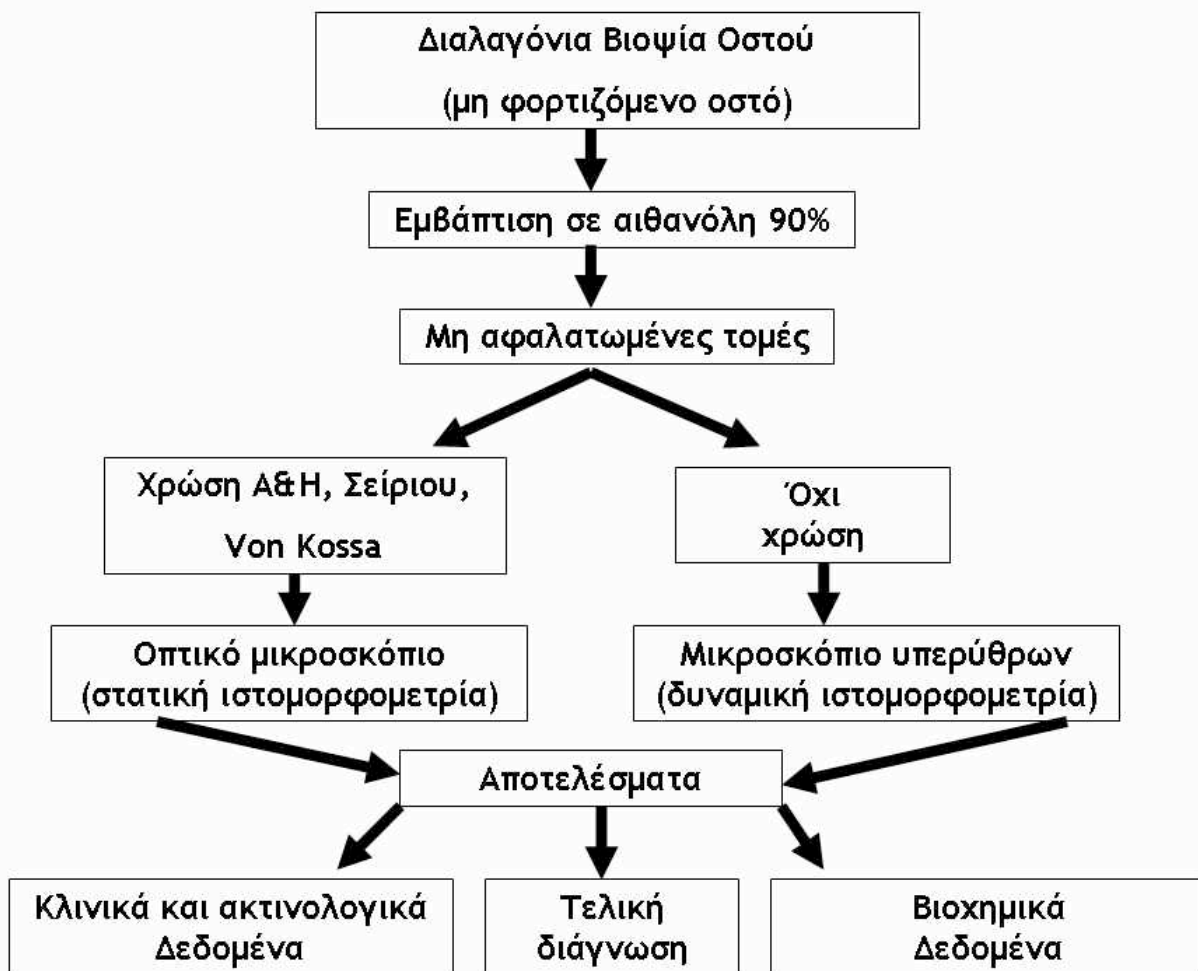
Εικόνα 2. Η ιστολογική απεικόνιση του φυσιολογικού σπογγώδους οστού. Παρουσιάζονται δοκίδες που συνδέονται μεταξύ τους στο χώρο εμπυθισμένες στο πλούσιο σε κυτταρικά στοιχεία μελό των οστών.



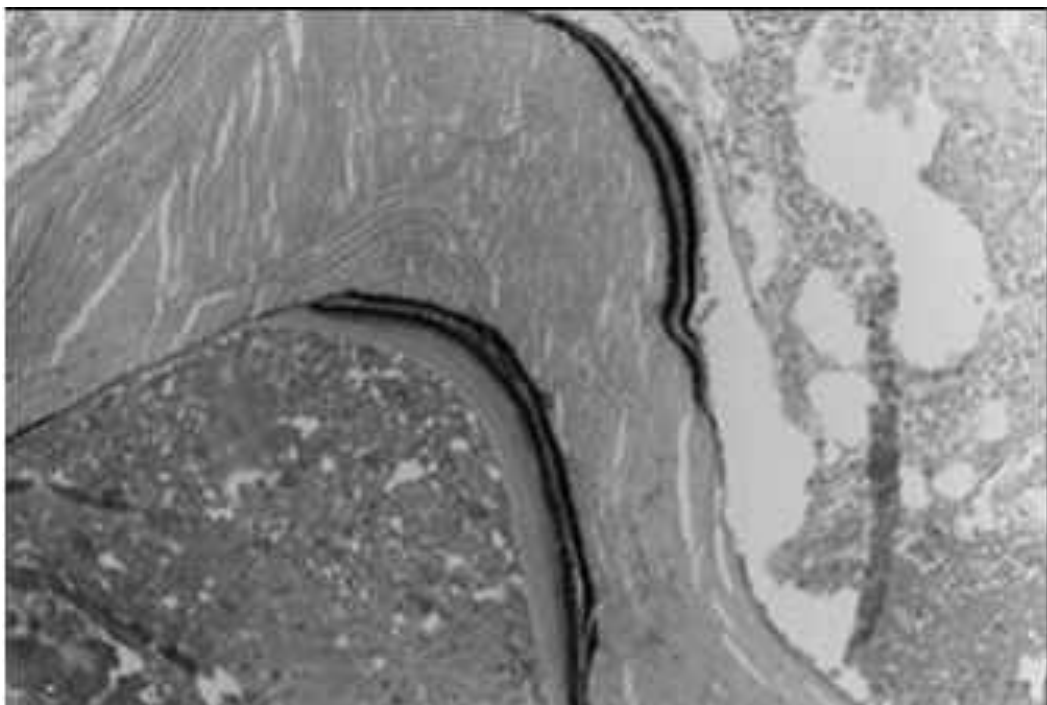
Εικόνα 3. Η διαδικασία της οστικής ανακατασκευής. Το οστό αρχικά απορροφάται από την οστεοκλαστική δράση και στη συνέχεια επαναδημιουργείται από τους οστεοβλάστες. Εάν το ισοζύγιο παραγωγής-απορρόφησης είναι αρνητικό παρατηρείται απώλεια της οστικής μάζας.



Εικόνα 4 Το διάγραμμα ροής της διαγνωστικής χρήσης της στατικής και της δυναμικής ιστομορφομετρίας.



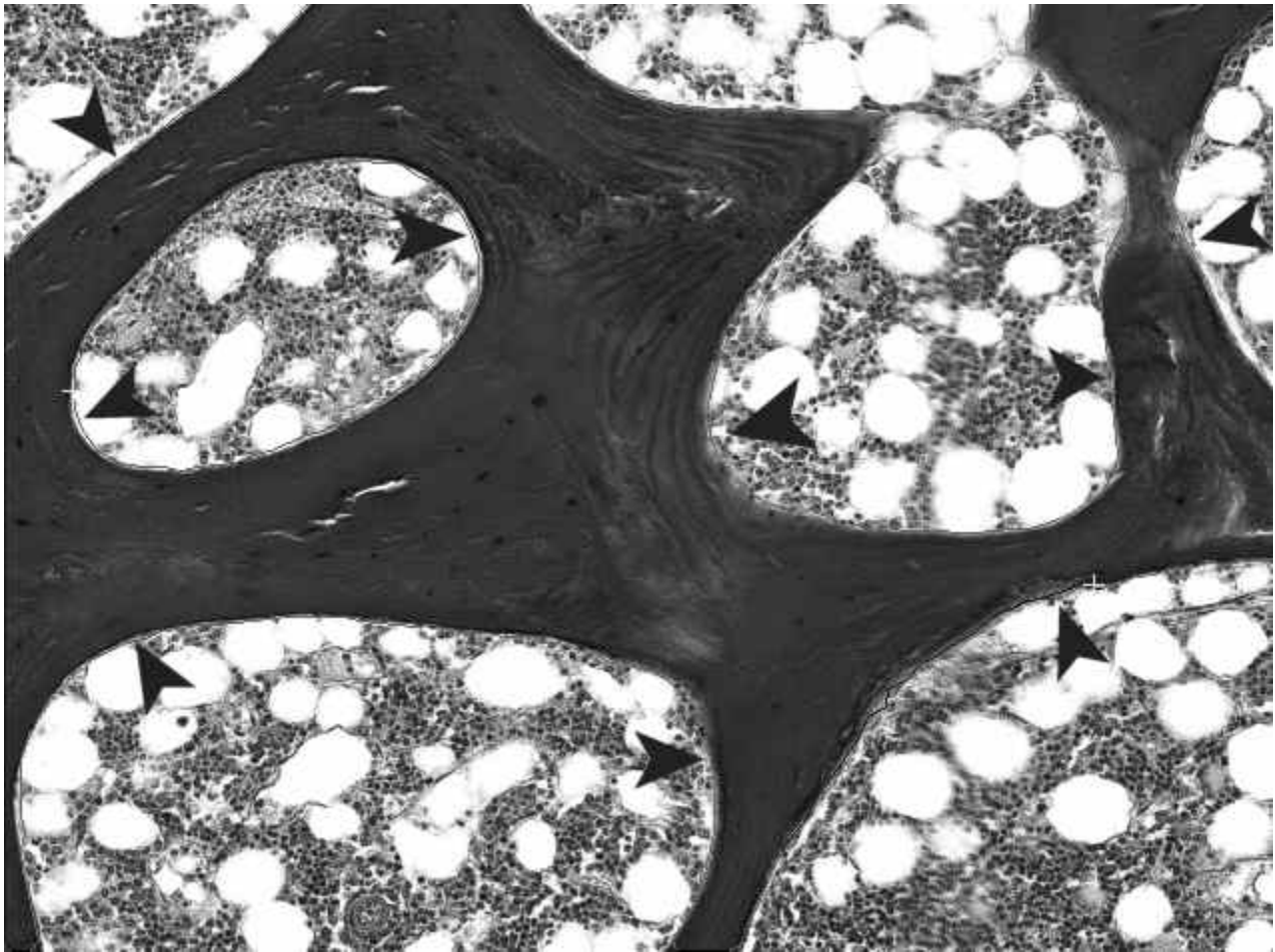
Εικόνα 5 Διπλή χρώση με τετρακυκλίνη. Διακρίνονται δύο γραμμοειδείς περιοχές. Μεταξύ των δύο γραμμών υπάρχει νεοπαραχθέν οστό.



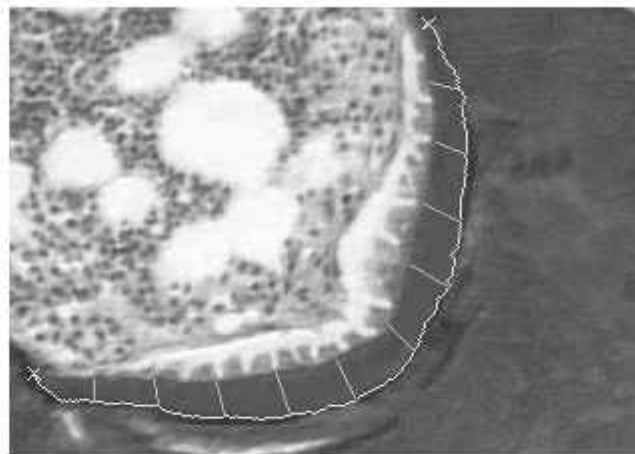
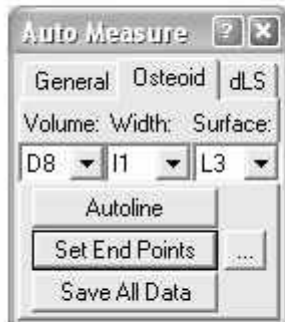
Εικόνα 6 Διπλή σήμανση με τετρακυκλίνη. Απεικονίζεται τμήμα του οστικού φλοιού. Στη δεξιά άκρη της εικόνας παρουσιάζεται η πρώτη γραμμή σήμανσης και στην αριστερή πλευρά η δεύτερη. Η απόσταση μεταξύ αυτών είναι 280 μm και αντανakλά το οστό που σχηματίστηκε κατά τη διάρκεια των 2 ετών. Η ημερήσια παραγωγή οστού ήταν 0.4 μm . Από τον Rauch, *Pediatr Nephrol* (2006) 21: 457-462.



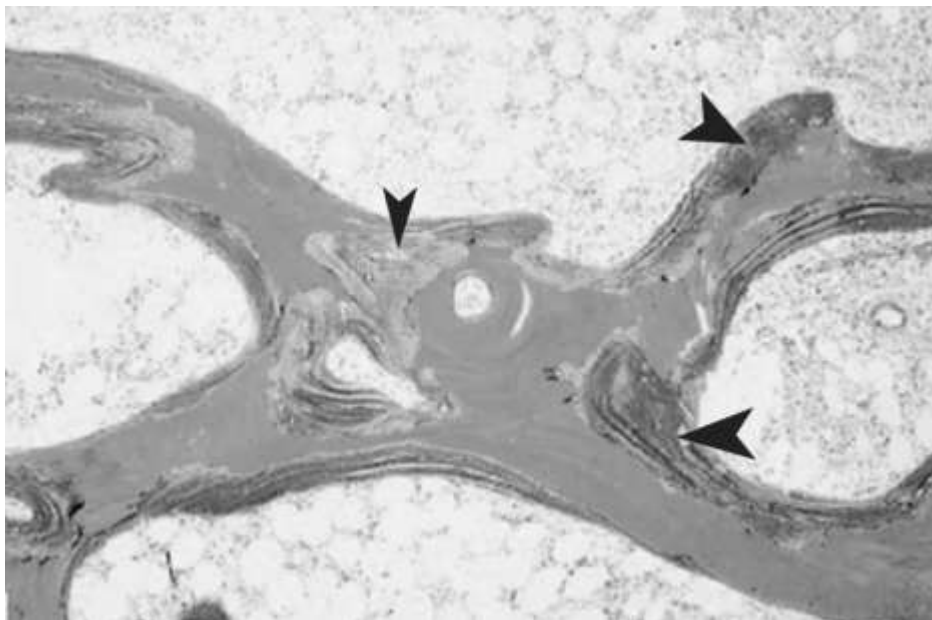
Εικόνα 7. Ιστομορφομετρική μελέτη του σπογγώδους οστού. Ειδικό λογισμικό ορίζει αυτόματα ή ημιαυτόματα την περίμετρο του σπογγώδους οστού (βέλη) και την μετρά με ακρίβεια. BIOQUANT Image Analysis, TN, ΗΠΑ.



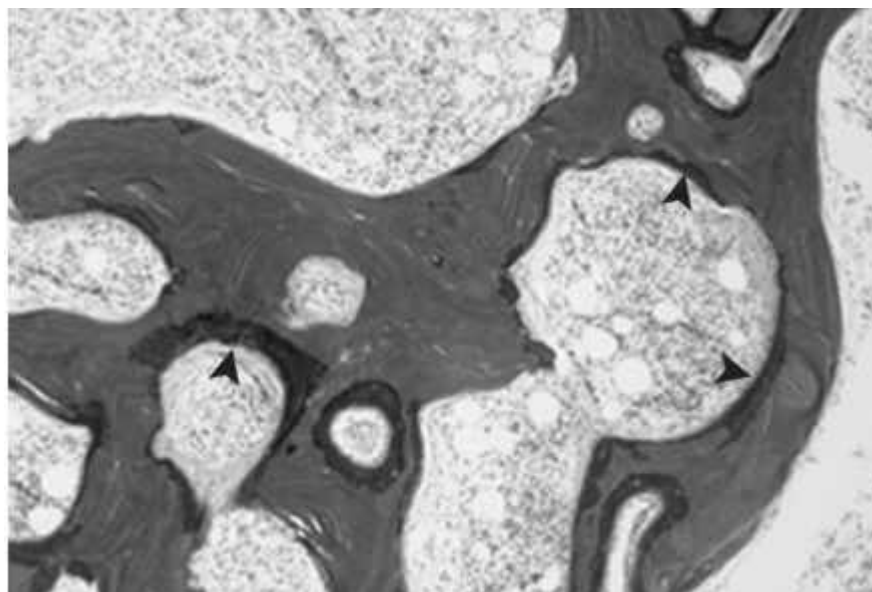
Εικόνα 8. Μέτρηση της επιφάνειας και του πάχους του οστεοειδούς που βρίσκεται στην επιφάνεια μίας δοκίδας. BIOQUANT Image Analysis, TN, ΗΠΑ.



Εικόνα 9. Χαρακτηριστική εμφάνιση της οστεομαλακίας. Παρατηρούνται εναποθέσεις οστεοειδούς (βέλη) στην επιφάνεια των οστικών δοκίδων. Χρώση Masson-Goldner, X100.



Εικόνα 10. Τυπική εικόνα νεφρικής οστεοδυστροφίας. Στην νεφρική οστεοδυστροφία παρατηρείται σημαντική παραγωγή οστεοειδούς (βέλη) και οστεοκλαστική απορρόφηση.



Εικόνα 11. Τρισδιάστατη απεικόνιση διαλαγόνιας βιοψίας ασθενούς με οστεοπόρωση λόγω αλκοολισμού με micro-CT.