

Caracterización composicional y microtextural del tejido óseo cortical y medular de gallinas ponedoras

/ ALEJANDRO B. RODRIGUEZ-NAVARRO (1*), JULIA ROMERO-PASTOR (1), PEDRO ALVAREZ-LLORET (2), HEATHER MCCORMACK (3), IAN DUNN (3).

(1) Departamento de Mineralogía y Petrología, Universidad de Granada, 18002 Granada (España)

(2) Departamento de Geología, Universidad de Oviedo, 33003 Oviedo (España)

(3) Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Easter Bush, Midlothian, EH25 9RG, Scotland, (R.U.)

INTRODUCCIÓN

Los organismos fabrican tejidos mineralizados (p.ej., huesos, conchas de moluscos, cascarnes de huevo) con unas morfologías y microestructuras muy sofisticadas que utilizan para diferentes funciones. Estos tejidos están formados por una parte mineral (generalmente fosfatos, carbonatos o sílice) integrada en una matriz orgánica de composición compleja. Estos tejidos, aparte de ejercer una función protectora y/o de soporte del aparato locomotor (en vertebrados), desempeñan un papel fundamental en el metabolismo del calcio, manteniendo los niveles de calcio en el plasma sanguíneo necesarios para las funciones celulares normales. Las aves hembras, y las gallinas ponedoras en particular, han desarrollado un metabolismo de calcio muy eficaz y especializado, ya que necesitan movilizar grandes cantidades de calcio, para la formación de la cáscara del huevo, durante el periodo reproductivo (Whitehead & Fleming, 2000). Durante la mineralización de la cáscara, necesitan movilizar diariamente una gran cantidad de calcio (2 g), que equivale a más del 10% del calcio del esqueleto. Para ello, durante el periodo de puesta, las gallinas dejan de producir hueso cortical y trabecular para desarrollar una nueva forma de hueso (medular) que puede ser más fácilmente reabsorbido para una rápida liberación y suministro de calcio. Sin embargo, los osteoclastos continúan con la reabsorción de hueso cortical y trabecular produciéndose una reducción progresiva de la cantidad de hueso estructural. Esta reducción se compensa con la acumulación de hueso medular, que mantiene la cantidad total de hueso casi constante. Sin embargo, el hueso medular es estructuralmente más débil que el hueso estructural total. Así, las gallinas ponedoras pueden desarrollar

una forma de osteoporosis severa, que hace que sus huesos se vuelven más frágiles y vulnerables a fracturas (Whitehead & Fleming, 2000).

Por tanto, las gallinas ponedoras presentan tres tipos de tejido óseo (hueso cortical, trabecular y medular) que difieren en su estructura y composición. Con objeto de caracterizar la estructura, organización y composición de los diferentes tejidos calcificados, hemos utilizado diferentes técnicas analíticas (SEM, 2D-XRD, FTIR) que proporcionan información complementaria sobre su organización microestructural, composición química y mineralógica. Esta información permite entender mejor el modo de formación y propiedades del tejido óseo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron huesos (tibia) de gallinas ponedoras White Leghorn. Las muestras se seccionaron y prepararon en láminas delgadas para su observación mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido en modo BSE (LEO Geminis). Asimismo, se separaron la parte de hueso cortical de la parte del hueso medular de la cavidad ósea. Se analizaron las muestras con un difractor de cristal único equipado con un detector bidimensional (BRUKER Smart Apex) para determinar la composición mineral, cristalinidad y orientación de los cristales. Asimismo, se analizó la composición de los dos tipos de tejido óseo con un espectrómetro de infrarrojos en modo ATR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las imágenes de electrones retrodispersados de un corte radial del la tibia permiten distinguir claramente el tejido óseo cortical (pared externa del hueso) del medular (situado en el

interior de la cavidad del hueso). El hueso cortical es muy denso y está altamente organizado. En éste se observan líneas concéntricas de crecimiento de tejido óseo alrededor de los canales del Sistema Harvesiano (centros de osificación; Glimcher, 1998). Por otra parte, el hueso medular está caracterizado por su distribución homogénea de espículas mineralizadas dispersas en una matriz orgánica, que presenta poco contraste en la imagen de BSE debido a su baja densidad electrónica.

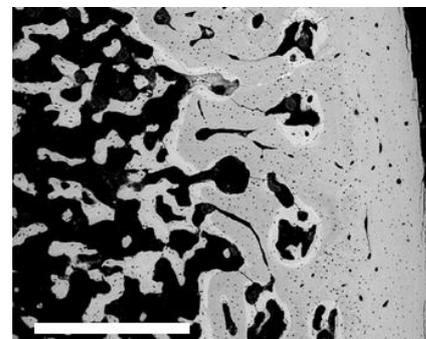


fig.1. Imagen SEM-BSE de una sección radial de tibia de gallina. Escala: 500 micras.

Los patrones de difracción de rayos X bidimensional también permiten distinguir claramente los dos tipos de tejido óseo debido a su diferente organización microestructural. El hueso cortical presenta un patrón característico de un material con textura fibrosa en la que la intensidad de algunas reflexiones (002 del apatito) se concentra en arcos, indicativos de que este tipo de hueso está constituido por cristales de apatito con el eje c paralelo a la dirección de elongación del hueso. Esta orientación preferencial de los cristales se debe a su vez a una disposición alineada de las fibras de colágeno en las cuales nucleon los cristales de apatito (Glimcher, 1998). En ambos casos, el único mineral que se puede distinguir es el hidroxilapatito.

palabras clave: Biomineralización, apatito, colágeno, FTIR.

key words: Biomineralization, apatite, collagen, FTIR.

Por otra parte, la anchura de sus picos es notable debido al tamaño nanométrico de los cristales.

Los análisis mediante espectrometría de infrarrojos (ATR-FTIR) muestran diferencias composicionales importantes entre ambos tipos de tejido óseo. El hueso cortical presenta unas bandas de absorción de fosfatos más intensas debido a su mayor grado de minerallización. El hueso medular tiene una composición más rica en materia orgánica (colágeno, lípidos y polisacáridos) como indican las bandas de absorción más intensas de los amida (aprox. a 1660 cm^{-1} ; proteínas/colágeno) grupos CH (aprox. a 2900 cm^{-1} ; lípidos) y COC y CO (aprox. a 1100 cm^{-1} ; asociados a glúcidos). Estos resultados concuerdan con otros autores que describen que el hueso medular es rico en proteoglicanos (Fleming et al., 2006).

CONCLUSIONES

Los dos tipos de tejido óseo estudiados difieren notablemente en sus características microtexturales y composicionales para ajustarse mejor a sus funciones específicas: hueso medular (reserva de calcio) y hueso cortical (estructural).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación del proyecto CGL2011-25906 (Ministerio de Ciencia e Innovación), GREIB PYR-01-2010 (U. Granada) y del grupo RNM-179 (Junta de Andalucía).

REFERENCIAS

- Fleming, R.A.; McCormack, H. A.; McTeir, L. et al. Relationships between genetic, environmental and nutritional factors influencing osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*, v.47, n.6, p.742-755, 2006.
- Glimcher, M. J. (1998): The nature of the mineral phase in bone: Biological and clinical implications. In *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders*; Alvioli, L. V., Krane, S. M., Eds.; Academic Press: San Diego; pp 23-50.
- Stringer, D.A. & Taylor, D.G. (1961): The calcification mechanism as exemplified by a histochemical study of avian medullary bone. *Biochemical Journal*, **78**: 19.
- Whitehead, C.C. & Fleming, R.H. (2000): Osteoporosis in cage layers. *Poultry Science*, **79**: 1033-1041.