

Densitometría dual de rayos X para la determinación de densidad y contenido mineral óseo en ratas hembras *

Brem, J.J.¹; Lanari Zubiaur, A.E.²; Trulls, H.E.¹; Pochon, D.O.¹; Picot, J.A.¹; Brem, J.C.¹

¹Cátedra de Biofísica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139 Corrientes (3400), Tel/ Fax: 03783–434372, Int.150, E–mail: fisbiol@vet.unne.edu.ar

²Instituto de Diagnóstico por Imágenes TC–2000, Catamarca 744, Corrientes, Argentina.

Resumen

Brem, J.J.; Lanari Zubiaur, A.E.; Trulls, H.E.; Pochon, D.O.; Picot, J.A.; Brem, J.C.: Densitometría dual de rayos X para la determinación de densidad y contenido mineral óseo en ratas hembras. *Rev. vet. 15: 1, 27–30, 2004.* En el diagnóstico por imágenes, los estudios radiográficos son poco precisos para la identificación de pequeños cambios estructurales del tejido óseo producidos por alteraciones metabólicas, a lo cual se suman las dificultades propias de su interpretación, ocasionadas por la subjetividad del observador. En la búsqueda de un método más objetivo se pudo demostrar que la densitometría ósea permite detectar tempranamente y en forma muy sensible cambios morfológicos del hueso, ya sea por sí sola o combinada con algunos indicadores bioquímicos relacionados a su actividad metabólica. Los parámetros en estudio pueden modificarse por cambios en la relación calcio–fósforo provocados por desequilibrios nutricionales de la dieta, senilidad y enfermedades tales como osteoporosis, hiperparatiroidismo primario, hipertiroidismo, enfermedad de Paget e hipercalcemia maligna. En este trabajo se realizaron exámenes por densitometría dual de rayos X (DEXA) para obtener valores de referencia en ratas hembras y poder ser utilizados en ciertos modelos experimentales de patologías óseas, como la osteoporosis de animales ovariectomizados. Se utilizaron 15 ratas hembras de la cepa Wistar, de 9 meses de edad, con peso promedio de $354,6 \pm 9,30$ g, alimentadas con balanceado acorde a la especie. Los estudios se realizaron con un densitómetro dual de rayos X marca Hologic, modelo QDR, versión 2000 plus, dotado de un software especial para pequeños animales. Los valores medios obtenidos para cuerpo entero y tres regiones pre-determinadas fueron, para CMO (contenido mineral óseo): $5,3131 \pm 0,3942$; $0,4945 \pm 0,0490$; $0,1543 \pm 0,0160$ y $0,1463 \pm 0,0163$ g y para DMO (densidad mineral ósea): $0,1221 \pm 0,0039$; $0,1392 \pm 0,0085$; $0,1215 \pm 0,0051$ y $0,1251 \pm 0,0069$ g/cm², respectivamente.

Palabras clave: densidad mineral ósea, contenido mineral óseo, densitometría, ratas.

Abstract

Brem, J.J.; Lanari Zubiaur, A.E.; Trulls, H.E.; Pochon, D.O.; Picot, J.A.; Brem, J.C.: Density and bone mineral content determined by dual energy absorptiometry, in female rats. *Rev. vet. 15: 1, 27–30, 2004.* X–ray studies have little accuracy for the identification of small structural changes in the bone, due to metabolic alterations. In addition, results from the interpretation of the images are technician dependent. Bone densitometry allows to detect early morphologic changes in the bone and, together with the consideration of some biochemist parameters, have high sensibility. Such parameters may be modified by changes in the calcium–phosphorous relation, due to nutritional imbalances of the diet, aging and diseases such as osteoporosis, primary hyperparathyroidism, hyperthyroidism, Paget's disease and malignant hypercalcemia. In this work, X–ray dual energy absorptiometry was used to obtain reference parameters in female rats, for their later utilization in some experimental models of bone pathologies, like osteoporosis in ovariectomized animals. For this purpose, fifteen female Wistar rats, nine months–old, 354.6 ± 9.3 g were used. Studies were performed with a dual X–ray Hologic model QDR Ver. 2000 plus absorptmeter, with a special software for small animals. Bone mineral content (BMC, g) and bone mineral density (BMD, g/cm²) values for total carcass and three pre–determined regions were, respectively: 5.3131 ± 0.3942 ; 0.4945 ± 0.0490 ; 0.1543 ± 0.0160 ; 0.1463 ± 0.0163 and 0.1221 ± 0.0039 ; 0.1392 ± 0.0085 ; 0.1215 ± 0.0051 ; 0.1251 ± 0.0069 .

Key words: density bone mineral, content bone mineral, densitometry, rats.

INTRODUCCIÓN

El uso de la densitometría dual por rayos X (DEXA) en la investigación animal ha tenido un importante avance en los últimos años. La densitometría ósea permite detectar en forma muy temprana y sensible cambios morfológicos del hueso^{9, 10, 14, 19}, ya sea por sí sola o combinada con algunos indicadores bioquímicos relacionados a su actividad metabólica^{4-6, 21}. Se han encontrado correlaciones muy significativas entre este método respecto al análisis químico del porcentaje de grasa corporal y al contenido mineral del hueso o de sus cenizas^{13, 20}; incluso se ha hallado buena correspondencia de resultados entre dos modelos muy distintos de equipos DEXA¹⁶.

La absorciometría de rayos X de doble energía realizada mediante un *software* especial para pequeños animales es una excelente técnica para medir la densidad mineral ósea en ratas^{1, 17, 18}, recomendándose diferentes condiciones de trabajo del equipo para cada zona del cuerpo en particular, a diferencia de la utilizada para cuerpo entero¹⁸.

En otra oportunidad ya utilizamos esta técnica sobre un modelo experimental en ratas, pero los trabajos se realizaron exclusivamente sobre machos^{2, 3}. El objetivo de este ensayo fue obtener valores de referencia en ratas hembras, útiles para la caracterización de la patología ósea que actualmente nos ocupa, como lo es la osteoporosis provocada experimentalmente por ovariectomía bilateral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 15 ratas hembras de la cepa Wistar, de 9 meses de edad y $354,6 \pm 9,3$ g de peso medio, alimentadas con balanceado acorde a la especie. Los estudios se realizaron con animales bajo anestesia general (hidrato de cloral a dosis de 300 mg/kg vía intraperitoneal), administrando penicilina sódica (20.000 UI/kg) a efectos de prevenir infecciones secundarias.

Se utilizó un densitómetro dual de rayos X marca Hologic, modelo QDR, versión 2000 plus (Figura 1), calibrado con una intensidad de 300 mA y una ventana de muestreo de 1,7 a 3,3 mm. Las pruebas se realizaron con el auxilio de un *software* especial para pequeños animales, con un calibrado previo para realizar una curva de densidad mediante una escalera de acrílico *ad hoc*.

Se analizaron las variables referidas al contenido mineral óseo (BMC, expresadas en g) y a la densidad mineral ósea (BMD, expresadas en g/cm²). Las pruebas densitométricas se efectuaron sobre cuerpo entero y sobre tres regiones preestablecidas: región 1 (columna lumbar) y regiones 2 y 3 (tercio proximal del fémur de ambos lados), obteniéndose imágenes como la expuesta en la Figura 2.

Los resultados para BMC y BMD fueron analizados estadísticamente con el auxilio del *software Statistix 3.5*, 1991, obteniéndose estadísticas descriptivas



Figura 1. Posición del animal durante la realización del estudio.

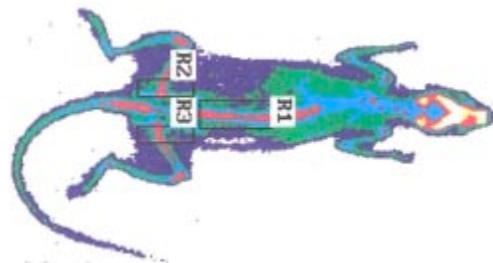


Figura 2. Imagen densitométrica obtenida en una de las ratas.

(media aritmética, desvío estándar, coeficiente de variación e intervalo de confianza del 95%).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores obtenidos para la concentración mineral ósea y la densidad mineral ósea de cuerpo total y regiones predeterminadas, se muestran respectivamente en Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Valores de BMC para cuerpo entero y regiones consideradas (g).

parámetro	global	región 1	región 2	región 3
\bar{x}	5,3131	0,4945	0,1543	0,1463
DE	0,3942	0,0490	0,0160	0,0163
IC < 95%	5,0855	0,4662	0,1451	0,1369
IC > 95%	5,5407	0,5228	0,1636	0,1557
CV	7,4189	9,8993	10,399	11,153

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, IC: intervalo de confianza, CV: coeficiente de variación

Tabla 2. Valores de BMD para cuerpo entero y regiones consideradas (g/cm²).

parámetro	global	región 1	región 2	región 3
\bar{x}	0,1221	0,1392	0,1215	0,1251
DE	0,0039	0,0085	0,0051	0,0069
IC < 95%	0,1198	0,1343	0,1185	0,1211
IC > 95%	0,1243	0,1441	0,1244	0,1292
CV	3,20	6,08	4,21	5,57

\bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, IC: intervalo de confianza, CV: coeficiente de variación

Los valores de ambas variables fueron considerablemente inferiores a los obtenidos sobre animales machos utilizando el mismo equipo³, así como también los comunicados por otros autores para BMD en ratas hembras^{8,22}. Por otro lado, las cifras encontradas para ambos parámetros fueron similares a las de un trabajo anterior realizado en machos con un instrumento de características diferentes². Ello es coincidente con lo reportado por investigadores que hallaron buena correlación entre resultados obtenidos con dos modelos muy distintos de equipos DEXA¹⁶.

También pudo observarse alta correlación en la regresión lineal entre la densidad mineral ósea obtenida por densitometría dual y el volumen mineral de las cenizas de huesos de ratas, tanto en la espina lumbar *in vivo* como en el fémur *in vitro*⁷. En patologías experimentales, a través del DEXA se encontró que el grado de osteopenia debido a la ovariectomía en ratas no correlacionó con el nivel de calcio dietario, ni con la eficacia en la absorción de calcio¹². Algunos investigadores detectaron una sobreestimación del contenido mineral óseo obtenido por DEXA, respecto al peso de las cenizas, aunque la correlación entre ambos fue alta; sostienen que los estudios de densidad mineral ósea y contenido mineral óseo obtenidos por DEXA tienen la precisión necesaria para el estudio de pequeños animales de laboratorio¹⁵. Otros en cambio, realizando estudios comparativos entre DEXA y análisis químicos directos, encontraron diferencias significativas respecto al volumen de grasa corporal y contenido mineral del hueso en el sentido que el DEXA sobrevalora los animales con bajos contenidos y subestima los más altos, concluyendo que debería mejorarse el *software* utilizado para pequeños animales¹¹.

Agradecimientos:

Al Med.Vet. P.A. Zeinsteger, por la valiosa colaboración prestada.

REFERENCIAS

- Bertin E, Ruiz IC, Mourot J, Peiniau P, Portha B. 1998. Evaluation of dual-energy X-ray absorptiometry for composition assessment in rat. *J Nutr* 128: 1550-1554.
- Brem JJ, Pochon DO, Trulls HE, Mársico J. 1999. Evaluación densitométrica de la composición del tejido corporal de ratas tratadas con tetratiomolibdato de amonio. *Anales de la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la SGCYT-UNNE*, Corrientes, Argentina, 4: 97-100.
- Brem JJ, Lanari Zubiaur AE, Trulls HE, Pochon DO, Picot JA. 2002. Densitometría ósea en ratas deficientes en cobre. *Anales de la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la SGCYT-UNNE*, Corrientes, Argentina, 5: 27.
- Delmas PD. 1988. Biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. In: *Osteoporosis* (Riggs BL, Melton LJ Ed), Raven Press, New York, p. 297-316.
- Delmas PD. 1993. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 8: 5549-5554.
- Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. 1988. Bone formation rate in older normal women: concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 741-748.
- Gala Paniagua J, Diaz Curiel M, De la Piedra Gordo C, Castilla Reparaz C, Torralbo Garcia M. 1998. Bone mass assessment in rats by dual energy X-ray absorptiometry. *Br J Radiol* 71: 754-758.
- García Moreno C, Calvo OM, Herrero S, Martín E, Suquía B, San Roman JI, Nartin M, García Talavera JR, Calvo JJ, del Pino J. 1995. Heterogeneous decrease of bone mineral density in the vertebral column of ovariectomized rats. *Bone* 16: 295-300.
- Han SM, Szarzanowicz TE, Ziv I. 1998. Effect of ovariectomy and calcium deficiency on the ultrasound velocity, mineral density and strength in the rat femur. *Clin Biochem* 13: 480-484.
- Higdon K, Scott A, Tucci M, Benghuzzi H, Tsao A, Puckett A, Cason Z, Hughes J. 2001. The use of estrogen, DHEA and diosgenin in a sustained delivery setting as a novel treatment approach for osteoporosis in the ovariectomized adult rat model. *Biomed Sci Instrum* 37: 281-286.
- Jebb SA, Garland SW, Jennings G, Elia M. 1996. Dual energy X-ray absorptiometry for the measurement of gross body composition in rats. *Br J Nutr* 75: 803-809.
- Kalu DN, Orhii PB. 1999. Calcium absorption and bone loss in ovariectomized rats fed varying levels of dietary calcium. *Calcif Tissue Int* 65: 73-77.
- Ladizesky MG, Zeni SN, Mautalen CA. 1994. Precise measurement of bone mineral density in rats using dual-energy X-ray absorptiometry. *Acta Physiol. Pharm* 44: 30-35.
- López Castejon A, Revilla M, Hernández ER, Villa IF, Rico H, Cortes J. 1999. Effect of induced uterine retroversion on bone mass in rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 83: 101-104.
- Lu PW, Briody JN, Howman-Giles R, Trube A, Cowell CT. 1994. DXA for bone density measurement in small rats weighing 150-250 grams. *Bone* 15: 199-202.
- Makan S, Bayley HS, Webber CE. 1997. Precision and accuracy of total body bone mass and body composition measurements in the rat using X-ray based dual photon absorptiometry. *Can J Physiol Pharmacol* 75: 1257-1261.
- Mitlak BH, Schoenfeld D, Neer RM. 1994. Accuracy, precision and utility of spine and whole-skeleton mineral measurement by DXA in rats. *J Bone Miner Res* 9: 119-126.
- Petersen MM, Nielsen PK, Lewin E, Olgaard K. 2000. Dual energy X-ray absorptiometry in small rats with low bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 67: 455-459.
- Prakasam G, Yeh JK, Chen MM, Castro Magana M, Liang CT, Aloia JF. 1999. Effects of growth hormone and testosterone on cortical bone formation and bone density in aged orchietomized rats. *Bone* 24: 491-497.
- Rose BS, Flatt WP, Martin RI, Lewis RD. 1998. Whole body composition of rats determined by dual energy X-

- ray absorptiometry is correlated with chemical analysis. *J Nutr* 128: 246–250.
21. **Vanderschueren D, Van Herck E, Schot P, Rush E, Einhorn T, Geusens P, Bovillon R.** 1993. The aged male rat as a model for human osteoporosis: evaluation by nondestructive measurements and biochemical testing. *Calcif Tissue Int* 53: 342–347.
 22. **Zeni SN, Gomez Acotto C, Di Gregorio S.** 1998. El olpadronato previene la pérdida de hueso cortical y trabecular inducida por dosis suprafiológicas de tiroxina en ratas ovariectomizadas. *Medicina* 58: 453–457.