

ANALES DE LA UNIVERSIDAD DE VALENCIA

ANTONIO MURCIA GARCÍA

EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓ-  
GICOS EN EL DIAGNÓSTICO ESPECÍFICO  
DE LOS HUESOS



VOL. XXXVII - CURSO 1963-64  
CUADERNO III-2.º - MEDICINA

ILUSTRÍSIMOS SEÑORES:

Para todo universitario, contagiado a su paso por las aulas y laboratorios con el ejemplo vivo de sus maestros, conseguir como digno remate de sus estudios el grado de Doctor, constituye una aspiración justificada y vivamente anhelada. Con harta frecuencia, sin embargo, la realidad de las necesidades vitales impone crudamente actividades profesionales que desvían aquel primitivo impulso y aún lo malogran en ocasiones. Pero siempre queda latente el germen de aquella ilusión que, una vez conseguida cierta estabilidad, sedimentados los elementos perturbadores de aquellos proyectos, nuevamente los pone en marcha para florecer en inquietudes investigadoras y puramente científicas que le sitúan en condiciones de aportar alguna contribución original con la que pretender tal máximo título académico.

Este ha sido mi caso, favorecido por especiales condiciones para el rebrotar del estímulo a la investigación y a la decencia; pues tras varios años de haber terminado mis estudios de la Licenciatura, en que estuve dedicado de lleno al ejercicio profesional, mi condición de Médico Forense me puso en contacto frecuente con el Profesor Dr. D. Leopoldo López Gómez, Catedrático de Medicina Legal de esta Facultad. La sensibilidad del Profesor López Gómez, captando tal vez esta inquietud mía, supo atraerme y vincularme a su servicio en el que he venido desempeñando actividades didácticas en los últimos años y, de forma interina la Adjunta de su Cátedra. Nuevamente viviendo el ambiente universitario, experimentando la influencia de su afectuoso y paternal consejo, de su ejemplo científico, me he visto estimulado a vencer los obstáculos que mi modestia científica encontraba para lograr aquel anhelo juvenil, que ahora veía al alcance de mi mano.

Es por ello de justicia proclamar, antes de proceder a exponer el trabajo con el que pretendo conseguir el Grado de Doctor, la gratitud más profunda y sincera a mi querido Maestro, el Profesor D. Leopoldo López

Gómez, bajo cuya dirección he realizado las investigaciones que lo constituyen y sin cuyo generoso patrocinio y dirección no hubiera podido llevar a término.

En esta gratitud debo unir el nombre de mi fraternal amigo, Profesor Dr. D. Juan Antonio Gisbert Calabuig, Catedrático de Medicina Legal de la Facultad de Medicina de Granada, pues me inició en la labor experimental e investigadora y con él comencé los primeros pasos de este trabajo cuando aún era Profesor Adjunto de la Facultad de Medicina de Valencia, y que después me ha seguido estimulando y apoyando en estos quehaceres, ayudándome a resolver las frecuentes dificultades que he hallado, dada mi inexperiencia en esta clase de investigación.

Que los méritos de estos Maestros sean valedores de mi trabajo, pues sin ellos hubiera quedado en el camino empresa tan desproporcionada a mis fuerzas.

No extrañaré que, siendo los Profesores López Gómez y Gisbert Calabuig mis mentores, unido a mi condición de médico forense, la elección de tema para mi Tesis Doctoral haya recaído sobre un tema de Medicina Legal, que tantos motivos apasionantes de investigación ofrece al científico. Siguiendo los consejos de mis Maestros, he trabajado para tratar de ampliar los medios de diagnóstico de la especie en restos óseos, o fragmentos de los mismos, por métodos histológicos.

Llegado el momento de presentarla ante tan digno Tribunal, se impone en mi conciencia la convicción de su modestia. Sin embargo, no puedo rehuir el compromiso de defenderla, pues no se trata de fruto alegre de improvisación, sino resultado de muchos meses de labor en el que han ido cristalizando las experiencias de casi dos lustros de carrera docente, desde que en 1953 obtuve por oposición la plaza de Médico Interno en la Cátedra de Medicina Legal de Valencia, pasando después a ser Ayudante de Clases Prácticas, también por oposición, y en la actualidad desempeñando las funciones de Profesor Adjunto. Durante este tiempo he ido sintiendo con mayor fuerza el impulso de la vocación universitaria, a la que traicionaría si dejara inéditos los resultados de mis investigaciones.

Mi gratitud anticipada por la benevolencia con que este Ilustre Tribunal la juzgue, si la considera digna de su aprobación.

## JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

La Criminalística es uno de los capítulos de la Medicina Legal que mayor número de problemas plantea, exigiendo la constante actualización de sus técnicas y el contraste de los resultados clásicos. En ella se comprende "el estudio sistemático de las huellas del delito dejadas por el culpable, mediante técnicas médicas o biológicas, para buscar y encontrar los indicios objetivos del hecho delictivo" (López Gómez).

Aunque aparentemente pueda parecer ciencia más policíaca que médica, muchas de las veces los problemas que plantea exigen conocimientos y técnicas de índole biológica y médica y, por consiguiente, entran de lleno en el campo de la competencia médica; lo que es lo mismo que decir que son necesariamente del dominio del médico legista.

Entendiéndolo así, los autores clásicos de la especialidad (Orfila, Otolenghi, Nicéforo, Kratter Stockis, etc.) dedicaron gran número de trabajos a estos problemas, creando un cuerpo científico sistematizado y coherente. Cuestiones relativas a las manchas de líquidos biológicos, a restos orgánicos, a la identidad del sujeto vivo y del cadáver, forman en su esencia el contenido de la Criminalística.

Muchos de estos problemas quedaron resueltos hace ya muchos años. De otros, los perfeccionamientos técnicos actuales han obligado a su revisión. Algunos aún están pendientes de resolver en forma satisfactoria.

Entre estos últimos puede incluirse el de la identificación de los restos óseos cuando se trata de pequeñas piezas o fragmentos. Una identificación completa de restos óseos, plantea sucesivamente: la determinación de la especie animal a que corresponden; de la raza, cuando se ha demostrado su origen humano; del sexo del sujeto a quienes pertenecen, así como de su edad, talla y rasgos individuales que permitan señalar exactamente la personalidad de que proceden.

Tales problemas se plantean cuando tiene lugar el hallazgo de restos óseos en lugares o en circunstancias que hacen sospechar que proceden de un hecho delictivo.

No se trata de casos frecuentes en la práctica médico legal; pero, su relativa rareza no excluye la necesidad de disponer de técnicas y de normas con que poder llegar a la solución de los problemas citados.

Concretándonos al primero de éstos, es decir, al diagnóstico de la especie a que pertenecen unos restos óseos, las dificultades dependen de la integridad del esqueleto problema. Cuando está completo, la solución es fácil sin más que recurrir a los conocimientos de anatomía comparada (Profichet, Balthazard, etc.); cuando el esqueleto es incompleto y, sobre todo, si sólo se dispone de huesos pequeños, tal recurso falla en algunas ocasiones. Pero las dificultades alcanzan su máximo al tener que establecer este diagnóstico de especie sobre fragmentos reducidos de huesos, tanto si corresponde a unas regiones como a otras y sea cual fuere la textura anatómica del fragmento.

Entre los métodos que se han propuesto para resolver este problema figuran:

1.º La mensuración del índice medular o relación entre el diámetro medular y el total del hueso, medidos al mismo nivel.

2.º Métodos biológicos, basados en la comprobación de las propiedades específicas de las albúminas animales, al ponerlas en contacto con los correspondientes inmuniseros.

3.º Métodos histológicos, basados en el análisis de la disposición y dimensiones de los conductos de Havers.

El primer método (mensuración del canal medular), tiene el inconveniente de que la medición de los dos diámetros citados, debe hacerse a nivel de la parte más estrecha de la diáfisis y si se trata de huesos cortos o fragmentos de huesos largos nos será imposible la aplicación de este procedimiento por no existir canal medular en los primeros y por no saber qué altura de la diáfisis tenemos en los segundos.

En cuanto a los métodos biológicos, solo son aplicables cuando el hueso conserva sustancias albuminoideas y éstas no han sufrido alteración que las prive de sus propiedades específicas. Es decir, que serán inaplicables estos procedimientos en huesos muy viejos, o en los jóvenes calcinados, o que hayan sufrido la acción de calor suficiente, ya que la permanencia del hueso en agua hirviendo le priva de las citadas propiedades

específicas, así como también, aunque con menos intensidad, el calor seco siendo la acción directa de la llama de resultados catastróficos, por lo que bastan veinte minutos de una temperatura de 150° para negativizar las reacciones específicas de las albúminas; también se negativizan por la simple maceración del hueso.

Por los motivos citados, en gran número de casos, fracasados los dos grupos primeros de métodos para el diagnóstico específico, hemos de recurrir al tercero de dichos grupos, que comprende los *métodos llamados histológicos*.

Estos métodos se basan en el supuesto de la distinta estructura histológica del hueso humano y los huesos animales.

El primer autor que dedicó atención a estos problemas fue Kenyeres, quien, en colaboración con Hegyi, en 1903, afirmó como conclusión de sus investigaciones comparativas:

1.° El diámetro de los conductos de Havers es, por término medio, tres veces más grande en el hombre que en los animales.

2.° La dirección de los conductos en el hombre es siempre paralela al eje mayor del hueso, y

3.° La densidad de los conductos de Havers es mayor en los animales que en el hombre.

Olichow, en 1904, confirma en líneas generales las anteriores afirmaciones, pero da más importancia diferencial al número de conductos encontrados en el campo microscópico, afirmando que cuando superan a veinte, verosímilmente se trata de hueso de animal.

Fana, en 1907, dice no hallar gran diferencia en el número de conductos de Havers, como en su tamaño, al cual concede papel preponderante, ya que en el hombre oscilarían entre 80 y 140 micras, mientras que en los animales alcanzarían, cuando más, las 35 micras. Reafirma la notable importancia de la presencia de canales transversales en los huesos de animales, que no se encontrarían nunca en huesos humanos, así como la disposición concéntrica de las laminillas óseas alrededor del conducto de Havers en el hombre, disponiéndose de forma más irregular en los animales, con tendencia a distribuirse en grupos horizontales y paralelos.

Wada se plantea análogos problemas en 1909, llegando a las mismas conclusiones que Kenyeres, pero señala como excepción los huesos de los recién nacidos, que se asemejan histológicamente a los de los monos. Aun en estos casos la diferenciación no sería posible, ya que en el hueso del

recién nacido, los límites entre las láminas del sistema de Havers y láminas intersticiales, serían del todo confusos y la disposición concéntrica de las lagunas óseas en torno a los conductos de Havers aún menos evidentes, mientras en los monos las láminas de Havers están netamente delimitadas y las lagunas óseas se disponen en forma claramente concéntrica.

Balthazard y Lebrun, revisando estas cuestiones (1911) mediante numerosos trabajos de control, afirman que el diámetro de los conductos de Havers aumenta en la serie animal cuanto más se aproxima a la especie humana, considerando este dato como suficiente para el diagnóstico diferencial; empero, en los monos la diferencia de diámetro con respecto al hombre sería tan poco notable que su distinción no sería posible, especialmente si el fragmento en examen perteneció a un niño.

Las primeras opiniones discordantes en cuanto a la aplicación de los resultados de estas investigaciones, son de Giese, seguido de su alumno Geyer (1910).

Ambos coinciden en no encontrar ninguna diferencia en la amplitud ni en el número de los conductos de Havers entre el hombre y los animales y en observar la presencia de canales transversales en el hombre, siendo así que siempre se habían considerado característicos de los huesos animales.

Kenyeres revisó estos argumentos con su discípulo Mäthias en 1913, confirmando en sustancia sus anteriores conclusiones. Dado que del estudio del valor medio de los conductos de Havers se obtienen datos inciertos, Mäthias propone reagrupar los valores medios obtenidos en clases de diez en diez micras; de esta forma resultan bien evidentes los valores máximos y mínimos del diámetro, no obstante la presencia de canales de iguales dimensiones en animales de diversas especies que aproximaban las distintas medias.

Burger, que al principio, en el Congreso de la Sociedad Alemana de Medicina Legal de 1913, había admitido la posibilidad de una distinción histológica, en 1916, después de nuevas investigaciones efectuadas bajo la dirección de E. Grass, ha atenuado el precedente juicio, no excluyendo que con ciertas limitaciones se pueda llegar a un diagnóstico diferencial.

Más excéptico se muestra Hey, después de numerosas investigaciones de control sobre huesos humanos (de fetos de 4 meses a adultos de 55 años) y de los animales más diversos.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

Sus hallazgos han demostrado que algunos huesos de animales pueden ocasionalmente distinguirse con claridad por su estructura histológica de los huesos humanos, mas por otra parte no faltan desconcertantes analogías.

Kernbach ha señalado que en el hombre los conductos de Havers son más grandes en la proximidad de la sustancia fundamental interna y más pequeños en la vecindad de la externa, de lo que se deduce que el diagnóstico diferencial debe hacerse sólo sobre fragmentos que interesen todo el espesor del hueso y que, comúnmente, hay puntos en que el hueso humano puede confundirse con el de los animales.

También pesimista, Petersen llega a negar la posibilidad absoluta del diagnóstico entre los huesos humanos y los de otros mamíferos. Cuando se trata de distinguir aquéllos de los de una determinada especie animal, se pueden encontrar rasgos diferenciales nítidos, que faltan cuando se trata de especies distintas, de forma que no podrían encontrarse reglas generales a este respecto.

Canuto, siguiendo el método de Mäthias, ha medido todos los conductos de Havers de un fragmento de hueso—un fragmento que permitiera la medición al menos de 200 ó 300 canales— y ha reagrupado las medidas en clases de 10 en 10 micras, reduciendo después la frecuencia obtenida en valores porcentuales para más fácil confrontación. De esas observaciones ha sacado la conclusión de que la diferenciación de los huesos de varios animales, con el método histológico, es prácticamente posible.

En el hombre se da la máxima variedad en los tamaños de los conductos y, junto a unos muy pequeños (16 micras) hay también otros muy grandes (150-200 micras), dimensión ésta no alcanzada por ningún animal; por lo demás en el hombre existe un límite mínimo para el diámetro de los canales, que debe situarse en las 16 micras.

En cuanto al número de los canales de Havers, en vez de referirse a datos calculados por campo de microscopio, prefiere hacer el recuento por mm.<sup>2</sup>. A tal fin se sirve de un diafragma colocado en el ocular, limitando el campo a un cuadrado cuyo lado había medido con un micrómetro objetivo.

La media de múltiples recuentos sobre el tejido compacto de la *diáfisis de los huesos largos*, ha sido para el hombre de 10-15, para el ternero

30-35, para el cerdo 40, para el perro 35-40, para el conejo 70-75 y para el pollo 125.

En otros huesos, sin embargo, como el tejido compacto de las vértebras y de las costillas, o de otros puntos del esqueleto, se encuentran cifras que se separan bastante de las anteriores y que pueden confundirse entre sí, ya que los conductos de Havers se hacen menos numerosos y huesos de otros animales pueden presentar un número de canales igual e incluso inferior al comprobado en los puntos más compactos de los huesos humanos.

Sólo la presencia de 18 a 20 canales por  $\text{mm.}^2$  podría hacer excluir, con certeza, que los huesos pertenecen a la especie humana.

Nuestro compatriota B. Aznar se ha ocupado también del problema analizando los canales de Havers de los huesos humanos y de animales en su aspecto métrico y morfológico, llegando a la conclusión de que en el hueso humano el número de canales de Havers por  $\text{mm.}^2$  oscila entre 8 y 10, mientras que en los animales es muy superior a estas cifras; en dependencia con esta densidad el diámetro de los canales de los huesos humanos es superior a 30 micras, mientras que el de los animales raramente llega a 25 micras; por último, en los huesos animales predominan los canales redondos, mientras que la forma elíptica e irregular es característica de la especie humana.

La Escuela de Medicina Legal de Kolosvar ha vuelto a ocuparse del tema por intermedio de György y Máthias, reconociendo en síntesis la necesidad de extender el estudio a la arquitectura total del hueso (sobre cuya base pueden ser identificados diversos "tipos") y, de un modo particular, al sistema vascular de aquéllos (distribución, dirección y desarrollo de la red vascular).

Amprino y Bairati han confirmado la posibilidad de llegar a un diagnóstico diferencial histológico entre huesos de hombre y de animales, pero sostienen que deben tenerse en cuenta, más que los valores cuantitativos relativos a los canales de Havers, las diferencias en las respectivas relaciones materiales y de la dirección de los osteones, a la existencia y orientación de las láminas fundamentales, a la presencia de líneas "cementadas" y a una manifiesta osteoporosis, todo ello típico de la especie humana. Una distinción segura sólo sería, pues, posible y aún no siempre, para quien haya adquirido un profundo conocimiento de la osteología microscópica humana y comparada.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

Goldbach e Hinüber, abundando en la misma opinión, proponen en 1955 una sistemática para el estudio de los elementos formales de los huesos de mamíferos, tomando en cuenta la estructura general del hueso, la red venosa y los sistemas de Havers.

Como se desprende de las anteriores referencias, los resultados comunicados por los distintos autores que se han ocupado del problema, no son totalmente concordantes y dejan en el lector dudas acerca de cómo interpretar sus observaciones en un caso concreto.

Y, sin embargo, creemos que es importante el método y necesario recurrir a él en ciertas ocasiones de la práctica médico-legal. Es por ello que nos hemos propuesto este problema como meta de nuestro trabajo de tesis, en el que vamos a tratar de comprobar si existen o no diferencias histológicas entre los huesos humanos y los de animales; cuáles de éstas tienen el mayor valor diagnóstico y, en suma, el interés práctico de los métodos histológicos para el diagnóstico específico de los huesos.

## PLAN DE TRABAJO

El objetivo de nuestras investigaciones es el de llegar a una sistemática que permita el diagnóstico diferencial específico en fragmentos de hueso.

Para llegar a él, nos hemos marcado cuatro etapas sucesivas:

- 1.<sup>a</sup> Estudio de las técnicas histológicas más adecuadas al fin propuesto.
- 2.<sup>a</sup> Análisis de un número suficiente de fragmentos óseos correspondientes a las especies animales más probablemente objeto de confusión en la práctica médico-legal.
- 3.<sup>a</sup> Análisis de un número suficiente de fragmentos de huesos humanos, correspondientes a edades distintas, para tomar en consideración sus cambios evolutivos.
- 4.<sup>a</sup> Comparación entre los resultados de los dos apartados anteriores y deducción de normas y criterios diagnósticos, así como del valor de los mismos.

En los capítulos sucesivos expondremos los resultados de nuestras investigaciones personales, que analizaremos críticamente, para deducir unas conclusiones válidas.

## MÉTODOS Y TÉCNICAS

El primer paso en nuestro trabajo ha sido el determinar la técnica que mejor se preste al estudio analítico de la estructura ósea, teniendo en cuenta los fines propuestos y la posibilidad de que aquel no se limitara a la mensuración y caracteres morfológicos de los conductos de Havers, sino que debiera extenderse a otros elementos de la textura ósea.

Por ello nos propusimos elegir, entre los métodos que ofrecieran mejores auspicios para nuestros fines, aquel que comprobásemos como más útil por su sencillez, economía y rapidez y, especialmente, por sus resultados más perfectos. Por la naturaleza propia del tejido óseo las técnicas histológicas requieren un paso obligado de decalcificación, que es el que ofrece las mayores dificultades. Entre las diversas variantes recomendadas para este tiempo, hemos ensayado comparativamente las siguientes, que parecían ofrecer alguna especial sugerencia:

- 1.<sup>a</sup> Decalcificación y fijación simultáneas.
- 2.<sup>a</sup> Decalcificación por el ácido tricloroacético.
- 3.<sup>a</sup> Decalcificación por el Complexon II.
- 4.<sup>a</sup> Decalcificación por electrolisis.
- 5.<sup>a</sup> Decalcificación por el ácido nítrico.

Los resultados obtenidos han sido los siguientes:

### A) DECALCIFICACIÓN Y FIJACIÓN SIMULTÁNEAS

Ha sido recomendado por Mc. Namara, Murphy y Gore, y lo aconsejan, entre otros, Palmieri. Su originalidad estriba en reunir en un solo tiempo la fijación y decalcificación, para lo que se utiliza un reactivo compuesto por dos soluciones:

ANTONIO MURCIA GARCÍA

*Solución A:*

Sublimado: 10 gr.

Agua: 300 c. c.

Disolver en caliente y dejar enfriar.

*Solución B:*

Ácido tricloroacético: 30 gr.

Agua: 100 c. c.

Disolver y añadir:

Alcohol de 96°: 50 c. c.

Ácido nítrico: 5 c. c.

Formalina: 40 c. c.

Se mezclan las dos soluciones y en la resultante se introduce el fragmento a decalcificar, procurando que la cantidad del reactivo sea, aproximadamente, 100 veces el volumen del material. La decalcificación se realiza a 37°, renovando todos los días la mezcla hasta reblandecimiento.

Los ensayos realizados con esta técnica, son superponibles a los que concede la decalcificación simple con ácido nítrico que veremos después, no justificándose el tener que preparar el reactivo, siempre más complejo, de los autores que tiene que conservarse necesariamente en nevera, sin lo cual se altera rápidamente.

**B) DECALCIFICACIÓN POR EL ÁCIDO TRICLOROACÉTICO**

Se emplea en solución acuosa al 5 por 100, adicionado con un 10 por 100 de formol. Una precaución a tener en cuenta para este reactivo es que el lavado subsiguiente a la decalcificación debe hacerse con alcohol de 90-96° y nunca con agua, ya que con ésta el tejido conjuntivo se hincha fuertemente, dando lugar a artefactos de preparación.

No hemos comprobado ninguna ventaja especial con este decalcificante, que, además, concede resultados más lentos que otros procedimientos.

### C) DECALCIFICACIÓN POR EL COMPLEXON II

Partiendo de la base que los decalcificantes ácidos pueden alterar la sustancia fundamental del hueso, falseando las imágenes estructurales, se ha pensado aprovechar las propiedades de los *agentes de quelación* que formarían complejos internos, hidrosolubles, con el calcio, obteniéndose así la decalcificación fácil y no lesiva del hueso (Vicent).

Dado este fundamento, que hace concebir esperanzas óptimas, hemos ensayado el Complexon II, preparado por Vorquímica, químicamente correspondiente a la sal sódica del ácido etilendiamino tetracético, en solución acuosa al 5 por 100. De esta solución, 1 c. c. reacciona con 5'388 mgr. de calcio; teniendo en cuenta que las sales inorgánicas constituyen el 60 por 100 del hueso y de éstas el 30 por 100 es de calcio ion, se necesitan 20 c. c. de solución decalcificante para disolver las sales cálcicas de 0,5 gr. de tejido óseo. Con esta proporción hemos calculado la cantidad de reactivo precisa para tratar los distintos fragmentos óseos.

Nuestros ensayos nos han obligado a desechar este método por la gran lentitud de su acción; aun reduciendo el hueso a láminas de 1 mm. de espesor, se tardan semanas en lograr una mediana decalcificación, insuficiente para practicar el estudio del hueso, ya que aun cuando la parte periférica de los fragmentos esté totalmente decalcificada, suelen quedar zonas centrales con restos de sales cálcicas que impiden obtener cortes correctos para su estudio histológico.

### D) DECALCIFICACIÓN POR ELECTROLISIS

Richmann, Gelfand e Hill han propuesto la decalcificación de los huesos por acción de corrientes débiles, con lo que se reduciría notablemente el tiempo necesario; otra ventaja, según estos autores, es que la pieza no requiere fijación previa.

Hemos hecho construir, para ensayar este método, una cuba electro-lítica en plexiglás con electrodos de platino y un sobrefondo desmontable y perforado, de forma que las sales que se desprendan puedan caer al fondo de la cuba.

Se coloca el fragmento óseo sobre el fondo perforado, se llena la cuba con el líquido electrolítico, se cubre la cuba con una tapa del mismo mate-

rial y se hace pasar una corriente continua de 6 voltios procedente de un acumulador o de un rectificador. Es aconsejable que el fragmento óseo esté próximo al polo positivo.

Como solución electrolítica, empleamos la siguiente:

Ácido fórmico (concentrado químicamente puro) .....	500 c. c.
Ácido clorhídrico ... ..	150 c. c.
Agua destilada ... ..	800 c. c.

de la que se emplea un volumen suficiente para cubrir con exceso el fragmento óseo y que debe renovarse con frecuencia.

Según nuestra experiencia, la rapidez de la decalcificación mejora sensiblemente, pero los resultados no son satisfactorios por cuanto que la solución electrolítica va mermando de volumen conforme transcurre el proceso, aumentando su concentración ácida. Como consecuencia, no es raro encontrar que se producen decalcificaciones parciales, es decir, más intensas en algunas porciones del fragmento óseo que llega a reducirse a una especie de papilla tan blanda que es prácticamente inútil para el fin que nos proponemos, mientras que otras zonas del fragmento apenas han llegado a decalcificarse.

#### E) DECALCIFICACIÓN POR EL ÁCIDO NÍTRICO

Ha sido el método que nos ha concedido mejores resultados, sin los inconvenientes señalados para los anteriores. Se emplea el ácido concentrado (p. e., 1'40), disuelto al 7 por 100 en volumen, que equivale al 5 por 100 en peso. Según Schaffer, el ácido nítrico es el decalcificante más rápido y económico; fragmentos de medio gramo pueden ser decalcificados en 10 horas.

Terminada la decalcificación la pieza debe mantenerse durante 24 horas en una solución al 5 por 100 de sulfato de sosa, a fin de evitar la hinchazón del tejido conjuntivo.

\* \* \*

En definitiva, pues, éste ha sido el método de decalcificación que hemos adoptado.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

En cuanto a las demás operaciones necesarias para la obtención de preparaciones histológicas: fijación, cortes, tinción y montaje, ensayos similares de las variantes propuestas nos han conducido a elaborar una técnica "standard" que hemos utilizado sistemáticamente en todo nuestro trabajo. Esta técnica, con los detalles precisos, abarca los siguientes pasos:

### 1.º FIJACIÓN

Se comienza por separar los restos de partes blandas que puedan ir unidas al hueso. Con una sierra fina se aísla una lámina de hueso, que abarque todo el grosor de la diáfisis, y cuyo espesor sea inferior a 1 mm.

Se introduce durante 24 horas en una solución al 40 por 100 de formol.

### 2.º DECALCIFICACIÓN

Como ha quedado dicho, se introduce el fragmento, ya fijado, en la solución al 7 por 100 en volumen de ácido nítrico (p. e., 1'40) que se renueva cada 24 horas y en la que se mantiene el tiempo necesario para que la decalcificación sea suficiente.

Esta operación está terminada cuando el fragmento ha adquirido una flexibilidad que permite doblarlo fácilmente y no ofrezca resistencia a la punción con una aguja. Por término medio el tiempo necesario varía entre dos y seis semanas, dependiendo de la especie animal de que proceda el hueso (el cordero y el cerdo son más fácilmente decalcificables; emplean más tiempo el hueso de ternera y, especialmente, el de caballo).

### 3.º LAVADO CON SULFATO SÓDICO

Para evitar la hinchazón del tejido conjuntivo, como se dijo, las piezas decalcificadas se introducen en un baño de sulfato sódico al 5 por 100 en el que permanecen durante 24 horas.

### 4.º LAVADO

Completado el paso anterior, se lava el fragmento óseo decalcificado durante 24 horas en agua corriente.

### 5.º CORTES

Los deficientes resultados obtenidos con la inclusión en parafina y celoidina, nos han decidido en recurrir sistemáticamente a practicar los cortes con el microtomo de congelación. El espesor de los cortes ha sido ordinariamente de diez micras, si bien, en algunos casos, ha habido necesidad de aumentar este espesor hasta 20 ó 25 micras para conseguir cortes correctos para su estudio que, por lo demás, es perfectamente viable en estos grosores.

### 6.º TINCIÓN

Obtenidos los cortes, se tiñen con hematoxilina Delafield:

Hematoxilina: 4 gr.

Alcohol absoluto: 25 c. c.

Esta solución se añade a 400 c. c. de la siguiente:

Alumbre amoniacal: 40 gr.

Agua destilada: 400 gr.

La mezcla se deja 3 ó 4 días destapada y a la luz, se filtra y se añaden 100 c. c. de glicerina y alcohol metílico; después de unos días se filtra nuevamente.

Este colorante nos ha concedido resultados muy satisfactorios, si bien exige regular su tiempo de acción para obtener el grado de tinción más adecuado. Hemos creído apreciar diferencias en este aspecto según la especie animal a que pertenecía el hueso, que llegan desde unos minutos hasta una hora.

Retirados los cortes de la solución colorante, se procede a su lavado abundante con agua corriente para arrastrar el exceso de aquél.

### 7.º DESHIDRATACIÓN

Terminada la anterior operación, se deshidratan los cortes por paso sucesivo en soluciones cada vez más concentradas de alcohol: 2 horas en

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

alcohol de 80 grados; 6 horas en alcohol de 96° y 12 a 24 horas en alcohol absoluto.

### 8.° ACLARAMIENTO

En creosota durante 24 horas.

### 9.° MONTAJE

En bálamo del Canadá, con lo que quedan las preparaciones dispuestas para su estudio histológico.

\* \* \*

La técnica señalada corresponde a la utilizable para el estudio de huesos frescos y secos, pero estructuralmente bien conservados, que han sido los utilizados en nuestras investigaciones. Por ello no haremos más que señalar las técnicas especiales que han sido propuestas por Wada, Canuto, Carella, etc., para el caso de que la peritación recaiga sobre huesos total o parcialmente quemados, calcinados e, incluso, desorganizados por el paso del tiempo. Estas técnicas especiales comprenden un primer tiempo de inclusión en gelatina, goma laca o bálamo, seguido por un adelgazamiento por frotación con piedra o papel de esmeril que va desgastando el hueso hasta conseguir láminas transparentes para su observación al microscopio.

## MATERIAL DE ESTUDIO

Las investigaciones que constituyen la aportación personal a la presente tesis, han consistido en el estudio sistemático y analítico de fragmentos óseos correspondientes a diversas especies animales y al hombre.

Por lo que respecta a los huesos de animales hemos limitado nuestro trabajo a ciertos mamíferos, escogidos entre aquellas especies que plantean con más frecuencia, en la práctica médico-legal, el problema del diagnóstico específico. Se han elegido para tal fin el carnero, el caballo, la ternera y el cerdo, por tratarse de animales incluidos entre los que utiliza el hombre para su alimentación, por lo que a menudo se encuentran sus despojos en circunstancias anómalas, dando lugar a peritaciones médico-legales.

Siendo más factible la confusión con los huesos humanos de aquellos fragmentos correspondientes a las diáfisis de los huesos largos, las piezas para el estudio se han tomado, precisamente, de este factor óseo en todos los casos.

De cada una de las especies animales citadas se han estudiado 22 diáfisis óseas; se han tomado varios fragmentos de cada pieza ósea, que han sido descalcificados, obteniendo múltiples cortes, que fueron teñidos y montados para su análisis microscópico. En total han sido estudiados varios centenares de preparaciones.

Por lo que respecta a los huesos humanos, cuyo análisis histológico ha sido objeto de comparación con el de los huesos animales, se han estudiado veintinueve diáfisis de huesos largos, correspondientes a sujetos distintos, con edades comprendidas entre unos días y setenta y siete años.

De la misma manera que con los huesos animales, se han tomado varios fragmentos de cada hueso y obtenido también varios centenares de preparaciones para su investigación sistemática.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

Nuestro propósito ha sido llegar a una sistemática para el estudio de la capa compacta de las diáfisis óseas que, reunidos el mayor número de datos posibles, permita la máxima seguridad en el diagnóstico de la especie a que corresponde determinado fragmento de hueso; si bien las dificultades de un objetivo tan ambicioso nos han limitado a conformarnos con diferenciar los huesos de procedencia humana de los huesos animales.

## SISTEMÁTICA

Antes de pasar a dar los resultados de nuestras observaciones, creemos no estará fuera de lugar hacer un sucinto recuerdo de la estructura del tejido óseo especialmente en su capa compacta, ya que es en ella donde han recaído nuestras observaciones, y de sus caracteres estructurales hemos de deducir los elementos de juicio que buscamos para nuestros fines concretos. De este recuerdo pretendemos también deducir una sistemática de estudio que aplicaremos a las preparaciones obtenidas del material analizado en este trabajo.

Los datos que exponemos a continuación han sido recogidos en los textos modernos de Histología y corresponden a los conocimientos actuales sobre dicha materia (Maximow y Bloom, Bargmann, Weidenreich).

### ESTRUCTURA DEL HUESO ADULTO

El hueso está formado por una sustancia intersticial, aparentemente homogénea y densa, en la que existen unas cavidades (osteoplastos) que contienen células óseas (osteocitos). La forma de las cavidades, y por lo tanto de las células, es oval, y de las primeras salen unos finos *canalículos óseos* que atraviesan la sustancia intersticial en todas direcciones, ocupados asimismo por prolongaciones de los osteocitos; los canalículos se ramifican abundantemente y se anastomosan en forma de red.

En la sustancia intersticial se demuestra por medio de la impregnación argéntica, la existencia de fibras de tipo colágeno; la fina capa de sustancia intersticial que limita el osteoplasto y los canalículos formándoles una especie de cápsula, carecen de fibrillas.

En el tejido óseo se distinguen dos variedades, la esponjosa y la compacta; sólo nos ocuparemos de la última, por ser la única interesante a nuestros fines.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

El *hueso compacto* aparece a la observación microscópica constituido por una serie regular de laminillas en íntima relación con la distribución de los vasos que nutren el hueso. Dicho de otra manera, el hueso compacto de la diáfisis ósea está atravesado por conductos anastomosados, de 22 a 100 micras de ancho, dispuestos a lo largo del hueso, de tal manera que en el corte transversal aparecen como orificios redondeados. Son los *conductos de Havers*, los cuales contienen "in vivo" vasos sanguíneos y una escasa cantidad de tejido conectivo. Por medio de los *conductos de Volkman* comunican con la superficie externa del hueso y con la cavidad medular.

Los conductos de Havers están rodeados por placas o laminillas concéntricas que constituyen los *sistemas de Havers*. Dos tubos ramificados de forma cilíndrica irregular, cuyo centro constituye el conducto. El número de laminillas del sistema oscila entre 4 y 20, o más, que en el corte transversal tienen forma de anillo; las laminillas generalmente están bien delimitadas, puesto que la dirección de las fibrillas que las constituyen es diferente en cada una de ellas; su espesor varía entre tres y siete micras (microfotografía núm. 1).

Dentro de las laminillas, los osteoplastos con sus células y canalículos y las fibrillas de la sustancia intersticial, se disponen de una manera bien definida. Los osteoplastos tienen, como dijimos, forma oval aplanada, parecida a una semilla de melón, y su tamaño oscila entre 22 y 52 micras de largo, 6 y 14 micras de ancho y 4 a 9 micras de espesor; las superficies más anchas son paralelas a las laminillas y los diámetros mayores se orientan en la dirección de los conductos de Havers. Los canalículos óseos o calcóforos, salen de ambas caras y de los bordes del osteoplasto.

La unidad constitutiva del hueso recibe el nombre de *osteona*, con el que se engloba a la totalidad de las laminillas que rodean un conducto de Havers, o más precisamente, a los vasos sanguíneos de finas paredes que se encuentran en su interior.

Las distintas laminillas aparecen con claras diferencias estructurales cuya naturaleza ha sido demostrada mediante investigaciones con el microscopio de polarización y con el electrónico (Frank y cols., Becher y cols.). Ordinariamente alternan las laminillas de aspecto punteado con otras estriadas, mientras otras ofrecen aspectos intermedios y más indefinidos; el aspecto punteado se debe a que las fibrillas contenidas en las

laminillas han sido cortadas a través, mientras que la delicada estriación es producida por fascículos fibrilares que contornean el eje de sistema.

Las partes del hueso compacto situadas entre las osteonas, están ocupadas por fragmentos irregularmente distribuidos de lo que fueron sistemas de Havers, constituidos a su vez por laminillas que reciben el nombre de *intermedias*, *intersticiales* o *intercalares*. En su mayoría son restos de sistemas que han sido destruidos sólo parcialmente durante la formación de hueso; en ellos no se reconoce relación característica alguna con los vasos sanguíneos, en oposición con lo que sucede con los sistemas de Havers (microfotografía núm. 2).

En las superficies externa e interna de las diáfisis se encuentran varias filas de laminillas concéntricas con respecto al eje del hueso, son los sistemas *fundamentales*, *generales* o *circunferenciales* interno y externo, los cuales contienen igualmente sistemas de fibrillas de dirección cruzada. Los *conductos de Volkman* atraviesan estos sistemas para abrirse en la superficie libre o en la cavidad medular. Se trata de conductos amplios que, como los de Havers, contienen vasos, pero que a diferencia de aquellos carecen de laminillas concéntricas a su alrededor.

Los límites entre las laminillas fundamentales, las especiales y las intercalares, están marcados por *líneas de cemento* (microfotografía núm. 2) cuyo sustrato es una masa orgánica que carece de fibrillas y que se tiñe con la hematoxilina.

De otros elementos fibrilares del hueso, tales como las fibras de Sarphey, de naturaleza colágena, y las fibras elásticas, ambas constituyen elementos de unión entre el periostio y el hueso, no nos ocuparemos por su menor interés a los fines de nuestro trabajo.

#### SISTEMÁTICA SEGUIDA

Estos diferentes elementos estructurales del hueso los hemos reunido en una sistemática propia, deducida de la observación prolongada y reiterada de los varios centenares de preparaciones obtenidas con nuestro material de estudio. Con ello, más que pretensiones de originalidad, hemos perseguido facilitar la comparación entre las diversas preparaciones y obtener una notación simplificada que haga resaltar las diferencias existentes entre los huesos de distinto origen.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

En esta sistemática tomamos en cuenta cuatro elementos fundamentales, en cada uno de los cuales distinguimos diversas variantes. Los elementos primarios o fundamentales de nuestra metódica son:

- 1.º Estructura general del hueso.
- 2.º Caracteres de las osteonas.
- 3.º Conductos de Havers.
- 4.º Conductos de Volkman.

### A) ESTRUCTURA GENERAL DE LA COMPACTA

Para clasificar el primer elemento, estructura general del tejido compacto de las diáfisis óseas, hemos tenido en cuenta si el hueso presentaba en el corte transversal una estructura homogénea del tejido compacto, o en capas alineadas concéntricamente. Según presenten una u otra forma de estructura, lo indicaremos con la siguiente numeración:

- I. Diáfisis de estructura *homogénea*.
- II. Diáfisis estructurada en *dos capas*.
- III. Diáfisis estructurada en *tres capas*.
- IV. Diáfisis estructurada en *cuatro capas*.

Además de estas variantes se encuentran también diáfisis que, teniendo una estructura de cualquiera de los tipos anteriores, presentan "zonas" aisladas, no concéntricas, de distinta estructura al resto del hueso. Señalamos la presencia de estas "zonas", especie de islotes, con la letra "z" como subíndice del tipo fundamental, repitiendo este subíndice tantas veces como "zonas" distintas se presenten en la preparación.

### B) CARACTERÍSTICAS DE LAS OSTEONAS

El segundo elemento fundamental, caracteres de las osteonas, lo estudiamos dividido en tres subelementos o caracteres:

- a) Su disposición.
- b) Su tamaño.
- c) Su forma.

En los huesos cuya estructura no es homogénea, estos caracteres se señalan independientemente para cada una de sus capas.

*Disposición de las osteonas.* — Según la que se adopte, consideramos cada capa ósea comprendida en uno de los cuatro tipos siguientes:

Tipo O: “ordenado”. Es aquel en que las osteonas se agrupan de una manera completamente regular, como en formación lineal, recordando de forma aproximada el aspecto de un muro de sillería (microfotografía núm. 3).

Tipo R: “regular”. En el que su aspecto, recordando al del grupo anterior, se halla alterado por la aparición de algunas variaciones, como lagunas óseas, o bien osteonas no alineadas, pero conservando la preparación en su conjunto un aspecto de orden predominante.

Tipo I: “irregular”. En que todavía se vislumbran unos restos o apariencias de orden, pero dando la impresión de conjunto de desorden predominante, de irregularidad.

Tipo A: “anárquico”. En el cual toda apariencia de ordenación está ausente por completo (microfotografía núm. 11).

*Tamaño de las osteonas.*—Este segundo carácter se refiere al hecho de que las osteonas de la capa objeto de la clasificación presenten cierta *uniformidad* de tamaño, o por el contrario, sea éste *variable* de unas a otras. Tenemos así, pues, dos posibilidades:

Uniformidad, expresado con la inicial “U”.

Variabilidad, expresado con la inicial “V”.

*Forma de las osteonas.*—Con relación a este tercer carácter, aceptamos inicialmente tantas como íbamos hallando, pero en la práctica hemos visto la conveniencia de reducirlas a las siguientes:

Elipsoideas, expresada con la inicial “E” (microfotografías núms. 1 y 2).

Cuadrangulares, expresadas como “C” (microfotografía núm. 3).

Indefinidas, expresadas como “Ind” (microfotografía núm. 10).

### C) CONDUCTOS DE HAVERS

El análisis de los conductos de Havers constituye nuestro tercer elemento de estudio; en él consideramos asimismo tres características:

a) Su número.

b) Su tamaño.

c) Su forma.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

*Número de conductos de Havers.*—Se establece este carácter haciendo un recuento de los comprendidos en un milímetro cuadrado de la preparación. Para ello hemos utilizado una retícula ocular previamente valorada con un micrómetro objetivo. Tal recuento lo hemos realizado al menos en diez puntos diferentes de la preparación, calculando su promedio.

*Tamaño de los canales de Havers.*—Entendemos por tamaño de los conductos de Havers de una preparación de tejido compacto, la media general de un mínimo de 200 canales, correspondientes a varios campos; siguiendo esta norma se evitan las dispersiones debidas a canales anormalmente grandes o pequeños, de los que habitualmente se encuentran en reducido número.

*Forma de los conductos de Havers.*—Solamente tomamos en consideración una escasa variedad de formas, fáciles de individualizar, que son las siguientes:

Redondos, señalados con las iniciales "Re".

Elípticos, que se expresan con la inicial "E".

Irregulares, para los que utilizamos las iniciales "Irr".

### D) CONDUCTOS DE VOLKMAN

Constituye su análisis el cuarto elemento fundamental de nuestra sistemática, tomando en consideración tres variantes, a saber:

a) Número.

b) Dirección.

c) Forma.

*Número de los conductos de Volkman.*—La reducida densidad de estos elementos anatómicos impide referirlos a una superficie de un milímetro cuadrado, como hacemos para los canales de Havers. Hemos tenido, en consecuencia, que tomar otro elemento de referencia; ha consistido éste en hacer el recuento siempre con la misma combinación óptica, equivalente a cincuenta aumentos. Haciendo la observación en estas condiciones, hemos contado el número de conductos de Volkman que se presentan en cada campo microscópico, repitiendo la lectura para un mínimo de diez campos y calculando el promedio.

*Dirección de los conductos de Volkman.*—Se trata de una característica que ofrece cierta variabilidad, por lo que sólo tomamos en consideración la dirección predominante. De acuerdo con ella, distinguimos que dicha dirección sea *radial* con relación a la superficie de sección de la diáfisis; que se *concéntrica* respecto a la cavidad medular; toda otra dirección la agrupamos bajo la denominación de *diversas*.

*Forma de los conductos de Volkman.*—Aunque en parte influye en esta característica la superficie de la cuchilla del microtomo con respecto a la dirección de los conductos, hemos llegado a la convicción que existen diferencias que dependen del propio conducto y que hemos tratado de hacer resaltar por si tuvieran significación diagnóstica en el problema planteado. En nuestra sistemática hemos distinguido las siguientes variedades morfológicas de conductos: *rectos*, *arqueados*, *sinuosos*, *quebrados*, *ramificados* y *no definidos*, cada una de las cuales señalamos con la inicial correspondiente.

\* \* \*

Con los caracteres descritos hemos elaborado el siguiente esquema, en el que quedan reunidas las sucesivas divisiones, que creemos puede facilitar la comprensión y aplicación de nuestra sistemática.

## SISTEMÁTICA PARA EL ANÁLISIS MORFOLÓGICO DEL TEJIDO ÓSEO

### 1.º ESTRUCTURA

### 2.º CARACTERES DE LAS OSTEONAS

- a) Disposición
- |   |                  |
|---|------------------|
| } | Ordenada ("O").  |
|   | Regular ("R").   |
|   | Irregular ("I"). |
|   | Anárquica ("A"). |

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

- b) Tamaño } Uniforme ("U").  
              } Variable ("V").
- c) Forma     } Elipsoidea ("E").  
              } Cuadrangular ("C").  
              } Indefinidas ("Ind.").

### 3.º CONDUCTOS DE HAVERS

- a) Número por milímetro cuadrado.
- b) Tamaño.
- c) Forma     } Redondos ("Re").  
              } Elípticos ("El").  
              } Irregulares ("Irr").

### 4.º CONDICIONES DE VOLKMAN

- a) Número (por campo del microscopio a 50 aumentos).
- b) Dirección prominante } Radial ("R").  
                              } Concéntrica ("C").  
                              } Diversas ("D").
- b) Forma                 } Arqueadas ("Ar").  
                              } Rectos ("Rec").  
                              } Sinuosos ("S").  
                              } Quebrados ("Q").  
                              } Ramificados ("Ra").  
                              } No definidos ("X").

## RESULTADOS

Haciendo aplicación de la sistemática expuesta en el capítulo anterior, vamos a exponer en forma resumida, pero completa, el detalle de las observaciones microscópicas hechas con nuestro material de estudio, que sintetizamos para un mejor análisis, en forma de cuadros.

### 1.º *Huesos de carnero.*

Como quedó dicho, este grupo de huesos está compuesto por 22 fragmentos de diáfisis óseas correspondientes a distintos huesos de las extremidades, procediendo de animal distinto en cada caso.

CUADRO NÚM. 1

Sistemática del tejido compacto de las diáfisis de carnero

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma
1	I	O	U	C	75	5'96	R	20	R-C	Q
2	I	O	U	C	54	7'73	R	10	R-C	Q-R
3	I	O	U	C	58	7'25	R	12	R-C	Q
4	III	O	U	C	54	8'55	R	11	R-C	Q
5	I	A	V	Ind.						
6	I	O	U	C	15	7'00	R	4	R-C	Q
7	I	O	U	C	48	5'40	R	6	R-C	R
8	I	O	U	C	35	5'85	R	12	R-C	Q
9	II	O	U	C	56	6'02	R	7	R-C	Q
10	I	R	U	Ind.	45	5'86	R	13	D	Q-R
11	II	O	U	C	48	6'69	R	14	R-C	Q
12	I	A	U	Ind.	39	6'20	R	11	D	S
13	I	O	U	C	38	5'48	R	5	R-C	Q
14	I	O	U	C	63	5'75	R	9	R-C	Q-R
15	I	O	U	C	42	5'48	R	5	R-C	Q
16	I	O	U	C	44	7'16	R	15	R-C	Q
17	I	I	U	OE	32	5'51	R	13	R-C	Q
18	I	A	V	Ind.	46	8'08	R	3	D	V
19	I	O	U	C	46	6'90	R	16	R-C	Q
20	Iz	O	U	OE	52	5'59	R	15	R-C	Q
21	I	A	U	C	50	5'45	R	30	D	Q-S
22	II	O	U	E Ind	67	5'18	RE	20	R-C	R-Q
		O	U	C	61	5'38	RE	17	R-C	R-Q
		R	U	E Ind						

## CUADRO NÚM. 2

### Sistemática del tejido compacto de la diátesis de caballo

DIÁTISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma
1	I	O	U	CE	32	14'96	R-E	6	R-C	Rec-A
2	Iz	I A	V V	C Ind. Ind.	31	15'74	RE-I	6	D	Rec-X
3	III	O A O	U V U	C Ind. C	30	16'02	E-R	6	D	Rec-S
4	II	O I	U V	C Ind.	28	19'93	RE	10	R-D	X
5	IV	R A O R	U V U V	C E C Ind.	20	19'68	R-E	6	R-D	X
6	III	O A O	U V U	C Ind. C	27	14'87	E-I	6	R-D	X
7	I	O O	V U	C C	33	17'00	E	11	D	X
8	II	O R	U U	CE C Ind.	20	20'81	R	2	C	Rec.
9	II	O I	U V	C Ind.	16	18'85	R	2	C-R	Rec-Q
10	I	R R	V V	C Ind. C	21	17'36	R	4	C-R	Rec.
11	II	O A	U V	C Ind.	25	15'25	R	8	C-R-D	Rec-Ar.

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma
12	I	O	U	CE	25	18'11	R	6	©	Rec.
13	I	O	U	C	21	15'98	R-E	6	D	Rec.-Ar.
14	II	O	U	C	39	12'22	R	9	C-R	Rec.-Q
15	I	A	V	Ind.	33	15'30	R	15	D	Rec.
16	I	I	U	E	29	22'33	R	5	D	Rec.
17	II	O	U	CE	22	13'59	R-E	10	D	Rec.
18	II	O	U	C	21	17'88	R	7	C-R	Rec.
19	I	A	V	EInd.	25	21'62	R-E	7	D	X
20	II	O	U	C	24	14'26	R-E	4	D	X
21	I	A	V	Ind.	25	20'74	R	3	D	X
22	II	A	V	Ind.	31	12'23	R	2	D	Rec.

### CUADRO NÚM. 3

Sistemática del tejido compacto de las diáfisis de ternero

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma
1	I	O	U	C	32	17'80	R	10	C	Rec.
2	III	O	U	C	30	17'00	R	7	C	Rec-Q
3	I	A	U	Ind.	12	18'60	R	6	D	X
4	II	R	V	Ind.	18	14'00	R-EL	5	R-D	R-X
5	I	O	U	C	28	20'18	R	10	D	X
6	I	O	U	C	32	15'44	R-EL	7	C-R	Rec.
7	I	O	U	C	36	19'15	R	6	C	Rec.
8	I	I	U	Ind.	20	15'28	R-EL	3	C	Rec.
9	I	R	U	Ind.	28	17'91	R	16	D	X
10	I	I	U	C-E	23	16'82	R-EL	10	C	Rec.
11	I	O	U	C	28	16'13	R	14	C	Rec.
12	Ix	O	U	C	33	14'22	R	8	C	Rec.
13	I	O	U	E	32	15'03	R	11	C	Rec.
14	II	O	U	C	26	21'26	R	11	C-D	Rec.
15	I	A	V	E	34	16'01	R	8	C	Rec.
16	I	O	U	C	35	14'44	R	16	C	Rec.
17	II	O	U	C	25	14'25	R-EL	6	C-D	Rec-Ar.
18	I	A	V	Ind.	15	17'70	R-EL	4	D	Rec.
19	II	O	U	C	22	15'17	R	6	C-R	R-Q
20	I	A	V	E-Ind.	45	13'27	R	14	C-R	Q
21	I	O	U	C	43	13'81	R	13	C-R	R
22	I	O	U	C	31	15'49	R	10	C-R	R-Q

CUADRO NÚM. 4

Sistemática del tejido compacto de las diátesis de cerdo

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS				CONDUCTOS DE HAYERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma	
1	I	O	U	C-E	27	11'91	R	9	D	S	
2	II	O	U	C	41	15'05	R	6	C-R	Rec-X	
3	Iz	A	V	Ind.	40	16'39	R-EL	4	C-D	Rec-X	
4	III	O	U	C	57	14'32	R	17	C-R	Rec-S	
5	I	R	U	E	54	14'25	R-EL	5	C-R	Q	
6	II	O	U	Ind.	54	14'85	R	7	C-D	Rec-S	
7	II	R	V	C	26	19'17	R	7	C-D	Rec-X	
8	II	A	V	E	54	18'73	R-EL	13	C-R	Q	
9	II	O	U	Ind.	31	14'28	R-EL	10	C-R	Q	
10	I	I	V	C	49	10'10	R	20	C-R	Q	
11	I	O	U	C	58	14'58	R	13	C	R	
12	Iz	O	U	C	64	13'83	R	12	C-R	Q	

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAYERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN		
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma
13	II	I	V	Ind. Ind.	27	13'37	R	8	D	X
14	I	A	V	Ind.	87	19'21	R-EL	19	C-R	Rec-Q
15	Iz	O	U	C	21	15'73	R	16	C-R	Rec-Q
16	III	A	U	Ind.	57	16'68	R	13	C-R	Rec-Q
17	I	O	V	C	20	15'24	R	6	D	X
18	I	O	U	Ind.	68	12'47	R-EL	9	C	Rec.
19	II	O	U	C-E	21	19'09	R-EL	9	D	X
20	I	R	V	Ind.	16	17'00	R-EL	4	D	X
21	I	A	U	Ind.	60	13'94	R-EL	15	C-R	Q-Rec.
22	Iz	O	U	C	42	10'37	R	12	C-R	X

CUADRO NÚM. 5

Sistemática del tejido compacto de diáfisis de huesos humanos

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN			EDAD DEL SUJETO
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma	
1	Izz	A R R	V V U	Ind. Ind. E	30	45'61	EL	5	D	X	10 d.
2	Iz	A R	V U	Ind. E	23	30'78	EL-R	4	R	X	10 d.
3	I	A	V	Ind.	21	40'45	EL-I	2	D	X	5 m.
4	I	A	V	Ind.	20	49'87	EL	3	D	X	4 a.
5	I	A	V	Ind.	20	52'62	EL	5	D	X	8 a.
6	I	A	V	E	16	41'07	EL	2	D	X	8 a.
7	I	A	V	Ind.	17	38'73	EL	1	D	X	9 a.
8	I	A	V	Ind.	12	76'07	EL	1	D	X	25 a.
9	Iz	A R	V V	Ind. Ind.	19	14'11	EL	2	R	X	27 a.
10	I	A	V	Ind.	12	58'38	EL	2	D	X	29 a.
11	I	A	V	Ind.	13	36'97	EL	2	D	X	30 a.
12	I	A	V	Ind.	12	52'50	EL	1	R	X	35 a.
13	I	A	V	Ind.	17	53'58	EL	1	D	Ar	37 a.
14	I	A	V	Ind.	16	51'82	EL-I	5	D	X	40 a.
15	I	A	V	Ind.	14	64'71	EL	1	D	X	40 a.
16	I	A	V	Ind.	12	52'68	EL	1	D	X	42 a.
17	I	A	V	Ind.	18	38'06	REL	2	D	X	47 a.
18	I	A	V	Ind.	11	57'30	REL	1	D	X	49 a.
19	I	A	V	Ind.	17	53'80	EL	4	D	X	54 a.

DIÁFISIS NÚM.	ESTRUC. GEN.	CARACTERES OSTEONAS			CONDUCTOS DE HAVERS			CONDUCTOS DE VOLKMAN			EDAD DEL SUJETO
		Dispo- sición	Núm.	Forma	Núm. mm. <sup>2</sup>	Tamaño	Forma	Número campo	Direc- ción	Forma	
20	I	A	V	Ind.	15	70'94	R-EL	0			55 a.
21	I	A	V	Ind.	10	51'06	R	3	D	X	70 a.
22	I	A	V	Ind.	15	60'81	R-EL	0			70 a.
23	I	A	V	Ind.	16	56'87	EL	0			71 a.
24	I	A	V	Ind.	16	63'24	EL	2	D	X	73 a.
25	I	A	V	Ind.	11	68'71	EL	3	D	X	75 a.
26	I	A	V	Ind.	16	69'02	EL	1	R	R	76 a.
27	I	A	V	Ind.	18	57'36	EL	3	D	I	77 a.
28	I	A	V	Ind.	16	65'60	EL	0			77 a.
29	I	A	V	Ind.	12	63'95	EL	3	D	X	80 a.

2.º *Huesos de caballo.*

Este grupo de huesos está constituido también por 22 fragmentos de diáfisis óseas, correspondientes a distintos huesos de las extremidades y procedentes también, en cada caso, de ditinto animal.

3.º *Huesos de ternero.*

También, como ya dijimos, estudiamos en esta especie 22 fragmentos de diáfisis óseas que en cada caso han correspondido a distinto animal y proceden de distintos huesos de las extremidades.

4.º *Huesos de cerdo.*

En esta especie, también son 22 los fragmentos óseos que estudiamos, procedentes, como en las demás especies, de distintos huesos de animales, distintos en cada caso.

5.º *Huesos humanos.*

El número de diáfisis óseas pertenecientes a la especie humana, que hemos estudiado, es superior a los correspondientes a las distintas especies animales, siendo en este caso de 29 diáfisis, que corresponden a huesos de distintos sujetos.

## ANÁLISIS DEL MATERIAL DE ESTUDIO

Reuniendo los datos de los cuadros reproducidos en el capítulo precedente, podremos llegar más fácilmente a un análisis comparativo de los caracteres histológicos óseos de las especies animales estudiadas. Para ello los agruparemos según los cuatro elementos fundamentales de nuestra sistemática y dentro de cada uno de ellos los correspondientes a las especies.

### 1.º ESTRUCTURA GENERAL DE LAS DIÁFISIS.

#### A) *Carnero.*

De las 22 diáfisis estudiadas corresponden:

- 17 diáfisis al tipo estructural I.
- 1 diáfisis al tipo estructural Iz.
- 3 diáfisis al tipo estructural II.
- 1 diáfisis al tipo estructural III.

#### B) *Caballo.*

De las 22 diáfisis estudiadas corresponden:

- 9 diáfisis al tipo de estructura I.
- 1 diáfisis al tipo de estructura Iz.
- 9 diáfisis al tipo de estructura II.
- 2 diáfisis al tipo de estructura III.
- 1 diáfisis al tipo de estructura IV.

C) *Tenera.*

De las 22 diáfisis objeto de estudio corresponden:

- 16 diáfisis al tipo de estructura I.
- 1 diáfisis al tipo de estructura Iz.
- 4 diáfisis al tipo de estructura II.
- 1 diáfisis al tipo de estructura III.

D) *Cerdo.*

De las 22 diáfisis que se han estudiado corresponden:

- 9 diáfisis al tipo de estructura I.
- 4 diáfisis al tipo de estructura Iz.
- 7 diáfisis al tipo de estructura II.
- 2 diáfisis al tipo de estructura III.

E) *Huesos de procedencia humana.*

De las 29 diáfisis que se han estudiado corresponden:

- 26 diáfisis al tipo de estructura I.
- 2 diáfisis al tipo de estructura Iz.
- 1 diáfisis al tipo de estructura Izz.

2.º CARACTERES DE LAS OSTEONAS.

Las tres variables de estos elementos que tomamos en consideración en nuestra sistemática se comportan de la siguiente forma:

A) *Carnero.*

1. Por lo que respecta a su *disposición* se observa:

- 15 diáfisis presentan una disposición "O".
- 2 diáfisis presentan una disposición "O" - "R".
- 2 diáfisis presentan una disposición "O" - "A".
- 1 diáfisis presenta una disposición "R" - "OR" - "A".
- 1 diáfisis presenta una disposición "I".
- 1 diáfisis presenta una disposición "A".

Por lo tanto, la frecuencia de los distintos tipos de este orden es:

- 20 veces se presenta el tipo O.
- 3 veces se presenta el tipo R.
- 1 vez se presenta el tipo I.
- 4 veces se presenta el tipo A.

2. Por lo que se refiere al *tamaño de las osteonas* encontramos que es:

- Uniforme en 26 de las 28 capas óseas estudiadas.
- Variable en las dos capas restantes.

3. En cuanto a la *forma de las osteonas* las hallamos:

- 21 veces cuadrangulares (con los ángulos redondeados).
- 3 veces indefinidos.
- 4 veces sin predominar ninguna forma determinada.

#### B) *Caballo.*

1. Con relación al tipo de *disposición* se observa:

- 4 diáfisis presentan la disposición O.
- 3 diáfisis presentan la disposición O-R.
- 2 diáfisis presentan la disposición O-I.
- 2 diáfisis presentan la disposición O-A-O.
- 4 diáfisis presentan la disposición O-A.
- 1 diáfisis presenta la disposición O-A-O-R.
- 1 diáfisis presenta la disposición R.
- 1 diáfisis presenta la disposición I.
- 1 diáfisis presenta la disposición I-A.
- 3 diáfisis presentan la disposición A.

En consecuencia la frecuencia total es:

- 19 veces se presenta el tipo O.
- 5 veces se presenta el tipo R.
- 4 veces se presenta el tipo I.
- 11 veces se presenta el tipo A.

EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

2. En cuanto al *tamaño de las osteonas* hemos encontrado:

- En 19 capas aparece *uniforme*.
- En 20 capas aparece *variable*.

3. Por último, la forma de las osteonas es:

- Cuadrangular (con ángulos redondeados), 15 veces.
- Elipsoidea, 2 veces.
- Predominio de formas elipsoideas, aunque alternando con formas indefinidas, 23 veces.

C) *Tenera*.

1. Se observa la presencia de los siguientes tipos de *disposición*:

- 12 diáfisis son del tipo O.
- 2 diáfisis son del tipo O-R.
- 3 diáfisis son del tipo O-A.
- 1 diáfisis es del tipo O-A-R.
- 2 diáfisis son del tipo A.
- 1 diáfisis es del tipo R.
- 1 diáfisis es del tipo I.

La frecuencia de los distintos tipos, reunida la correspondiente a todas las capas es:

- 18 veces se presenta el tipo O.
- 4 veces se presenta el tipo R.
- 1 vez se presenta el tipo I.
- 6 veces se presenta el tipo A.

2. El *tamaño de las osteonas* es:

- 23 veces *uniforme*.
- 6 veces *variable*.

3. En cuanto a la *forma de las osteonas* es:

- 18 veces cuadrangular.
- 8 veces indefinida.
- 3 veces en que no hay predominio de ninguna forma.

D) *Cerdo.*

1. Se observa en las osteonas de estas diáfisis una *disposición* según el siguiente detalle:

- 8 veces encontramos la disposición O.
- 3 veces encontramos la disposición O-R.
- 1 vez encontramos la disposición O-I.
- 3 veces encontramos la disposición O-A.
- 1 vez encontramos la disposición O-A-O.
- 1 vez encontramos disposiciones R-O-A.
- 1 vez encontramos disposiciones tipos R-A.
- 1 vez encontramos disposiciones tipos I-A.
- 1 vez encontramos disposición A.
- 2 veces encontramos el tipo A-O.

Cuya frecuencia de tipos, referida a todas las capas, es:

- 20 veces se presenta el tipo O.
- 5 veces se presenta el tipo R.
- 2 veces se presenta el tipo I.
- 10 veces se presenta el tipo A.

2. El *tamaño de las osteonas* es:

- Uniforme, 20 veces.
- Variable, 17 veces.

3. La *forma de las osteonas*, a su vez, es:

- En 14 ocasiones, cuadrangular.
- En 10 capas, indefinida.
- En 13 capas, sin predominio de una forma determinada.

E) *Huesos de origen humano.*

1. En los veintinueve huesos que han sido estudiados se presentan, según lo que denominamos tipo de *disposición*, la siguiente distribución de las osteonas:

- 26 diáfisis tienen disposición de tipo A.
- 2 diáfisis presentan disposiciones A-R.
- 1 diáfisis presenta disposiciones A-R-R.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

Vemos, pues, que los distintos tipos se presentan con la siguiente frecuencia:

- 29 veces (una por diáfisis) el tipo A.
- 4 veces el tipo R.

2. El *tamaño de las osteonas* es:

- Uniforme en 3 capas.
- Variable en las restantes 30 capas.

3. La *forma de las osteonas* es:

- Elipsoidea en cuatro capas.
- Indefinida en 16 capas.
- Sin predominio de ninguna forma determinada en 13 capas.

### 3.º CONDUCTOS DE HAVERS.

En el análisis de los resultados obtenidos para este elemento morfológico, hemos de señalar también con independencia de las tres variables tomadas en consideración.

He aquí los resultados:

#### A) *Carnero*.

1. *Número por milímetro cuadrado*: La media de los recuentos realizados en las 22 diáfisis estudiadas corresponde a 48'6 conductos por milímetro cuadrado. Este valor medio sufre muy escasas dispersiones en la mayor parte de los fragmentos estudiados; sin embargo, en un caso correspondiente a la diáfisis núm. 5 de nuestro protocolo, hemos encontrado una cifra anormalmente reducida: 15 canales por milímetro cuadrado.

2. *Tamaño*: Determinado según las condiciones señaladas, hemos obtenido un valor medio para esta especie animal de 6'29 micras; en las diáfisis aisladas, los valores extremos del tamaño de estos conductos ha sido, respectivamente, 5'18 y 8'55.

3. *Forma*: En la inmensa mayoría de las diáfisis de carnero, la forma de los canales de Havers ha sido redonda, viéndose tan sólo algunos elípticos.

B) *Caballo*.

1. *Número por milímetro cuadrado*: La media de los recuentos correspondientes al total de diáfisis ha sido de 25'2 canales por milímetro cuadrado. También en esta especie existe muy reducida dispersión de este resultado en las diáfisis aisladas. Pero asimismo encontramos un caso, el señalado con el núm. 9, en el que hemos hallado un valor sensiblemente bajo: 16 canales por milímetro cúbico.

2. *Tamaño*: El valor medio del tamaño de los canales de Havers en el caballo es de 17'06 micras; las dimensiones extremas en las distintas diáfisis fueron de 12'22 y 22'33.

3. *Forma*: También en esta especie predominan los canales de forma redondeada, aunque abundan aquí los de sección elíptica.

C) *Ternera*.

1. *Número por milímetro cuadrado*: El valor medio de los recuentos corresponde en esta especie animal a la cifra de 28'6 canales por milímetro cuadrado; valor éste muy homogéneo para la mayoría de las diáfisis estudiadas. Pero considerando las diferentes diáfisis, encontramos en esta especie tres dispersiones dignas de señalar: los casos núms. 3, 4 y 18, en los cuales la respectiva densidad de conductos de Havers por milímetro cuadrado ha sido de 12, 18 y 15.

2. *Tamaño*: Su valor medio en el conjunto de las diáfisis ha sido de 16'31 micras; sus dimensiones extremas en los distintos casos han correspondido a 13'27 y 21'26.

3. *Forma*: Es, en general, redondeada, con algunos canales elípticos.

D) *Cerdo*.

1. *Número por milímetro cuadrado*: En esta especie animal la media de los recuentos en las veintidós diáfisis estudiadas ha sido de 40'3 canales por milímetro cuadrado; las dispersiones son aquí algo más numerosas,

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

pero sólo es digno de destacar el caso número 20, en el que contamos sólo 16 canales por milímetro cuadrado.

2. *Tamaño*: El valor medio de las dimensiones de los conductos de Havers ha resultado en los huesos de cerdo de 15'02 micras; las dimensiones extremas encontradas en las diferentes diáfisis fueron 10'10 y 19'21.

3. *Forma*: Siguen predominando también en esta especie animal los conductos de forma redonda, aunque se encuentran bastantes conductos elípticos.

### E) *Huesos de procedencia humana.*

1. *Número por milímetro cuadrado*: Se comprueba rápidamente que el número de conductos de Havers por milímetro cuadrado es sensiblemente más reducido en los huesos de origen humano; la media, en efecto, de los recuentos realizados en las 29 diáfisis estudiadas, da una cifra de 16'1 canales por unidad de superficie. Ahora bien, llama la atención que entre los 29 casos que constituyen nuestro protocolo, solamente en once se sobrepasa esta media y únicamente tres casos sobrepasan la cifra de 20 conductos por milímetro cuadrado, lo que indica una influencia acusada de unos pocos sobre el resultado general. Analizando la edad de los sujetos a que corresponden tales casos, se ve que precisamente los tres valores más elevados pertenecen a niños de muy escasa edad; concretamente: los casos 1 y 2 se refieren a dos niños de 10 días de edad con un número de conductos de Havers por milímetro cuadrado de 30 y 23, respectivamente; mientras que el caso 3, con 21 canales por milímetro cuadrado, corresponde a un niño de 5 meses. Todos los demás casos, en que la edad del sujeto era superior a un año, tienen un número de conductos de Havers que no supera a la cifra de 20 y en la mayoría de los casos bastante menor.

2. *Tamaño*: En los huesos de origen humano la media de las dimensiones de los conductos de Havers, determinada según indicamos, ha resultado ser de micras; las dimensiones extremas medidas en las distintas diáfisis han sido: 30'70 micras y 70'94 micras.

3. *Forma*: Existe un evidente predominio, en contraste con lo que sucede en los huesos animales, de canales de forma elíptica; obsérvense también formas redondeadas e irregulares, pero nunca aparecen solas, sino acompañadas de las elípticas.

4.º CONDUCTOS DE VOLKMAN.

En este cuarto elemento fundamental de nuestra sistemática hemos analizado, como dijimos, tres variables cuyos resultados analíticos han sido:

A) *Carnero.*

1. *Número:* El número de estos conductos por campo microscópico oscila entre 3 y 23, sin diferencias notables entre los tipos de disposición de las distintas capas de las diáfisis.

2. *Dirección:* Las direcciones netamente predominantes de los mismos son la radial y la concéntrica.

3. *Forma:* Las formas más frecuentes de los conductos de Volkman en el carnero son las rectas y las quebradas.

B) *Caballo.*

1. *Número:* En las condiciones de observación seguidas oscila en general entre 4 y 12.

2. *Dirección:* Abundan más, aunque sin gran preponderancia, las direcciones radiales y concéntricas.

3. *Forma:* La más frecuente es la recta, encontrándose en segundo lugar la arqueada.

C) *Tenera.*

1. *Número:* Este carácter nos ha concedido un resultado de 4 a 16 conductos por campo, con límites de dispersión en 0 y 16.

2. *Dirección:* La predominante en esta especie es la concéntrica.

3. *Forma:* La más frecuente es la recta.

D) *Cerdo.*

1. *Número:* Por campo se encuentran de 4 a 20 conductos, según los casos.

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

2. *Dirección*: Predominan la concéntrica y la radial.
3. *Forma*: Las más frecuentes son la recta y la quebrada.

### E) *Huesos humanos.*

1. *Número*: El número de conductos de Volkman por campo oscila entre 0 y 10.

2. *Dirección*: Varía considerablemente de unos casos a otros, por lo que no se comprueba ninguna predominante.

3. *Forma*: Lo mismo que para el carácter anterior, hay gran variabilidad, no pudiendo señalarse una forma típica de los huesos humanos para estos conductos.

## DISCUSIÓN Y VALORACIÓN

El análisis que acabamos de hacer nos va a permitir una interpretación de los datos estudiados y la valoración de los distintos caracteres morfológicos óseos con relación al problema planteado con motivo de esta investigación.

Veamos, no obstante, sin prejuzgar conclusiones, el valor que debe atribuirse a cada uno de los elementos morfológicos del hueso que hemos analizado.

### A) ESTRUCTURA DE LA COMPACTA

Hemos observado que en las especies animales se hallan, con relativa frecuencia, diáfisis que presentan dos o más capas de distinta disposición de sus osteonas; capas que comprenden todo el contorno de la diáfisis ósea. Este hecho es más frecuente en las diáfisis de caballo y de cerdo, siéndolo menos en las de carnero y ternera.

En cambio, en las diáfisis humanas, no hemos observado en ningún caso la presencia de capas distintas con los caracteres señalados.

Sí, se hallan en los huesos humanos, "zonas" de distinta distribución de sus osteonas, pero siempre limitadas a sectores circunscritos de la sección de la diáfisis. La presencia de estas "zonas" carece, sin embargo, de significación diagnóstica, puesto que se encuentran, igualmente, en los huesos de procedencia animal. Más bien hemos sacado de nuestras observaciones la impresión de que las citadas "zonas" se presentan en aquellas partes del hueso sometidas a la acción de tensiones de fuerzas, inserciones músculo-tendinosas, puntos de flexión, etc.

B) OSTEONAS.

De acuerdo con nuestros resultados, el estudio analítico de las osteonas concede datos más significativos en el diagnóstico de la especie ósea. Considerando por separado las tres variantes que hemos aislado en nuestra sistemática, el valor de cada una de éstas es distinto.

Por lo que respecta a la *forma*, hay que señalar, ante todo, el predominio de las formas cuadrangulares en los animales, hasta el extremo de poderlas considerar como rasgo característico de éstos; en efecto, en ninguna de las preparaciones precedentes de huesos humanos, se observan osteonas de este tipo. Las formas elipsoideas abundan en las especies animales, pero sin ser exclusivas, pues también se dan con frecuencia en el hueso humano. Por el contrario, es típica de la especie humana la forma irregular de las osteonas, pues predominan en ella netamente, aunque sean también numerosas en los huesos de las especies animales.

Cuando en una preparación ósea no se observa un claro predominio de una forma determinada de osteonas, apareciendo mezcladas las de formas distintas, el carácter morfológico de las mismas no tiene valor diagnóstico.

En cuanto al *tamaño* de las osteonas es sensiblemente más uniforme en los huesos animales que en el hombre. Se trata, sin embargo, de un matiz carente de valor diagnóstico.

Pero el elemento más valioso desde este punto de vista es, sin lugar a dudas, lo que hemos llamado tipo de *disposición* de las osteonas, que en los animales corresponde frecuentemente al "ordenado" en el cual se halla ausente la especie humana. Por el contrario, los huesos humanos presentan las osteonas dispuestas de forma "anárquica", rasgo éste de gran valor diferencial.

En efecto, si bien en algunas diáfisis animales (sobre todo en el caballo y en el cerdo), se señala en los protocolos la disposición "anárquica", ésta suele presentarse sólo en algunas zonas o capas, coexistiendo con la disposición ordenada en otras o al menos con la disposición "regular".

Este último tipo de disposición, lo mismo que el "irregular", representan formas de transición entre la "ordenada" y la "anárquica". En consecuencia no tienen una clara significación diagnóstica, si bien abundan más en los huesos animales.

C) CONDUCTOS DE HAVERS.

Junto con las osteonas, son elemento de claro valor diagnóstico en el problema que nos ocupa. Nuestro análisis ha recaído en tres variables de este elemento morfológico óseo: su número, sus dimensiones y su forma, como han hecho previamente varios autores, y, entre nosotros, AZNAR. Pero nuestros resultados no son exactamente superponibles a los que hemos recogido en la literatura y que hemos transcrito en la primera parte de esta Tesis.

En lo relativo al *número de canales*, Olichow ha sido el primer autor que ha señalado este dato, refiriéndolo al número de canales existentes en cada campo microscópico, indicando, naturalmente, el sistema óptico empleado; en las condiciones en que trabajó el autor los huesos humanos presentaban cifras inferiores a 20, mientras que los huesos de animal superaban este número de canales. Canuto concreta más las condiciones técnicas de la observación y refiere el número de canales a un milímetro cuadrado de superficie de preparación; según este autor, el número de canales que se encuentran en los huesos humanos oscila entre 10 y 15, de modo que cuando se encuentran más de 18 a 20 canales por milímetro cuadrado, puede afirmarse que el hueso es de origen animal. Las cifras que ha encontrado para algunas especies, como dijimos, son: en el ternero, 30-35; en el cerdo, 40; en el perro, 35-40. Para Aznar el número de canales por milímetro cuadrado en los huesos humanos es sólo de 8 a 10, por lo que cuando en un hueso se cuentan más de 10 canales en aquella superficie debe diagnosticarse su origen animal.

Nuestros resultados, como adelantábamos, se separan ligeramente, estando más próximos a los de Canuto, *cuando manejamos los valores medios* correspondientes a la totalidad de las diáfisis estudiadas en cada especie; pero cuando nos referimos a los valores que pueden encontrarse en casos concretos, hemos de elevar serias objeciones a aquellas indicaciones diagnósticas.

Efectivamente, nuestros recuentos en las diáfisis de huesos humanos dan una cifra media de 16'1 canales por milímetro cuadrado. Los resultados promedios en los huesos animales son siempre más altos, correspondiendo el límite inferior al caballo con 25'2 canales por milímetro cuadrado, seguido del ternero con 28'6; en el cerdo y el carnero esta cifra

media es sensiblemente superior, con valores de 40'3 y 48'6, respectivamente.

Si seguimos manejando estas cifras medias, a los efectos del razonamiento, tendríamos que establecer el valor límite que permite distinguir el hueso humano del hueso animal, algo por encima de lo que hace Canuto; aceptaríamos para este límite la cifra de veinte canales por milímetro cuadrado y, en consecuencia, cuando en el tejido compacto de un hueso de origen desconocido encontramos un número de conductos de Havers superior a 20 por milímetro cuadrado podríamos excluir su origen humano.

Pero al considerar, no los valores medios de la serie de huesos estudiada en cada especie, sino los valores extremos que se han encontrado en cada hueso aislado, aquella conclusión no puede sostenerse por haber excepciones que son susceptibles de inducir a error. Como se recordará, entre las 22 diáfisis de carnero hemos encontrado un caso en que el recuento de diez campos distintos dio como cifra media un número de canales por milímetro cuadrado de 15; en el caballo hemos encontrado otra excepción, un caso en el que se contaron 16 canales por milímetro cuadrado; en la ternera los casos con cifras inferiores a 20 fueron tres; en el cerdo había también un caso con 16 canales por milímetro cúbico. Es decir, entre 88 diáfisis de huesos animales hemos encontrado 6 excepciones, en las que el recuento de canales ha dado cifras que hubieran inducido a diagnosticarlos erróneamente como de procedencia humana; lo que equivale prácticamente al 7 por 100 de posibles errores.

En los huesos de origen humano, encontramos también el error contrario; o sea que hemos visto huesos humanos en los que la cifra de conductos de Havers por milímetro cuadrado era superior a 20; sin embargo, en nuestro protocolo tales excepciones han correspondido exclusivamente a niños de corta edad, y para precisar más, en niños cuya edad era inferior a un año. Cuando la edad del sujeto superaba este límite, los recuentos han concedido cifras inferiores a 20 por milímetro cuadrado o que llegaban justo a ese valor, como sucedió en los huesos estudiados de dos niños de 4 y 8 años, respectivamente. Aceptando, pues, aquel valor límite, podríamos afirmar ante un hueso cuyo número de canales de Havers lo superara, que su origen era animal o procedente de un niño de corta edad, al menos inferior a un año.

Estamos por consiguiente de acuerdo con todos los autores que nos han precedido en este estudio, en considerar como característica de la especie

humana la menor densidad por milímetro cuadrado de los canales de Havers y aún en considerar como límite artificioso de diferenciación la cifra de 20 por unidad de superficie. Pero esta regla sufre excepciones, tanto hacia uno como hacia el otro sentido, que hacen peligroso basar un diagnóstico en este solo dato.

Refiriéndonos ahora a las *dimensiones* o *tamaño* de los canales de Havers, debemos insistir en que en este dato debe calcularse obteniendo el promedio de las mediciones hechas sobre un mínimo de 200 canales. Esta insistencia nuestra se debe al hecho de que en buen número de compactas existen "zonas" o capas con una disposición de osteonas, con una estructura distinta al resto, por lo que dan lugar a variaciones en las dimensiones de los canales haversianos que, en algunos casos, se apartan sensiblemente del promedio; como quiera que el número de estos canales de dimensiones discordantes nunca es muy elevado, con la precaución citada para determinar el tamaño se amortiguan las dispersiones y se obtienen cifras constantes para cada especie.

Para compararlas con las nuestras, volvemos a reproducir las cifras atribuidas a los diámetros de los conductos de Havers para los huesos humanos y animales por los autores que se han ocupado de esta cuestión, Kenyeres y Hegyi afirman simplemente que el diámetro de los canales en el hombre es al menos tres veces mayor que en los animales. Fana puntualiza que dicho diámetro oscilaría en el hombre entre 80 y 140 micras, sin que en los animales alcanzaran nunca más de 35 micras. Canuto ha encontrado conductos de Havers en los huesos humanos cuyo diámetro era muy pequeño, señalando como límite mínimo las 16 micras, aunque predominan las dimensiones mayores. Nuestro compatriota Aznar obtiene como resultado de sus mediciones un límite inferior promedio para el diámetro de los conductos haversianos en el hombre de 30 micras, estableciendo el límite máximo para ese diámetro en los huesos animales en 25 micras. Por último, para Schranz la anchura media de los conductos de Havers corresponde en el hombre a 80 micras; valor éste que sería análogo en los huesos del caballo, mientras que para las demás especies animales dicho diámetro es sensiblemente inferior: en el oso 65 micras, en el jabalí 50, en el toro y en el cerdo 40 micras.

Por nuestra parte hemos hallado en el hombre la existencia de conductos de Havers de diámetro más pequeño de lo que han admitido los distintos autores, conductos de 10 micras y, hasta en muy pequeño número,

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

conductos inferiores a las 10 micras; pero extrayendo la media de nuestros recuentos, siempre en cada uno de los fragmentos de hueso humano estudiados, dicha media ha superado las 30 micras (en un caso sólo 30'78 micras) y la media general de todos los fragmentos estudiados, alcanza la cifra de 53'33 micras, siendo la media más alta obtenida para un fragmento de 76'07.

En los distintos animales cuyos huesos hemos estudiado, hallamos que los diámetros de los conductos de Havers son para el carnero una media general de 6'29 micras, siendo las medias extremas de 5'18 la mínima y de 8'55 la máxima. Para el caballo, la cifra media general de diámetro de los conductos de Havers, practicando como hemos dicho la medición de gran número de conductos (más de 200 en cada compacta), nos ha dado como resultado 17'06 micras, siendo los valores extremos hallados de 12'22 micras el mínimo y de 22'33 micras el máximo. En el ternero las mediciones practicadas nos han concedido una media general (de todas las diáfisis) de 16'31 micras de diámetro, siendo los valores extremos de dichos diámetros de 13'27 micras el diámetro menor y de 21'26 micras el diámetro mayor. En el cerdo hemos hallado que el diámetro medio general, es decir, el diámetro obtenido como promedio de todos los diámetros obtenidos para cada una de las 22 compactas, practicando gran número de mediciones en cada una, ha sido de 15'02, siendo los valores extremos de 10'10 micras de diámetro en la compacta que lo alcanza menor y de 19'21 micras en la compacta que tiene el diámetro promedio de sus conductos más alto.

Vemos, pues, que en este dato hallamos la mayor fuerza para establecer el diagnóstico que buscamos, pues, no sólo manejando la media general de todas las diáfisis de cada especie, sino que también con el diámetro promedio de cada diáfisis encontramos siempre un límite neto entre los huesos humanos y los huesos de procedencia animal. Este límite dejaría un amplio margen de diferencia, pues como hemos visto ninguna diáfisis de procedencia humana tenía como diámetro promedio de sus conductos de Havers una cifra inferior a 30 micras (la mínima era de 30'78), mientras que en las diáfisis de huesos de animales, las cifras más altas, correspondientes a huesos de caballo y ternera, han sido de 22'33 micras de diámetro promedio en la diáfisis de caballo que lo alcanza más alto, y de 21'26 micras de diámetro promedio de sus conductos a la diáfisis de ternera que está en las mismas condiciones, quedando la máxima del cerdo en 19'21 micras y la de cordero es de 8'55 micras.

Claro está, y hemos de insistir en ello aun a trueque de reiterarnos, que estas comparaciones diagnósticas sólo pueden establecerse por medias características de la orfología de cada hueso, es decir, para cada diáfisis tomaríamos en todo caso el diámetro promedio de las mediciones de el mayor número posible de conductos, ya que los valores extremos de cada diáfisis no resultan en absoluto característicos.

Con esta salvedad de trabajar con las cifras de diámetro promedio de cada diáfisis, nuestros resultados coincidirían con los obtenidos por nuestro compatriota Aznar. No así, si tomamos los diámetros de los conductos de Havers por separado, pues entonces los diámetros extremos hallados en cada caso se distanciarían notablemente; de ahí insistimos la necesidad de referirnos siempre a diámetros promedios, para amortiguar la dispersión de los valores extremos.

La forma de los conductos de Havers, en cambio, la encontramos mucho menos significativa que sus caracteres numéricos, pues si bien en los huesos humanos predominan acusadamente las formas elíptica e irregular, tal como señalaba Aznar, no son exclusivas, antes al contrario es habitual observar también estas formas en los huesos animales, cualesquiera que sea la especie. La forma redonda, más típica de los huesos animales, se ve también en las preparaciones de huesos humanos.

Tenemos la impresión de que el predominio de las formas redondas o elípticas depende de las dimensiones de los canales: a mayor diámetro de éstos más frecuente es el conducto elíptico, y a la inversa; tal vez el mayor tamaño del conducto haga más ostensible la diferencia entre sus diámetros máximo y mínimo facilitando el definirlo como elíptico.

Según nuestra experiencia, adquiere una mayor significación diagnóstica la forma irregular de los conductos háversianos, que cuando abundan en una preparación de tejido óseo le imprimen un sello característico de su origen humano.

#### D) CONDUCTOS DE VOLKMAN.

De los elementos que hemos tomado en consideración en nuestras investigaciones son, quizá, los conductos de Volkman los que presentan menos valor en cuanto a los fines propuestos. Su *dirección* presenta algunas diferencias específicas, pero su interpretación no es factible de someter a reglas, dependiendo más de la impresión de conjunto que produce

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

al observador experimentado. En las distintas especies animales, la dirección de estos conductos es normalmente radial o concéntrica al conducto medular, es decir, transversal o longitudinal con respecto a la compacta, aunque pueden también seguir otras direcciones; en la especie humana no aparece sentido predominante, siendo la dirección sensiblemente variable e irregular. Esta diferencia viene condicionada, lógicamente, a la disposición de las osteonas que, como diremos más adelante, es mucho más ordenada en el animal que en el hombre.

De la misma manera y por la misma razón, la forma de los conductos de Volkman ofrece considerable irregularidad al observar campos amplios cuando se trata de huesos humanos, mientras que en los animales, sin estar excluida una posible irregularidad, predominan determinadas formas, especialmente la recta y, en segundo término, la arqueada.

Más significativa es la *densidad* de los conductos de Volkman por unidad de superficie, que en nuestra sistemática hemos referido a un campo de microscopio con una combinación óptica de 50 aumentos, dado su número escaso que impide contarlos referidos a milímetros cuadrados de superficie de preparación. En las especies animales el número de conductos por campo supera claramente al número de los mismos en la especie humana.

Ahora bien, en las especies animales hay una dispersión de resultados, hacia abajo y hacia arriba, que llega a cubrir en los valores inferiores los que son normales en la especie humana; así resulta que los valores comprendidos entre tres y diez conductos por campo, pueden corresponder tanto a una especie animal como a la especie humana. Cuando los valores son inferiores a tres, las probabilidades de que el hueso sea animal son muy escasas, aunque no esté excluido; si el número de conductos es superior a diez por campo, puede afirmarse el origen animal del hueso.

Con las precedentes consideraciones hemos llegado al final de nuestro estudio y creemos haber resaltado suficientemente el valor de los distintos elementos que integran la estructura del tejido compacto óseo, en lo relativo al diagnóstico médico-legal de la especie.

Como sucede siempre, en las constantes biológicas no existen saltos bruscos entre las especies, sino transiciones graduales. Una de las consecuencias es que ninguno de aquellos elementos considerado aisladamente constituye el índice preciso para el diagnóstico específico de los huesos.

ANTONIO MURCIA GARCÍA

Su conjunto, en cambio, proporciona un cuadro suficientemente demostrativo cuando se posee un mínimo de experiencia.

Ello no quiere decir que el valor de los caracteres estudiados sea idéntico, pues, como hemos hecho notar en la exposición crítica de nuestros resultados, hay diferencias claras en cuanto al valor diagnóstico de los mismos.

Para evitar más repeticiones, en las conclusiones que siguen sintetizaremos el valor relativo de cada uno de éstos, su significación y su trascendencia para diagnosticar la especie de un fragmento de hueso, según las exigencias de la práctica médico-legal.

## CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> En la práctica médico-legal se hace necesario recurrir, en ocasiones, a los métodos histológicos para establecer si un fragmento óseo procede de un ser humano o de un animal.

2.<sup>a</sup> Tal diagnóstico específico está expuesto a sensibles errores si se basa en el estudio de un carácter aislado de la estructura histológica del hueso.

3.<sup>a</sup> Proponemos una sistemática para el estudio de las características histológicas diferenciales entre el tejido compacto de los huesos humanos y animales, basada en el análisis sucesivo y detallado de cuatro elementos fundamentales, a saber:

- a) Estructura general de tejido compacto.
- b) Caracteres de las osteonas.
- c) Conductos de Havers.
- d) Conductos de Volkman.

4.<sup>a</sup> El valor diagnóstico de cada uno de estos elementos, considerados aisladamente, sigue una gradación que, de menor a mayor, van en el siguiente orden: conductos de Volkman, estructura general, osteonas y conductos de Havers.

5.<sup>a</sup> Por lo que respecta a la estructura general de la compacta, la presencia de dos o más capas con disposición distinta de sus osteonas que comprendan todo el contorno de la diáfisis ósea, constituye un rasgo característico de los huesos animales.

6.<sup>a</sup> Las formas cuadrangulares de las osteonas son características de las especies animales, mientras que las formas irregulares son típicas de la especie humana; pero ni uno ni otro carácter tienen suficiente constancia para basar en ellos un diagnóstico.

7.<sup>a</sup> En la especie humana predomina netamente el tipo de disposición de osteonas "anárquico", aunque puede encontrarse también en los huesos animales. Por el contrario, el tipo de disposición "ordenado" propio de los animales, no se da nunca en los huesos humanos.

8.<sup>a</sup> Nuestras observaciones confirman una menor densidad por mm.<sup>2</sup> de los conductos de Havers en los huesos humanos, pero no es posible establecer un límite diferenciador preciso.

9.<sup>a</sup> Manejando los valores medios correspondientes a la totalidad de las diáfisis estudiadas en cada especie, hemos calculado que en los huesos humanos el número de conductos de Havers por mm.<sup>2</sup> no excede de veinte, mientras que en los animales es siempre superior a esta cifra. Pero aplicada a los resultados obtenidos en fragmentos aislados, esta regla sufre excepciones que hacen peligroso basar un diagnóstico en este solo dato.

10.<sup>a</sup> Sin embargo, cuando se trata de huesos humanos, sólo se cuentan más de veinte conductos por mm.<sup>2</sup> en los procedentes de niños de corta edad (en nuestra serie los de menos de un año).

11.<sup>a</sup> La dimensión (diámetro) de los conductos de Havers, es el dato de más valor entre todos los tomados en consideración, a condición de no considerar los conductos aisladamente, sino lo que llamamos el diámetro promedio de cada diáfisis, obtenido mediante la medición de un número elevado de dichos diámetros (más de 200). Hemos hallado que dicho diámetro promedio es en la especie humana superior a 30 micras, siendo en las especies animales estudiadas, en general, inferior a 25 micras.

12.<sup>a</sup> La forma de los conductos de Havers, en lo que respecta al diagnóstico específico, es menos significativa que sus caracteres numéricos; puede afirmarse tan sólo que las formas elípticas e irregulares predominan en los huesos humanos, y las formas redondeadas predominan en los animales.

13.<sup>a</sup> Los conductos de Volkman conceden sólo datos complementarios.

14.<sup>a</sup> La dirección y forma de estos conductos presentan algunas diferencias específicas, pero solamente atendiendo a la mayor frecuencia relativa de algunas de ellas.

15.<sup>a</sup> En cuanto a su densidad, es superior en los huesos procedentes de animales, si bien únicamente puede afirmarse este origen cuando el número de conductos que se hallan por campo microscópico (a cincuenta aumentos) es superior a diez.

16.<sup>a</sup> Tomando en consideración el conjunto de variantes de los cuatro elementos fundamentales de nuestra sistemática, valorados según las normas expuestas, puede llegarse con seguridad al diagnóstico específico incluso de fragmentos óseos de muy reducidas dimensiones.

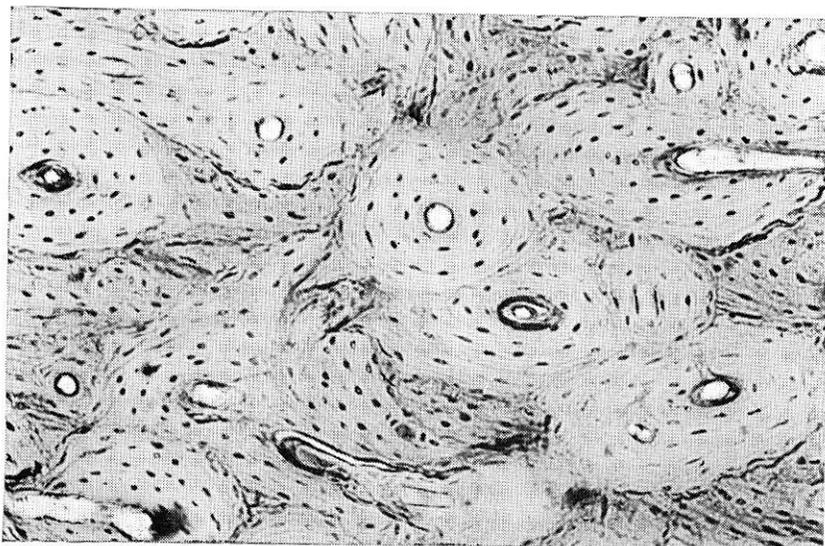
## BIBLIOGRAFÍA

- ABDERHALDEN: Sección IV, parte 12.<sup>a</sup>, tomo II. Ed. Urban y Schwarzenberb, Berlín y Viena, 1934.
- AMPRINO Y BAIRATI: "Le variazioni nella struttura dell'osso in relazione all'età e la loro importanza medico-forense". *Archivio di Antropologia Criminale, Psichiatria e Medicina Legale*. 1938, vol. 58, pág. 61-74.
- AZNAR, B.: *La identificación de restos óseos*. Madrid, 1931.
- BADER Y CANUTO: "I canali di Havers in rapporto all'età". *Archivio di Antropologia Criminale, Psichiatria e Medicina Legale*, 1930.
- BALTHAZARD, V.: *Manual de Medicina Legal*, sexta ed. española. Ed. Salvat, 1947.
- BALTHAZARD Y LEBRUN: "Les Canaux d'Havers de l'os humain aux differentes ages". *Anales d'hygiene publique et médecine legale*. 1911, feb., pág. 135.
- BARGMANN, W.: *Histología y anatomía microscópica humanas*. Ed. Labor. Barcelona, 1961.
- BECHER, H.; HOEGUEN, K., y PFEFFERKORN, G.: "Sublichtmicroscopisch-morphologische Untersuchungen des anorganischen Knochenanteils". *Acta Anat.*, 20 (1954).
- BERDAL, E.: *Manual de Histología normal*. Trad. de la sexta ed. francesa, por el Dr. Carlos Calleja, revisada por el Dr. F. Fornells Puig. Ed. Espasa Calpe. Madrid, 1927.
- BOYD, J. D., y TREVOR, J. C.: "Raza, sexo, edad y talla por el material óseo", en *Modernas orientaciones de la Medicina Forense*, por Keit Simpson. Londres, 1943, pág. 133.
- CANUTO, G.: "Diagnosi di specie in piccoli frammenti di ossa calcinate". *Archivio di Antropologia Criminale, Psichiatria e Medicina Legale*, 1927, vol. 47, fasc. 6, págs. 948-958.
- CARELLA: "Un metodo per l'esame istologico di frammenti di ossa". *Rivista di Antropologia*. Vol. XL.
- DEROBERT, CLAVELIN y HARINI: *Ann. Med. Leg.*, etc., 29, 145 (1949).
- FANA: *Giornale internazionale delle Scienze Mediche*, 1907. Feb. Vol. 4, pág. 167.
- FORBES, G.: *Los efectos del calor en la estructura histológica de los huesos*. Pol. J. 14 (1941), pág. 50.
- FRANCOTTE, P.: *Manuel de Technique microscopique applicable a l'Histologie, l'Anatomie comparée, l'Embriologie et la Botanique*. Ed. J. Labegue. Paris.
- FRANK, R.; FRANK, P.; KLEIN, M., y FONTAINE, R.: "L'os compacte humain normal au microscope électronique". *Arch. d'Anat. microsc. et de Morphol. Exper.* 44 (1955).
- GEYER: *Inaugur. Dissert.*, Jena, 1910.
- GIESE: "Ueber die Diagnose der Herkunft von Knochenfragmenten in forensichen Beziehung durch vergleichend-histologische Untersuchung". *Vierteljahrsschrift für gericht. Medicin*, 1909, XXXVIII, 1, pág. 28.

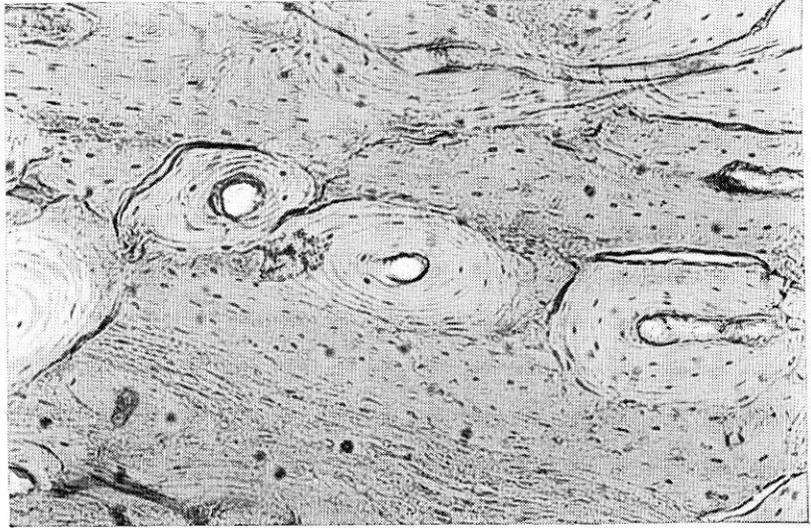
- GLAISTER, J.: *Medical Jurisprudence and Toxicology*. Octava ed. Livingstone, Edimburgo, 1945.
- GRADWOHL, R. B. M.: *Legal Medicine*. Ed. Mosby Company. St. Louis, 1954.
- GYORGY, D., y MÁTHIAS, J.: "Mikroskopisch vergleichend.anatomische Studien an Röhrenknochen mit besonderer Rücksicht auf die Unterscheidung menschlicher und thierischer Knochen". *Zentralblatt Anat.*, 1928, 87, pág. 45-99.
- HEY: "Die histologische Identifizierung von menschlichen und tierischen Knochen". *Deutsche Zeitschrift für die ges. gerichtliche Medizin*, 1924, vol. 4, pág. 566-576.
- KAEWEL: "Maceration von Knochenpräparaten mittels antiformin". *Zentralblatt für allg. Pathol. u. pathol. Anat.*, 1928, vol. 41, n. 9, pág. 385-388.
- KENYERES y HEGYI: "Unterscheidung des menschlichen und des tierischen Knochengewebes". *Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medizin und öffentl. Sanitätswesen*. 3 Folge, XXV, 2.
- KENYERES y HEGYI: *Viertelj fur gerichtliche Medizin*, 1909.
- KENYERES y MÁTHYAS: "Untersuchungen an Menschen und Tierknochen". "Actas del VIII Congreso de la Sociedad Alemana de Medicina Legal", 1912. *Vierteljahrsschrift für gericht. Medizin*, 1913, vol. XLV, supp., pág. 10.
- KERNBACH: *Etude et identification des os dans la Médecine Légale*, Cluj. 1925.
- KOVACS, G., y DE MAURICI, M.: *La Diagnosi*, 15, 480. 1959.
- KRATTER: *Lehrbuch der Gerichtliche Medizin*. Stuttgart, 1912.
- KROGMAN, W. M.: *A guide to the identification of human skeletal material*. F. B. I. Law. Enf. Bull. 8 (1939), núm. 8, p. 3.
- KROGMAN, W. M.: "The human Skeleton in Legal Medicine", en *Symposium on Medico-legal Problems*. Ed. Levinson S. A., Philadelphia, 1949.
- LEVI, G.: *Tratado de Histología*. Segunda ed. española. Versión del Prof. E. Fernández Galiano. Ed. Labor, S. A. Barcelona, 1941.
- LOCHTE: *Gerichtärzliche und Polizeiarztliche Technik*. Wiesbaden, 1914.
- LÓPEZ GÓMEZ: *Técnica Médico-legal. Criminalística*. Ed. Saber. Valencia, 1953.
- LÓPEZ GÓMEZ y GISBERT CALABUIG: *Tratado de Medicina Legal*. Ed. Saber. Valencia, 1962.
- MAXIMOW, A. A., y BLOOM, W.: *Tratado de Histología*, 2.<sup>a</sup> ed. Ed. Labor, S. A. Argentina. Buenos Aires, 1947.
- MC. NAMARA, W. L.; MURPHY, B., y GORE, W. A.: "Method of simultaneous fixation and decalcification of bone. *Journal Labor. o. clinic. Medicine*, 1940, vol. 25, págs. 874-875.
- MUELLER: *Gerichtliche Medizin*. Ed. Springer, Berlín, 1953, pág. 155.
- NICEFORO: *La Police et l'enquête judiciaire*. Libr. Universelle. París, 1907.
- ORFILA: *Traite de Médecine Légale*. 4.<sup>a</sup> ed. París, 1848.
- PALMIERI, V. M.: *Medicina Forense*. Ed. Morano, Nápoles, 1956, págs. 1097-1119.
- PARISOT y MUTEL: "L'importance de la phalange unguéale dans l'identification de Débris osseux". *Annales de Médecine Légale*, 1929, vol. 9, págs. 543-545.
- PETERSEN: "Die Organe des Skeletsystem", en *Handbüch des mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Springer. Berlín, 1930. II/2. de Mollendorff.
- PENSOLD: "Knochen", en *Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*. Springer, Berlín, 1940, pág. 399-401.
- RAMÓN Y CAJAL, S., y TELLO MUÑOZ, J. F.: *Elementos de histología normal y de técnica micrográfica*. 10.<sup>a</sup> ed. Tipografía Artística. Madrid, 1931.
- RICHMANN, GELFAND e HILL: "A metod for decalcifying bone for histologic section". *Arch. of Patl.* 44,92 (1946).

## EL VALOR DE LOS MÉTODOS HISTOLÓGICOS...

- ROMEIS: *Taschenbuch der mikroskopischen Technik*. 13 ed., por Böhn y Oppel. München y Berlín, 1932. Verlag Von Oldenburg.
- SCHRANZ: "Abformverfahren" en *Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*. Berlín, 1940, de Neureiter, Pietrusky y Schütt.
- SCHUMACHER-MARIENFIELD, S.: *Compendio de histología humana*. 4.<sup>a</sup> ed. española. Trad. del Dr. Alvarez Zamora. Ed. Labor, S. A. Barcelona, 1955.
- STEWART, T. D.: *Lo que dicen los huesos*. F. B. I. Law Bull. 20 (1951), núm. 2, pág. 2.
- SVENSSON y WENDEL: *Métodos modernos de investigación criminal*. Ed. A. H. R. Barcelona, 1956.
- SZYMONOWICZ, L., y KRAUSE, R.: *Tratado de Histología y Anatomía microscópica*. Trad. española del Dr. Isaac Costero. Tercera ed. Ed. Labor, S. A. Barcelona, 1943.
- TOLDT: "Le ossa sotto il rapporto medico-legale", en *Trattato di Medicina Legale*, de Maschka, G., vol. III, pág. 541 (trad. italiana de V. Meyer). Ed. Jovene. Nápoles, 1891.
- URTUBEY, L.: *Elementos de Histología*. Ed. Alhambra, Madrid, 1949.
- VEIGA DE CARVALHO, H., y BAILLOT, O.: "Novas tecnicas e novo processo de observação microscopica dos ossos e sua aplicação Medico Legal". *Arquivos de Med. Legal e Identif.* Río Janeiro, 1933. Año III, núm. 7, pág. 37.
- VICENT, J.: "Recherches sur la constitution du tissu osseux compact". *Arch. de biologie* (Liege). LXV, fasc. 4, 1954.
- WADA: "Ueber die Unterscheidung von Menschen und Tierknochen". *Vierteljahrsschrift für gerichtlichen Medizin und öffentl. Sanitätswesen*, 3 Folge, XXXVII, 2, pág. 265.
- WEIDENREICH, F.: "Das Knochengewebe", en *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des menschen, de Möllendorf*. Vol. II/2. Ed. Springer. Berlín, 1930.



Microfotografía n.º 1.—(Visión a 125 aumentos.) Corresponde a la diáfisis de caballo n.º 3. Se ven en ella varias osteonas en las que destacan las laminillas óseas rodeando los conductos de Havers



Microfotografía n.º 2.—(Visión a 125 aumentos.) Corresponde a la diáfisis de caballo n.º 4. Se aprecian claramente las laminillas en la substancia intercalar y las líneas cementadas