



RESÚMENES DISERTACIONES

JUEVES 21 DE AGOSTO

CONFERENCIA: Control genético de la susceptibilidad a la osteoporosis

Dra. Nori Tolosa de Talamoni

Laboratorio "Dr. Fernando Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, INICSA (CONICET-Universidad Nacional de Córdoba).

La osteoporosis es el trastorno esquelético más serio y común de la vejez, caracterizado por baja densidad mineral ósea (DMO), fragilidad del hueso y alto riesgo de fracturas espontáneas (Kanis J, *Lancet* 2002). Se ha estimado que afecta a 200 millones de personas en el mundo y que produce más de 9 millones de fracturas cada año (Hernández-de Sosa N y col., *Calcif Tissue Int* 2014). Es una patología con altas implicancias en morbilidad, mortalidad y costos económicos. Tiene una etiología compleja y es considerada una enfermedad poligénica, en la que los determinantes genéticos son modulados por factores hormonales, ambientales y nutricionales (Gennari L y col., *Am J Epidemiol* 2005). La heredabilidad de la baja masa ósea en columna y cadera, uno de los principales fenotipos de la osteoporosis, ha sido estimada entre el 70 y el 85% (Ralston S, *J Clin Endocrinol Metab* 2002).

La genética de la osteoporosis comprende dos áreas principales: 1) genética de la susceptibilidad a la osteoporosis, 2) farmacogenética de la respuesta a la medicación. La susceptibilidad genética a la osteoporosis se ha estudiado por diferentes técnicas tales como análisis de ligamiento familiar, asociaciones de genes candidatos en estudios casos-controles con hipótesis *a priori*, análisis del genoma completo de asociaciones de variantes polimórficas de nucleótido simple, etc. La elección del fenotipo o los fenotipos más adecuados para relacionar con las variantes genotípicas es todavía un desafío. Los fenotipos más utilizados han sido la DMO, el riesgo de fractura osteoporótica, la geometría del hueso, los marcadores óseos, etc. Uno de los genes más estudiados es el del receptor de vitamina D (VDR), el cual presenta varios sitios polimórficos. En una muestra poblacional en mujeres posmenopáusicas osteoporóticas de la ciudad de Córdoba y zona de influencia, hemos detectado asociación de baja DMO con los genotipos bb (sitio polimórfico *Bsm I*) y ff (sitio polimórfico *Fok I*) del gen de VDR (Pérez A y col., *J Bone Min Metab* 2008). En un reciente metanálisis de un total de 14 estudios que involucraron a más de 3.000 mujeres posmenopáusicas asiáticas, el polimorfismo de VDR en el sitio polimórfico *Fok I* también se asoció con la DMO de columna lumbar, asociación que fue mayor en las mujeres de India (Wang D y col., *Eur J Obstetrics & Gynecol and Rep Biol* 2013). En pacientes con síndrome de Turner, quienes presentan osteoporosis secundaria por insuficiencia ovárica, hemos detectado la misma asociación (Peralta López M y col., *J Pediatr Endocrinol Metab* 2011). Además, hemos demostrado relación entre el polimorfismo *Cdx2*, una variante polimórfica G-A en el promotor del gen de VDR, con la DMO y con los marcadores de resorción ósea (Peralta López M y col., *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012). También se han hallado asociaciones de la baja DMO con genotipos de genes tales como el del receptor de estrógenos alfa (*ESR1*), el del colágeno tipo I alfa I (*COL1A1*), *TNF- α* , *OPG*, *TGFB1*, *LRP5*, entre los más de 150 genes estudiados (Ralston S, Uitterlinden A, *Endocrine Rev* 2010). Las asociaciones encontradas entre genes candidatos o variaciones del genoma con los riesgos de fracturas tienen muchas limitaciones porque la genética del riesgo de fractura está muy poco entendida y se sostiene que deberían separarse los estudios de riesgo de fractura de aquellos que estudian la genética asociada a la baja DMO (Richards J y col., *Nat Rev Genet* 2012).

Desde 2007, Zheng y otros investigadores han publicado varios estudios de asociación del genoma con rasgos relacionados con la osteoporosis, en los que identificaron múltiples variantes asociadas con la DMO y determinaron vías biológicas que influyen la DMO. Estos estudios son costosos, de poder estadístico limitado, que explican un pequeño porcentaje de la varianza fenotípica pero que permiten a la comunidad científica trabajar sin hipótesis previa. En general, la mayoría se han centrado en pocas vías metabólicas: Wnt/ β -catenina, RANK/RANKL/OPG, sistema endocrino del estrógeno, formación ósea, diferenciación de OC, diferenciación de célula *stem* a mesenquimal y vía de señal del TGF. No obstante, hay más de 30 loci hallados con esta metodología, de los cuales no hay evidencia previa de que pudieran influir sobre la DMO (Hsu Y, Kiel D, *J Clin Endocrinol Metab* 2012). Finalmente, algunos estudios tratan de definir los mecanismos que subyacen en la asociación con la *performance* del fenotipo, es decir, modelos animales en los cuales el gen ha sido mutado, sobreexpresado o eliminado (Uitterlinden A y col., *J Mus-*

culoskelet Neuronal Interact 2006). En un reciente estudio traslacional utilizando ratones ovariectomizados se han detectado 180 transcritos diferentes de aquellos de los ratones Sham. De ese total, 4 de los genes se analizaron en una cohorte de 706 mujeres posmenopáusicas y se encontró que 2 de ellos estaban asociados a fenotipos óseos: el gen *GPX3* que codifica para la glutatión peroxidasa 3 y el gen *CD79A* que codifica para la Ig alfa, proteína necesaria para la expresión y función del receptor de antígeno de la célula B. Es decir que este estudio refuerza el papel de la vía antioxidante y de la función de la célula B en la homeostasis del hueso y la necesidad de que estos genes se estudien en relación con la osteoporosis posmenopáusica (Pineda B y col., *Bone* 2014).

En los niños y adolescentes la osteoporosis es poco frecuente. Las causas primarias de la osteoporosis pediátrica son raras, pero la osteoporosis secundaria es una preocupación creciente por la mayor sobrevivencia de niños crónicamente enfermos. Los niños prepúberes nacidos pequeños para la edad gestacional y sin recuperación del crecimiento suelen tener franca osteopenia. En nuestro laboratorio hemos detectado que el genotipo SS (sitio polimórfico del gen *COL1A1*) se asocia a más baja DMO en estos niños en comparación con los niños que han logrado la recuperación del crecimiento o con los niños nacidos adecuados para la edad gestacional (Silvano L y col., *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012).

El estudio de la farmacogenética de la respuesta a la medicación en la osteoporosis es muy incipiente. El emergente campo de la farmacogenética podría ser muy útil para optimizar el tratamiento de esta patología permitiendo la identificación de la droga más eficaz y de la mejor dosis para cada paciente, en términos de efectos beneficiosos o adversos, basados en un simple genotipo. Se han realizado estudios de genes candidatos tales como *VDR*, *ER α* , *ER β* , *COL1A1* en relación con la respuesta a los fármacos antirresortivos tales como la terapia de reemplazo hormonal, el raloxifeno, los bifosfonatos. Es probable que los genes que afecten la DMO y el riesgo de fracturas sean diferentes de aquellos que afecten la respuesta a los fármacos. Estos estudios deben incrementarse definiéndose los fenotipos de la respuesta a los fármacos antirresortivos e incluyendo genes involucrados en la farmacocinética y farmacodinámica específica de las drogas (Marini F, Brandi M, *Biol Reports* 2014).

Hasta el momento, mucho se ha avanzado en la metodología para el estudio de la genética de la osteoporosis, pero los resultados todavía son muy controvertidos. Es importante que continúen los estudios para que, a edad temprana, se puedan identificar los niños o jóvenes con riesgo de desarrollar la patología y, en caso de establecida la enfermedad, se pueda elegir la medicación con la cual cada individuo pueda tener la mejor respuesta.

SIMPOSIO CONJUNTO: American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR)-AAOMM
Invitado especial: Dra. Teresita Bellido (USA). Representante del Consejo Directivo de la ASBMR

Sesión 1: Resumen de la Reunión Anual ASBMR 2013

Presenta: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

Sesión 2: Esclerostina

Se discutirán las siguientes presentaciones correspondientes al Programa Científico ASBMR 2013:

Esclerostina sérica como marcador óseo (Matthew Drake, MD, PhD)

Aplicaciones clínicas y potencial terapéutico del boqueo de esclerostina (John Bilezikian, MD)

Presenta: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

Discusión: **Dra. Luisa Plantalech, Dr. Emilio Roldán**

Sesión 3: Músculo esquelético

Se discutirán las siguientes presentaciones correspondientes al Programa Científico ASBMR 2013:

Interacción músculo-hueso: ¿es el tejido adiposo el común denominador? (Clifford Rosen, MD)

Miostatin (Se-Jin Lee, MD, PhD)

Blancos terapéuticos para la pérdida de masa muscular (Ronenn Roubenoff, MD)

Presenta: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

Discusión: **Dr. Ricardo Boland, Dr. Ariel Sánchez**

Sesión 4: Osteocitos

Se discutirán las siguientes presentaciones correspondientes al Programa Científico ASBMR 2013:

Osteocitos: células regulatorias y secretoras (Charles O'Brien, PhD)

Osteocitos en acción (Sarah Dallas MD, PhD)

Presenta: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

Discusión: **Dra. Susana Zeni, Dr. José Luis Ferretti**

Sesión 5: Beneficios y oportunidades de ser socio ASBMR; ser socio AAO MM

Resumen de las actividades desarrolladas por cada una de las Sociedades: programas de formación profesional, publicaciones científicas, programas de subsidios, becas para participación en las reuniones científicas internacionales y apoyo a jóvenes investigadores

Presenta por ASBMR: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

Presenta por AAO MM: **Dra. Virginia Massheimer**

Sesión 6: ASBMR 2014-2015 - Presentación del libro de la ASBMR

Temas destacados de las próximas Reuniones Anuales ASBMR: "Diabetes y hueso"; "Enfermedades óseas raras".

Presentación del libro *Primer of Bone and Mineral Research* (Publicación ASBMR)

Presenta: **Dra. Teresita Bellido (USA)**

CONFERENCIA: Sobre genes y genomas

Dr. Alberto Kornblihtt

IFIBYNE-CONICET y Depto. Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

El desciframiento del genoma humano y su comparación con otros genomas han revolucionado la biología. Los avances en el conocimiento de la estructura y funciones de los genes trascienden el campo científico y promueven profundos cambios en la concepción del hombre, sus relaciones familiares y sociales y la actividad productiva. La charla intentará repasar algunos conceptos básicos de biología molecular para definir genes, genomas, regiones intergénicas y regulación de la expresión genética. Se comentarán las bases moleculares de la epigenética, explicando cómo la metilación del ADN y las diversas modificaciones covalentes de las histonas influyen sobre los patrones de expresión de los genes pero no sobre su información determinada por la secuencia de bases. Se discutirán las realidades y mitos sobre la heredabilidad de los cambios epigenéticos y sus alcances. Finalmente, se comentarán las diferencias entre las enfermedades hereditarias y aquellas que, si bien pueden tener un componente genético, son causadas fundamentalmente por el ambiente. Se discutirá la realidad y mitos sobre el poder de los genes, lo heredado y lo adquirido.

SIMPÓSIO: Calidad de la formación ósea

Efectos de la hormona de crecimiento sobre el hueso en niños y adolescentes con insuficiencia hipofisaria

Dr. Hugo Boquete

Jefe Unidad de Endocrinología. Hospital T. Álvarez, Buenos Aires, Argentina. Director Unidad Académica Hospital Álvarez. Carrera de Médico Especialista en Endocrinología. Facultad de Medicina, UBA, Buenos Aires, República Argentina.

La hormona de crecimiento (GH) ejerce fundamentales efectos a nivel del hueso y del cartílago de crecimiento a través de diferentes mecanismos. En forma directa, la GH estimula la proliferación de condrocitos y precondrocitos del cartílago epifisario, así como de osteoblastos, mientras que en forma indirecta, vía IGF1 localmente sintetizada o circulante (de origen fundamentalmente hepático), se incrementa la proliferación de condrocitos de las zonas de reposo y proliferativa, así como el tamaño de las células de la zona hipertrófica. Es evidente que el crecimiento longitudinal del hueso se produce por la acción sinérgica de GH e IGF1, que estimulan la diferenciación de precursores mesenquimáticos y la expansión clonal de condrocitos diferenciados. A nivel del osteoblasto, la GH ejercería una acción antiapoptótica a través de mecanismos independientes de IGF1; sin embargo, las principales acciones anabólicas óseas de la GH se producirían por aumento en la producción local de IGF1 y el subsiguiente efecto de este factor en la proliferación de osteoblastos.



Por otra parte, la GH potencia la secreción y el efecto de otras hormonas que actúan sobre el hueso, como los esteroides sexuales y la $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D. Finalmente, la acción anabólica proteica de la GH, con el consiguiente aumento de la masa y fuerza muscular, estimulan la formación del hueso (teoría del mecanostato). Los efectos beneficiosos de la combinación de un agente anabólico con la carga mecánica se evidenciarían por un descenso del umbral de remodelación ósea y por el hecho de que la carga mecánica induce la producción local de factores de crecimiento (IGF1, TGF β , PGE2, etc.), los que estimulan la función osteoblástica y aceleran la diferenciación de células osteoprogenitoras.

A partir de los efectos fisiológicos descritos, es indudable el trascendental impacto deletéreo sobre el hueso que se observa en niños y adolescentes con insuficiencia hipofisaria. Desde hace casi un siglo se reconoce el importante retraso en el crecimiento posnatal de pacientes con deficiencia de GH (GHD), quienes alcanzan, en los casos de insuficiencia severa, tallas menores de 4 o 5 desvíos estándar por debajo de la media para edad y sexo. A partir de la introducción del tratamiento con hormona de crecimiento, extraída de hipófisis humanas desde fines de la década del 50 y desde la mitad de los 80, sintetizada por biotecnología recombinante, se ha logrado normalizar el crecimiento de estos pacientes. De todos modos, el pronóstico de talla final depende de la terapéutica temprana, el uso de posología y dosis adecuadas y del mantenimiento del tratamiento hasta el final del crecimiento sin interrupciones. Sin embargo, solo en las últimas décadas, a raíz de la observación de disminución del contenido mineral óseo en adultos con GHD, se ha prestado atención a los efectos de esta hormona sobre la calidad y correcta mineralización del hueso en los pacientes pediátricos deficitarios. En los adultos se ha referido que la edad de inicio de la deficiencia determina la gravedad de la osteopenia; por ello, en los casos en quienes la GHD ha comenzado por debajo de los 30 años, se han observado mayores deterioros en la mineralización ósea. Además, la profundidad de la GHD correlaciona con la severidad de la osteopenia. Dado que el pico de masa ósea se alcanza, normalmente, una década después de finalizar el crecimiento lineal, los pacientes con GHD que no han recibido tratamiento sustitutivo durante la pubertad presentan un menor pico de masa ósea.

El tratamiento con GH sigue un “modelo de acción trifásico” sobre el hueso, sugiriendo que los procesos de resorción y formación se producen en forma paralela, aunque con un ritmo diferente. Finalmente, se alcanza un punto de transición, donde la formación de hueso es estimulada en mayor proporción que la resorción y la masa ósea comienza a incrementarse. En general, este fenómeno se constata en adultos entre los 12 y 18 meses, mientras que en niños se ha observado aumento de la DMO a los 2 años de tratamiento. De todos modos, la dinámica de la respuesta en pacientes pediátricos no está claramente definida. En estos últimos, los marcadores de formación se incrementan y alcanzan una meseta entre los 3 y 12 meses, probablemente cuando el proceso de aposición no requiere compensar la resorción incrementada durante los primeros meses de terapéutica. Ha sido descrito que marcadores de formación, como el PICP, y de resorción, como el ICTP, alcanzarían los mayores niveles al año de tratamiento y retornarían a valores basales luego de 3 años, sugiriendo que el mayor efecto en la formación de hueso se produciría durante dicho período.

En relación con los hallazgos densitométricos, es interesante destacar el aumento de DMO, tanto lumbar como en cuello femoral, en los pacientes infantojuveniles tratados. De todos modos, en los pacientes insuficientes, estos resultados deben tomarse con prudencia, ya que con respecto al diferente grado de alteración en la masa y estructura ósea, no dependen exclusivamente del tratamiento con GH, sino también de la asociación con deficiencias de otras hormonas hipofisarias y su adecuada sustitución. Ello se pone en evidencia por la mayor prevalencia de fracturas en pacientes con deficiencias múltiples. Las distintas variables estudiadas (CMO, DMO areal y DMO volumétrica) también contribuyen a las discrepancias halladas en la interpretación de los resultados observados en distintos estudios. La mayoría de los trabajos basan la predicción de fracturas en la DMO areal; sin embargo, se ha demostrado que esta medición realmente subestima la densidad cuando se evalúan huesos de tamaño pequeño. Por tal motivo, muchos investigadores sugieren ser cautos en el análisis de resultados en pacientes con talla baja. Finalmente, los análisis de los hallazgos obtenidos debe tener en cuenta la duración de la terapéutica, en función del efecto trifásico de acción de la GH mencionado, con posible disminución a lo largo del primer año, un sostenido incremento a lo largo de 3 a 5 años y una meseta posterior.

Por último, un tema de debate actual se plantea sobre si los adolescentes con GHD requieren mantener el tratamiento luego de llegar a la estatura final. En condiciones normales, el 95% de la masa ósea se alcanza en la mitad de la tercera década de la vida; sin embargo, en los pacientes hipofisarios, debido al retraso puberal habitual en esta situación o a la deficiencia asociada de gonadotrofinas, el pico puede observarse posteriormente. El tratamiento con GH usualmente se discontinúa a los 15-17 años, cuando aún no se ha alcanzado el pico de masa ósea. Diversos estudios han mostrado que los pacientes en quienes

se mantiene o reinstituye la terapéutica sustitutiva siguen aumentando su DMO. Estos hallazgos sugieren que cuando se suspende la GH, una vez alcanzada la talla final, el paciente debería ser rápidamente reevaluado para determinar si persiste la deficiencia y, en caso de confirmarse, si el tratamiento con GH debería reinstituirse en forma inmediata. De todos modos, durante esta etapa de transición no está claro, aún, el mejor régimen posológico que debería emplearse.

En conclusión, la experiencia mundial en relación con el impacto sobre el metabolismo óseo de la GHD, confirma la importancia de su evaluación a lo largo de la vida y, en muchos casos, su efecto fundamental en la adquisición y mantenimiento de la adecuada masa y calidad del hueso desde la infancia hasta la adultez.

Dieta, nutrición y salud ósea en niños y adolescentes

Dra. Cecilia Albala

INTA/Universidad de Chile.

Existe consenso en que la mejor manera de prevenir la baja masa ósea y el deterioro de la microarquitectura ósea propios de la osteoporosis es llegando a un *peak* de masa ósea óptimo, manteniendo posteriormente el equilibrio entre formación y resorción ósea y con un adecuado funcionamiento endocrino. Aunque el factor genético es probablemente el mayor determinante de la máxima masa ósea alcanzada, existen otros factores que desempeñan un papel clave en lograr este máximo posible. Durante la infancia y la adolescencia, la nutrición -especialmente el consumo de calcio y proteínas- y la actividad física son fundamentales. Asimismo, la exposición a conductas de riesgo como el cigarrillo y el consumo excesivo de alcohol atentan contra la salud ósea. El pico de masa ósea se alcanza entre los 14 y los 18 años y alrededor de los 20 años se llega al 90% de la masa ósea total.

Diferentes factores dietarios pueden afectar la salud ósea: macronutrientes (proteínas y ácidos grasos), minerales (Ca, P, Mg), micronutrientes (vitaminas ADEKC), y otros nutrientes contenidos en frutas y vegetales como fitoestrógenos y polifenoles. Sin embargo, la mayoría de las investigaciones se han centrado en calcio y vitamina D.

Un consumo adecuado de calcio durante el crecimiento es probablemente el factor nutricional más importante para alcanzar una masa ósea máxima óptima. El reporte de la Academia de Medicina Estadounidense estima en 1.300 mg de calcio y 600 IU de vitamina D la ingesta diaria recomendada para niños y adolescentes entre los 9 y 18 años. Diversos estudios han mostrado que no más de la mitad de los adolescentes llega a esta ingesta, la cual es especialmente deficitaria en mujeres.

Las principales fuentes de calcio son, por lejos, los productos lácteos, aunque además lo contienen algunas verduras, legumbres y nueces. Por lo tanto, el consumo de leche en la dieta es crítico para alcanzar estos requerimientos, no solo por su alto contenido de calcio (110 mg/100 ml), sino también a través de nutrientes que se sabe promueven la formación de la matriz ósea como son las proteínas de alto valor biológico y las vitaminas C, D y K. Por otro lado, la absorción del calcio de la leche se ve favorecida por la presencia de lactosa y proteínas y la favorable razón calcio/fósforo.

La deficiencia de vitamina D es un importante factor de riesgo de osteoporosis fundamentalmente por ser un factor indispensable para la absorción intestinal activa del calcio. La vitamina D se obtiene a través de la dieta y por síntesis cutánea luego de exposición al sol. Del total de la vitamina obtenida, solo una pequeña proporción, no mayor del 30%, proviene de la dieta, ya que solo algunos alimentos la contienen naturalmente. Por lo tanto, en general, las necesidades de vitamina D están cubiertas por la conversión fotoquímica de 7-dehidrocolesterol, inducida por la luz solar. La industrialización ha reducido la exposición a la luz solar, lo que aumenta nuestra dependencia de las fuentes dietarias de vitamina D.

Por otro lado, el consumo de frutas y verduras ha demostrado un efecto favorable sobre la densidad mineral ósea, lo que se ha atribuido a su contenido de vitaminas, isoflavonas y polifenoles.

El estado nutricional también es un factor importante en la adolescencia: se observa mayor masa ósea en los grupos con mayor IMC.

El papel de la dieta en la salud ósea es crítico durante la infancia y la adolescencia, especialmente el aporte de calcio y vitamina D, por lo que deben maximizarse los esfuerzos para mejorarla ya que ello contribuirá enormemente a disminuir la carga de la osteoporosis en el futuro.

Referencias: 1. Caroli A, Poli A, Ricotta D, Banfi G, Cocchi D. Invited review: Dairy intake and bone health: a viewpoint from the state of the art. *J Dairy Sci* 2011; 94:5249-62. 2. Kevin D. Cashman Diet, Nutrition, and Bone Health. *J Nutr* 2007;137:2507S-2512S. 3. Rizzoli R, Bianchi ML, Garabedian M, Mc-



Kay HA, Moreno LA. Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly. *Bone* 2010;46:294-305. 4. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, et al., and Shapses SA. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:53-58. 5. Tucker KL. Does milk intake in childhood protect against later osteoporosis? *Am J Clin Nutr* 2003;77:101.

El laboratorio clínico en el dosaje de vitamina D

Dr. Erich Fradinger

Bioquímico. Instituto de Investigaciones Metabólicas.

El conocimiento científico y público acerca de las consecuencias de la insuficiencia o deficiencia de vitamina D ha incrementado muchísimo el número de pedidos de 25(OH)vitamina D. Este número es difícil de manejar con métodos manuales en laboratorios clínicos. Se han desarrollado ensayos automáticos en distintas plataformas comerciales que facilitan esta tarea. Tales ensayos no mejoran algunos problemas ya existentes en los ensayos manuales y, más aún, se han detectado otros problemas en la cuantificación.

Entrecruzamiento con metabolitos distintos de 25(OH)vitamina D, interferencia con la proteína ligadora de vitamina D (DBP), con anticuerpos heterófilos, estandarización y linealidad son algunos de esos problemas y serán discutidos en detalle. Con la lectura de trabajos comparativos se concluye fácilmente que el valor de corte recomendado (30 ng/ml o 20 ng/ml, según los dos consensos más conocidos) no se puede extrapolar a todos los métodos por igual.

La existencia de un método de referencia internacional, de estándares de referencia internacional (SRM 972a), de calibradores de referencia internacional (SRM 2972), de programas específicos de estandarización (VitDQAP) ofrecen oportunidades de mejora muy importantes que no existían hace 5 años. A su vez, programas de control externo ya consolidados en todo el mundo (DEQAS) distribuyen muestras cuantificadas por el Método de Referencia, lo que provee una ayuda invaluable a los laboratorios inscriptos.

El conocimiento de estos problemas ayudará a la comunidad médica a evaluar con precaución el resultado de un paciente, dependiendo del método con que se haya realizado.

VIERNES 22 DE AGOSTO

SIMPOSIO: Sarcopenia

Sarcopenia: definición e impacto

Dr. Osvaldo Messina

Médico reumatólogo y osteólogo. Miembro del Board of Directors International Osteoporosis Foundation (IOF).

La sarcopenia es un síndrome que se caracteriza por una pérdida gradual y generalizada de la masa muscular esquelética y la fuerza con riesgo aumentado de presentar caídas, discapacidad física, calidad de vida deficiente y mayor mortalidad. El Grupo de Trabajo europeo sobre sarcopenia en personas de edad avanzada (EWGSOP) elaboró una definición clínica práctica y criterios diagnósticos de consenso de la sarcopenia relacionada con la edad. Y recomienda utilizar la presencia de una masa muscular baja y una función muscular deficiente para su diagnóstico (Tabla 1). La justificación del uso de dos criterios es la siguiente: la fuerza muscular no depende exclusivamente de la masa muscular y la relación entre fuerza y masa no es lineal. Por lo tanto la definición exclusiva de sarcopenia en relación con masa muscular es demasiado estrecha y podría tener una utilidad clínica limitada. El término dinapenia resulta más idóneo para describir la pérdida de fuerza y función muscular asociada a la edad.

Tabla 1. El diagnóstico se basa en el criterio 1 más el criterio 2 o 3:

1. Masa muscular baja
2. Menos fuerza muscular
3. Menos rendimiento físico.

Los mecanismos que originan la sarcopenia se grafican en la Figura 1. Las Tablas 2 y 3 expresan las categorías de la sarcopenia.

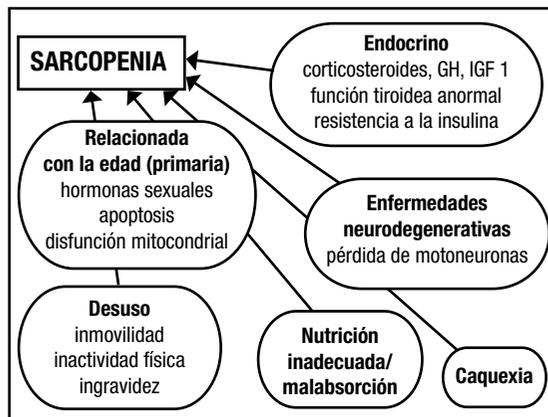


Figura 1. Mecanismos de la sarcopenia.

Tabla 2. Categorías de sarcopenia según la causa.

Sarcopenia primaria	
Sarcopenia relacionada con la edad	Ninguna otra causa evidente salvo el envejecimiento
Sarcopenia secundaria	
Sarcopenia relacionada con la actividad	Puede ser consecuencia del reposo en cama, sedentarismo, decondicionamiento y situaciones de ingravidez
Sarcopenia relacionada con enfermedades	Se asocia a un fracaso orgánico avanzado (cardíaca, pulmonar, hepática, renal, cerebral), enfermedades inflamatorias, neoplasias o enfermedades endocrinas
Sarcopenia relacionada con la nutrición	Es consecuencia de una ingesta dietética insuficiente de energía y/o proteínas como ocurre en caso de malabsorción, trastornos digestivos o uso de medicamentos anorexígenos

Tabla 3. Estadios conceptuales de la sarcopenia según EWGSOP.

Estadio	Masa muscular	Fuerza muscular	Rendimiento físico
Presarcopenia	↓		
Sarcopenia	↓↓↓	↓	Or ↓
Sarcopenia grave	↓↓↓	↓	

Tabla 4. Técnicas de medición de la masa, fuerza y función muscular en investigación y en la práctica clínica^a.

Variable	Investigación	Práctica clínica
Masa muscular	Tomografía computarizada (TC)	ABI
	Resonancia magnética (RM)	DEXA
	Absorciometría radiológica de doble energía (DEXA)	Antropometría
	Análisis de bioimpedancia (ABI)	
Fuerza muscular	Cantidad total o parcial de potasio por tejido blando sin grasa	
	Fuerza de presión manual	Fuerza de presión manual
Rendimiento físico	Flexoextensión de la rodilla	
	Flujo respiratorio máximo	
	Serie corta de rendimiento físico (SPPB)	SPPB
	Velocidad de marcha	Velocidad de marcha
	Prueba cronometrada de levantarse y andar	Prueba de levantarse y andar
	Test de capacidad de subir escaleras	

^aConsulte en el texto la descripción y las referencias sobre las técnicas de medición.



Las técnicas de medición de la masa y fuerza musculares se grafican en la Tabla 4.

La masa muscular puede ser evaluada por DXA, por tomografía computarizada, análisis de bioimpedancia (ABI), y la fuerza muscular por fuerza de prensión manual (*grip strength*) o flexoextensión de la rodilla. El rendimiento físico se evalúa por velocidad de marcha, o prueba cronometrada de levantarse y andar.

La sarcopenia se asocia con síndromes como caquexia relacionada con malignidades y con el *síndrome "frailty"* (fragilidad asociada a senilidad).

Su prevalencia oscila entre 11 y 50% en personas mayores de 80 años y se estima que afecta a más de 50 millones de personas en todo el mundo, cifra que crecerá en las próximas décadas con la mayor expectativa de vida de la población. Por supuesto que la sarcopenia está relacionada con caídas, desnutrición, menores niveles de vitamina D y menor movilidad con mayor propensión a fracturas.

El tratamiento actual se basa en medidas nutricionales, en mantener niveles adecuados de vitamina D y terapia física con programas de ejercicios activos. En un futuro no muy lejano existirán tratamientos específicos basados en el bloqueo de la miostatina.

El papel de la nutrición, el ejercicio y las hormonas en la prevención y manejo de la sarcopenia **Dr. Hans L. Porias Cuéllar**

Endocrinólogo y biólogo de la reproducción. México.

La sarcopenia es el resultado final de las acciones catabólicas del cuerpo humano. Este trastorno debería detectarse oportunamente con el objeto de iniciar las medidas terapéuticas y preventivas necesarias, para así evitar la pérdida de masa muscular. En este proceso se ve afectada la síntesis de proteínas mediante diversos elementos que contribuyen a lo que finalmente es un daño oxidativo irreversible. Hay grandes diferencias entre la etapa de crecimiento y desarrollo y lo que sucede en el envejecimiento. La primera etapa se caracteriza por ser un proceso anabólico, mientras que en la segunda el acúmulo de los años va ocasionando regresiones sobre la masa muscular predisponiendo a un estado constante de fragilidad.

Este mecanismo de degradación muscular se ve agravado por el sedentarismo y la deficiente nutrición. Tales hechos son consecuencia de una disminución en la cantidad y calidad de las fibras musculares, particularmente las de tipo 1, en donde ocurre una menor respuesta de la placa neuromuscular por la reducción de células satélite, las cuales son realmente las transmisoras de los mensajes hormonales. Por otra parte, dado que la contractilidad depende de la producción de ATP en las mitocondrias durante el envejecimiento, el ADN mitocondrial y la síntesis proteica se ven disminuidos, dando como resultado una reducción oxidativa hasta en un 50%.

Ejercicio o actividad física. Así como existen elementos determinantes en la sarcopenia como la deficiencia nutricional o el déficit de hormonas, las personas que mantienen una actividad física apropiada tendrán un menor impacto que los sedentarios sobre la masa muscular. Sin embargo, otros factores independientes también intervienen en el desarrollo de la sarcopenia, como la disminución de las fibras musculares de la placa neuromuscular y las células satélites. Evidentemente, el ejercicio es considerado parte de la terapia, aunque por sí solo representa más una medida preventiva.

Elementos nutricionales. Si se encuentra presente algún padecimiento que impida una adecuada alimentación o absorción de los nutrientes, entonces aparecerá un estado catabólico predominante. Una apropiada nutrición durante la niñez y la juventud se verá reflejada en la calidad de la masa muscular durante la etapa de adulto. El aporte de proteínas es de poco valor en presencia de una sarcopenia ya establecida, aun cuando en estos casos resulte obvio el insistir en un mayor aporte calórico.

Aporte hormonal. Está plenamente establecido que la hormona de crecimiento (GH) –fundamental en la formación de músculos y huesos durante el crecimiento– sufre paulatinamente un descenso que se acompaña de la reducción de IGF1. Desde la introducción de la GH recombinante se ha logrado evidenciar en diferentes estudios el beneficio en la adquisición de una mayor masa muscular y fuerza.

Si además consideramos que en el varón la producción de testosterona se reduce conforme avanza la edad, entonces es lógico pensar que su administración generará cambios positivos. Es importante resaltar que estas alternativas hormonales deben ser empleadas antes de que el proceso de sarcopenia avance a niveles irreversibles.

Es indispensable entender que estos esquemas de tratamientos hormonales confieren un efecto más preventivo que curativo una vez considerada la posibilidad diagnóstica de la sarcopenia.

Son diversos los reportes que han demostrado la respuesta muscular mediante el incremento de

fibras y núcleos en miofibrillas, además de aumentar el número de células satélite. La síntesis de proteínas genera un balance de nitrógeno positivo. Los receptores de andrógenos son el mecanismo principal para la formación de ADN y así ocasionar el crecimiento muscular. En estudios similares, la aplicación de hormona de crecimiento minimiza la acción catabólica, genera síntesis de colágeno y actúa además en los huesos al fortalecerlos. Finalmente, se observan interesantes interacciones entre GH, IGF1 y el receptor de andrógenos.

Aunque no existe un consenso en relación con la duración y la dosis con GHr, es nuestro sentir que cada caso debe ser individualizado.

Se ha demostrado cómo la administración de GHr o de testosterona logra cambios estructurales. Por un lado, la administración de enantato de testosterona durante 20 semanas aumenta las miofibrillas y las células satélites. Por el otro, la aplicación de diferentes dosis de GHr ocasiona mayor masa muscular, por lo que puede considerarse como alternativa preventiva y terapéutica en la reducción de la masa muscular.

Los posibles riesgos y efectos adversos del tratamiento con ambas hormonas ya han sido plenamente establecidos, y de hecho pueden nulificar la posibilidad del tratamiento. El cáncer prostático es un ejemplo determinante para la contraindicación de este tratamiento. El médico deberá valorar, entre otros, el antígeno prostático cada 3 meses para tener la certeza de que el paciente está seguro de riesgos.

Obviamente, la vitamina D₃ es otro factor que, sumado a los tratamientos anteriores, potenciaría los efectos beneficiosos en la prevención y tratamiento de la sarcopenia. Asimismo, debe insistirse en que, en muchos casos de sarcopenia, no hubo una adecuada prevención, lo que derivó en el desarrollo de esta desafortunada patología.

Vitamina D y músculo

Dr. Ariel Sánchez

Centro de Endocrinología. Rosario, República Argentina.

Desde la antigüedad, el sol ha sido considerado fuente de salud y fuerza muscular.

Recientemente se han investigado los mecanismos de señalización de la forma activa de la vitamina D, el calcitriol, en el tejido muscular, cuyos efectos son:

- A) Genómico
 - Induce la síntesis proteica *de novo*
 - Regula la proliferación celular
 - Induce la diferenciación de las fibras musculares
- B) No genómico
 - Activación de proteína quinasa C (PKC)
 - Incrementa el *pool* de calcio intracelular

No se duda hoy de que la vitamina D es un factor necesario para el desarrollo, la integridad y la función del tejido muscular.

Con la edad, la función muscular disminuye. La edad sería un factor determinante de la disminución de la expresión del receptor de vitamina D (VDR) independientemente de los niveles séricos de 25(OH) vitamina D. Esto sugiere que la declinación de la fuerza muscular relacionada con la edad, observada en varios estudios, podría explicarse en parte por la expresión disminuida del VDR.

La miopatía causada por deficiencia severa de vitamina D se reconoce en la clínica por dolor esquelético difuso, debilidad muscular proximal e hipotonía (más acentuada en miembros inferiores). El electro-miograma muestra reducción en la velocidad de conducción, y la biopsia revela atrofia de las fibras musculares tipo II, espacio interfibrilar ensanchado e infiltración de grasa, fibrosis y gránulos de glucógeno. Así como se reconoce una miopatía en el hiperparatiroidismo primario, se piensa que el hiperparatiroidismo secundario a hipovitaminosis D puede agravar la miopatía.

Actualmente se le da mucha importancia a la sarcopenia como parte del síndrome de fragilidad en pacientes viejos. Es una condición clínica asociada al envejecimiento y se caracteriza por una reducción del número de fibras musculares tipo I y II, con marcada atrofia de estas últimas. A partir de los 50 años se observa pérdida de masa muscular (1-2% anual), disminución del número de fibras musculares, atrofia de fibras musculares tipo II y neuronas motoras, e infiltración de las fibras musculares por material no contráctil.



Es importante evaluar al paciente en consultorio, por ejemplo con el índice de fragilidad utilizado en el *Study of Osteoporotic Fractures* (SOF):

1. Pérdida de peso
2. Dificultad para levantarse de la silla 5 veces, sin ayuda de los brazos
3. Autoinforme de que tiene menos energía y fuerza.

Varios estudios han comprobado el efecto positivo de la suplementación con vitamina D sobre la fuerza muscular en sujetos mayores, aunque algunos pocos trabajos son discordantes en este sentido.

Tanto una revisión Cochrane como un metanálisis han comprobado que la suplementación con vitamina D, especialmente en ancianos institucionalizados, previene las caídas y las fracturas por fragilidad.

La *Guía Práctica sobre Vitamina D* de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología (*Rev Arg Endocrinol Metab* 2013) recomienda suplementar con 1.000-2.000 UI diarias a mujeres posmenopáusicas y sujetos mayores.

CONFERENCIA: Fisiopatología y tratamiento de la hipofosfatasa

Dr. José Luis Millán

Profesor, Sanford Children's Health Research Center, Sanford-Burnham Medical Research Institute, La Jolla CA 92037, USA.

La hipofosfatasa (HPP) es un error innato del metabolismo causado por mutaciones con pérdida de función en el gen que codifica la fosfatasa alcalina tejido no específica (TNAP). Esta enfermedad puede clasificarse de acuerdo con la edad en la que los primeros signos son aparentes (perinatal, infantil, de la niñez y adulta). Un tipo particular es la odontohipofosfatasa, en la que solo los dientes están afectados, sin manifestaciones óseas. Los pacientes con las formas perinatal e infantil frecuentemente fallecen con raquitismo severo, hipercalcemia y, en ocasiones, convulsiones que responden parcialmente a la administración de vitamina B₆. El defecto bioquímico primario en HPP es una deficiencia de la actividad catalítica de la TNAP, que conlleva una elevación de los niveles séricos de pirofosfato inorgánico (PPi), que es un potente inhibidor de la calcificación ósea. Hasta el momento, el manejo de la HPP ha sido sintomático y/u ortopédico. Sin embargo, el uso de una terapia de reemplazo enzimático con TNAP modificada para ser más ávida hacia el tejido óseo (asfotasa alfa) ha mostrado resultados excelentes en estudios preclínicos usando un modelo de HPP infantil de ratón, donde la administración de TNAP dirigida específicamente al mineral óseo aumentó la supervivencia y previno las convulsiones, el raquitismo y las anomalías dentarias (normalizando la dentina, el cemento acelar y los defectos del esmalte). Varios estudios de investigación clínica utilizando dicho tratamiento en niños menores de 3 años con HPP potencialmente letal demostraron que su uso lleva a la resolución de las manifestaciones óseas de HPP, así como a la mejoría en la función motora y respiratoria. Nuestros estudios actuales se centran en elucidar la fisiopatología de ciertas complicaciones de la HPP que aún no comprendemos, tales como la craneosinostosis y la nefrocalcinosis, así como en la caracterización de nuevos modelos de ratón que presentan manifestaciones clínicas semejantes a la HPP del adulto, para poder explorar alternativas de tratamiento de esas formas más leves de la enfermedad, que no dejan de ser debilitantes.

CONFERENCIA: Obesidad, diabetes y su impacto sobre la salud ósea y la osteoporosis

Dra. Cecilia Albala

INTA/Universidad de Chile.

La osteoporosis y la diabetes constituyen en la actualidad importantes problemas de salud pública. Con una prevalencia en aumento a nivel global, especialmente en personas mayores, en un mundo que envejece aceleradamente, se espera una también creciente carga de enfermedad por estas causas. La disminución de la densidad ósea con la edad, sumada al aumento de la incidencia de caídas, produce el incremento relacionado con la edad de la incidencia de fracturas. Hasta el 70% de las fracturas en personas mayores de 65 años son atribuibles a la osteoporosis. Por otra parte, la obesidad constituye una pandemia que afecta a todos los grupos de edad y es el más importante factor de riesgo para diabetes.

Numerosos estudios han mostrado que la obesidad es un factor protector para la osteoporosis evidenciando que, a mayor índice de masa corporal (IMC), mayor es la densidad mineral ósea (DMO), relacionado con una mayor masa corporal y masa grasa.¹ En un estudio previo de corte transversal,² encontramos que la obesidad era un factor protector de osteoporosis (OR=0,43 para columna lumbar y OR=0,36 para cuello femoral). Posteriormente, en un seguimiento de 5 años,³ confirmamos este hallazgo con una incidencia de osteoporosis menor en obesos que en no obesos (RRR=0,84, 95%; CI 0,79-0,89). Asimismo encontramos alta correlación entre DMO e índice de masa muscular apendicular (hombres $r=0,43$, mujeres $r=0,51$). El riesgo de osteoporosis se asoció fuertemente con sarcopenia (RRR=3,62; 95%; CI 2,08-6,33, $p<0,01$) y dinamometría de mano (RRR=2,68; 95%; CI: 1,20-5,66, $p<0,01$) pero no con niveles plasmáticos de vitamina D (RRR=1).

Aunque la mayor parte de los estudios coinciden en el efecto protector de la obesidad, algunos han mostrado un efecto negativo sobre el hueso, producido por un aumento de grasa en la médula ósea que ejercería un efecto lipotóxico sobre los osteoblastos a través de adipocinas.⁴

En el caso de la diabetes, también se observa aumento de DMO (5-10%) en relación con los no diabéticos. Sin embargo, aunque existe evidencia de mayor frecuencia de osteoporosis en diabéticos tipo 1, se observa menor frecuencia en diabéticos tipo 2. Por el contrario, en ambos casos, el riesgo de fracturas está aumentado.⁵ Para una DMO determinada, el riesgo de fractura está aumentado entre 50 y 90% en sujetos diabéticos. Esta contradicción puede ser explicada por diferencias en el tamaño corporal y la masa grasa, ya que los sujetos con diabetes tipo 2 son generalmente obesos. El aumento del riesgo de fracturas se debe a debilitamiento de la microarquitectura del hueso (aumento de porosidad cortical y disminución del hueso trabecular) y aumento de caídas en adultos mayores. Otra causa que se ha planteado para explicar el aumento de riesgo de fracturas en la diabetes es el efecto de productos finales de glicación avanzada (AGEs), los cuales aumentan exponencialmente con la edad y están involucrados en la patogénesis de la diabetes. Los AGEs aumentan el riesgo de fractura por inhibición de la mineralización ósea a través de su efecto en la proliferación y diferenciación de los osteoblastos, deteriorando así la calidad del hueso.⁶

El aumento del riesgo de fracturas en diabéticos tipo 2, aun con DMO elevadas, hace que los instrumentos existentes (DXA, FRAX) lo subestimen, lo cual debe ser considerado en la práctica médica.

Referencias: 1. Lloyd JT, Alley DE, Hawkes WG, Hochberg MC, Waldstein SR, Orwig DL. Body mass index is positively associated with bone mineral density in US older adults. *Arch Osteoporos* 2014; 9:175. 2. Albala C, Yáñez M, Devoto E, Sostin C, Zeballos L, Santos JL. Obesity as a protective factor for postmenopausal osteoporosis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20:1027-32. 3. Albala C, Sánchez H, Lera L, Salas F, Cea X, Fuentes A, Arroyo P. Body composition and 5y incidence of osteoporosis in Chilean elders. *Osteoporos Int* 2010; 21(Suppl. 1): S69. 4. Sudhaa S, Tandon VR, Mahajan S, Mahajan V, Mahajan A. Obesity: friend or foe for osteoporosis. *J Midlife Health* 2014; 5:6-9. 5. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2007; 18:427-44. 6. Wongdee K, Charoenphandhu N. Osteoporosis in diabetes mellitus: Possible cellular and molecular mechanisms. *World J Diabetes* 2011; 2:41-8.

SIMPÓSIO: Enfermedades inflamatorias y salud ósea

Regulación de la tolerancia inmunológica en modelo experimental de artritis

Dra. Sara Feldman

Laboratorio de Biología Osteoarticular, Ingeniería Tisular y Terapias Emergentes (LABOATEM), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, República Argentina.

La artritis reumatoidea (AR) es una patología crónica inflamatoria de naturaleza autoinmune que se caracteriza por la inflamación de las articulaciones y la erosión de cartílagos y huesos yuxtaarticulares. Mientras que su etiología es parcialmente comprendida, se sabe que es multifactorial y que se altera el balance de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias. Histológicamente se caracteriza por presentar una hiperplasia invasiva de la membrana sinovial, neoangiogénesis y un infiltrado de células mononucleares. El proceso inflamatorio promovería la activación de peptidilarginina deiminasa (PAD): esto produciría que se generen proteínas citrulinadas en el sinoviotelio, entre ellas las del colágeno tipo II, las que promoverían la maduración de células B en el sitio de inflamación y la producción de auto-anticuerpos. Estos anticuerpos anti-proteínas citrulinadas se convierten entonces en altamente específicos para AR y se detectan en más del 80% de los pacientes con esta enfermedad. El aumento de citoquinas proinfla-



matorias producidas por el fenómeno inflamatorio pueden inducir aumento de la actividad osteoclástica, con lo cual se afectaría el metabolismo óseo. Se sabe que en la progresión de la enfermedad ocurre un desequilibrio de la galectina-3 (Gal-3), lectina asociada a procesos pro-inflamatorios, modulando el patrón de producción de citoquinas y quimioquinas en fibroblastos sinoviales; estas células son una fuente importante de galectina-3, la cual a su vez las estimula a secretar quimioquinas, citoquinas proinflamatorias y metaloproteinasas favoreciendo el reclutamiento de células mononucleares y la persistencia de la inflamación y destrucción de la articulación. En el LABOATEM se ha puesto a punto un modelo de artritis inducida por antígeno en conejos hembras de la línea New Zealand (A), el que reproduce en aspectos clínicos, anatomopatológicos y bioquímicos los encontrados en AR. En busca de estrategias terapéuticas para el tratamiento de la artritis obtuvimos evidencias preliminares de que un tratamiento que promovería la tolerancia inmunológica podría disminuir el estado alterado a nivel clínico e histológico de los animales con A: normalmente, el sistema inmune del tracto intestinal (GALT, las siglas en su acepción en inglés *Gut-Associated Lymphoid Tissue*) diferencia aquellos antígenos hacia los que debe generar una respuesta inmune activa (microorganismos invasores) o bien una de tolerancia frente a antígenos alimentarios solubles. La tolerancia inmunológica es el mecanismo por el cual el sistema inmune previene la auto-reactividad y por ende las enfermedades autoinmunes. La tolerancia inmunológica puede ser inducida mediante el tratamiento crónico y sistematizado por vía oral del antígeno hacia el cual se pretende generar tolerancia. El mencionado proceso se iniciaría en el GALT, el que se compone de epitelio mucoso y su correspondiente lámina propia, las placas de Peyer (PP) y los nódulos linfáticos mesentéricos. Las PP son esenciales para la respuesta inmunitaria de las mucosas y para la tolerancia oral de antígenos solubles. Son ricas en células con propiedades tolerogénicas, se producen tanto células del tipo linfocitos T reguladores (Treg) como células dendríticas (CD). Las CD presentes en el GALT son los actores principales de la tolerancia oral en bajas dosis. Captan estos antígenos administrados oralmente y los presentan a los linfocitos T en PP y en los nódulos linfáticos mesentéricos para generar Treg. Promovimos en nuestro modelo de conejos con A, la inducción de tolerancia oral (TO), pretendiendo conseguir la supresión de la reactividad del sistema inmune hacia el colágeno mediante la ingesta oral, crónica y repetitiva, de ese mismo antígeno, hidrolizado enzimáticamente. La predigestión de las proteínas asegura una idéntica composición de péptidos en el tracto gastrointestinal, independientemente de las características digestivas de cada ser vivo que recibiera el tratamiento. En el grupo tratado se redujo la inflamación, el grado de infiltrados de células mononucleares en las membranas sinoviales y disminuyeron significativamente los niveles de citoquinas proinflamatorias, pero -si bien los resultados fueron alentadores- observamos que existían animales no respondedores al tratamiento. Paralelamente se debe considerar que, en los últimos años, los estudios genéticos y epidemiológicos indican una correlación entre los bajos niveles de la vitamina D y la aparición o las manifestaciones de enfermedades autoinmunes, por lo que decidimos considerar la vitamina D como uno de los factores que podría participar en la autotolerancia. Se sabe que la mayoría de las células del sistema inmune, incluidos los macrófagos, linfocitos B y T, neutrófilos y CD poseen receptor de la vitamina D (VDR). Se decidió investigar si el tratamiento con vitamina D₃ (colecalfiferol [D]), podría sinergizar el efecto de TO en nuestros conejos A, evaluando el proceso a nivel clínico, bioquímico y anatomopatológico. Se seleccionó el colecalfiferol, en lugar del metabolito activo de la vitamina, para evitar potenciales procesos de hipercalcificación. Se sabe, además, que los macrófagos activos poseen la enzima alfa-1-hidroxilasa, encargada de transformar el precursor en el metabolito activo de la vitamina D. Los resultados fueron alentadores, ya que se observaron efectos sinérgicos sobre el tratamiento de inducción de la tolerancia oral, obteniendo en todos los animales con A que recibieron el tratamiento dual (inducción de la tolerancia por la ingesta crónica con hidrolizados enzimáticos de colágeno + tratamiento con colecalfiferol) efectos beneficiosos: disminuyeron significativamente los scores clínicos, los niveles de citoquinas pro-inflamatorias, como factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón-gamma, así como los anticuerpos del tipo IgG anticitrulina, en un 100% de los animales considerados. Al estudiar la expresión de galectina-3 en extractos proteicos de membranas sinoviales se observaron valores significativamente menores que en los grupos que recibieron los tratamientos por separado o ningún tratamiento. Los estudios histológicos también mostraron marcadas diferencias, ya que se observaron disminuciones en el grado de infiltrado plasmolinfocitarios, llegando incluso en algunas muestras a observarse casi nulo nivel de infiltrados mononucleares. Otros autores han presentado evidencias de que la inducción de tolerancia oral podría generar efectos beneficiosos para el tratamiento de modelos experimentales con artritis: generalmente, los experimentos han mostrado prevenir el desarrollo del proceso patológico ya que fueron suministrados concomitantemente con el desarrollo de la patología. En nuestros experimentos hemos realizado los tratamientos una vez que la patología se encontraba instalada. Todo ello nos induce a propo-

ner que la vitamina D podría sinergizar el proceso de inmunotolerancia oral inducida por la ingesta crónica de hidrolizados de colágeno, y debería considerarse como una potencial terapia frente al desarrollo de patologías inflamatorias articulares de naturaleza autoinmune. La deficiencia en vitamina D es común en pacientes con AR; sin embargo, aún no se ha podido dilucidar si la deficiencia en esta vitamina es una causa o una consecuencia de la enfermedad. La amplia variedad de efectos moduladores de la vitamina D en la respuesta inmune sugiere que puede ser una promesa terapéutica en el tratamiento de enfermedades de naturaleza autoinmune y debería considerarse como una hormona pleiotrópica. Proponemos que se considere este tratamiento como una estrategia sencilla, de bajo costo, reafirmandonos en nuestra propuesta, dada la ausencia de efectos colaterales indeseables que presentaría este tratamiento. Futuros estudios a nivel de la respuesta de Treg brindarían mayores respuestas a nivel de los mecanismos involucrados.

Artritis reumatoidea y masa ósea

Dr. Juan José Scali

Jefe de Unidad de Reumatología, Autoinmunidad y Osteología. Hospital General Universitario Carlos G. Durand, Buenos Aires.

Barwell describió por primera vez el compromiso óseo en AR, destacando la osteoporosis yuxtaarticular (anormalidad radiológica temprana) así como la osteoporosis generalizada como el hallazgo en esta enfermedad. Algunos estudios más sofisticados y específicos como DXA permitieron confirmar tal pérdida ósea generalizada, cuya patogenia aún no se ha aclarado totalmente. Se consideró generada por el incremento local de la vascularidad o debida a mediadores de la inflamación presentes en AR (p. ej., las citoquinas) o también por la reducida movilidad, no olvidando los fármacos como los glucocorticoides o el metotrexato (MTX) que están implicados también en esa pérdida ósea. Tras el estudio del *turn-over* óseo en AR y con histomorfometría, se demostró un riesgo mayor y temprano de fracturas. En este punto se debe ser cauteloso con los datos de correlación entre mediciones de actividad de enfermedad o marcadores bioquímicos de actividad de metabolismo óseo y masa ósea. Los métodos de medición no siempre son comparables como comparar sitios apendiculares (p. ej., radio distal) con masa ósea a nivel axial. Además, tanto la enfermedad como la terapéutica afectan diferentes sitios del esqueleto con severidad variable y diferente. No existe un método de referencia (*gold standard*) para ello, y muchos dan resultados conflictivos en algunos individuos. Hay variaciones diurnas de niveles de algunos marcadores (p. ej., los *cross links* urinarios de colágeno) y efecto de los de depósito (p. ej., la osteocalcina sérica, que puede modificarse por un parcial *breakdown* a 30 °C). También es difícil comparar formación ósea (marcadores séricos) con resorción ósea (usualmente urinarios). La histomorfometría involucra la biopsia ósea que también es diferente según el sitio corporal y da limitada información específica para tomar en oportunidades las decisiones correctas. En reumatología se utilizan las Rx simples, que sirven para monitorizar cambios de daño articular, erosiones y estrechamiento del espacio articular con sistemas de *scoring* específicos (p. ej., de Larsen, Sharp, Van der Hejde y Genant) generando igualmente variables interpretativas y técnicas que requieren métodos automatizados y digitales con unión a computadoras u ordenadores (PC). DXA es la elección actual para monitorizar osteoporosis. La RM está en desarrollo y muy limitada a los estudios de investigación. Los pacientes con AR en general tienen un 11% menos de masa ósea en columna lumbar que la población normal en igual edad comparativa. Las manos y pies son los sitios más tempranos de afectación en AR y reflejan los cambios de severidad y progresión que correlacionan con la PCR plasmática basal e inversamente con la duración de enfermedad. Reid y col. demostraron que los pacientes con AR pierden 3,7% de calcio por año y, si están bajo toma de esteroides con dosis menores de 5 mg/día, son protectores de pérdida y con mayor dosis son perdedores importantes no olvidando que la duración y la dosis acumulativa también son factores esenciales. Para Laan y col. iguales conceptos serían aplicables con dosis menores y mayores de 7,5 mg/día de esteroides. Los estudios longitudinales demuestran que las pérdidas son tempranas predominantes dentro del 1er año. Los niveles de vitamina D también han estado implicados en la patogenia. Los marcadores de formación ósea dan resultados conflictivos en AR. No es claro si la osteoporosis en AR es secundaria a una reducida tasa de recambio óseo o si la tasa de formación ósea está elevada y es insuficiente para mantener la tasa de resorción.

Shimizo y col. concluyeron que hay elevado recambio óseo en AR en la zona yuxtaarticular. Sabemos que el sexo y el *status* menopáusico, la actividad de la enfermedad, la duración de esta y la reducida movilidad y función articular están implicados también en este proceso que acontece en la AR. Se suma además un riesgo de caídas aumentado (el riesgo de fracturas pélvicas encontrado fue alto: RR: 2,56), que



aumentaba con la edad, con la edad al diagnóstico, con la incapacidad y la deambulación comprometida, con el uso de esteroides y la estructura delgada. Considerando el elevado riesgo de fractura en pacientes con AR, debe considerarse una evaluación sistémica del riesgo de fractura usando FRAX, la severidad de la enfermedad y la duración de esta. El índice de GFRC (*Garvan Fracture Risk Calculator*) nos ayuda cuando los pacientes reportan caídas recientes. La etiología del elevado riesgo fracturario en AR es multifactorial y sobreimpuesto e independiente de la DMO y otros factores de riesgo clínico para fracturas, incluido el uso de GC. La AR está incluida como factor clínico de riesgo independiente para el cálculo de riesgo de fracturas en el algoritmo del FRAX. Las fracturas de estrés se hallaron en el 0,8% de los pacientes con AR, resultan difíciles para diagnosticar y se relacionan con el uso de glucocorticoides pero no con la DMO.

En 1997, el receptor activador del NFκB (*nuclear factor-kappa-B ligando* (RANKL)/RANK/*osteoprotegerin* (OPG) *pathway*) fue identificado como una vía crucial molecular del acoplamiento entre los osteoblastos y los osteoclastos.

Múltiples citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento de las células inmunes, tales como células T y B, fibroblastos, células dendríticas y macrófagos, directa o indirectamente regulan la actividad del osteoblasto y del osteoclasto a través de producir o influir en la producción del RANKL/RANK/OPG, factor de necrosis tumoral-α (TNF-α), interferón-γ (IFNγ), e interleuquinas (como las IL-1, IL-6, IL-15, IL-17, IL-18, e IL-23) y la vía de señalización del Wnt comprometiendo al Dickkopf (DKK), esclerostina y a la BMP.

Por lo tanto, el acercamiento terapéutico de la osteoporosis en AR se basará en controlar la actividad de la enfermedad, el uso de agentes activos en el hueso como calcio y vitamina D, HRT, bifosfonatos, o denosumab, sin olvidar el efecto tóxico de los DMARDs como el MTX, que reduce según estudios en ratas, en un corto período, un 60% las tasas de formación ósea y lleva a osteopenia. Los futuros estudios con nuevos agentes terapéuticos en AR deberían incluir mediciones de masa ósea como medida evolutiva permitiendo aclarar qué agentes tienen más potencial para controlar enfermedad y también prevenir la pérdida ósea.

SÁBADO 23 DE AGOSTO

CONFERENCIA: Testosterona como factor de prevención de patología ósea en el varón

Dr. Hans L. Porias Cuéllar

Endocrinólogo y Biólogo de la Reproducción. Expresidente y Fundador de la Asociación Mexicana de Metabolismo Óseo y Mineral y Expresidente de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. México

Las hormonas representan un valor inequívoco para que, durante el crecimiento del varón, se logre una calidad del hueso. El resultado es individual ya que los factores genéticos son determinantes y las variaciones ocurren por distintas hormonas como son la hormona de crecimiento (GH), el factor de crecimiento 1 (IGF1) y los niveles de testosterona en el varón. Obviamente, la calidad nutricional, el calcio, la vitamina D y el ejercicio influyen en la formación ósea, en el grosor cortical y en la densidad de las trabéculas.

Generalmente se alcanza el máximo desarrollo óseo antes de los 30 años, y después de una etapa de estabilidad se inicia el descenso como respuesta lógica al paso del tiempo. Esta reducción es multifactorial y suele iniciarse entre los 50 y los 60 años pero, si se destaca una menor producción hormonal, el desgaste óseo puede ser exacerbado y más acelerado.

No se ha logrado establecer de manera rutinaria la medición de testosterona total, testosterona libre e IGF1, lo cual significa una irremediable pérdida en el número de diagnósticos oportunos. De hecho, la mayoría de los pacientes varones con osteoporosis son tratados cuando el proceso ya está muy avanzado o cuando ha ocurrido una fractura.

Uno de cada cuatro hombres mayores de 50 años tendrá fracturas relacionadas con osteoporosis. Si el número de eventos es menor que en la mujer, se debe lógicamente al mayor desarrollo de masa ósea en los varones. Se ha logrado establecer valores porcentuales de fracturas relacionadas con una menor producción de testosterona (20% vertebrales y 50% de cadera).

Si estos casos hubieran sido diagnosticados y tratados con testosterona, el porcentaje se hubiera reducido considerablemente.

Existen diversos reportes en los cuales la administración de testosterona en diversas presentaciones incrementa la densidad mineral ósea (DMO). En un metanálisis se calcula un incremento de la DMO de hasta un 2,7% a nivel vertebral.

En un análisis realizado en varones se observó la estrecha correlación que existe entre la deficiencia de testosterona, los niveles bajos de E2 y la fractura de cadera.

También hay reportes que demuestran la deficiente aromatización de andrógenos a estrógenos, cuya consecuencia es una menor masa ósea y mayor riesgo de fracturas. Se entiende como paralelismo el concepto de que una menor masa muscular conllevará una menor DMO, y, por ende, el riesgo de fractura patológica será mayor.

En los últimos años ha quedado claro el hecho de que el hombre durante el envejecimiento va reduciendo gradualmente sus niveles hormonales, aunque no de forma tan pronunciada y evidente como la mujer menopáusica. Debido a sus efectos sobre el hueso, se debe considerar la administración de testosterona como un protector óseo ya que estimula la mineralización y reduce la resorción.

Además de los beneficios metabólicos, emocionales y sexuales del tratamiento hormonal con testosterona, no debemos soslayar la idea de buscar intencionadamente este problema y tratar a los varones de 50 años en adelante en los cuales la deficiencia parcial de andrógenos es diagnosticable.

¿Cómo debemos interpretar el mecanismo de acción de la testosterona en los huesos?

Regresamos al principio "básico": los huesos de los varones son considerablemente de mayor masa, grosor cortical y trabecular que en las mujeres.

La acción de la testosterona es "dual". Por un lado, la aromatización de andrógenos da lugar a la producción de estradiol (E2), la cual tiene un efecto antiresortivo, y, por otro lado, la testosterona tiene una acción directa hacia los osteoblastos. Aun así debemos de considerar que la testosterona debe ser tomada en cuenta como preventiva y no como tratamiento ante el riesgo de fracturas. La testosterona ejerce una acción "bloqueadora" de la actividad osteoclástica del E2.

Se han reportado niveles bajos de testosterona en varones con osteoporosis. En un grupo de 26 pacientes con osteoporosis, los valores bajos de testosterona no fueron demostrables, pero sí los valores mínimos o nulos de E2. Por ello, se sugiere realizar determinaciones de E2 en los estudios efectuados a los varones. Existen múltiples publicaciones en las cuales se resalta el nivel bajo de testosterona en osteoporosis, enfermedad cardiovascular, diabetes e incluso en cáncer de próstata.



La presencia de receptores de andrógenos (AR) en los osteoblastos ya ha sido precisada en varios estudios, y es a través de ellos que la testosterona influye en las acciones proliferativas.

La unión de andrógenos al AR causa disociación de proteínas de "alta potencia" que se transportan desde el citosol al núcleo para unirse a una secuencia del ADN y regular la transcripción genética. Esto se traduce en un aumento de la síntesis del ARN mensajero y que, trasladado a los ribosomas, produce proteínas específicas. Por otro lado existen acciones independientes del ADN, ya que AR da lugar a diversas señales de transducción de proteínas en el citoplasma tales como transporte de iones, que puede producir diversos efectos, como fosforilaciones que actúan como capacidad energética intracelular.

En resumen, las acciones duales de la testosterona, ya sea por sus efectos directamente ejercidos por su unión con AR, o de manera indirecta a través de su aromatización para producir E2, son factores que pueden reflejar el beneficio en la calidad ósea. Por ello, debe considerarse el uso oportuno de testosterona en el varón, antes y durante la etapa de envejecimiento.

Pensemos además en las acciones favorables de la testosterona en otras áreas, siempre cuidando los posibles riesgos.

En la mayoría de los casos no tratados siempre sobresale el temor a usar estos preparados hormonales por la desinformación al respecto.

SIMPOSIO DE INVESTIGADORES JÓVENES

Nuevas patologías en internación: hipercalcemia luego de la aplicación de metacrilato con fines estéticos

Dra. Ariela Kitaigrodsky

Osteopatías Metabólicas, Servicio de Endocrinología, Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA).

Introducción: la aplicación de metacrilato con fines estéticos se ha asociado con granulomas por cuerpo extraño e hipercalcemia de difícil manejo, que suele requerir internaciones para su manejo y puede evolucionar con enfermedad renal crónica (ERC) progresiva.

Objetivo: Describir los casos de hipercalcemia vistos en la internación que fueron causadas por el uso previo de metacrilato.

Metodología: se realizó una búsqueda electrónica de las historias clínicas de pacientes que presentaron hipercalcemia en la internación, en la sede central del HIBA, entre 6/2004 y 6/2014, mayores de 18 años. Se describen aquellos casos debidos a hipercalcemia por metacrilato.

Resultados: de los 1.222 pacientes internados con hipercalcemia en estos 10 años, 3 de las vistas en los últimos dos años fueron relacionadas con el uso de metacrilato en glúteos y miembros inferiores.

Casos clínicos:

1) Mujer de 41 años. Antecedente de HIV desde los 21 años, hipertensión, hipotiroidismo, aplicación de metacrilato en 2009; presentaba desde 2010 hipercalcemia no mediada por parathormona (PTH), hipercalcemia y litiasis renal, con $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D ($1,25\text{OHD}$) 94 (18-60) pg/ml, tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa (FDG-PET) con incremento de actividad metabólica muscular en glúteos y biopsia con diagnóstico de granulomas. Realizó tratamiento en otro centro con metilprednisolona y luego triamcinolona intralesional con buena respuesta inicial, con seguimiento irregular; continuó recibiendo aplicaciones de triamcinolona y 5-fluorouracilo. En enero de 2014 fue internada por hipercalcemia. Al ingreso presentaba signos de hipercortisolismo exógeno, debilidad generalizada, dolores óseos y regular estado general. Laboratorio: calcemia (Ca) 14,8 mg/dl (8,5-10,5), calcio iónico (Ca i) 1,52 mmol/l (1-1,35), creatinina (Cr) 1,46 mg/dl (<1,2), PTH 16 pg/ml (15-68,3), $25(\text{OH})$ vitamina D (25OHD) 22,8 ng/ml (>30). Recibió hidroxicloquina, ibandronato y denosumab con respuesta parcial. Se planteó tratamiento con infliximab.

2) Mujer de 33 años, aplicación en 2011 de metacrilato en miembros inferiores. En marzo de 2014 fue internada por hipercalcemia. Laboratorio: Ca 13 mg/dl, Ca i 1,57 mmol/l, Cr 2,58 mg/dl, 25OHD 20,2 ng/ml, $1,25\text{OHD}$ 180 pg/ml, PTH <3 pg/ml. FDG-PET: respuesta inflamatoria difusa que compromete en forma extensa los grupos musculares de regiones glúteas y ambos muslos. Recibió tratamiento con hidroxicloquina y corticoides vía oral sin mejoría, se planteó denosumab.

3) Mujer de 30 años, antecedente de trastorno de conducta alimentaria, ERC por automedicación con

diuréticos y antiinflamatorios (creatinina 1,7 mg/dl), lipotransferencia con aplicación de metacrilato en glúteos, muslos y pantorrillas en 2011. En junio de 2012 se internó por hipercalcemia y deterioro de la función renal. Laboratorio: Ca 11,9 mg/dl, PTH 11,6 pg/ml, 25OHD 31 ng/ml, 1,25OHD 60 pg/ml. FDG-PET: incremento de la actividad metabólica muscular en glúteos mayores, cuádriceps, isquiotibiales, gemelos y en tejido celular subcutáneo asociado, de aspecto inflamatorio. Recibió tratamiento con calcitonina, bifosfonatos, corticoides sistémicos y denosumab con descenso de la calcemia. Evolucionó con ERC con requerimiento de hemodiálisis.

Discusión: El metacrilato se utiliza en la actualidad con fines estéticos, indicación no aprobada. Este actúa como un cuerpo extraño estimulando la formación de granulomas con intensa actividad inflamatoria, como hemos demostrado por FDG-PET. El exceso de 1α -hidroxilasa local genera hipercalcemia con PTH suprimida. Las pacientes descritas evolucionaron con un cuadro severo, con nefrocalcinosis, litiasis renal e insuficiencia renal progresiva. Sugerimos el tratamiento habitual de la hipercalcemia, además de evitar la exposición solar y restringir la ingesta de calcio, y destacamos la utilidad de denosumab por el deterioro de la función renal. La resección del tejido granulomatoso resulta dificultosa debido a la extensión de las lesiones. Se plantea la inyección intralesional de corticoides pero esto conlleva riesgo de atrofia cutánea y efectos sistémicos. Se describen otros tratamientos: corticoides orales, cloroquina, hidroxicloroquina, ketoconazol, alopurinol, ciclosporina, minociclina, isotretinoína, 5-fluorouracilo, colchicina. El infliximab, utilizado con buena respuesta en sarcoidosis, también podría ser útil. El cuadro de hipercalcemia e insuficiencia renal en estos pacientes resulta de difícil manejo porque el diagnóstico generalmente es tardío con extenso compromiso. Consideramos de fundamental importancia alertar a la comunidad médica y a la población sobre los graves riesgos que conlleva la aplicación de metacrilato con fines estéticos y la falta de tratamiento específico para las complicaciones.

El objetivo de nuestro trabajo es destacar la aparición de nuevas patologías asociadas al tratamiento estético y hacer una difusión médica y poblacional para evitar nuevos casos debido a la gravedad de la patología que puede ser totalmente evitable conociendo las complicaciones de la aplicación de metacrilato.

Regeneración ósea mediante implante de matrices de tercera generación

Dr. Dante Coletta

Laboratorio de Biología Osteoarticular, Ingeniería Tisular y Terapias Emergentes (LABOATEM), Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

La cirugía ortopédica, odontoestomatológica, la neurocirugía y cirugía maxilofacial requieren en numerosas oportunidades la aplicación de técnicas de implantes para la reparación del tejido óseo dañado. Algunos trabajos previamente desarrollados por otros y por integrantes del LABOATEM han mostrado resultados alentadores al utilizar aloinjertos de polvo de hueso de donantes cadavéricos como implantes frente a distintos modelos de fracturas óseas; estos trabajos mostraron que, si bien se disminuían los riesgos de respuestas antigénicas por rechazo, requerían pasos y procedimientos de procuración y procesamientos muy controlados. La ingeniería de tejidos es un área biotecnológica cuyo término surgió para definir un campo de estudios multidisciplinar que abarca conocimientos de ingeniería de materiales y ciencias biomédicas, como física, química y biología, que procura reconstituir, sustituir y/o regenerar tejidos específicos u órganos a través de la implementación de materiales eficaces y prácticos, que pretenden mantener la estructura residual existente así como viabilizar el crecimiento del tejido, actuando como andamiajes que promueven la proliferación de tejidos vivos. La ingeniería de tejidos aplicada a la reparación tisular ósea debe procurar que los materiales utilizados como matrices para intentar reparar la lesión, sean a) potencialmente osteoinductores, es decir, capaces de promover la diferenciación de células progenitoras en células osteoblásticas, b) osteoconductores, es decir que induzcan el crecimiento del hueso circundante y c) osteointegrables, es decir, que se integren al tejido óseo adyacente. Indudablemente deben presentar propiedades compatibles con las condiciones fisiológicas *in vivo* del tejido dañado y, para ello, combinarán bioabsorbilidad y bioactividad dentro del mismo material, promoviendo la estimulación de diferentes respuestas celulares. Se destaca que la función de este tipo de materiales es, por lo tanto, temporal, ya que dichas matrices están llamadas a reabsorberse una vez restablecida la función del tejido. En el caso de los materiales para reparación ósea, la idea es crear un material que sea capaz de soportar las cargas iniciales y se degrade gradualmente, transfiriendo las cargas de forma progresiva



al nuevo hueso. Es por ello que la tasa de degradación de las matrices seleccionadas en este tipo de estrategias no debe ser relativamente lenta para mantener la resistencia mecánica propia del tejido hasta que se regenere el tejido óseo *de novo*. De esta forma se evita una segunda intervención quirúrgica para la extracción del implante. En una primera etapa se utilizaron matrices de vidrio bioactivo, sintetizados por proceso sol-gel, que es una secuencia de procesos químicos interrelacionados en los que se realiza una mezcla de alcohólicos y agua deionizada en presencia de solvente y catalizador, resultado la síntesis de una red tridimensional interconectada inorgánica. Estos vidrios, si bien soportan actividades enzimáticas, promueven procesos de angiogénesis y el desarrollo de osteoblastos; entre otras propiedades presentan baja resistencia mecánica. Una alternativa a esto es asociarlo a otros polímeros intentando fabricar híbridos orgánicos-inorgánicos. En la última década se han comenzado a sintetizar materiales compuestos a base de polímeros biodegradables asociados a otro tipo de materiales, los que son de particular interés al ofrecer un adecuado balance entre resistencia y tenacidad más allá de las propiedades particulares que poseería cada uno de sus componentes testeado de manera individual. El polivinil-alcohol (PVA) es el polímero producido en mayor volumen en el mundo. Se lo utiliza mucho en la preparación de matrices para la regeneración de tejido óseo debido a sus múltiples propiedades; presenta baja toxicidad, alta disponibilidad de sitios de adhesión de moléculas bioactivas, solubilidad en solventes biológicos, y sobre todas las cosas presenta muchos grupos OH capaces de participar en uniones con moléculas bioactivas, así como su flexibilidad. Surgen así las matrices conformadas como polímeros compuestos híbridos de vidrio bioactivo polimerizados con polivinilo-alcohol. Es de destacar que las matrices híbridas son materiales homogéneos, porque la mezcla de componentes orgánicos e inorgánicos ocurre en una escala nanométrica o submicrométrica, de la que toman diferentes compuestos convencionales.

En nuestro laboratorio se investigaron, en primer lugar matrices híbridas de vidrio bioactivo con polivinilalcohol (proporción 50%:50%), entrecruzadas con glutaraldehído (MH-PVAg). Las investigaciones realizadas mediante estudios de microscopia electrónica de barrido permitieron concluir que MH-PVAg presurgidas en fluido similar al corpóreo presentarían aspecto compatible con capas de fosfato de calcio depositadas, generándose una superficie con potencialidad adecuada para la recelularización con células óseas. Esto era promisorio ya que otros autores han mostrado que señales de diferenciación celular se producen mejor en la matriz celularizada que en medios fluidos. A partir de ello se realizaron ensayos de implantes en modelo experimental de lesión ósea femoral y se obtuvieron como resultado procesos de osteointegración, sin signos de flogosis, y procesos de formación de tejido óseo, observándose osteoblastos en etapa proliferativa y procesos de mineralización. Posteriormente se realizaron estudios en matrices poliméricas sintetizadas en idéntica proporción de vidrio bioactivo y PVA, pero sin polimerizar con glutaraldehído (MH-PVA). Este tipo de matrices reviste interés en virtud de que, al carecer de GH en su composición, se descartarían potenciales efectos indeseables de GH que se pudiera desprender en los procesos de metabolización de aquellas, si bien hasta el momento dichos efectos no se han reportado en las matrices ensayadas. En MH-PVA se observó que, si bien la homogeneidad en el tamaño de los poros no se respetaba como en las anteriores, estos preservaban tamaños compatibles con la colonización osteoblástica y estaban interconectados, acorde con lo visualizado por estudios de microscopia confocal. Paralelamente, con la hipótesis de que las matrices no solo podrían actuar como andamios promotores de la formación ósea sino como medio para la liberación de biomoléculas, decidimos investigar qué ocurría ante la inmovilización a las matrices de un péptido con potencialidad osteogénica, como lo es el péptido relacionado con la parathormona (107-111, osteostatina). Diversos estudios realizados con cultivo de células preosteoblásticas MC3T3-E1, *a priori* de los estudios *in vivo*, mostraron resultados alentadores respecto de que las células podían desarrollarse sobre la matriz, y poseían inmovilizada la osteostatina, ya que se incrementaban la proliferación celular, la producción de fosfatasa alcalina y el grado de mineralización. Los estudios de implantes de estas matrices en el modelo experimental de lesión femoral mostraron resultados alentadores, en concordancia con lo obtenido *in vitro*: los estudios tomográficos revelaron zonas de neoformación ósea y los histomorfométricos mostraron que las matrices promovían la regeneración ósea y que estos aspectos se veían favorecidos si la osteostatina había sido previamente inmovilizada en ellas, ya que se incrementaba el porcentaje de tejido óseo formado *de novo*, con disminución de leves procesos inflamatorios posiblemente generados por los procesos de implante *per se*. Estas matrices se implantan con el objetivo de ofrecer un soporte temporal y luego conducir a la proliferación, diferenciación y biosíntesis específica de células del tejido en el que fueron implantadas. Paralelamente son biocompatibles, biodegradables, promueven la regeneración de tejido óseo *de novo* y pueden permitir la liberación *in situ* de biomoléculas de interés terapéutico.

Análisis estructural tomográfico seriado del peroné humano, con implicaciones clínicas y fundamentos filogenéticos

Dra. Laura Nocciolino

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFOC), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Una presentación aparte de nuestro grupo mostró que el peroné humano no solo contribuye poco (de -6 a +19%) al soporte de cargas compresivas por la pierna, sino también que es mucho menos sensible que la tibia al desuso mecánico por inmovilización prolongada, con la única excepción del maléolo distal. Ese diferente comportamiento presenta un interés clínico-terapéutico, porque el análisis estructural del peroné podría describir el impacto óseo de las osteopatías metabólicas en forma más “pura” que el de otros huesos.

Se pretende ahora justificar ese diferente comportamiento del peroné con observaciones preliminares de su estructura, interpretadas con criterios geométricos, biomecánicos y filogenéticos. Se efectuó un análisis seriado del peroné mediante secciones tomográficas (pQCT) archivadas de un estudio anterior *dirigido a la tibia*, tomadas cada 5% de la altura *tibial* (numerados desde S5 -5%: tobillo, sin incluir el maléolo externo- hasta S90: 90%: corte más proximal que tomó el peroné) de 10 varones y 10 mujeres sanos de 25-40 años, sin antecedentes de hábitos, patologías o tratamientos que afecten el esqueleto.

Los resultados fueron independientes del sexo y la edad. La sección de la metáfisis proximal peronea (S90), articulada a 45% con la pared lateral de la metáfisis tibial, es redondeada y casi toda trabecular (adaptación a resistir compresión-tracción cerca de la rodilla). Los cortes diafisarios proximales (S85-S70) son elípticos a diámetro mayor anteroposterior (A-P) y de tamaño progresivamente decreciente (*docilidad* a la flexión lateral). La diáfisis central (S75-S35), de diámetro poco mayor, tiene forma triangular con vértice hacia adentro (tracción del fuerte ligamento interóseo, adaptación a *resistir* la deformación lateral). Más distalmente (S30-S20), las secciones son nuevamente elípticas a mayor diámetro A-P, con menores diámetros pero con cortezas algo más gruesas que las proximales (de nuevo, *docilidad* a la flexión lateral). De S20 a S10, las secciones son nuevamente triangulares pero con vértices apuntando hacia afuera, manteniendo el espesor cortical (*resistencia* a la flexión lateral). La sección más distal estudiada (S5) es redondeada como S90, algo menor, pero mayor que S10 y con mayor masa ósea (CMO), con corteza ancha como las anteriores, y rellena de hueso trabecular (adaptación combinada a *resistir* flexión o torsión, y también compresión-tracción).

La variabilidad de las adaptaciones descritas se explica por la longilinealidad del hueso, que lo expone a múltiples desafíos mecánicos diferentes. Obviamente, el estrés compresivo soportado a lo largo del hueso es el mismo, pero la adaptación a la flexión lateral difiere en la diáfisis: la mayor resistencia al centro, decreciente hacia los extremos entre S90 y S20, es asimilable a un arco firmemente aferrado a la tibia, cuya cuerda sería tensada por las contracciones de los músculos peroneos que evierten y rotan externamente al pie. El extremo distal (de S20 a S5 *tibial* -no completamente estudiado aquí-) está adaptado a resistir la compresión combinada con flexión a concavidad externa provocada por el esqueleto del pie en eversión, y la tracción de los ligamentos laterales en la flexión del pie con la planta hacia adentro, además de la torsión que provocaría la rotación externa del pie.

Complementando estudios mecánicos de otros autores, esto sugiere que el peroné estaría diseñado para resistir 1) la flexión lateral, en forma convenientemente variable para almacenar energía elástica durante las contracciones de los músculos evertores y rotadores externos del pie y 2) el estrés combinado derivado de estos últimos movimientos hacia el extremo distal.

Muchas evidencias filogenéticas soportan tal interpretación: los primeros dinosaurios terrestres, que cargaban sobre sus patas un cuerpo enorme y también trabajaban arduamente con sus pies garrados sobre el suelo, tenían tibias y peronés robustos casi por igual. A partir de ellos evolucionaron otros dinosaurios más pequeños y voladores, que trabajaban muy poco y casi solo en flexión sobre sus pies, cuyas tibias y peronés se fusionaron en huesos únicos y delgados, igual que en las aves actuales, que derivaron de ellos. Los saurios actuales como los cocodrilos, en cambio, que mantienen masas corporales relativamente grandes sobre patas cortas, con gran trabajo de los pies en todas direcciones, mantuvieron tibias y peronés robustos. Los mamíferos, que también evolucionaron a partir de los dinosaurios, con masas corporales bastante menores, adaptaron sus tibias y peronés a ambas cosas: porte del peso y maniobrabilidad de los pies, en distintas combinaciones. Los cuadrúpedos de cuerpo pequeño (ratas) y los caminadores-corredores (perros), fusionaron distalmente sus tibias y peronés en huesos delgados, que se bifurcan proximalmente a partir de las mediadiáfisis en una tibia robusta y un peroné muy fino. En cambio,



los cazadores y trepadores (felinos) tienen ambos huesos separados y los marsupiales arborícolas desarrollaron tibias y peronés de robustez comparable. Los antropoides adaptaron ambos huesos en forma oscilante: los cuadrumanos habituados a trepar (orangután, gorila), que articulan ampliamente las manos posteriores, desarrollaron tibias y peronés robustos por igual, y los caminadores (gibón, chimpancé), que trabajan principalmente marchando adelante o saltando, con menor trabajo de eversión o rotación de la mano posterior o del pie, privilegiaron la estructura de las tibias, como lo hizo el hombre, en coincidencia con lo descrito.

Se pretende haber caracterizado en forma original la estructura del peroné humano y las razones filogenéticas y mecánicas que determinaron el mayor desarrollo relativo de las tibias, así como la dependencia funcional del peroné respecto de la eversión y la rotación externa del pie, exteriorizada en la distribución de la forma de sus secciones transversales a lo largo del hueso.

Absorción intestinal de calcio en la diabetes mellitus experimental

Dra. María Angélica Rivoira

Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Médicas. INICSA-Universidad Nacional de Córdoba.

La diabetes mellitus (D.m.) tipo I es un trastorno endocrino producido por la disfunción y muerte de las células β del páncreas, lo que conlleva una insuficiencia en la secreción de insulina e hiperglucemia. El estrés oxidativo desempeña un papel crucial en la patogénesis de varias complicaciones en la D.m., las cuales son específicas del tejido y se acompañan con alteraciones en el transporte de la glucosa, en el metabolismo de la mitocondria y en la producción de energía. En nuestro laboratorio se demostró que el estrés oxidativo duodenal está asociado a disminución de la absorción intestinal de calcio. Sin embargo, no existen evidencias del efecto del estrés oxidativo sobre la expresión de genes y proteínas involucradas en la absorción de Ca^{+2} en ratas diabéticas. El intestino constituye la única puerta de entrada del calcio al organismo, siendo este un importante proceso para mantener la homeostasis del catión. El 90% del Ca^{+2} es absorbido en el intestino delgado pero la velocidad de absorción es mayor en el duodeno, sitio donde la vitamina D ejerce su principal acción favoreciendo la entrada de calcio por vía transcelular. Cuando el contenido de calcio en la luz intestinal es elevado y el sistema de transporte activo se satura, una proporción creciente del calcio es captada por difusión pasiva por la vía paracelular. La homeostasis del calcio se encuentra alterada en la D.m. Varios estudios realizados en pacientes diabéticos mostraron aumento en la excreción urinaria del calcio y disminución de los niveles circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. A pesar de que los animales diabéticos desarrollan hiperplasia intestinal, muestran disminución de la absorción de calcio. El balance neto del calcio es levemente negativo o normal, debido al incremento de su ingesta ligada a la hiperfagia y a mecanismos compensatorios tales como hiperparatiroidismo secundario y marcada desmineralización ósea. La D.m. experimental inducida por estreptozotocina (STZ) es un modelo clásico de D.m. tipo I. En este modelo se estudió la absorción intestinal de Ca^{+2} , los mecanismos moleculares involucrados y el efecto del tratamiento con insulina en comparación con ratas controles. Se utilizaron ratas machos Wistar adultas a las que se les inyectó una única dosis de 60 mg STZ/kg de peso corporal. Las ratas se consideraron diabéticas cuando las glucemias resultaron superiores a 250 mg/dl. Tanto las ratas diabéticas como las controles se sacrificaron a los 5, 30 o 60 días postratamiento. Las ratas diabéticas se trataron con insulina (2 U/día) por 5 días consecutivos y la dosis de insulina fue ajustada para mantener las glucemias entre 100-200 mg/dl. Se determinó glucosa, calcemia, fosfatemia, hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) e insulina en ratas diabéticas y controles. Se analizó por Western blots la expresión de las proteínas involucradas en el transporte transcelular de la absorción intestinal de Ca^{+2} y la de sus respectivos genes por RT-qPCR. El contenido de glutatión (GSH), la concentración del anión superóxido (O_2^-) y las actividades de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) se midieron en mucosa duodenal por espectrofotometría. La confirmación del modelo de D.m. por inducción con STZ se reveló por la disminución del peso de los animales, el incremento de alrededor de 3 veces de la glucemia, glucosuria, aumento aproximado del 50% en los valores de HbA_{1c} y disminución de los niveles de insulina en comparación con los correspondientes de las ratas controles. La absorción intestinal de Ca^{+2} disminuyó en las ratas STZ en comparación con la de las controles tanto a los 5 como a los 30 días, efecto que se revirtió con el tratamiento con insulina mientras que la absorción intestinal del catión a los 60 días fue similar a los controles. La calcemia y la fosfatemia fueron iguales en ambos grupos. Los niveles de ARNm de Ca^{+2} -ATPasa (PMCA_{1b}), intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ (NCX1) y TRPV6 disminuyeron a los 60 días postratamiento

con STZ. La expresión proteica de TRPV6 fue mayor en las ratas STZ que en las controles en todos los tiempos. Las ratas STZ expresaron $PMCA_{1b}$ e NCX1 en mayor proporción que las ratas controles a los 5 y 30 días, pero a los 60 días la expresión de ambas proteínas fue similar a la de sus controles. Las ratas STZ exhibieron valores menores de GSH y mayor actividad de CAT a los 5 y 30 días en comparación con los de las ratas controles y se normalizaron a los 60 días posinducción. El $\cdot O_2^-$ aumentó en las ratas STZ de 5 y 30 días, mientras que a los 60 días postratamiento fue similar al de las controles. El tratamiento con insulina revirtió el efecto de la STZ. En conclusión, la D.m. tipo I inducida por STZ se acompaña de inhibición de la absorción intestinal de Ca^{+2} , efecto que es rápido y transitorio, altera la vía transcelular del catión y desencadena una adaptación fisiológica tendiente a la normalización de la absorción intestinal del Ca^{+2} . La adaptación puede ser un mecanismo para restaurar la homeostasis del Ca^{+2} y así disminuir la pérdida del catión por orina y desde el hueso, alteraciones que acompañan frecuentemente a esta patología. El efecto inhibitorio sobre la absorción intestinal de Ca^{+2} se acompaña de cambios en el estado redox del enterocito, como lo revela la depleción de GSH, el incremento de anión $\cdot O_2^-$ y el aumento de la actividad de CAT en el duodeno de las ratas diabéticas. Las anomalías transitorias de la absorción intestinal de Ca^{+2} en las ratas STZ pueden ser corregidas por el tratamiento con insulina, lo cual evitaría los efectos nocivos de la hiperglucemia crónica en el intestino que también son desencadenantes de estrés oxidativo. Cuando se administra insulina, el estado redox del enterocito se normaliza y la absorción intestinal de Ca^{+2} retorna a valores de los controles.