



## COMUNICACIONES LIBRES



### **CL1. Reparación ósea: estudio comparativo del efecto del hidróxido de calcio [Ca(OH)<sub>2</sub>] en huesos cortos y largos**

**Plavnik LM, Gait MT, Fontana S, Rubio SE, Malbert AI**

*Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.*

En los últimos años, las investigaciones en el campo de la Odontología se han centrado en el estudio de los biomateriales. El Ca(OH)<sub>2</sub> promovería la aceleración de la reparación ósea. Objetivo: estudiar el efecto del Ca(OH)<sub>2</sub> en la regeneración ósea de cavidades neoformadas en tibias y en alvéolos posextracción. Método: ratas Wistar ( $\pm 100$  g) (n=30) fueron anestesiadas con ketamina/xilazina y se dividieron en dos grupos: Grupo A: se expusieron ambas superficies tibiales en todos los animales (n=15), realizándose en cada una de ellas una cavidad de 1,5 mm de diámetro. Las cavidades izquierdas se rellenaron con Ca(OH)<sub>2</sub> en polvo y a las del lado derecho no se les colocó relleno (controles). Grupo B: se extrajeron los primeros molares inferiores derechos e izquierdos a todos los animales (n=15). En los alvéolos posextracción izquierdos se colocó Ca(OH)<sub>2</sub> cubierto con esponja de colágeno reabsorbible; los derechos (controles) solo llevaron esponja. Ambos grupos se sacrificaron a los 7, 15 y 30 días, y se extrajeron las tibias y las hemimandíbulas. Ambos tipos de huesos se desmineralizaron, procesaron e incluyeron en parafina. Los cortes se colorearon (H&E) y se observaron al microscopio. Resultados: en los casos controles el proceso de reparación ósea en tibias fue similar al de cicatrización posextracción en alvéolos. En los grupos problema, a los 7 días, en los alvéolos posextracción se observó, en la zona en contacto con el Ca(OH)<sub>2</sub>, hialinización de la matriz ósea con pérdida de osteocitos viables y/o de las cavidades osteocíticas, además de la incorporación de restos del material en esa matriz. En la zona de tallado cavitario de las tibias se observó una gran cantidad de hueso trabecular reaccional con gran densidad celular. A los 15 días en el alvéolo se observó infiltrado inflamatorio, núcleos de tejido condroide rodeados por una sustancia hialina acidófila y el tejido óseo con espacios medulares con osteoblastos secretores. Las tibias mostraban imágenes típicas de osificación endocondral en la zona de reparación y en las zonas más superficiales el tejido óseo adoptaba una organización de hueso compacto. A los 30 días, en el alvéolo, el tejido condroide estaba rodeado de osteones y líneas incrementales bien marcadas, con neoformación capilar en los conductos de Havers. En las tibias se observa hueso laminar con gran densidad celular, líneas incrementales y núcleos cartilagosos dentro de ellas, y al igual que en los controles zonas basófilas acelulares. Conclusiones: de acuerdo con estos resultados podemos establecer que, en las dos situaciones experimentales, el Ca(OH)<sub>2</sub> tiene efectos osteoconduktivios. Se destaca la aparición de imágenes condroides en la cicatrización del alvéolo posextracción. Proyecto subsidiado por SECyT, UNC. Res 162/12.

### **CL2. Respuesta densitométrica al ranelato de estroncio en pacientes vírgenes de tratamiento y posterior al uso de bifosfonatos**

**Premrou MV, Alvarellos M, Faraldo MJ, Pelegrin C, Maffei LE**

*Centro Médico Dra. Laura Maffei. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.*

Introducción: el ranelato de estroncio (RS) se utiliza para tratar la osteoporosis. Su mecanismo de acción es dual: estimula la formación e inhibe la resorción ósea. La respuesta densitométrica al tratamiento es menor en pacientes previamente tratados con bifosfonatos (BF) que en pacientes vírgenes (V) de tratamiento. Objetivo: evaluar la respuesta densitométrica en pacientes con osteoporosis luego de 12 meses con RS, comparar la respuesta en pacientes (V) de tratamiento con pacientes con BP previo.

Materiales y métodos: se incluyeron retrospectivamente 100 mujeres con osteoporosis densitométrica u osteopenia, con fractura por fragilidad esquelética y se compararon los resultados densitométricos al año de tratamiento, entre pacientes que habían recibido BF antes del RS y pacientes (V) de tratamiento. Todas recibieron RS 2 g/ VO por día, 1 g de calcio y vitamina D. Resultados: la media (X) de edad de la población fue 62,84 años (a). Veinticuatro pacientes integraron el grupo (V) de tratamiento y 76 pacientes el de tratamiento posterior a BF. La media de edad entre ambos grupos fue estadísticamente significativa: 57 años (rango: 46-86) y 64,7 años (48-86), respectivamente;  $p < 0,001$ . Los resultados obtenidos se presentan en la tabla a continuación:

	Naive basal	Pos-BF basal	Naive 12 meses	Pos-BF 12 meses	p
Raquis lumbar	0,916	0,826**	0,951	0,858***	**0,001 ***0,001
Cuello femoral	0,741	0,679**	0,772	0,712***	**0,007

\* expresado en X g/cm de CMO IC 95%

La variación total a los 12 meses de tratamiento a nivel de raquis lumbar fue un aumento del CMO de 3,44%, mientras que en el grupo (V) fue 3,72% y 3,35% en pos-BF ( $p=0,80$ ). En cuello femoral el aumento en la población total fue de 4,07%, siendo el incremento en el CMO de 3,65% en el grupo (V) y de 4,20% en el grupo pos- BF ( $p=0,77$ ). Conclusiones: Este grupo de pacientes mostro una respuesta densitométrica positiva al RS tanto en las pacientes (V) de tratamiento como post al uso de BF. Middleton publicó una mayor respuesta densitométrica al RS luego de 12 y 24 meses en pacientes (V) de tratamiento que en usuarias previas de BP, esto es lógico ya que el RS se incorpora 1,25-2,5 veces más en el hueso nuevo. En este grupo de pacientes no se observaron dichas diferencias.

### CL3. Efecto de la testosterona sobre la regulación de la expresión de proteínas y genes relacionados al daño por estrés oxidativo en células C2C12

Pronsato L, La Colla A, Vasconsuelo A, Boland R, Milanese L

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.

La sarcopenia, patología que provoca la pérdida de masa y fuerza del músculo esquelético en la adultez, ha sido asociada al déficit de hormonas sexuales, como los andrógenos y estrógenos. Los estudios a nivel molecular indican que la apoptosis podría ser el mecanismo responsable de la pérdida de miocitos contribuyendo a su patogénesis. En el músculo, la principal fuente de mionúcleos adicionales para el crecimiento muscular lo proporcionan un número residual de mioblastos que escapan al desarrollo y persisten como "células satélites". La línea de músculo esquelético murino C2C12 empleada en este trabajo, en estado proliferativo, es equivalente a las "células satélites" activadas que rodean a las fibras musculares. Algunos trabajos previos de nuestro grupo demostraron que durante la apoptosis, las células musculares C2C12 responden de manera bifásica al agente apoptótico  $H_2O_2$  culminando, finalmente, en el proceso de muerte celular programada. La testosterona, en concentración fisiológica, protege a las células de este evento en distintos niveles: morfológico, fisiológico, bioquímico y molecular. En este trabajo se evaluaron algunos de los componentes *upstream* de las rutas de señalización clásicas de la apoptosis, que actuarían o no como factores de transcripción y que podrían desencadenar, finalmente, la respuesta apoptótica. En paralelo, se evaluó el papel de la testosterona durante la activación de estas señales. Finalmente se determinaron los niveles de expresión de genes relacionados con eventos proapoptóticos y antiapoptóticos y la capacidad de la hormona de regularlos. Observamos por Western blot e inmunocitoquímica, que el estrés oxidativo provocado por la exposición al  $H_2O_2$ , induce en C2C12, la activación de p53 de manera tiempo-dependiente, con un nivel máximo de fosforilación a la 1-2 horas de tratamiento. La activación de p53, inducida por el  $H_2O_2$ , es reducida por el tratamiento previo con testosterona. Una de las formas con que p53 induce apoptosis es mediante la regulación positiva de la expresión de p66Shc, una proteína adaptadora que amplifica la generación de  $H_2O_2$  mitocondrial. Nuestros trabajos demostraron que el tratamiento hormonal previo al estímulo apoptótico



reduce los niveles de activación de p66Shc y su localización mitocondrial inducidos por el  $H_2O_2$ . En paralelo, la testosterona redujo la activación de JNK inducida por el  $H_2O_2$ . JNK estaría actuando como un activador de p66Shc, debido a que el tratamiento previo con un inhibidor de la quinasa reduce casi por completo la activación, en presencia de  $H_2O_2$ , no solo de JNK sino también de p66Shc. Finalmente, por ensayos de PCR en tiempo real, se determinaron los niveles de ARN mensajeros de genes proapoptóticos y antiapoptóticos, luego del tratamiento a distintos tiempos con  $H_2O_2$  evaluándose también, el efecto del tratamiento hormonal previo al estímulo oxidativo. Se demostró que la hormona es capaz de reducir el efecto del  $H_2O_2$  sobre la regulación de los niveles de ARN mensajero de los genes evaluados. La hormona favorecería, entonces, la expresión de genes relacionados con la supervivencia respecto de aquellos genes apoptóticos y antiproliferativos, ejerciendo de esta manera su efecto protector a nivel de la expresión génica.

#### **CL4. Hipocalcemia severa y persistente inducida por denosumab en paciente con metástasis osteoblásticas**

**Bomarito MJ, Lozano Bullrich MP, Rey M, Martínez MP, Ridruejo MC, Claus Hermsberg H, Pozzo MJ**  
*Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán, Buenos Aires.*

Introducción: los hombres con carcinoma avanzado de próstata presentan una marcada propensión a sufrir metástasis óseas. Las manifestaciones clínicas incluyen dolor, fracturas patológicas y compresión medular, llamados eventos esqueléticos relacionados (EER), que disminuyen la calidad de vida. El aumento de la actividad osteoclástica es importante en la fisiopatología tanto de la osteoporosis relacionada con el tratamiento antiandrogénico como de las metástasis. Por ello, el osteoclasto se ha erigido como *target* terapéutico. El tratamiento con fármacos antirresortivos, primero bifosfonatos y recientemente denosumab ha demostrado efecto positivo en disminuir los EER. La hipocalcemia es un efecto adverso de ambos tratamientos, más frecuente con denosumab que con zoledrónico. En general es leve, transitoria y tiende a ocurrir en los primeros 6 meses de tratamiento. Presentamos el caso de un paciente que sufrió hipocalcemia severa y persistente requiriendo hospitalización y administración prolongada de altas dosis de calcio intravenoso. Caso clínico: paciente de sexo masculino de 67 años con diagnóstico de adenocarcinoma de próstata (2010), realizó bloqueo hormonal completo y radioterapia hasta junio de 2011. En 2012 por progresión de la enfermedad y aparición de metástasis óseas reinició tratamiento hormonal y radioterapia en columna. En mayo de 2013 comenzó tratamiento con denosumab 120 mg cada 28 días. A los 6 meses se internó por hipocalcemia sintomática. Laboratorio de ingreso: Ca s: 6 mg/dl (VR: 8,8-10,2), P s: 1,1 mg/dl (VR: 2,7-4,5), Ca iónico: 0,8 mmol/L (VR: 1-1,3) albúmina 3,7 mg/dl (VR: 3,8-5), fosfatasa alcalina (FAL) 1444 UI/l (VR: 40-130), CTX s: 74 pg/ml (VR: 104-504), PTH i: 199 pg/ml (VR: 15-65), 25OHD: 21 ng/ml y función renal normal. Los primeros 5 días requirió altas dosis de gluconato de calcio intravenoso (Gca), hasta 2 g de calcio elemental/día, fósforo y magnesio; simultáneamente inició calcitriol, calcio y fósforo vía oral y alcanzó una Ca de 7,2 mg/dl con calciuria y fosfaturia bajas en orina de 24 horas. En los días posteriores se disminuyó dosis de Gca (1 g/día) y se aumentó hasta un máximo de 8 g/día de calcio oral y calcitriol 4 µg/día, durante 20 días. Luego se disminuyó en forma progresiva dosis de Gca hasta suspender el tratamiento intravenoso, manteniendo valores de Ca entre 7,5 y 8 mg/dl a los 30 días. Se indicó el egreso hospitalario con 8 g/día de calcio, 4 µg/día de calcitriol y preparado de fósforo, e inició tratamiento quimioterápico semanal (Docetaxel). En el seguimiento ambulatorio se disminuyó progresivamente la dosis de calcio y calcitriol, y se suspendió el tratamiento con fósforo por intolerancia. A los 3 meses se encontraba con 2 µg/día de calcitriol y 6 g/día de calcio con Ca 8,3 mg/dl y P 2,2 mg/dl. A los 6 meses del alta presentaba Ca 8,9 mg/dl, P 2,5 mg/dl, FAL 380 UI/L, CTX 1489 pg/dl y PTH 44 pg/ml bajo 2 g/día de calcio y 0,5 µg/día de calcitriol, con mejoría de las lesiones óseas constatadas en el centellograma óseo. Conclusiones: 1) el mecanismo de hipocalcemia puede interpretarse como avidez de las metástasis osteoblásticas por el calcio sin la resorción ósea como mecanismo compensador, debido a su potente inhibición por denosumab. La normalización de la calcemia y la reducción del aporte de calcio y calcitriol se lograron a los 6 meses cuando cesó el efecto del denosumab (aumento de los CTX) y disminuyó la actividad osteoblástica por la quimioterapia (reducción de la FAL); 2) la hipocalcemia inducida por denosumab en pacientes con metástasis osteoblásticas extensas puede ser más grave y prolongada que lo habitualmente reportado; 3) en estos pacientes debe realizarse monitorización muy estrecha de la calcemia.

**CL5. Modificación del material y las propiedades biomecánicas de hueso de ratas tratadas con fluoruro en combinación con sobrecarga mecánica ósea por actividad física****García VI, Fina BL, Lombarte M, Rigalli A***Laboratorio de Biología Ósea. Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.*

El flúor es uno de los 20 elementos más abundantes de la corteza terrestre y está presente como fluoruro (F) en agua, vegetales, especies marinas y desechos industriales. En la actualidad, se utiliza en la prevención de caries, incorporado en productos de uso cotidiano como pasta dental y en muchos casos en agua de red. Sin embargo, en zonas donde las concentraciones de F en agua superan el límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud (1,5 ppm), se han observado alteraciones óseas y metabólicas como la resistencia a la insulina. Varias investigaciones realizadas en nuestro laboratorio demostraron que la actividad física revierte la resistencia a la insulina provocada por el F, ya que el ejercicio podría no solo incrementar el número de receptores de glucosa sino que, al activar la remodelación ósea, aumentaría la captación de F por el hueso, disminuyendo su biodisponibilidad para otros tejidos. Si con el ejercicio se revierte la resistencia a la insulina inducida por F, es importante conocer cuáles serían las consecuencias de esta combinación sobre la biomecánica y calidad ósea. Es por esto que el objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia y composición del material óseo en animales que revirtieron la resistencia a la insulina por F con sobrecarga mecánica ósea (ejercicio físico). Se utilizaron 4 grupos de ratas Sprague-Dawley ( $n=6$  por grupo) en los que se evaluó la actividad física (40 min en cinta a 8 m/seg) y la ingesta de F (en agua de bebida 15 ppm): S: sedentarios y agua sin F; SF: sedentarios y agua fluorada; E: ejercicio y agua sin F, y EF: ejercicio y agua fluorada. A los 30 días se realizó la eutanasia y se obtuvieron los fémures para evaluar parámetros biomecánicos, contenido de fluoruro y densidad mineral ósea (DMO). Los análisis se realizaron con ANOVA a dos criterios con posttest LSD. Se consideraron diferencias significativas si  $p<0,05$ . La DMO ( $\text{mg Ca}/\text{cm}^2$ ) fue significativamente mayor en los grupos que realizaron actividad física respecto del control, y aún mayor en el grupo que consumió F (S:  $17\pm 0,9c$ ; SF:  $19\pm 0,5bc$ ; E:  $24\pm 1,7ab$ ; EF:  $27\pm 3,2a$ ). A su vez, el contenido de F en huesos ( $\text{mg F}/\text{g ceniza}$ ) aumentó significativamente en los grupos SF y EF (S:  $0,3\pm 0,03a$ ; SF:  $1,4\pm 0,2a$ ; E:  $0,5\pm 0,17b$ ; EF:  $2\pm 0,4b$ ), siendo también mayor en el grupo EF (al menos una letra igual entre dos valores indica que no existen diferencias significativas entre las medias de los grupos. Todas las letras distintas indican diferencias significativas). A pesar del mayor contenido de F en hueso en el grupo EF no hubo diferencias significativas en la fuerza máxima, la fuerza de fractura (Fx) ni rigidez cortical entre todos los grupos experimentales. A nivel trabecular, hubo una menor rigidez del grupo EF en comparación con el grupo S, sin cambios en la fuerza de fractura. Sobre la base de los resultados obtenidos se puede concluir que la realización de actividad física induce una mayor captación de F por los huesos de los animales, probablemente debido a que el estímulo mecánico activa la remodelación ósea propiciando un incremento en la incorporación de iones al tejido en desarrollo. Esto coincide con datos obtenidos en investigaciones anteriores y explicaría la reversión de la resistencia a la insulina causada por el F en animales que realizaron ejercicio, ya que provoca una disminución de F en plasma. Por otro lado, la DMO aumentó con la actividad física, y el efecto combinado de F y ejercicio generó el valor máximo de DMO. Estos resultados podrían deberse a que tanto el ejercicio como el F (en concentraciones adecuadas) son estímulos que activan la proliferación de osteoblastos y el depósito de minerales en el hueso, dos procesos que promueven la formación de tejido óseo. Los parámetros biomecánicos del grupo de ratas que realizó ejercicio y consumió agua con F no se ven alterados con respecto al control. Estos datos, junto a los datos de DMO, indicarían que el hueso con mayor contenido de F no sufre modificaciones en cuanto a la resistencia del tejido pero aumenta su DMO.

**CL6. GOS/FOS como estrategia para mejorar la absorción y retención de calcio durante la recuperación nutricional por restricción proteica: modelo experimental en crecimiento****Bryk G,<sup>1,2</sup> Gonzales Chaves M,<sup>1,2</sup> Zeni Coronel M,<sup>1</sup> Mandalunis P,<sup>3</sup> Pita Martín de Portela ML,<sup>4</sup> Zeni SN<sup>1,2</sup>**

*1 Cátedra de Bioquímica General y Bucal. Facultad de Odontología, UBA; 2 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas, Hospital de Clínicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) CONICET-UBA; 3 Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA; 4 Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.*

La restricción proteica (RP) en los primeros años de vida conduce a un menor peso y estatura y con ello un menor contenido mineral producto de un menor largo de los huesos en el adulto. En la recuperación, el aporte de calcio (Ca) se debería incrementar para mejorar la salud ósea. Los prebióticos serían una



herramienta útil para aumentar la absorción y retención mineral. Objetivo: en un modelo de recuperación nutricional, evaluar el efecto del agregado de una mezcla GOS/FOS® a una dieta con normal aporte de Ca. Ratas machos Wistar al destete (~21 días) recibieron una dieta hipoproteica (4%) durante 7 días; luego se realimentaron con una de las 2 dietas normoproteicas (18%) según AIN'93-G hasta los 50 días. Una de ellas no contenía, y la otra presentaba, el agregado de 5% GOS/FOS® (DA y DP, respectivamente). Los controles recibieron desde el destete la dieta según AIN'93-G hasta los 40 y 50 días (A40 y A50, respectivamente). Se evaluó: peso (PC), talla corporal (TC) y desarrollo de lactobacilos (DL), semanalmente. Al final de la experiencia se estudió: pH cecal, absorción de Ca y fósforo (P), contenido mineral femoral, contenido y densidad mineral ósea (CMO, DMO) (Lunar DXA), volumen óseo (BV/TV), ancho total del cartílago epifisario (GPC.Th), ancho del cartílago hipertrófico (HpZ.Th) y longitud de tibia (LT). Durante la semana con dieta hipoproteica se detuvo el crecimiento, confirmando el éxito del modelo de RP; DP vs. el resto de los grupos aumentó el DL, disminuyó el pH cecal ( $p < 0,0001$ ) y como consecuencia aumentó la absorción de Ca, P y Mg ( $p < 0,005$ ). Asimismo, DP vs. DA logró una mayor concentración de Ca y P en fémur ( $p < 0,01$ ) y (BV/TV) ( $p < 0,05$ ). DP alcanzó los niveles observados en todos los parámetros estudiados a A40. Conclusión: durante el período estudiado, la mezcla de GOS/FOS® recuperó los parámetros óseos hasta el nivel permitido por el aporte de proteínas utilizado en el proceso sugiriendo su utilidad en la recuperación nutricional. @N.V.Nutricia.

#### **CL7. Psoriasis pustulosa generalizada asociada a hipocalcemia**

**Bosco MB, Diehl M, Kitaigrodsky AV, Torre AC, López A, Bollea Garlati A, Galimberti RL, Galich AM**  
*Servicio de Endocrinología. Hospital Italiano de Buenos Aires.*

Introducción: la psoriasis es un trastorno inflamatorio de la piel caracterizado por hiperproliferación de los queratinocitos con alteración en su diferenciación. La psoriasis pustulosa generalizada (PPG) es una variedad poco frecuente y en ocasiones grave. Si bien se desconoce su etiología, se han identificado diversos factores desencadenantes como fármacos, radiación ultravioleta e infecciones y, en raras ocasiones, la hipocalcemia. Presentamos el caso de una paciente que desarrolló PPG en contexto de hipocalcemia severa e hipovitaminosis D. Caso clínico: mujer de 29 años, con antecedente de tiroidectomía total a los 22 años por enfermedad de Graves, hipoparatiroidismo e hipotiroidismo posquirúrgico, con toma irregular de calcio y vitamina D. Ingresó por lesiones cutáneas eritematoescamosas y pustulosas generalizadas, fiebre e hipocalcemia sintomática. Se realizó raspado metódico de las lesiones, que fue positivo y mostró los signos de la vela estearina, membrana desplegable y rocío sangrante. Presentaba como otros antecedentes: embarazo reciente sin complicaciones (5º mes de puerperio), obesidad (índice de masa corporal 36 kg/m<sup>2</sup>). Su medicación habitual incluía: levotiroxina 200 µg, calcio elemental 1500 mg y calcitriol 0,5 µg/día. Presentaba en el laboratorio de ingreso: calcemia total (Ca) 4,5 (8,5-10,5) mg/dl, albúmina 2,8 (3,2-5) g/l, Ca corregida por albúmina 5,5 mg/dl, creatinina 0,67 (<1,2) mg/dl, parathormona <3 (15-68,3) pg/ml, 25(OH)vitamina D 18,5 (>30) ng/ml, tirotrófina 33,65 (0,47-4,64) µU/ml y tiroxina libre 1,2 (0,7-1,8) ng/dl. Inició tratamiento con gluconato de calcio parenteral, aporte oral de calcio, calcitriol y colecalciferol, junto a antibiótico sistémico que fue suspendido al tercer día. La biopsia de las lesiones cutáneas confirmó el diagnóstico de PPG. Evolucionó con normalización de la calcemia y mejoría clínica sin tratamiento específico por su psoriasis. Se constató al mes la involución completa de las lesiones cutáneas; solamente persistieron áreas de eritema posinflamatorio. Discusión: en las distintas formas clínicas de psoriasis, la hipocalcemia suele ser un hallazgo común de laboratorio, que por lo general resulta consecuencia de la hipoalbuminemia que acompaña a esta enfermedad, pero no constituyen hipocalcemia verdadera. Sin embargo, existe otra situación clínica diferente y menos frecuente, en la cual la hipocalcemia actúa como factor desencadenante de la psoriasis. En los casos comunicados hasta la fecha de psoriasis pustulosa generalizada desencadenados por hipocalcemia, se presenta en el contexto de hipoparatiroidismo con hipocalcemia severa, como en el caso de nuestra paciente. El mecanismo propuesto depende, por un lado, de la intervención del calcio en la formación de uniones celulares, mediante moléculas de adhesión calcio-dependientes como las cadherinas; por otro lado, de su participación en la proliferación y diferenciación de los queratinocitos: disminuciones en la concentración del calcio iónico permitieron observar un aumento en la tasa de proliferación celular y trastornos en su diferenciación. La vitamina D también desempeña un papel por su participación en la regulación de la proliferación y diferenciación celular, así como en la inmunomodulación. Los tratamientos descriptos consisten en

la reposición de calcio y vitamina D; en algunos casos también se utilizaron retinoides o corticoides tópicos. Cabe destacar que en todos los casos reportados en la literatura, la mejoría clínica de estos pacientes se evidenció al alcanzar la normalización de la calcemia, tal como en el caso clínico presentado. Consideramos que en todos los casos de psoriasis grave debe evaluarse la calcemia dado que su corrección determina una favorable evolución de la enfermedad.

#### **CL8. Acción de testosterona y DHEA sobre la interfase óseo-vascular**

**Campelo AE,<sup>1</sup> Montt Guevara MM,<sup>2</sup> Cepeda SB,<sup>1</sup> Santillán GE,<sup>1</sup> Simoncini T,<sup>2</sup> Massheimer VL<sup>1</sup>**

*1 Universidad Nacional del Sur - CONICET; 2 Università di Pisa.*

El déficit de testosterona (T) en hombres hipogonádicos, en adultos mayores y/o en mujeres posmenopáusicas se asocia con la enfermedad cardiovascular y ósea. Se propone la terapia de reemplazo con andrógenos para disminuir el riesgo de estas patologías. Dos alternativas de sustitución hormonal son la administración de T, o de su precursor suprarrenal dehidroepiandrosterona (DHEA). Los sistemas vascular y óseo están estrechamente integrados, ya que el primero provee de nutrientes, factores, hormonas y células progenitoras indispensables para una adecuada función ósea. Los sistemas VEGF y PA/PAI-1, junto a la acción concertada de los procesos de proliferación y migración endotelial son responsables de la generación de capilares óseos. En este trabajo estudiamos los efectos de T y DHEA sobre eventos que median la vascularización, y los contrastamos con su acción sobre las células óseas. Se emplearon cultivos celulares de células endoteliales (CE) de vena umbilical humana (HUVEC) o de aorta torácica murina (GEAR). Se realizaron tratamientos *in vitro* con concentraciones fisiológicas de T y DHEA. Empleando ensayos de reparación de la herida se demostró que en HUVEC ambos andrógenos tienen un efecto estimulante de la migración ( $2\pm 2$ ;  $16\pm 4$ ;  $90\pm 15$  Cont; T (1 nM); DHEA (20 nM) CE migrantes/campo  $p < 0,01$ ). La acción de T involucra la participación del receptor de andrógenos (AR) y en parte es mediada por su conversión al andrógeno más potente DHT, ya que en presencia de flutamida (antagonista AR) y de finasteride (inhibidor de la conversión de T a DHT), la acción de T se suprime parcialmente ( $p < 0,05$ ). Usando microscopía de fluorescencia se obtuvo evidencia de que ambos andrógenos promueven en HUVEC una reorganización del citoesqueleto de actina característica de la migración celular. Al evaluar el crecimiento celular en HUVEC, observamos que los dos esteroides estimulan la proliferación celular (ensayo de MTT) a las 24 horas de tratamiento (32% y 12% s/control T (1 nM) y DHEA (20 nM)  $p < 0,05$ ). Se midió la expresión PAI-1 por medio de la técnica de Western blot. T produjo un aumento significativo a todas las concentraciones (0,1 nM; 1 nM y 10 nM) y tiempos ensayados (12, 24, 36 y 48 horas) con un estímulo de 60-80% s/control ( $p < 0,05$ ); en cambio no se observaron cambios significativos en los tratamientos con DHEA en todo el rango de concentraciones y tiempos estudiados. Para evaluar la regulación sobre VEGF se empleó RT-PCR e inmunoensayos ELISA. Entre 4 y 24 horas de tratamiento con T 1 nM se detectó un aumento significativo en el ARNm (120% s/control) y en la liberación de VEGF al medio de incubación ( $19,6\pm 2,2$  vs.  $22,2\pm 2,4$  Cont vs. T pg/mg prot). El tratamiento con DHEA no produjo cambios significativos con respecto al control. En la línea celular osteoblástica MC3T3-E1, el tratamiento con T (1 nM) estimuló la actividad FAL (33% s/control  $p < 0,05$ ), mientras que DHEA inhibió significativamente la actividad de la enzima marcadora de función osteoblástica y disminuyó el contenido de calcio extracelular. Los resultados sugieren que, en lo referente a las acciones vasculares y óseas ensayadas, no son equivalentes T y DHEA, siendo la testosterona el andrógeno que exhibe una potencial acción más favorable.

#### **CL9. Enfermedad de Camurati-Engelmann o displasia diafisaria progresiva**

**Viterbo GL,<sup>1</sup> Tau CC<sup>2</sup>**

*1 Metabolismo Cálcico y Óseo, Endocrinología, Hospital de Pediatría J.P. Garrahan, Buenos Aires; 2 Médico Pediatra, Metabolismo Cálcico y Óseo.*

La enfermedad de Camurati-Engelmann o displasia diafisaria progresiva, descrita por primera vez en 1920 por Cockayne, es una enfermedad rara que comienza generalmente en la niñez, y casi siempre antes de los 30 años. Afecta a todas las razas y a ambos sexos. Es autosómica dominante con expresividad variable y penetrancia incompleta. El síntoma predominante es el dolor óseo con pérdida de tejido adiposo y muscular. Su curso es variable e impredecible. Se presenta un paciente con la enfermedad de



Camurati-Engelmann y se comentan sus caracteres clínicos, bioquímicos, radiográficos y centellográficos. El paciente de 14 años y 1 mes de edad, de origen paraguayo, concurre a la consulta por padecer dolores óseos desde los 4 años. A los 7 años había sido evaluado en un hospital pediátrico con diagnóstico presuntivo de enfermedad de Paget. Sin antecedentes familiares de enfermedad ósea. Al examen físico, paciente delgado, de hábito longilíneo, con miembros inferiores desproporcionadamente largos, presentaba gran dificultad para caminar y facies con expresión de dolor, asimetría facial con protrusión de globo ocular izquierdo, hipotrofia muscular, escasez de tejido adiposo, tórax y caderas asimétricos por escoliosis, con manifiesto ensanchamiento de los miembros superiores e inferiores con formas tubulares, y ambos muslos en forma de sables. Peso: 21 kg (Z-score: -3,4), talla: 159,5 cm (Z-score: 0,1), IMC: 8,27 kg/m<sup>2</sup> (Z-score: -3,2), estadio de Tanner prepuberal. Los exámenes de laboratorio mostraron calcemia: 9,1 mg/dl (VR 8,8-10,6), fosfatemia: 4,3 mg/dl (VR 2,5-4,5), PTH: 45 pg/ml (VR 12-72), aumento de fosfatasa alcalina: 1068 UI/l (VR 150-600), insuficiencia de niveles de 25(OH)vitamina D: 18 ng/ml (VR 20-50), calciuria de 24 horas: 1,1 mg/kg/día (VR <4), aumento del CTX- $\beta$  *cross-laps*: 3220 ng/l (VR para la edad 764 $\pm$ 300, Cavalier y col., 2012) y de D-piridolina urinaria: 47 nMol/mMol de creatinina (VR 29 $\pm$ 9). La eritrosedimentación estaba aumentada: 44 mm en la 1<sup>a</sup> hora. Gonadotrofinas y testosterona en niveles prepuberales. Las radiografías de cráneo mostraron osteopenia e imágenes algodonosas en toda su superficie, engrosamiento de la calota y esclerosis de la base; en las radiografías de los miembros, todos los huesos largos eran anchos y tubulares, los fémures en forma de frasco de Erlenmeyer con corticales engrosadas en las diáfisis y estrecho espacio medular; osteopenia en las epífisis. La centellografía ósea presentó aumento de la concentración del radiofármaco con distribución heterogénea en huesos largos, incremento anormal a nivel de las diáfisis y metáfisis, ensanchamiento e incurvación de fémures y tibias; calota con áreas de hipercaptación frontoparietal izquierda. Al examen oftalmológico, fondo de ojos y agudeza visual normales. Se indicó tratamiento con vitamina D<sub>3</sub>, 300.000 UI totales (en 3 dosis mensuales de 100.000 UI). Se sugirió mejorar la ingesta de lácteos dada la escasez de esta. Los dolores óseos cedieron parcialmente con antiinflamatorios no esteroides. Los niveles circulantes de 25(OH)vitamina D se normalizaron a los 3 meses de tratamiento con vitamina D<sub>3</sub>. Sin embargo, las fosfatasas alcalinas (1160 UI/l), el CTX- $\beta$  *cross-laps* (2700 ng/l), y la D-piridolina urinaria (62 nMol/mMol de creatinina) permanecen elevados. El diagnóstico molecular está en curso y un tratamiento adecuado está siendo evaluado.

**CL10. VDR y p38 MAPK están involucrados en la modulación de la miogénesis por el 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamina D<sub>3</sub> en células de músculo esquelético**  
**Irazoqui AP, Heim N, Boland RL, Buitrago CG.**

*Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, CONICET-Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, República Argentina.*

Previamente reportamos que el VDR participa en los eventos relacionados con la proliferación y diferenciación celular desencadenados por el 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>-vitamina D<sub>3</sub> [1,25D] en células C2C12 de músculo esquelético. Específicamente, varios estudios realizados el año pasado demostraron que el 1,25D promueve la expresión de la ciclina D3 y los inhibidores de quinasas dependientes de ciclinas (CDKs) en forma dependiente del VDR. En este trabajo, presentamos datos que indican que p38 MAPK también participa en el mecanismo por el cual el 1,25D estimula la miogénesis. La actividad de p38 MAPK fue inhibida a través del pretratamiento de las células con el compuesto SB203580. Los estudios de la progresión del ciclo celular, llevados a cabo por citometría de flujo usando el colorante yoduro de propidio, evidenciaron que el tratamiento con la hormona induce un arresto de las células en la fase G0/G1, efecto que es dependiente de la activación de p38 MAPK. La sobreexpresión de la ciclina D3 por el 1,25D fue suprimida en presencia del inhibidor SB203580. En paralelo, detectamos un significativo aumento de los niveles de expresión de la miogenina inducido por la hormona solo cuando p38 MAPK estaba activa, indicando que el arresto en la fase G0/G1 es un evento pro-diferenciativo donde es requerida p38 MAPK. En concordancia con estas observaciones determinamos que p38 MAPK está también implicada en el incremento dependiente de la hormona de los inhibidores de CDKs p21Waf1/Cip1 y p27Kip1. De importancia, nuestros estudios muestran que p38 MAPK participa en el aumento de la expresión de VDR promovido por el 1,25D. Estos resultados indican que p38 MAPK está involucrada en el control del ciclo celular por el 1,25D en células de músculo esquelético, mediante un mecanismo dependiente del VDR y de p38 MAPK, por el cual la hormona modula la miogénesis.

**CL11. Tratamiento con un segundo ciclo de teriparatida en 3 pacientes con osteoporosis severa**  
**Mana DL,<sup>2</sup> Zanchetta MB,<sup>1</sup> Zanchetta JR<sup>1</sup>**

*1 Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas (IDIM); 2 Dirección Médica Química Montpellier.*

La teriparatida es un fármaco anabólico indicado para el tratamiento de osteoporosis. Actualmente la duración del tratamiento es de 24 meses. Un interrogante aun no resuelto es si los pacientes tratados con teriparatide se beneficiarían con un segundo ciclo de la misma droga. El objetivo de este trabajo es evaluar, en 3 pacientes con osteoporosis severa, la respuesta a un segundo ciclo de teriparatida en función de la densidad mineral ósea (DMO) y los marcadores de recambio, comparándolos con la respuesta durante el primer ciclo. El primer caso clínico es una paciente con múltiples fracturas vertebrales, que recibió un preparado con 8 mg de metilprednisona por 15 años. Bajo teriparatida aumentó la DMO un 22% en columna. Al finalizar recibió ibandronato mensual por vía oral durante 41 meses, a pesar de lo cual mostró caída en la densidad ósea, por lo que se decidió nuevo ciclo con teriparatide. En 12 meses de tratamiento mostró mejoría importante de ambas regiones, con predominio de cadera. El caso 2 se trata de una mujer con hepatitis autoinmune y asma por lo que recibió por varios años corticoterapia. Además, al momento de la consulta, se hace el diagnóstico de enfermedad celíaca. Por el alto riesgo de fracturas se indica teriparatida. Luego de 24 meses mejoran ambas regiones (11,7 % en columna y 9,2% en cadera) y se indica ácido zoledrónico. Quince meses más tarde, por caída de la densidad mineral de columna lumbar, se indica un segundo ciclo de teriparatide, durante el cual mejora la densidad mineral, en mayor magnitud incluso que en el primer tratamiento (12,6% vs. 11,7%). El tercer caso se trata de una mujer con múltiples fracturas, antecedentes familiares de fracturas osteoporóticas e hipertiroidismo de larga evolución. Durante el primer tratamiento con teriparatide mejoró en forma muy marcada la DMO de columna (39%). Luego de 24 meses recibió ibandronato intravenoso trimestral por un año, con caída del 10% de la densidad de columna. Se indicó un segundo ciclo con teriparatide por 24 meses al final del cual la columna aumentó 15%. En las 3 pacientes, durante el primer ciclo, los marcadores se comportaron según lo esperado: aumento marcado y temprano de la osteocalcina y más tardío de los  $\beta$ -cross laps. En el segundo ciclo respondieron con similar patrón pero con diferentes magnitudes (Tabla 1). Como conclusión podemos decir que la realización de un segundo ciclo de tratamiento con teriparatide en 3 pacientes con causas secundarias para osteoporosis y alto riesgo de fractura, luego de un tratamiento poco exitoso con bifosfonatos, fue eficaz en aumentar la densidad mineral ósea, aunque en 2 de ellas en una magnitud menor que la mostrada durante el primer ciclo. Se necesitan más estudios para definir si aquellas mujeres que continúan con alto riesgo de fractura luego de un primer ciclo de tratamiento con teriparatida, podrían ser consideradas candidatas para un segundo ciclo de retratamiento con esta medicación y establecer la seguridad de este esquema.

	Ciclo teriparatida	DMO CL (% cambio al final del tratamiento)	DMO CF (% cambio al final del tratamiento)	OC Máxima % Cambio	CTX Máxima % Cambio
Paciente 1	1°	22	2	526	71
	2°	15	44	94	18
Paciente 2	1°	11,7	9,2	73	41
	2°	12,6	5	152	231
Paciente 3	1°	39	-3	214	25
	2°	15	1	226	287

**Tabla 1.** Resumen de los % de cambio de la DMO al final de cada ciclo y de los % de cambio de los valores máximos de los marcadores durante el 1° y 2° ciclo de tratamiento.





**CL12. Estudio histomorfométrico del efecto de alendronato y monofluorofosfato en hueso de ratas Aramburú G, Virga C, Aguzzi A, Hubert S, Rigalli A**

*Cátedra de Farmacología y Terapéutica. Departamento de Patología Oral. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.*

Introducción: estudios previos han demostrado que los bifosfonatos, como el alendronato de sodio (AL), son potentes inhibidores de la resorción ósea y aumentan la densidad mineral del hueso. El fluoruro administrado como monofluorofosfato de sodio (MFP) estimula la formación e incrementa el volumen del hueso, efecto específicamente debido a la estimulación de la actividad osteoblástica. Objetivo: estudiar el efecto del tratamiento combinado de alendronato vía subcutánea y de MFP vía oral sobre la regeneración tisular de cavidades óseas neoformadas. Materiales y métodos: se prepararon las fórmulas farmacéuticas con una dosificación de 0,5 mg/kg de peso para AL y de 5 mM para MFP. Sesenta y cuatro ratas macho de la línea Wistar 160±20 g de peso, se dividieron en 4 grupos de 16 ratas cada uno. El primer grupo actuó como grupo control (C). Los animales de este grupo recibieron semanalmente 0,3 ml/100 g de peso corporal de solución salina vía subcutánea cercana a la intervención quirúrgica. El segundo grupo (AL) recibió semanalmente 0,5 mg de AL/kg de peso corporal por vía subcutánea profunda en el miembro posterior izquierdo. El tercer grupo (MFP) fue tratado con MFP en el agua de bebida durante el tiempo que duró el experimento y en las áreas de la cirugía los animales recibieron inyección subcutánea de solución fisiológica como el grupo control. El cuarto grupo (AL+MFP) recibió tratamiento combinado con AL subcutáneo y MFP por vía oral en el agua de bebida. Estos animales tuvieron acceso a agua corriente de red *ad libitum*. En la cirugía se realizó una incisión longitudinal en ambas tibias y a través del decolado se llegó a exponer el hueso, realizando un defecto circular en la parte plana de cada tibia hasta llegar al hueso medular. Dicho defecto no fue rellenado. Los sacrificios para la toma de muestras fueron a los 15, 30, 60 y 90 días. Los estudios histopatológicos se realizaron previa descalcificación de las tibias con EDTA y su inclusión en parafina. Los cortes fueron teñidos con HE y observados con microscopía óptica (MO). Los estudios estadísticos se realizaron a través del análisis de la variancia a dos y tres criterios de clasificación (tratamientos, tiempo, tibia problema/tibia contralateral). El nivel de significación fue  $p < 0,01$ . Resultados: el análisis histológico demostró que AL y MFP presentaron mayor actividad osteogénica y se observaron trabéculas más gruesas y anastomosadas, con mayor relevancia en el tiempo 60 y estabilizándose al tiempo 90. La histomorfometría reveló un aumento del porcentaje de hueso trabecular a través del tiempo para AL y MFP; el más evidente fue el tiempo 60. El tratamiento combinado no resultó estadísticamente diferente del control. Conclusiones: el análisis del tratamiento combinado demuestra que no hay sinergia ni de suma, ni de potenciación, ya que los efectos no fueron superiores a los hallados utilizando los fármacos por separado.

**CL13. Eje óseo-vascular: regulación de la vascularización por fármacos antirresortivos Cutini PH, Rauschemberger MB, Massheimer VL**

*Cátedra de Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur (UNS). Bahía Blanca. Instituto de Investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR). CONICET-UNS.*

La vascularización ósea es indispensable en todas las etapas de la vida del hueso: formación, modelación, remodelación y consolidación de fracturas. La angiogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente. Comprende los eventos de migración y proliferación de células endoteliales (CEs), con posterior formación y organización de otros grupos celulares en estructuras tubulares para, finalmente, madurar en vasos sanguíneos estables. El factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) es el regulador principal de la angiogénesis que responde a varios estímulos tales como hipoxia/isquemia, estrógenos y óxido nítrico (NO). A nivel óseo promueve el flujo canalicular, la mineralización del cartílago y el aporte de células progenitoras de medula ósea. El objetivo de este trabajo fue investigar los efectos de fármacos empleados en la patología ósea sobre eventos moleculares y celulares involucrados en la neovascularización: síntesis de VEGF, producción de NO, proliferación y migración de CE. Para tal fin seleccionamos el bifosfonato alendronato (AL) y el modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM) raloxifeno (Rx). Como

sistema experimental se emplearon cultivos primarios de CEs obtenidos a partir de anillos de aortas de ratas Wistar, tratados *in vitro* con Rx o AL. Primeramente se evaluó la producción de VEGF en CEs. Empleando una técnica de inmunoensayo (ELISA), determinamos la producción de VEGF en sobrenadantes de cultivos de CEs. Demostramos que 24 horas de tratamiento con AL 5  $\mu\text{M}$  o Rx 10 nM indujo un marcado estímulo sobre la síntesis del factor de crecimiento, siendo mayor el incremento cuando las células recibieron tratamiento con el bifosfonato (21,03 $\pm$ 0,58; 33,26 $\pm$ 1,62; 27,32 $\pm$ 0,12 pg VEGF/mg proteína, control; AL 5  $\mu\text{M}$ ; Rx 10 nM, respectivamente,  $p < 0,05$ ). Teniendo en cuenta que las acciones del Rx son mediadas por el receptor de estrógenos (RE), empleando la técnica de RT-PCR estudiamos la acción de un activador natural del RE, el estrógeno estrona, sobre la síntesis del ARNm de VEGF. Dos horas de tratamiento de las células con el estrógeno (10 nM) estimuló 2 veces con respecto al control la expresión del ARNm del factor de crecimiento ( $p < 0,05$ ). El estudio de los efectos del AL y Rx sobre la producción de NO endotelial, regulador de la síntesis de VEGF, se realizó empleando el método colorimétrico de Griess. Observamos que ambos fármacos indujeron un estímulo significativo sobre la síntesis del vasoactivo con respecto a la condición control (31,3 $\pm$ 2,9; 52,3 $\pm$ 4,6; 51,2 $\pm$ 3,9 nmol de NO/mg proteína, control; Rx 10 nM; AL 5  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0,05$ ). Para evaluar la acción de los agentes antirresortivos sobre la proliferación se empleó el ensayo colorimétrico de reducción de la sal de tetrazolio MTT. Luego de 24 horas de tratamiento de las CEs con el SERM Rx observamos un acentuado estímulo del crecimiento celular (75 y 94% con respecto al control, Rx 1 y 10 nM, respectivamente,  $p < 0,001$ ). Similares resultados se obtuvieron en tratamientos con Rx en tiempos más prolongados (72 y 96 horas). La migración de CEs se estudió mediante la técnica *wound healing*. El tratamiento durante 72 horas con Rx 10 nM indujo un estímulo significativo sobre la migración celular (304 $\pm$ 29 vs. 370 $\pm$ 25 células/campo; control vs. Rx 10 nM;  $p < 0,05$ ). En cambio, el tratamiento con el bifosfonato no modificó la proliferación y migración de las CEs. Basándonos en estos resultados concluimos que los fármacos anticatabólicos Rx y AL ejercen efectos potencialmente favorables sobre la formación de nuevos vasos sanguíneos, aunque en forma diferencial. En las condiciones ensayadas, el SERM modula tanto los eventos celulares como moleculares, mientras que el bifosfonato solo lo haría a nivel molecular.

#### **CL14. Valores de referencia de densidad mineral ósea para ambos sexos de personas de 4 a 19 años de Mendoza, República Argentina**

**Saraví FD, Polanco Domínguez G, Mampel A, Echeverría MI, Vargas AL**

*Escuela de Medicina Nuclear e Institutos de Fisiología y de Genética, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, República Argentina.*

Introducción: en pacientes pediátricos, la densidad mineral ósea (DMO) puede afectarse en trastornos hereditarios, como osteogénesis imperfecta; congénitos, como mielomeningocele, o adquiridos, como celiaquía, trastornos de la conducta alimentaria, artritis reumatoidea juvenil o tratamiento glucocorticoide. Para el diagnóstico y el seguimiento se requieren valores de referencia apropiados de *Z-score*. Contar con valores de referencia regionales aumenta la fiabilidad de las comparaciones, dadas las diferencias étnicas, nutricionales y de estilo de vida que pueden existir entre poblaciones diferentes. Además, las bases de datos de los equipos de densitometría omiten valores de referencia para la cadera. Se presentan valores de referencia de DMO de cuerpo entero, columna lumbar y cadera para varones y mujeres de 4 a 19 años de la provincia de Mendoza. Métodos: los sujetos fueron reclutados como controles sanos de dos estudios clínicos (ambos aprobados por la Comisión de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas), referidos por pediatras o provenientes de la comunidad. Se excluyeron sujetos cuyos valores de peso o talla eran mayores que el percentilo 95 o inferiores al percentilo 5 según valores de referencia nacionales y aquellos con condiciones o tratamientos que pueden modificar la masa corporal, la composición del tejido blando o el contenido mineral óseo. La muestra incluyó 300 sujetos (137 varones). Los valores obtenidos fueron clasificados según la edad en bienios. Los sujetos peripuberales se dividieron en prepuberales/pubertad temprana (Tanner I y II) y pubertad tardía (Tanner III o mayor). Se realizó DXA con un equipo Lunar Prodigy. Para el análisis estadístico de los resultados se empleó Prism 5.4. Los principales resultados se presentan en la tabla como media $\pm$ SD.



Edad (años)	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	16-17	18-19
<b>Varones</b>								
<b>Total</b>	0,790 (0,028)	0,826 (0,043)	0,880 (0,032)	0,934 (0,062)	1,010 (0,045)	1,134 (0,073)	1,151 (0,062)	1,215 (0,048)
<b>L1-L4</b>	0,583 (0,066)	0,636 (0,058)	0,696 (0,078)	0,766 (0,059)	0,927 (0,073)	1,128 (0,070)	1,149 (0,052)	1,224 (0,060)
<b>L2-L4</b>	0,591 (0,069)	0,646 (0,054)	0,710 (0,081)	0,774 (0,059)	0,934 (0,075)	1,144 (0,070)	1,163 (0,052)	1,254 (0,046)
<b>F cuello</b>	0,664 (0,066)	0,748 (0,084)	0,821 (0,081)	0,886 (0,063)	0,996 (0,093)	1,110 (0,084)	1,156 (0,047)	1,187 (0,073)
<b>F total</b>	0,678 (0,071)	0,748 (0,081)	0,835 (0,076)	0,884 (0,057)	1,028 (0,092)	1,096 (0,084)	1,144 (0,047)	1,173 (0,067)
<b>Mujeres</b>								
<b>Total</b>	0,757 (0,041)	0,782 (0,031)	0,858 (0,047)	0,912 (0,044)	1,014 (0,082)	1,087 (0,068)	1,125 (0,084)	1,186 (0,073)
<b>L1-L4</b>	0,580 (0,077)	0,632 (0,035)	0,723 (0,064)	0,824 (0,087)	1,042 (0,081)	1,122 (0,069)	1,164 (0,086)	1,205 (0,074)
<b>L2-L4</b>	0,585 (0,078)	0,640 (0,037)	0,733 (0,068)	0,838 (0,089)	1,067 (0,075)	1,138 (0,074)	1,193 (0,078)	1,205 (0,074)
<b>F cuello</b>	0,617 (0,065)	0,623 (0,061)	0,758 (0,042)	0,823 (0,055)	0,937 (0,140)	1,022 (0,090)	1,085 (0,078)	1,103 (0,086)
<b>F total</b>	0,632 (0,066)	0,642 (0,051)	0,750 (0,063)	0,829 (0,051)	0,935 (0,127)	1,005 (0,084)	1,064 (0,074)	1,089 (0,086)

La variación de DMO con la edad fue sigmoidea en ambos sexos, con una pendiente máxima peripuberal. En ambos sexos, el aumento peripuberal fue más marcado en la columna lumbar que en la cadera. En los varones, la DMO de columna lumbar parece no haber alcanzado aún su valor máximo a los 19 años, mientras que la DMO de la cadera ya se ha estabilizado. En las mujeres se observó la tendencia opuesta. La variabilidad en cadera fue comparable a la del esqueleto total y la columna lumbar, excepto en niñas de 12 y 13 años. Conclusión: los presentes valores de referencia pueden contribuir al diagnóstico y seguimiento de las alteraciones de la DMO en pacientes pediátricos. La DMO de cadera puede ser útil también en este grupo etario.

**CL15. El ácido litocólico previene la inhibición producida por el deoxicolato de sodio sobre la absorción intestinal de calcio**

**Marchionatti AM, Pérez AV, Rivoira MA, Rodríguez VA, Tolosa de Talamoni NG**

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

Los ácidos biliares (AB) y sus sales son los componentes más importantes de la bilis. Los ácidos litocólico (LCA) y deoxicólico (DXC) son ácidos biliares secundarios originados a partir de los primarios por acción de la microflora del intestino. En concentraciones elevadas son citotóxicos y han sido involucrados en la patogénesis de ciertas enfermedades tales como el cáncer de colon. En un trabajo previo en nuestro laboratorio se demostró que el DXC, por un mecanismo oxidativo, inhibe la absorción intestinal de  $Ca^{+2}$  y afecta la supervivencia celular (Rivoira y col., *Comp Biochem Physiol* 2012). Sobre la base de estos resultados, el objetivo del presente trabajo fue determinar si LCA tiene capacidad de prevenir el efecto inhibitorio del DXC y conocer el efecto individual que el LCA puede desencadenar en el intestino y sus implicancias sobre la vía de absorción intestinal de calcio.

Se utilizaron pollos de 4 semanas de edad tratados en el saco intestinal con: 1) solución fisiológica (controles), 2) DXC (10 mmol/L), 3) LCA (200  $\mu$ mol/L) y 4) tratados con LCA+DXC por 30 minutos. La absorción de calcio se midió por la técnica del asa intestinal ligada *in situ*. En mucosa duodenal se analizó la expresión génica y proteica por RT-PCR en tiempo real y por Western blot, respectivamente, de  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa, intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  y calbindina D28k. También se analizó la expresión génica de claudina 2, 12 y TRPV6. Además, se midieron por espectrofotometría las actividades de fosfatasa alcalina (FA) y el contenido de grupos carbonilos de las proteínas. En mitocondrias aisladas de enterocitos se estudiaron por espectrofotometría los cambios en la permeabilidad de la membrana interna mitocondrial. Los resultados se evaluaron estadísticamente mediante ANOVA a una vía, seguido del test de Bonferroni. Los resultados indican que el LCA solo no alteró la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{2+}$ , mientras que el tratamiento combinado previno el efecto inhibitorio causado por DXC sobre la absorción intestinal de calcio y retornó los valores de expresión génica y proteica de  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasa, intercambiador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  y calbindina D28k, moléculas involucradas en la vía transcelular, al valor control. El LCA evitó el incremento en el contenido de grupos carbonilos de las proteínas, la disminución de la actividad de FA intestinal y la alteración de la permeabilidad interna mitocondrial producida por DXC. En conclusión, el LCA previno el efecto inhibitorio producido por DXC sobre la vía transcelular de la absorción del  $\text{Ca}^{2+}$ , al menos en parte, por bloqueo del estrés oxidativo.

#### **CL16. Análisis original del poder determinante independiente de factores mecánicos y metabólicos sobre la estructura radial y tibial, en hombres y mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas normales**

**Cointry G, Reina P, Nocciolino L, Feldman S, Rittweger J, Ferretti J, Capozza R**

*Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFOC) y LABOATEM, UNR, Rosario; German Space Agency (DLR, Colonia, Alemania).*

La estructura ósea, por encima de su desarrollo morfogenético, está determinada exclusivamente por los entornos metabólico y mecánico del esqueleto. Estas influencias son difíciles de evaluar separadamente, debido a las múltiples interrelaciones alométricas que existen naturalmente entre músculos y huesos. En este estudio, intentamos analizarlas en forma discriminada, mediante tests de regresión múltiple “paso a paso”, utilizando un modelo original. Los análisis evaluaron en forma estandarizada el poder determinante independiente de dos factores mecánicos (largo óseo, área seccional muscular regional) y dos no mecánicos (edad o tiempo de menopausia -TMP-, peso corporal) considerados “típicos”, sobre indicadores tomográficos (pQCT) de la masa (CMO) trabecular y cortical, la mineralización (vDMO cortical, inversa a la microporosidad del tejido y paralela a su rigidez y a su tenacidad en el modelo seleccionado) y el diseño (perímetros, momentos de inercia -MIs-) y la resistencia (SSI) de las diáfisis de radios (huesos portantes, 2 sitios de *scan* por hueso) y tibias (no portantes, 4 sitios de *scan* por hueso) de hombres y mujeres pre-MP y pos-MP sanos (n=47,70,122) de 25-82 años, no fumadores ni bebedores, y sin antecedentes osteológicos. Los análisis proveyeron coeficientes de regresión  $\beta$ , cuyo valor determinó, al mismo tiempo, la influencia cuantitativa de cada factor en forma estandarizada (variaciones en DS de cada variable dependiente, por cada DS de variación de cada variable independiente, en todas las instancias posibles de confrontación) y su significado estadístico. Para interpretar los resultados, solo se contemplaron los coeficientes significativos. El orden de los significados obtenidos para los distintos indicadores mostró que 1) en hombres y mujeres pre-MP, los principales determinantes de las características óseas fueron el tamaño muscular para el radio y el largo óseo para la tibia; 2) el peso corporal fue un determinante significativo solo para las mujeres, y, entre de ellas, solo para las tibias; 3) en todos los individuos fértiles, las asociaciones entre los indicadores óseos “extensivos” (masa, diseño) con sus determinantes seleccionados fueron más ajustadas que las encontradas para el indicador “intensivo” de calidad material (vDMO cortical) y 4) todas las relaciones fueron independientes de la edad, pero, luego de la menopausia, el TMP fue un determinante significativo adicional, para radios y tibias. Esto evidencia, con argumentos originales, que a) respecto del entorno mecánico, los factores representados (palancas óseas, fuerza muscular pura, o combinada con el porte del peso) serían variables más relevantes que los confundidores etarios y antropométricos seleccionados para determinar las propiedades óseas “extensivas” (alométricas: masa, diseño, resistencia). En cambio, las propiedades óseas “intensivas” (rigidez y tenacidad tisulares, expresadas por la vDMO



cortical) solo reconocieron influencias metabólicas; b) respecto del entorno endocrino-metabólico (tipo y actividad de las hormonas sexuales), los impactos de la musculatura y las palancas serían comparables en hombres y mujeres pre-MP, pero el TMP tendría un impacto mayor que el de otros determinantes, alométricos o mecánicos, sobre cualquier tipo de propiedad ósea, incluyendo la rigidez y la tenacidad del tejido mineralizado (reflejadas por la vDMO cortical) y excluyendo probablemente el diseño diafisario (MI's) como variable determinada. Esta forma de analizar e interpretar las influencias de los factores no genéticos determinantes de la estructura ósea, caracterizada por propiedades con alto correlato biomecánico, permitió discriminar el impacto óseo de las variaciones del entorno mecánico en forma más independiente de la interacción de factores metabólicos que como podría conseguirse aplicando los modelos comparativos usuales, mediante evidencias originales, biológica y estadísticamente idóneas.

**CL17. Hiperparatiroidismo primario por adenoma atípico asociado a trombosis venosa**  
**Kitaigrodsky AV, Buttazzoni M, Diehl M, Guelman R, Plantalech L, Galich AM**

*Hospital Italiano de Buenos Aires. Servicio de Endocrinología. Sección Osteopatías Metabólicas.*

Introducción: en la actualidad la mayoría de los casos de hiperparatiroidismo primario (HPT) son asintomáticos o se presentan con síntomas leves. El carcinoma paratiroideo se sospecha en presencia de hipercalcemia severa, compromiso renal y óseo concomitante o masa cervical palpable. El diagnóstico diferencial entre adenoma atípico y carcinoma de paratiroides se realiza sobre la base de la histología y evolución clínica. Se ha descrito la asociación entre HPT e hipercoagulabilidad. Se describe un paciente con trombosis venosa profunda (TVP) al que se le diagnostica HPT grave por adenoma paratiroideo atípico. Caso clínico: varón de 59 años, internado en agosto de 2013 por TVP derecha. Presentaba debilidad y dolores musculares, tumoración en dorso de la mano y nódulo palpable en cuello. El laboratorio evidenció: calcemia (Ca) 13,5 mg/dl (VR 8,5-10,5), calcio iónico 1,74 mmol/ml (VR 1,0-1,35), fosfatemia (P) 1,7 mg/dl (VR 2,7-4,5), fosfatasa alcalina (FAL) 498 UI/L (VR 31-100), creatinina (Cr) 1,41 mg/dl (VR 0,6-1,3), parathormona (PTH) 2151 pg/ml (VR <65), 25(OH) vitamina D (25OHD) 14 ng/ml (VR >30). Centellograma óseo: aumento de captación en húmero, acetábulo y rama iliopubiana derechos, 4° metacarpiano izquierdo, ambas tibias, parrilla costal y calota. Las radiografías mostraron una imagen con expansión de la cortical en metacarpo y lesiones líticas múltiples coincidentes con el centellograma. TC: litiasis renal bilateral. Densitometría de radio medio: T-score -5,7. Se descartaron patologías protrombóticas. Se diagnosticó HPT grave con TVP. Ecografía: imagen compatible con paratiroides derecha de 32 x 16 x 17 mm. Centellograma Tc-Sestamibi: aumento de captación en localización concordante con la ecografía. Recibió anticoagulación y medidas hipocalcémicas hasta la cirugía. Se realizó resección de paratiroides derecha inferior de 3 cm. La anatomía patológica informó adenoma atípico. Requirió en el posoperatorio aporte vía oral de calcio, vitamina D y magnesio (dosis máxima diaria: calcio elemental 4800 mg, citrato de magnesio 4224 mg, colecalciferol 3000 UI, calcitriol 1 µg) con descenso progresivo. Presentó mejoría del dolor muscular y disminución del tamaño de la lesión de la mano. A los 5 meses normalizó PTH (45 pg/ml). A los 9 meses elevó nuevamente PTH (193 pg/ml), en contexto de disminución de la dosis de calcio y vitamina D, con calcemia normal (9 mg/dl), vitamina D 44 ng/ml e hipocalciuria. Las radiografías de control mostraron osificación de los tumores pardos. Se aumentó el aporte de calcio y continúa en seguimiento. Discusión: los casos de HPT graves pueden deberse en ocasiones a carcinomas o adenomas atípicos. Se denomina adenoma atípico a los tumores de paratiroides que comparten características histopatológicas con los carcinomas (bandas fibrosas o figuras mitóticas) pero sin invasión capsular o vascular. Es importante el seguimiento periódico; la evolución favorable sin recurrencias o desarrollo de metástasis confirmará el diagnóstico de adenoma atípico. El HPT se ha asociado a un aumento de la morbimortalidad cardiovascular, que podría deberse en parte a un estado protrombótico. El mecanismo propuesto es el aumento del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), de la relación PAI-1/activador tisular del plasminógeno (t-PA) y la disminución del inhibidor del factor tisular (TFPI), que en conjunto llevarían a un estado de hipercoagulabilidad y de hipofibrinólisis, aumentando el riesgo de complicaciones ateroscleróticas y aterotrombóticas. La TVP podría ser una manifestación rara y poco reconocida del HPT. Se recomienda en TVP sin causa clara la medición de calcemia en forma conjunta con PTH. Son necesarios futuros estudios para evaluar la posible relación causal entre ambas patologías.

**CL18. Diferencias de la masa muscular en mujeres con baja masa ósea y fracturas osteoporóticas respecto de aquellas con baja masa ósea y no fracturadas****Mastaglia S, Bagur A, Oliveri B, Mautalen C***Centro de Osteopatías Médicas, Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Oseas (INIGEM) CONICET-UBA.*

Se evaluó retrospectivamente a 41 mujeres mayores de 60 años, 38 de ellas presentaron una densidad mineral ósea (DMO) inferior a -1DS de esqueleto total. La composición corporal evaluada por DXA fue reanalizada. Once de estas pacientes habían presentado fracturas (6 vertebrales, 4 no vertebrales y 1 de ambas). La función y la fuerza muscular no fueron evaluadas en el presente estudio. Los resultados del grupo total fueron: edad: 75±8 años, índice de masa corporal (IMC) 25,4±4,0 kg/m<sup>2</sup>, masa grasa (kg) 24,1±6,9, masa magra (kg) 34,1±3,4 y esqueleto total *T-score* -2,03±0,82. La masa muscular apendicular (aMM) (kg/m<sup>2</sup>) 5,99±0,72. La masa muscular de brazos (arMM) (kg/m<sup>2</sup>) 1,44±0,21 y masa muscular de piernas (IMM) (kg/m<sup>2</sup>) 4,55±0,6. El *T-score* de aMM fue -1,16±1,03, la aMM mostró una correlación significativa con masa magra ( $r=0,63$ ;  $p<0,001$ ) y masa grasa ( $r=0,42$ ;  $p<0,01$ ). La arMM y la IMM presentaron la misma correlación con masa magra ( $r=0,63$ ;  $p<0,001$ ) y una menor correlación entre ellas ( $r=0,57$ ;  $p<0,001$ ). Nueve pacientes (25%) mostraron una aMM inferior a 2DS del promedio normal joven (presarcopenia) y 12 (31%) tuvieron un *T-score* entre -1 y -2DS (baja aMM). El grupo de pacientes con fracturas osteoporóticas (Fx [n=11]) fue comparado con el grupo sin fracturas (no Fx [n=27]). Aunque el grupo de pacientes con fracturas presentó mayor edad, menor IMC, masa grasa y DMO *T-score*, la diferencia de estas variables no fue significativa. En cambio se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en: aMM (5,49±0,57 vs. 6,16±0,68;  $p<0,005$ ), aMM *T-score* (0,86±0,96 vs. 1,87±0,81;  $p<0,005$ ), arMM (1,24±0,18 vs. 1,51±0,15;  $p<0,001$ ), IMM (4,7±0,6 vs. 4,25±0,4;  $p<0,03$ ) y masa magra total (32,3±25 vs. 35,2±37,0;  $p<0,02$ ). Cinco de 11 pacientes pertenecientes al grupo de Fx mostraron presarcopenia y 5/11 presentaron baja aMM. Un paciente obeso de este grupo presentó una aMM normal. En cambio, solo el 15% de las pacientes no Fx tuvieron presarcopenia, y 27% baja aMM. Estos resultados preliminares enfatizan la necesidad de evaluar MM en pacientes con fracturas osteoporóticas y sin ellas a fin de identificar este factor de riesgo para la salud ósea y general.

**CL19. Hipercalcemia severa por enfermedad granulomatosa secundaria a la inyección de polimetilmetacrilato****García ML,<sup>1</sup> Rella NG,<sup>1</sup> Scioscia MF,<sup>1</sup> González DC,<sup>2</sup>***1 Sanatorio Municipal Dr Julio Méndez; 2 Centro Mautalen. CABA.*

La hipercalcemia asociada a granulomas ha sido descrita clásicamente en relación con sarcoidosis, tuberculosis e infecciones micóticas, así como con otras enfermedades granulomatosas (EG); en todas ellas, el mecanismo propuesto se relaciona con un aumento de la síntesis de 1,25(OH)<sub>2</sub>vitamina D (1,25D) a partir de la activación de la enzima 1 $\alpha$ -hidroxilasa local. Se han reportado casos raros de hipercalcemia en EG por cuerpo extraño. La hipercalcemia secundaria a EG por polimetilmetacrilato (PMM) ha sido descrita en pacientes aislados en la literatura. Caso clínico: paciente de sexo femenino, de 53 años, que ingresa por síndrome de impregnación y deterioro de la función renal de 2 meses de evolución. Como antecedentes refiere diagnóstico de diabetes insulino dependiente a los 22 años, con regular control metabólico, hipotiroidismo autoinmune, nefritis en la infancia, hernia hiatal, tabaquismo, cirugías de apéndice, amígdalas, colocación de prótesis mamarias y recambio posterior. Fractura de tibia y peroné traumática. G3 P1 A2, FUM a los 50 años. Tratamiento habitual con insulina glargina mas correcciones con análogos ultrarrápidos y levotiroxina. Al examen físico se constata disminución de la masa muscular, debilidad y descenso de la fuerza muscular generalizada. ECG con acortamiento del QT. En el laboratorio se detecta tricitemia, creatinina de 3,33 mg/dl (VR 0,4-1,1), urea de 73 (VR 10-50), calcio iónico de 1,75 (VR 1,1-1,32) y calcio total de 15,6 mg/dl (VR 8,5-10,5). Por esto último se ingresa muestra para dosaje de PTH, 25(OH)vitamina D (25OHD) y perfil tiroideo. Se inicia tratamiento con plan de hidratación parenteral amplio y calcitonina. Debido a la persistencia de HCA se indica pamidronato. Se interconsulta al servicio de endocrinología. Se informa PTH 12 pg/ml (VR 15-65), con Ca 14,8 mg%, P 3,9 mg% (VR 2,5-4,5), Mg 2,3 mg% (VR 1,3-2,5), *clearance* de creatinina 23 ml/min (VR 80-120), 25OHD 34 ng/ml (VR 30-100), TSH 0,45 mU/l (VR 0,3-4,2) y T4L 1,5 ng% (VR 0,8-1,9). Se inician estudios descartándose patologías oncológicas e infecciosas. Se reinterroga a la paciente quien en esta instancia refiere colocación de PMM en región glútea hace 4 años y



que tres meses atrás le indicaron 100.000 UI mensuales de 25OHD3 por niveles insuficientes de 25OHD. Se solicita PET-TC con FDG, que pone en evidencia procesos hipermetabólicos en ambos glúteos y dosaje de 1,25D, cuyo resultado es de 76 pg/ml (VN 18-60). Se indica la realización de biopsia confirmando el diagnóstico de granuloma por cuerpo extraño. La paciente presenta hipercalcemia recurrente, por lo que se le indican corticoides. Debido a la baja adherencia por parte de la paciente, el deterioro del control glucémico y la persistencia de niveles elevados de urea y creatinina, se indica tratamiento con denosumab 60 mg y se logra normalización de la calcemia. Conclusiones: 1) frente a una hipercalcemia no atribuible a causas comunes, el antecedente del uso de PMM, incluso a largo plazo, debe incluirse dentro de los diagnósticos diferenciales; 2) la suplementación con 25OHD3, precipitó la hipercalcemia enmascarada por el déficit de 25OHD, el cual era probablemente secundario a la combinación del déficit dietario y el aumento del consumo, por la activación de la  $1\alpha$ -hidroxilasa; 3) se remarca la utilidad de la PET-TC con FDG para obtener imágenes que fueron útiles para localizar las lesiones hipermetabólicas y de la medición de 1,25D para determinar la etiología de la hipercalcemia mediada por granulomas secundarios a PMM; 4) los corticoides junto con el tratamiento de la enfermedad primaria constituyen el pilar de la terapéutica inicial en la hipercalcemia mediada por 1,25D. En este caso recurrimos al uso de denosumab que nos permitió el control de la calcemia, sin deterioro de la función renal ni de la glucemia.

#### **CL20. Remediación de aguas con alto contenido de fluoruro utilizando la cáscara de huevo**

**Lupo M, Véscovo MB, Terjes OM, Rigalli A**

*Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Medicina. Rosario.*

La fluorosis es un trastorno multiorgánico producido por la elevada ingesta de fluoruro (F) que puede generar desde moteado de dientes hasta afectar la secreción y acción de diversas hormonas y producir severas deformaciones óseas. La Organización Mundial de la Salud y el Código Alimentario Argentino han establecido como límite superior aceptable para el agua de consumo 1,5 mg F/l. Un estudio realizado en nuestro laboratorio ha revelado que un 28% de las aguas de consumo de la provincia de Santa Fe supera ese límite. Si bien la instalación de plantas de ósmosis inversa, los acueductos regionales con agua de río y el consumo de aguas envasadas reduce la exposición de la población a cantidades excesivas de F, en zonas alejadas de los centros urbanos o por escasez de recursos económicos, dicha exposición es un problema. Varios estudios preliminares han demostrado que la cáscara de huevo podría ser utilizada como recurso para la eliminación del F del agua, secuestrando a este último por reacción con el calcio para formar F de calcio insoluble. Existen diferentes métodos de remediación de agua con F, pero la ventaja de la cáscara de huevo es que es un residuo generado a nivel doméstico en cantidades importantes. Su utilización es una forma de reciclaje de residuos y, a su vez, una forma de remediación con alto potencial, por su muy bajo costo y su gran disponibilidad. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método de remediación de aguas con excesivo contenido de F utilizando la cáscara de huevo. Para ello se evaluó la cantidad y tratamiento de la cáscara, el tiempo de contacto y grado de pulverización sobre la capacidad de captación de F por la cáscara. A su vez, se analizó la calidad del agua obtenida luego de la remediación y la eliminación del precipitado formado. Se evaluó captación de F utilizando cáscara pulverizada (CP) y la cáscara calcinada (CC). La captación de CC:  $37,4 \pm 1,2$  mg F/kg fue significativamente mayor que CP:  $6,6 \pm 0,8$ , t de Student,  $p < 0,05$ . La captación de CC en función del tiempo arrojó un tiempo medio de captación de  $0,52 \pm 0,12$  min,  $p < 0,05$ . El agua obtenida postratamiento con CC presentó pH alcalino; su neutralización se logró por exposición al aire, pH inicial:  $11,3 \pm 0,5$  y pH final:  $6,4 \pm 0,1$ . La neutralización se acompaña de disminución de la concentración iónica total medida a través de la conductividad eléctrica (CE), CE inicial:  $8,1 \mu\text{S/cm}$  y CE final:  $0,15 \mu\text{S/cm}$ . Posteriormente se centrifugó y filtró la muestra para eliminar el precipitado obtenido en la remediación. No hubo diferencias significativas entre la utilización de papel de filtro o centrifugado para extraer el precipitado. Se concluye que la CC es más eficaz en la remoción del F del agua que la CP, con un tiempo de captación de F y una saturación que permiten su utilización práctica. Es necesario mantener el agua obtenida en contacto con el aire durante 6 días para su neutralización. El agua obtenida luego del proceso: tratamiento con CC, neutralización y filtración produjeron agua con características incolora, insípida e inodora. Se concluye que la CC es un recurso adecuado para remediar agua con alto contenido de F, generando agua con características potables. Los datos reportados en este trabajo permiten estimar que una cáscara de huevo puede remediar aproximadamente 3 litros agua con 5 ppm de F.

**CL21. Efecto sobre huesos largos de la administración de ranelato de estroncio en animales ovariectomizados previamente tratados con alendronato: estudio preliminar****Díaz D, Rodas J, Bozzini C, Mandalunis P, Escudero N***Cátedra de Histología y Embriología y Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.*

Introducción: en los últimos años se han reportado casos de osteonecrosis de los maxilares y otras patologías asociadas al uso prolongado de bifosfonatos (BF). Por ello, la tendencia actual es reemplazar el tratamiento farmacológico de la osteoporosis con BF por otras drogas como el ranelato de estroncio (RSr). Hasta el momento son escasos los estudios *in vivo* que demuestren el efecto de la administración RSr luego del tratamiento con BF, razón por la cual el objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de la administración secuencial de un bifosfonato seguido de ranelato de estroncio en huesos largos de animales ovariectomizados. Materiales y métodos: se utilizaron 16 ratas Wistar hembras de dos meses de edad divididas en 4 grupos. En el día 0 de la experiencia, todas fueron ovariectomizadas. El día 30 se comenzó con la administración de alendronato (AL) en una dosis de 0,3 mg/kg/semana vía i.p. o vehículo durante un período de 8 semanas. Una semana después de la administración de la última dosis AL o vehículo (semana 9), se inició la administración de RSr en el agua de bebida durante 4 meses en una dosis de 290 mg/kg/día; los grupos control recibieron solo agua corriente. Por lo tanto los grupos experimentales fueron: G1: AL+RSr, G2: AL+AGUA, G3: VEH+RSr y G4: VEH+AGUA. Los animales fueron sacrificados a los 7 meses de experiencia y se les extrajeron la tibia y fémur derechos. La tibia fue fijada en formol *buffer* y procesada para la obtención de cortes longitudinales descalcificados y coloreados con H&E de la epífisis proximal para la medición histomorfométrica del volumen óseo (BV/TV, %). El fémur fue utilizado para la realización del test biomecánico de tres puntos para determinar la rigidez diafisaria (Wydy, N/mm), carga elástica límite (Wy, N) y carga de fractura (Wf, N). Los resultados obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y postest de Bonferroni de comparaciones múltiples. Los datos se hallan expresados como media y desvío estándar. Resultados: histomorfometría de tibia: BV/TV (%): G1: 52,2±4,3, G2: 58,3±16,9, G3: 15,2±3,2, G4: 14,2±1,7; p<0,001 (G1 vs. G3 y G4, G2 vs. G3 y G4). Biomecánica de fémur: rigidez diafisaria (N/mm): G1: 420,4±43,2, G2: 415,6±47,2, G3: 370,8±24,5, G4: 288,6±40,78; p<0,01 (G1 vs. G4 y G2 vs. G4); Carga elástica límite (N): G1: 113,8±16,4, G2: 118±35,4, G3: 108,8±13,6, G4: 83,5±15,6; p>0,05; Carga de fractura (N): G1: 192,4±26,4, G2: 202,3±23, G3: 179±12,2, G4: 139,6±17,8; p<0,001 (G2 vs. G4). Conclusión: en el presente diseño experimental no se observó un efecto aditivo entre el alendronato combinado con la administración secuencial de ranelato de estroncio; aparentemente, el efecto residual del alendronato persistente en la matriz ósea es igual de eficaz que su combinación con la administración posterior de ranelato de estroncio. Por otra parte, la mayoría de los trabajos atribuyen al ranelato de estroncio un efecto anabólico. Los resultados del presente estudio no muestran dicho efecto en el hueso subcondral, sino que el ranelato de estroncio mejoraría las propiedades biomecánicas estructurales de la diáfisis de los huesos largos mediante un mecanismo diferente. Agradecimientos: UBACyT 20020120100190BA, Vet M Lewicki, Prof. Dr. R.L. Macchi, GADOR SA.

**CL22. Efecto de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*) sobre el tejido óseo****Brun LR, Maher MC, Brance ML, Lescano D, Di Loreto VE, Rigalli A***Laboratorio de Biología Ósea. Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.*

El consumo de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es muy frecuente en la Argentina (5 kg/persona/año). El "mate" es la forma de consumo más frecuente y constituye la fuente de ingreso de cafeína más importante. Dado que la cafeína ha mostrado impacto negativo sobre la densidad mineral ósea (DMO) y el riesgo de fractura especialmente con dietas bajas en calcio (Ca), la yerba mate podría tener un efecto negativo sobre el tejido óseo. Sin embargo, un trabajo recientemente publicado (Conforti AS, *Bone* 2012) mostró en mujeres posmenopáusicas consumidoras de mate, una mayor DMO en columna vertebral y cuello femoral. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la yerba mate sobre la microarquitectura, densidad mineral y resistencia del tejido óseo con diferente concentración de Ca en la dieta. Para ello se emplearon 24 ratas Sprague Dawley hembras de 30 días divididas en 4 grupos (n=6 por grupo): Control+Ca 0,2 g%; Control+Ca 0,9 g%; Yerba+Ca 0,2 g%; Yerba+Ca 0,9 g%. Se preparó una infusión de yerba mate (25 g de yerba mate en 1 litro de agua a 90 °C), la cual se administró *ad libitum* por 90 días a temperatura ambiente, previa filtración. Esta infusión sustituyó al agua de bebida en los grupos Yerba. Las ratas fueron sacrificadas en cámara de





CO<sub>2</sub> e inmediatamente se procedió a la obtención de tibias para realizar histomorfometría ósea y los fémures para realizar estudios biomecánicos de flexión a 3 puntos y de compresión. La DMO fue determinada empleando un equipo de rayos X (70 kV) simultáneamente con un patrón de concentraciones de Ca conocidas. Los estudios morfométricos de la diáfisis femoral e histomorfométricos del hueso trabecular epifisario se realizaron con el software Image J 1.40 sobre imágenes digitalizadas de dichos sectores. Los resultados se expresan como media±EE y se analizaron con ANOVA a dos criterios de clasificación, postest LSD. Las diferencias se consideraron significativas si  $p < 0,05$ . Letras diferentes indican diferencias significativas e igual letra entre grupos indica ausencia de diferencias significativas. Resultados: la DMO se vio afectada por la dieta ( $p=0,001$ ) pero no por el consumo de yerba mate: Control 0,9% =  $28,7 \pm 3,9a$ ; Control 0,2% =  $12,9 \pm 2,8c$ ; Yerba 0,9% =  $25,5 \pm 1,5ab$ ; Yerba 0,2% =  $19,6 \pm 2,8bc$ ; mg Ca/cm<sup>2</sup>. El porcentaje de tejido óseo trabecular (BV/TV) fue afectado por la dieta ( $p=0,001$ ), pero no se afectó por el consumo de yerba mate. BV/TV(%): Control 0,9% =  $25,2 \pm 3,7a$ ; Control 0,2% =  $10,7 \pm 1,6c$ ; Yerba 0,9% =  $20,5 \pm 1,5ab$ ; Yerba 0,2% =  $16,3 \pm 2,6bc$ . Esta diferencia fue a expensas del espesor trabecular sin diferencias en el número de trabéculas. El análisis morfométrico cortical no arrojó diferencias significativas en función del consumo de yerba mate. Sin embargo, sí se halló menor área y ancho cortical a expensas de un mayor perímetro perióstico en los grupos que recibieron bajo contenido de Ca en la dieta ( $p < 0,05$ ) en ambos grupos. El ensayo biomecánico de compresión mostró solo diferencia significativa dependiente de la concentración de Ca de la dieta: menor fuerza de fractura, menor fuerza máxima soportada, menor rigidez y menor módulo de Young ( $p < 0,05$ ) en los grupos con bajo contenido de Ca en la dieta, sin diferencias en la energía absorbida, mientras que el ensayo biomecánico de flexión a 3 puntos no mostró diferencias significativas entre los grupos. Se concluye que el efecto negativo de la dieta hipocálcica sobre las variables histomorfométricas y DMO es revertido en parte por la presencia de yerba mate. Tal vez la presencia de polifenoles u otros compuestos orgánicos con efecto favorable sobre el tejido óseo puedan atenuar el efecto negativo de la cafeína.

**CL23. Enfermedad periodontal en ratas hipercolesterolémicas. Estudio morfométrico a corto plazo**  
**Antona ME,<sup>1</sup> Ramos C,<sup>1</sup> Alsina E,<sup>1</sup> Ferreira Monteiro AG,<sup>1</sup> Mandalunis P,<sup>2</sup> Friedman SM,<sup>1</sup> Macri EV<sup>1</sup>**  
*1 Cátedra de Bioquímica. Facultad de Odontología; 2 Cátedra de Histología y Embriología. Universidad de Buenos Aires.*

La periodontitis (P) es una enfermedad infecciosa progresiva causada por el biofilm bacteriano y fundamentalmente por la respuesta inflamatoria del huésped. Estos eventos inflamatorios asociados con la pérdida de inserción del tejido conectivo inducen la reabsorción de porciones coronales de hueso alveolar. En estudios previos encontramos que la hipercolesterolemia, un factor sistémico, induce pérdida ósea en mandíbula de rata. Actualmente se plantea una posible asociación entre la enfermedad periodontal y la enfermedad cardiovascular. Por ello, hipotetizamos que la hipercolesterolemia causada por el consumo excesivo de colesterol podría afectar el tejido de soporte dentario. Objetivo: investigar en ratas hipercolesterolémicas si, a corto plazo, la dislipemia sistémica afecta la pérdida ósea alveolar inducida por P. Materiales y métodos: se utilizaron ratas Wistar adultas (200 g) controles (C) (n=5), alimentadas con dieta *pellets* o hipercolesterolémicas (HC) (n=5). La hipercolesterolemia se generó con dieta aterogénica durante 3 semanas previas al desarrollo de periodontitis. En ambos grupos se indujo P, bajo anestesia, con inserción de una ligadura de hilo alrededor del primer molar de la hemimandíbula derecha (C+L; HC+L). El molar contralateral se usó como control no tratado (C, HC). A los 7 días se eutanizaron. En suero se midió perfil lipídico (mg/dl): colesterol total (col-T), triglicéridos (TG) y colnoHDL. Las hemimandíbulas fueron resecadas para su análisis. Se tomaron radiologías digitales (RVG Kodak 5100) y fueron procesadas para su inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes histológicos orientados mesio-distal y se colorearon con H&E. Sobre microfotografías digitales mediante un software se evaluaron: a) altura del ligamento periodontal (LP,  $\mu$ m) como media de 20 líneas equidistantes trazadas en la cresta alveolar desde el hueso interradicular hasta la pieza dentaria; b) distancia LAC-COA (mm) en el área distal del 1<sup>er</sup> molar desde el límite amelocementario (LAC) a la cresta ósea alveolar (COA). Con las radiovisiografías se efectuaron mediciones lineales del hueso de soporte periodontal (HSP) comprendidas entre la parte más coronal de la cúspide distal, parte superior de COA y ápice de la raíz distal. Las mediciones se expresaron como porcentaje de hueso remanente. Análisis estadístico: T-test y ANOVA + SNK (nivel de significación  $p < 0,05$ ). Resultados: los animales HC mostraron dislipemia combinada con aumento de col-T, col-noHDL y TG ( $p < 0,01$ ). La pérdida de hueso alveolar inducida por P se acentuó en las ratas con dislipemia. LP: HC+L:  $796,5 \pm 49,4 > C+L: 611,9 \pm 63,2 > HC: 219,3 \pm 37,5 = C: 178,7 \pm 16,1 \mu$ m. LAC-COA: HC+L:  $1,05 \pm 0,14 > C+L: 0,80 \pm 0,08 = HC: 0,70 \pm 0,15 > C: 0,52 \pm 0,06$  mm ( $p < 0,001$ ). Para HSP, indicador de de-

fectos intraóseos, los resultados fueron (%): C:  $52,5 \pm 3,0 > \text{HC}: 48,7 \pm 2,8 > \text{HC}+\text{L}: 42,6 \pm 1,5 = \text{C}+\text{L}: 40,6 \pm 3,1\%$  ( $p < 0,001$ ). Conclusión: los resultados sugieren que en la rata adulta, a corto plazo, la hipercolesterolemia provoca una pérdida de soporte dental extra a la agresión causada por la ligadura. Se necesitarán más estudios para dilucidar si la dislipidemia podría considerarse un factor de riesgo para el desarrollo y la progresión de la periodontitis inducida experimentalmente. UBACyT 20020120200098BA.

#### **CL24. Evaluación biomecánica del efecto de alendronato y monofluorofosfato en un modelo de remodelación ósea en fémur de rata**

**Aramburú G, Virga C, Aguzzi A, Hubert S, Rigalli A**

*Cátedra de Farmacología y Terapéutica. Departamento de Patología Oral. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.*

Introducción: varios estudios previos han demostrado que los bifosfonatos, como el alendronato de sodio (AL), son potentes inhibidores de la resorción ósea y aumentan la densidad mineral del hueso. El fluoruro administrado como monofluorofosfato de sodio (MFP) estimula la formación e incrementa el volumen del hueso, efecto específicamente debido por la estimulación de la actividad osteoblástica. Objetivo: estudiar el efecto del tratamiento combinado de alendronato vía subcutánea y de MFP vía oral sobre la regeneración tisular de cavidades óseas neoformadas. Materiales y métodos: se prepararon las fórmulas farmacéuticas con una dosificación de 0,5 mg/kg de peso para AL y de 5 mM para MFP. Sesenta y cuatro ratas macho de la línea Wistar de peso  $160 \pm 20$  g se dividieron en 4 grupos de 16 ratas cada uno. El primer grupo actuó como grupo control (C). Los animales de este grupo recibieron semanalmente 0,3 ml/100 g de peso corporal de solución salina vía subcutánea cercana a la intervención quirúrgica. El segundo grupo (AL) recibió semanalmente 0,5 mg de AL/kg de peso corporal por vía subcutánea profunda en el miembro posterior izquierdo. El tercer grupo (MFP) fue tratado con MFP en el agua de bebida durante el tiempo que duró el experimento y, en las áreas de la cirugía, los animales recibieron inyección subcutánea de solución fisiológica como el grupo control. El cuarto grupo (AL+MFP) recibió tratamiento combinado con AL subcutáneo y MFP por vía oral en el agua de bebida. Estos animales tuvieron acceso a agua corriente de red *ad libitum*. En la cirugía se realizó una incisión longitudinal en ambas tibias y a través del decolado se llegó a exponer el hueso, realizando un defecto circular en la parte plana de cada tibia hasta llegar al hueso medular. Dicho defecto no fue rellenado. Los sacrificios para la toma de muestras fueron a los 15, 30, 60 y 90 días. Se obtuvieron muestras de fémur en tiempos 15, 30, 60 y 90 días, que se incluyeron en solución fisiológica y mantenidos a  $-20$  °C para ser sometidas a ensayos biomecánicos. Los estudios estadísticos se realizaron a través del análisis de la variancia a dos y tres criterios de clasificación (tratamientos, tiempo, tibia problema/tibia contralateral). El nivel de significación fue  $p < 0,01$ . Resultados: en nuestro trabajo, los ensayos biomecánicos determinaron un aumento de la rigidez para AL a los 60 días, así como también para AL y MFP a los 90 días. En cuanto a la combinación de los fármacos, los datos obtenidos no fueron estadísticamente significativos en este parámetro (Bonferroni  $p < 0,01$ ). Tanto los tratamientos con AL, MFP y la combinación de ambos no resultaron estadísticamente significativos cuando se analizaron las variables biomecánicas de fuerza de fractura, energía absorbida y fuerza máxima soportada. Conclusiones: el hecho de que se hayan encontrado diferencias significativas en los ensayos biomecánicos pone de manifiesto la acción sistémica de los fármacos y no localizada. También se puede inferir que estas acciones no fueron deletéreas sino benéficas al aumentar la rigidez.

#### **CL25. Evaluación de la articulación temporomandibular con diagnóstico por imágenes en pacientes con artritis reumatoidea**

**Rhys K,<sup>1</sup> Busamia B,<sup>1</sup> Gobbi C,<sup>2,3</sup> Marchegiani S,<sup>3</sup> Plavnik L, Albiero E,<sup>4</sup> Yorio M<sup>3</sup>**

*1 Cátedra de Fisiología, Odontología, UNC, Córdoba, República Argentina; 2 Cátedra de Medicina II, Hospital Córdoba, UNC, Córdoba; 3 Sanatorio Allende, Córdoba; 4 Unidad de Reumatología Hospital Córdoba, Córdoba.*

Introducción: la artritis reumatoidea es una enfermedad autoinmune que produce alteraciones articulares con manifestaciones dolorosas, por lo que el paciente es ampliamente medicado. Afecta principalmente articulaciones periféricas, en particular manos y pies. En este contexto, los primeros síntomas de patologías relacionadas con la articulación temporomandibular (ATM) quedan enmascarados, razón



por la cual el paciente relata alteraciones cuando la mecánica está francamente afectada. Objetivos: 1) determinar el grado de compromiso de ATM en pacientes asintomáticos con artritis reumatoidea; 2) avanzar en una metodología que permita el diagnóstico precoz de patologías que afectan la ATM en artritis reumatoidea, para disminuir sus efectos deletéreos. Materiales y Métodos: Estudio de corte transversal controlado. Se analizaron 40 pacientes que concurren al Servicio de Reumatología del Sanatorio Allende y del Hospital Córdoba, durante el año 2011, ingresando en forma consecutiva y distribuidos en grupos experimentales, apareados por edad y sexo: Grupo 1- (C) 20 pacientes controles sin AR; Grupo 2- 20 pacientes con diagnóstico de AR por criterios 2010 EULAR/ACR Artritis Reumatoidea (A.R.). Se realizó un examen clínico de la cavidad bucal, con énfasis en la ATM y ecografías *power* de alta resolución de ATM, ortopantomografías y condilografías bilaterales a boca abierta y boca cerrada. Resultados: paciente presentó dolor previo o espontáneo ni acúfenos mantenidos en el tiempo en ambos grupos. De los pacientes con AR, 18 (90%) presentaron derrame articular, de los cuales 3 (15%) mostraron distensión capsular; 12 (60%) revelaron degeneraciones de cabeza de cóndilo inferior; 10 (50%) manifestaron alterada la trayectoria condilar anterior en dinámica y asimetría condilar y 2 (10%) pacientes del grupo control presentaron mínimo derrame articular. Conclusión: un gran porcentaje de pacientes con AR presentan compromiso de ATM, a pesar de no referir síntomas. Estos métodos de diagnóstico por imagen constituyen importantes marcadores orientativos e inocuos y deberían tenerse en cuenta para la prevención y el tratamiento de patologías que afectan la ATM en artritis reumatoidea. Se deberían considerar las ATM en la sumatoria articular en la decisión de modificar terapéuticas farmacológicas.

#### **CL26. Efecto de la yerba mate sobre la médula ósea amarilla y biomecánica de huesos largos en ratas ovariectomizadas**

**Nervegna MT, Lewicki M, Rodríguez J, Bozzini C, Mandalunis PM**

*Cátedra de Histología y Embriología y Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.*

Introducción: es conocida la osteopenia en mujeres posmenopáusicas por déficit de estrógenos y su prevención a nivel mundial basada principalmente en la mejora de hábitos alimentarios y/o fármacos anti-resortivos. Un estudio clínico (Saraví et al., *Bone* 2012) postula un efecto protector del consumo crónico de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) sobre el hueso en mujeres posmenopáusicas. En un trabajo experimental previo realizado en nuestro laboratorio hemos demostrado que los animales ovariectomizados (OVX) que consumieron yerba mate (YM) mostraron una menor pérdida ósea en el hueso subcondral en relación con los animales OVX que solo consumieron agua de bebida (SAIO 2013). Esta diferencia indicaría un efecto protector de la yerba mate sobre la pérdida ósea producida por el déficit de estrógenos, probablemente debido al contenido de polifenoles con capacidad antioxidante. Con la edad y la osteoporosis hay un aumento de la adipogénesis en la médula ósea por diferenciación de células mesenquimáticas a adipocitos a expensas de una disminución en la diferenciación osteoblástica. Existe una relación inversa entre tejido adiposo y tejido óseo, en el cual a mayor cantidad de adipocitos menor cantidad de hueso y por lo tanto mayor riesgo de fractura. Por lo antedicho y continuando con nuestra línea de trabajo, el objetivo del presente estudio ha sido evaluar histomorfométricamente la médula ósea amarilla y la biomecánica en huesos largos de animales OVX que consumieron YM. Materiales y Métodos: se utilizaron 32 ratas Wistar hembras de  $186 \pm 13$  g, divididas en cuatro grupos: Grupo I: Sham+H<sub>2</sub>O, Grupo II: Sham+YM, Grupo III: OVX+H<sub>2</sub>O, y Grupo IV: OVX+YM. A los dos meses, los grupos III y IV fueron OVX y la eutanasia fue practicada dos meses después en todos los grupos (duración de la experiencia: 4 meses). Los grupos II y IV recibieron YM durante los 4 meses de experiencia: 2 meses previos de la OVX o SHAM y 2 meses posteriores. Luego de la eutanasia se extrajeron tibias y fémures. Los fémures fueron utilizados para el análisis biomecánico y las tibias se procesaron histológicamente para la obtención de cortes longitudinales que se colorearon con H&E. Mediante microfotografías digitalizadas se analizó en un área determinada de la médula ósea el siguiente parámetro histomorfométrico: porcentaje de médula ósea adiposa en relación con el área medular total MOA/AMT(%). Mediante el estudio de flexión a tres puntos en un equipo Instron 4442 se evaluaron las propiedades estructurales de la diáfisis femoral: carga de fractura, carga elástica límite y rigidez. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA y test de Bonferroni para comparaciones múltiples, y t de Student para comparar grupos I vs. II y III vs. IV. Resultados: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las propiedades estructurales de la diáfisis femoral. En cuanto al MOA/AMT (%) los resultados obtenidos fueron: Sham+H<sub>2</sub>O:  $17,5 \pm 8,8$ ,

Sham+YM: 16,7±5,9, OVX+H<sub>2</sub>O: 34,7±8,8, OVX+YM: 24,3±4,3. Grupos I y II vs. Grupo III p<0,05 y Grupo III vs. Grupo IV, p<0,05. Conclusiones: en el presente diseño experimental no se encontraron diferencias significativas en las propiedades estructurales del fémur entre los grupos. Histomorfométricamente se ha observado que la YM en animales OVX disminuye la cantidad de médula ósea amarilla probablemente inhibiendo parcialmente la diferenciación de células mesenquimáticas a adipocitos y favoreciendo la osteoblastogénesis; el hallazgo está directamente relacionado con la menor pérdida ósea observada en estos animales, OVX+YM, en relación con los OVX+H<sub>2</sub>O descrito en nuestro estudio previo. UBACyT 20020120100190BA.

#### **CL27. Impacto del fitoestrógeno genisteína sobre células de linaje osteogénico**

**Cepeda SB, Nielsen BE, Laiuppa JA, Sandoval MJ, Massheimer VL**

*Cátedra de Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. CONICET. Universidad Tecnológica Nacional-FRBB.*

Está descrito que la célula mesenquimal pluripotencial es capaz de dar origen a diferentes linajes celulares condicionado por su entorno: osteocito, condrocito, adipocito, muscular lisa vascular (CMLV), entre otras. En particular, las CMLV bajo condiciones de estrés pueden transdiferenciar a osteoblastos (OB) dando origen a las calcificaciones vasculares (CaV). Precisamente son las CaV un ejemplo de interacción ósea-vascular que predomina cuando coexisten disfunciones óseas y vasculares. Los fitoestrógenos (FE) son suplementos dietarios de importante valor nutritivo cuya ingesta se promueve en la menopausia, período en el cual existe una prevalencia aumentada de osteoporosis y enfermedad cardiovascular. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la genisteína (Gen) sobre la diferenciación de células osteoblásticas y la transdiferenciación de células vasculares a linaje osteogénico. Los modelos celulares empleados fueron: a) cultivos primarios de CMLV inducidas a transdiferenciación a línea ósea (CMLV-OB) por incubación en medio de cultivo suplementado de 5 mM β-glicerolfostato+4 mM Ca durante 25 días; b) cultivos primarios de preosteoblastos de calvaria de rata y c) línea celular osteoblástica murina (MC3T3-E1). Como marcadores de diferenciación osteoblástica se determinó la actividad de la fosfatasa alcalina (FAL) y los niveles de Ca por cuantificación espectrofotométrica y por tinción morfológica con rojo de alizarina. En preosteoblastos de calvaria el tratamiento con Gen 10 nM durante 24 horas produjo aumentos significativos en la actividad FAL (38,2±5,4 vs. 18,3±4,1 UI/g prot., Gen vs Control, p<0.001). En la línea celular MC3T3 el tratamiento con Gen 0.1 nM (24 h) estimuló la actividad FAL (187,4±84.9 vs. 81,2±16,5 UI/g prot., Gen vs. Control, p<0,05) y el contenido de calcio en el medio extracelular (593,8±85,7 vs. 396,2±48,5 mg Ca/g prot., Gen vs. Control, p<0.05). Empleando este modelo celular ampliamos el estudio realizando ensayos dosis-respuesta abarcando concentraciones del FE de 0.1 nM a 1 μM. Se observaron aumentos significativos de ambos marcadores en bajas concentraciones respecto del control (FAL: 80% y Ca: 39%, p<0,05), pero no se registraron cambios en altas concentraciones. Las CMLV incubadas en medio rico en Ca y P arrojaron valores de FAL y Ca superiores a las CMLV nativas (cultivadas en medio sin suplemento), FAL: aumento de 13 veces y Ca: aumento de 4 veces, p<0,001. Al estimular CMLV-OB con Gen 10 nM durante 24 horas se registró una significativa disminución de ambos marcadores (FAL: 33% y Ca: 38%, p<0,01) respecto de su control. Estos resultados orientan a pensar en un efecto benéfico del FE dado que favorecería, por un lado, la diferenciación osteoblástica necesaria para la remodelación ósea, aun en concentraciones bajas, y, por el otro, retrasaría uno de los eventos que conducen a la calcificación vascular.

#### **CL28. Enfermedad de Paget y denosumab. Reporte de caso**

**Zanchetta MB, Farias VS**

*Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas (IDIM).*

Introducción: se presenta el caso de una mujer de 85 años con enfermedad de Paget poliostótica tratada con distintos tipos de bifosfonatos durante varios años, quien presentó resistencia a los diferentes tratamientos recibidos, persistiendo con enfermedad activa, motivo por el cual se decide iniciar un tratamiento antirresortivo alternativo con denosumab. Descripción del caso: mujer de 85 años, que consulta en el año 1995, por enfermedad de Paget poliostótica de 20 años de evolución. Al momento de la consulta manifestaba coxalgia derecha y refería solo haber recibido tratamiento con calcitonina nasal durante el año 1993, sin respuesta a ella. Aportaba como estudios previos un centellograma óseo com-



patible con enfermedad de Paget activa en región coxal derecha y columna vertebral a nivel de D10, L3 y L5. Presentaba a nivel radiográfico enfermedad activa en región ilíaca derecha, columna (D10, L2, L5 y sacro) y cráneo, y un laboratorio basal con una FAL total 450 UI/l (valor normal: 90-280) y fracción ósea (FAo): 87%; el resto del laboratorio, dentro de parámetros normales. Debido a que presentaba enfermedad activa, se decide iniciar tratamiento con pamidronato. Recibe en el año 1995 180 miligramos (mg) por vía intravenosa (iv), con buena respuesta y descenso de la FAL (valor posinfusión: 127 UI/l y Faio: 62%). Posteriormente recibió nuevas infusiones en los años 1998, 1999 y 2001; luego de esta última aplicación persistió con FAL elevada (FAL total 647 UI/l) y dolor óseo a nivel de hombro derecho. Abandona el seguimiento durante 10 años y consulta nuevamente en el año 2011. Refiere haber recibido una dosis de 5 mg de ácido zoledrónico iv, en marzo de ese año, con mala tolerancia. Se realiza tomografía computarizada y resonancia magnética que evidencia aplastamiento en columna dorsal a nivel de D10 y lesiones compatibles con enfermedad de Paget activa en hemipelvis y cabeza de fémur derecha. La densidad mineral ósea medida por absorciometría dual de rayos X (DXA) presenta valores no evaluables en columna lumbar por artrosis y normales en cuello femoral, y en cuanto a los marcadores de recambio óseo, presentaba una FAL total y ósea elevada (570 UI/l y 66%, respectivamente). Dado que continuaba con enfermedad activa se indica ibandronato 3 mg por vía iv. Recibe una primera dosis en octubre de 2011 y luego una nueva infusión en febrero de 2012 con escasa respuesta al tratamiento, pero persistió con FAL elevada (FAL total: 506 UI/l, Faio: 63%) y dolor óseo en cadera. Ante la falta de respuesta en el último tiempo a distintos esquemas de tratamiento, y dado que la paciente persistía con enfermedad activa, evidenciada tanto a nivel clínico como bioquímico, se decide iniciar un tratamiento antirresortivo alternativo con denosumab 60 mg subcutáneo semestral. Recibió la primera dosis en octubre de ese año, con buena tolerancia a la medicación; refirió mejoría del dolor óseo y presentó una reducción de la FAL total de casi un 40% (FAL total: 506/331UI/l-FAo: 63% y 48%, preinfusión y posinfusión respectivamente). Recibió una segunda aplicación en abril de 2013. En el último control del mes de julio de 2013 se encontraba clínicamente asintomática, con ausencia de dolor óseo y persistencia de los valores bajos de FAL (FAL total sérica de 294 UI/l y FAo: 42,6 µg/l (valor normal hasta 21,3 µg/l). Conclusión: en este caso, con evidencia de falta de respuesta clínica y bioquímica al tratamiento antirresortivo de primera línea indicado para la enfermedad de Paget, el tratamiento con denosumab fue una alternativa útil para mejorar la calidad de vida de la paciente, quien posteriormente presentó descenso de FAL y ausencia de dolor óseo. Serán necesarios nuevos estudios para evaluar la eficacia y seguridad de este nuevo fármaco en este tipo de patología.

#### **CL29. Cambios morfológicos y funcionales en incisivo de ratas producidos por la exposición crónica a fluoruro**

**Fontanetti PA, Interlandi V, Bojanich A, Ponce RH, Gallará RV, Centeno VA**

*Cátedra "A" de Química Biológica, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.*

La ingesta excesiva de fluoruro (F-) durante el proceso de formación del diente causa fluorosis dental, la cual se caracteriza por una alteración en la mineralización. Aunque se conocen los efectos adversos del F- sobre la formación del tejido dental, no es claro aún el mecanismo molecular que subyace en la fluorosis. Se demostró que las proteínas de comunicación intercelular, entre ellas las conexas (Cx), cumplen un papel esencial durante la dentinogénesis por la influencia que ejercen sobre el crecimiento y diferenciación de las células del tejido dental y la deposición mineral. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la exposición crónica a F- sobre la expresión de Cx en pulpa dental y los parámetros de crecimiento y desarrollo de mandíbula e incisivos de rata. Para ello se utilizaron ratas macho Wistar de 22 días, las cuales se dividieron en tres grupos experimentales que bebieron agua con NaF durante ocho semanas: a) 0,3 mg/l (Control), b) 10 mg/l y c) 50 mg/l. Al finalizar el tratamiento, se extrajeron sus mandíbulas para procesamiento histológico y el incisivo para obtención del tejido pulpar. En homogeneizado de pulpa se determinó la expresión génica de Cx32, Cx43 y Cx45 mediante RT-PCR y la actividad de fosfatasa alcalina (FA). En radiografías de mandíbula completa se determinaron parámetros morfométricos. Mediante análisis de imágenes (Image Pro Plus 6.1) se analizó el número de odontoblastos/área y el ancho de predentina. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y test de Bonferroni. La expresión de Cx43 se incrementó con la ingesta de NaF de manera dosis-dependiente. La expresión de Cx32 fue mayor solo en el grupo expuesto a 10 mg/L de NaF y la de Cx45 fue menor en los de 10 y 50 mg/l de NaF comparados con el control. La

actividad de FA fue mayor en los grupos expuestos a concentraciones altas de NaF en relación con el control ( $p < 0,05$ ). El diámetro de incisivos fue menor en 50 mg/l de NaF comparado con el control ( $p < 0,01$ ). El tratamiento con NaF no afectó los parámetros de crecimiento mandibular ni tampoco modificó el número de odontoblastos. En conclusión, las alteraciones fluoróticas en el incisivo de rata se asociaron con la expresión diferencial de conexinas y de la actividad de FA del tejido pulpar, sin afectar el número de odontoblastos. Es posible que el efecto desencadenado por el F- sobre el tejido pulpar tenga un resultado estimulante sobre la mineralización de la dentina. Este trabajo fue subsidiado por SECYT-UNC y CICYT-UNLaR.

### **CL30. Estudio radiográfico de la asociación de aceite de oliva y bifosfonatos en la remodelación ósea periimplantaria**

**Escudero C, Virga C, Aguzzi A, Ricco V**

*Cátedra de Farmacología. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.*

**Introducción:** varios estudios previos han demostrado que los bifosfonatos son potentes inhibidores de la resorción ósea y aumentan la densidad mineral del hueso. El aceite de oliva (O) es rico en ácidos grasos monoinsaturados relacionados con potentes propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. **Objetivo:** estudiar el efecto del tratamiento combinado de alendronato (AL) y pamidronato (PA) por vía subcutánea y de O vía oral sobre la regeneración tisular de cavidades óseas neoformadas. **Materiales y métodos:** Se prepararon las fórmulas farmacéuticas con una dosificación de 0,5 mg/kg de peso para AL, y de 0,6 mg/kg de peso para PA. El O se administró junto con la dieta, 50 g/kg de comida. Cincuenta y cuatro ratas macho de la línea Wistar de peso  $160 \pm 20$  g se dividieron en 6 grupos. Grupo control (C): los animales de este grupo recibieron semanalmente 0,3 ml/100 g de peso corporal de solución salina vía subcutánea cercana a la intervención quirúrgica. Grupo (AL): recibió semanalmente 0,5 mg de AL/kg de peso corporal por vía subcutánea. Grupo (PA): recibió de igual manera que el grupo anterior. Grupo (O): fue tratado con aceite de oliva en la alimentación durante el tiempo que duró el experimento y, en las áreas de la cirugía, los animales recibieron inyección subcutánea de solución fisiológica. Grupo (ALO): recibió tratamiento combinado con AL subcutáneo y O por vía oral. Grupo (PAO): recibió de igual manera. Se realizó una incisión longitudinal en ambas tibias produciendo un defecto circular en la parte plana de cada hueso hasta llegar a la médula. Se tomaron radiografías de cada muestra a 0, 7, 15, 30, 60 y 90 días y fueron analizadas con el software Image Pro Plus 4.1. Los estudios estadísticos se realizaron a través del análisis de la variancia a dos y tres criterios de clasificación (tratamientos, tiempo, tibia problema/tibia contralateral). **Resultados:** los estudios radiográficos demostraron un incremento en la densidad mineral ósea promedio (DMO) conforme avanza el tiempo de todos los grupos problema con respecto al control; fueron más evidentes los tratamientos con PA a los 60 días. No hubo diferencias entre las tibias problema y contralateral. El tratamiento O evidenció eficacia terapéutica en la remodelación ósea, aun siendo administrado por vía sistémica en la dieta: se observó un pico máximo a los 60 días de tratamiento. **Conclusiones:** esto sugiere que O representa una opción terapéutica prometedora para la prevención y/o tratamiento de las patologías óseas.

### **CL31. Altas dosis de ergocalciferol en pacientes en hemodiálisis: un ensayo piloto**

**Del Valle EE, Negri AL, Fradinger E, Canalis M, Bevione P, Crucelegui S, Puddu M, Marini A, Ryba J, Rosa Diez G, Sintado L, Zanchetta JR**

*Fresenius Medical Care Argentina y el Instituto de Investigaciones Metabólicas. Buenos Aires, República Argentina.*

**Introducción:** la insuficiencia/deficiencia de vitamina D es un problema frecuente en los pacientes en diálisis. Los bajos niveles de 25(OH)vitamina D (25OHD) se asocian a un aumento en la tasa de mortalidad por lo que la suplementación podría ser importante. Existen pocos datos acerca de cuál es el tipo de vitamina D ( $D_2$  o  $D_3$ ) y qué esquema de dosificación logra alcanzar niveles adecuados de 25OHD y mantenerlos en forma segura. **Objetivos:** determinar si altas dosis iniciales de vitamina  $D_2$  son útiles para obtener niveles óptimos de 25OHD en hemodiálisis sin inducir hipercalcemia. **Materiales y métodos:** estudio abierto controlado. Ochenta y dos pacientes en hemodiálisis



que no estaban recibiendo terapia con vitamina D activa fueron suplementados con vitamina D<sub>2</sub> oral 72.000 UI por semana durante 12 semanas seguido de 24.000 UI por semana como terapia de mantenimiento durante 36 semanas. Resultados: hacia la semana 12 los niveles séricos de 25OHD se habían incrementado en forma significativa: basal (media±SD) 15,2±5,4 a 42,5±13,2 ng/ml (p<0,01) y luego permanecieron en valores de suficiencia (34,7±12,0 ng/ml). La PTHi basal fue de 360±143 pg/ml y a las 48 semanas los valores no habían variado significativamente (362±193 pg/ml; p=0,16) lo mismo que la fosfatasa alcalina (286±163; p=0,08). Si observamos una disminución significativa en la fosfatasa alcalina ósea de 54,3±46,0 a 44,3±25,0 (p=0,02). Al inicio el Ca sérico no corregido fue de 9,03±0,42 pero se incrementó en forma significativa al finalizar el período de seguimiento (9,14±0,62; p=0,04). Se presentó hipercalcemia en la primera visita de control (semana 12) en 2 pacientes, en 1 paciente en el segundo control (semana 30) y en 1 paciente en el tercer control (semana 48). En 222 determinaciones de calcio sérico obtenidas durante el seguimiento se observó hipercalcemia en solo 1,8% de los casos. El fósforo sérico permaneció sin cambios (basal 4,9±1,2 y 4,7±1,1 durante el seguimiento). En 47 pacientes pudimos determinar los niveles séricos de 1,25(OH)<sub>2</sub>vitamina D: el nivel basal era de 3,1±4,84 pg/ml (en 32 pacientes los niveles eran indetectables); a la semana 48 se habían incrementado a 15,9±8,3 pg/ml (indetectable solo en 3 pacientes). Diez pacientes mostraron niveles de 1,25(OH)<sub>2</sub>vitamina D ≥20 pg/ml y en 2 de ellos los niveles fueron superiores a 30 pg/ml. Conclusiones: este régimen oral con altas dosis iniciales de vitamina D<sub>2</sub> fue seguro y suficiente para obtener y mantener concentraciones séricas óptimas de 25(OH)D en pacientes con IRC en hemodiálisis.

### **CL32. Alendronato y AGEs modulan el destino fenotípico de células progenitoras de médula ósea de rata**

**Chuguransky SR, Cortizo AM, McCarthy AD**

*Laboratorio de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (LIOMM), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. República Argentina.*

La diabetes mellitus se asocia con alteraciones óseas y mayor riesgo de fracturas. Previamente demostramos que la diabetes inhibe el potencial osteogénico de células progenitoras de médula ósea (CPMO). Este efecto podría ser mediado por la acumulación de productos de glicación avanzada (AGEs). Los bifosfonatos, análogos estables del PPI que ejercen efectos directos sobre osteoclastos y osteoblastos, podrían prevenir los efectos deletéreos de los AGEs. En este trabajo se estudió el efecto directo de los AGEs y el alendronato (AL) sobre la capacidad osteogénica, adipogénica y condrogénica de CPMO obtenidas a partir del fémur de ratas Wistar, por lavado del canal diafisario. Las CPMO confluentes fueron incubadas en medios de diferenciación apropiados por 15 y 21 días, en presencia o ausencia de AGEs (200 mg/ml) y/o AL (10<sup>-8</sup> M). Se evaluó la diferenciación osteoblástica a través de la actividad de la fosfatasa alcalina (FAL), la producción de colágeno de tipo 1 (Col-1) y la acumulación de nódulos de mineral extracelular (Min). Mediante Western blot se evaluó la activación del factor de transcripción osteogénico Runx2. La diferenciación condrogénica se evaluó mediante la producción de glucosaminoglucanos (GAG). La diferenciación adipogénica se estimó mediante la acumulación intracelular de triglicéridos. Para evaluar posibles mecanismos de acción de los AGEs y/o AL, se determinó la generación de especies reactivas de oxígeno intracelulares (ROS) mediante la técnica de Rodamina 123. Las CPMO diferenciadas en presencia de AGEs mostraron una menor capacidad osteogénica y condrogénica que las CPMO sin AGEs (FAL 70%; Col-1 60%; Min 60%; Runx2 77%; GAG 60%, en todos los casos respecto del control) y una mayor inducción adipogénica (triglicéridos 170% del control), así como un incremento en los niveles de ROS (147% de control). Por otro lado, el AL por sí solo estimuló la FAL (200% del control) y Col-1 (300% del control), sin modificar los niveles de ROS. Adicionalmente, el AL fue capaz de prevenir completamente los efectos antiosteogénico, anticondrogénico y proadipogénico de los AGEs (FAL 150% del control; Col-1 150% del control, Min 95% del control, Runx2 200% del control, GAG 115% del control, triglicéridos 80% del control) así como su inducción de estrés oxidativo intracelular (ROS 70% del control). En conclusión: los AGEs incrementan el estrés oxidativo intracelular de las CPMO generando un estado antiosteogénico, anticondrogénico y proadipocítico. Todos estos efectos pueden ser prevenidos completamente por coincubación con alendronato, probablemente por disminución de los niveles de ROS intracelulares.

**CL33. Evaluación radiográfica de mandíbulas y tibias de ratones NOD con síndrome de Sjögren**

**Busamia B,<sup>1</sup> Gobbi C,<sup>2,3</sup> Rivero V,<sup>4</sup> Mariani M,<sup>1</sup> Fontana S,<sup>1</sup> Plavnik L,<sup>1</sup> Diomedei M,<sup>5</sup> Albiero E,<sup>3</sup> Yorio M<sup>3</sup>**  
 1 Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología. UNC; 2 Cátedra de Medicina II, Hospital Córdoba. UNC; 3 Unidad de Reumatología, Cátedra de Medicina I-II, Hospital Córdoba. UNC; 4 Facultad de Ciencias Químicas. UNC; 5 Servicio de Radiología. Sanatorio Allende.

Introducción: el modelo de ratones NOD, para desarrollar diabetes experimental, produce concomitantemente una alteración en las glándulas submandibulares y lagrimales. Histopatológicamente se desarrolla una afección equivalente al síndrome de Sjögren (SS) humano. Hasta este momento no se han encontrado datos en la bibliografía sobre afecciones óseas en SS. Objetivo: comparar los cambios radiográficos mandibulares y tibiales en ratones no obesos diabéticos con SS (NOD-SS) en relación con controles NOD sin SS (NOD). Materiales y métodos: se utilizaron ratones hembras NOD con SS y controles NOD cuidados en condiciones de laboratorio específicas libre de patógenos en el bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNC. A los 4 meses de edad (peso 80±10 g), los animales fueron sacrificados y se extrajeron ambas tibias y mandíbula. Se tomaron radiografías con un Equipo Digital Directo Mammomat Inspiration SiemensR. Se midieron 4 zonas (trabecular y cortical en epífisis y diáfisis) correspondientes a las tibias, en tanto que en los maxilares se analizaron dos zonas (trabecular y cortical) en el tabique interradicular del primer molar. Se realizó un estudio comparativo de cada zona por diferencia de radiopacidad con programa de análisis de imágenes Radiant DICOM. Los datos obtenidos fueron analizados a estadística mediante ANOVA. Resultados: se observaron disminuciones significativas en los valores en epífisis cortical ( $p<0,002$ ), diáfisis cortical ( $p<0,000$ ) y trabecular ( $p=0,001$ ), mientras que en epífisis trabecular de tibia y en ambas zonas mandibulares no se encontraron diferencias significativas. Conclusión: estos resultados demuestran que hay afección ósea tibial en ratones NOD con SS. Es necesario desarrollar correlación densitométrica y profundizar el estudio de estos hallazgos.

**CL34. La estructura peronea humana es poco sensible al desuso compresivo por paraplejía o por reposo prolongado en cama. Estudio tomográfico con connotaciones prácticas**

**Cointry G, Ireland A, Nocciolino L, Ferretti J, Rittweger J, Capozza R**

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFOC), UNR, Rosario; Manchester Metropolitan University, UK; German Aerospace Agency (DLR), Colonia, Alemania.

La tibia humana, que soporta más del 80% de la carga compresiva estática o dinámica del peso del cuerpo, es muy sensible al desuso, que puede reducir su CMO hasta en un 60%, dependiendo del sitio y del modo de deformación usual del hueso. En cambio, la contribución relativa del peroné a ese soporte oscila entre -6% (sobrecarga) y +19% (descarga), especialmente en situaciones de flexión plantar o de eversión del pie, y en proporción geométrica con la carga compresiva. Curiosamente, están muy poco estudiadas tanto las variaciones arquitectónicas seccionales del peroné en distintas circunstancias, como su reacción al desuso. Para investigar más profundamente este comportamiento mecánico-estructural peroneo, efectuamos *scans* seriados de pQCT tomados cada 5% de la longitud tibial del tobillo a la rodilla (18 *scans*/caso), según dos modelos experimentales diferentes: 1) en 9 hombres de 39,2±6,2 años, parapléjicos por lesión espinal producida 9-32 años antes, vs. 9 controles sanos apareados por edad, altura y peso, y 2) en 25 hombres voluntarios sanos de 33,7±3,7 años, inmediatamente antes y 14 días después de sobrellevar 90 días de reposo controlado en cama en decúbito dorsal, con inclinación de 6° cabeza-abajo. En los controles, la geometría seccional peronea mostró variaciones longitudinales sugestivas de una adaptación a la flexión lateral (no a la compresión), con características morfológicamente distintas para las secciones proximales y distales. En los pacientes parapléjicos, el CMO total de las secciones tibiales cayó drásticamente (entre 22 y 51%), con fuerte interacción grupo/sitio (efectos metafisarios mayores que los diafisarios; ANOVA, siempre  $p<0,001$ ). Los peronés, en cambio, no mostraron diferencias de grupo, ni interacciones grupo/sitio, respecto del área ósea, el CMO total o cortical, la DMO volumétrica (DMOV) cortical, los perímetros perióstico y endocortical, ni el espesor cortical (siempre  $p>0,16$ ). En las tibias de los voluntarios posreposo en cama, el CMO cortical y trabecular cayó entre 0,9 y 4,4% (siempre  $p<0,01$ ); pero en los peronés, el CMO cortical se mantuvo; la DMOV trabecular bajó relativamente poco (en promedio, un 1,4%) y solo lo hizo significativamente en la epífisis distal ( $p=0,04$ ). Este estudio evidencia, en forma totalmente original, que la diáfisis del peroné estaría naturalmente adaptada para reaccionar al estrés inducido circunstancialmente por la





musculatura flexora externa y rotadora del pie, que se inserta en las caras laterales del hueso, antes que para resistir permanentemente en compresión (como la tibia), situación que solo se daría cuando el pie adopte posiciones extremas. Esto explicaría su alta resistencia al desuso compresivo, en comparación con la alta sensibilidad de la tibia a esa misma situación. Si se confirmara tal diferencia, este estudio estaría aportando una evidencia primaria, totalmente original, a favor del uso del peroné humano como un modelo experimental especialmente apto para analizar tomográficamente los efectos óseos del entorno metabólico, por eludir naturalmente gran parte de la interacción del entorno mecánico del esqueleto con la modelación adaptativa de su arquitectura seccional. Obviamente, esta ventaja metodológica no podría alcanzarse empleando modelos analíticos no invasivos de la estructura de otros huesos portantes, o aun de los huesos largos no portantes de los miembros superiores, que responden sensiblemente al estrés inducido por las contracciones musculares regionales. Esta favorable condición biomecánica inédita del peroné podría permitir, quizá por primera vez, desarrollar ensayos controlados de efectos óseos “metabólicos puros” de medicamentos de interés clínico.

### **CL35. Identificación de factores que influyen en la acción del zoledronato sobre el hueso de ratas en crecimiento**

**Lupión P, Brun LR, Armendariz M, Moreno HS, Di Loreto VE**

*Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.*

Los bifosfonatos (BF) son fármacos antirresortivos que se utilizan ampliamente para tratar la osteoporosis en adultos y son usados cada vez con mayor frecuencia en diversas patologías óseas en niños y adolescentes. Existe todavía poco consenso en cuanto al tipo de BF, dosis, forma de administración más adecuada y duración del tratamiento en niños y adolescentes. El zoledronato (Z) es el BF con mayor potencia antirresortiva pero su utilización pediátrica es tema de inquietud ya que los estudios con este fármaco son insuficientes con respecto a su eficacia y seguridad. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia significativa de distintos factores y sus interacciones en la acción del Z sobre las características estructurales y las propiedades mecánicas de huesos de ratas en crecimiento. Para esto se utilizó un diseño factorial que permite estudiar la influencia de varios factores simultáneamente. Los factores por estudiar y sus niveles fueron: dosis de Z (D: 0-2,5-12,5-25  $\mu\text{g Z/kg}$  de peso corporal/semana vía subcutánea), tiempo de tratamiento (T: 15 y 30 días) y sexo (S: macho y hembra). Se aplicó un diseño factorial completo  $4 \times 2 \times 2$  y se utilizaron 16 ratas Sprague-Dawley de 21 días, las cuales fueron asignadas a una combinación distinta de niveles de cada factor. Al finalizar el experimento, se realizó la eutanasia de los animales. Se extrajeron los fémures, se les midió su longitud (L) y se determinaron parámetros estructurales del hueso cortical en imágenes digitales de secciones de 2 mm de espesor: área transversal (AT) y área cortical (AC). Además, se midieron las propiedades mecánicas de la diáfisis, por test de flexión a 3 puntos y de la metáfisis distal femoral, por test de compresión. En ambos casos se evaluaron: fuerza máxima soportada en flexión (FMf) y compresión (FMc), fuerza de fractura (FFf y FFc) y energía absorbida (Eaf y EAc). Todas las variables descriptas fueron utilizadas como variables-respuesta y se midieron en ambos fémures. Los parámetros estadísticos obtenidos con el t-test de ANOVA y los valores de p fueron utilizados para evaluar los factores e interacciones que resultaron significativos, asumiendo  $p < 0,05$ . Se utilizaron modelos lineales de ajuste. Los resultados muestran que, como era de esperar, T influyó significativamente en L y AT ( $T_{30} > T_{15}$ ,  $p < 0,05$ ), al igual que S (machos > hembras,  $p < 0,05$ ). La D también influyó significativamente en ambas variables ( $p < 0,05$ ), pero se observó interacción entre D y T ( $D_0 > D_{2,5} > D_{12,5} > D_{25}$  a  $T_{30}$ ,  $p < 0,05$ ), es decir, que los huesos crecen en largo y en ancho, pero crecen menos a medida que aumenta la dosis de Z. Para el AC solo fueron significativos T y S pero se encontró interacción D-T (menor AC a  $T_{30}$  con  $D_{12,5}$  y  $D_{25}$ ). Respecto de los parámetros biomecánicos evaluados, el T resultó significativo para FMf y FFf ( $T_{30} > T_{15}$ ,  $p < 0,05$ ), es decir que el hueso a medida que crece soporta mayores cargas independientemente de las dosis de Z utilizadas, mientras que la Eaf resultó incrementada significativamente por T y sí fue dependiente de D ( $p < 0,05$ ) aumentando con ella, con excepción de  $D_{25}$  que influyó negativamente en Eaf. En el test de compresión, la FMc y FFc fueron influidas significativamente por los tres factores estudiados. Estos hallazgos preliminares muestran que el Z no influiría de manera negativa sobre las propiedades mecánicas y estructurales del hueso en crecimiento al menos en las dosis bajas. Sin embargo, exponen la necesidad de profundizar los estudios con las dosis más altas y así avanzar en el conocimiento de los efectos de esta droga cuando se utiliza durante el crecimiento.

**CL36. Efecto de la exposición prenatal y posnatal a fluoruro sobre indicadores de fluorosis en crías de ratas****Interlandi V,<sup>1</sup> Fontanetti P,<sup>1</sup> Ponce RH,<sup>1</sup> Tirao G,<sup>2</sup> Rigalli A,<sup>3</sup> Gallará R,<sup>1</sup> Centeno V<sup>1</sup>***1 Cátedra "A" de Química Biológica. Facultad de Odontología. UNC. 2 LAMARX, Facultad de Matemática, Astronomía y Física. UNC. 3 Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Medicina. UNR.*

Existe controversia sobre el pasaje maternofetal del fluoruro (F<sup>-</sup>). El presente estudio fue diseñado para explorar diferentes aspectos del metabolismo del F<sup>-</sup> durante el periodo de gestación y lactancia y establecer comparaciones entre los efectos provocados por la ingesta elevada del ión entre la madre y las crías. El objetivo específico fue estudiar la acumulación de F<sup>-</sup> en huesos y dientes y su relación con parámetros morfométricos de crecimiento y desarrollo en crías de madres expuestas a niveles elevados de NaF en el agua de bebida durante la gestación y la lactancia. Para ello se emplearon crías de 10, 15 y 21 días de vida posnatal, provenientes de 2 grupos de madres: a) controles (0,3 mg/l NaF); b) tratadas (50 mg/l NaF). El tratamiento se realizó durante el período de gestación y lactancia. Todos los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Se extrajeron el maxilar superior e inferior y las tibias de crías y madres para la determinación del contenido de F<sup>-</sup> expresado en µg/g ceniza. En imágenes digitalizadas de RX se analizaron los siguientes parámetros: diámetro (mm) de los incisivos, altura y longitud mandibular y longitud y distancia mínima de la tibia (Image Pro Plus 6.1). Los resultados se expresaron como la media ± ES y fueron analizados mediante t de Student. Los incisivos superiores de las madres expuestas a 50 mg/l de NaF presentaron el típico patrón fluorótico y el contenido de F<sup>-</sup> acumulado fue significativamente mayor en las mandíbulas (p <0,05), incisivo (p <0,01) y tibia (p <0,05) con respecto a lo observado en el grupo control. En crías de 10 y 15 días nacidas de madres tratadas, el contenido de F<sup>-</sup> en mandíbulas no fue diferente respecto de las del grupo control. Sin embargo en crías de 21 días de edad el F<sup>-</sup> acumulado fue mayor (Tratadas: 121,8±21,9 vs. Control: 43,7±15,21, n=6 por grupo; p<0,05). No se observaron diferencias en el contenido de F<sup>-</sup>, ni en los parámetros de crecimiento óseo en las tibias de las crías de ninguno de los grupos y edades estudiados. El diámetro del incisivo inferior fue menor en las crías de 21 días de madres expuestas a 50 mg/L NaF respecto de sus controles (Tratadas: 1,06 ± 0,01 vs. Control: 1,32 ± 0,06, n=6 por grupo; p <0,01). Los resultados obtenidos con este modelo experimental indican que la acumulación de F<sup>-</sup> en los tejidos calcificados de las crías es menor que en los tejidos maternos. El pasaje del F<sup>-</sup> desde la madre a las crías podría ocurrir a través de la leche durante el periodo de lactancia. Mayores estudios contribuirían a dilucidar el mecanismo de tal proceso. Este trabajo fue subsidiado por SECyT-UNC y CICYT-UNLaR.

**CL37. Evaluación de la densidad mineral ósea en niños con enfermedad de Gaucher****Larroude MS, Cassinelli HR, Drelichman D, Richard L. Grupo Argentino para el estudio de la enfermedad de Gaucher***Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez.*

La afectación de la mineralización ósea es un signo relevante descripto en los pacientes que sufren de enfermedad de Gaucher (EG). Para evaluar el efecto a largo plazo de la terapia de reemplazo enzimática, sobre la densidad mineral ósea, se realizó un estudio retrospectivo en 34 pacientes pediátricos con EG (14 varones y 20 mujeres, edad promedio de 11,3 años). Se determinó la densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar (CL) (L2-L4, N: 34) y en esqueleto total (ET) (N: 24) por el método DXA (GE Lunar). Los resultados se expresaron en Z-score. De acuerdo con la clasificación de la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica, se consideró patológico un Z-score menor de <2,0. Los resultados se expresan en X±SD. Los pacientes recibieron infusiones de imiglucerasa (57,7±17,4 IU/kg), durante un período de 7,7±4,5 años. Los pacientes fueron divididos en dos grupos: prepuberales (G1) y puberales (G2), tanto varones (G1V-G2V) como mujeres (G1M-G2M). Resultados: la DMO media fue normal en todo el grupo de pacientes: -0,26±1,4 y 0,11±1,3 en CL y ET, respectivamente. Solo dos pacientes tenían una DMO en CL menor de -2,0 DS, pero ninguno en la DMO de ET. La DMO fue en G1V: CL -0,6±1,28; G2V: -0,15±1,4, ET 0,07±1,4 y 0,58±1,2, y G1M: CL: -0,23±1,4, G2M -0,56±1,9; ET G1M -0,08±0,9, G2M 0,05±1,9, respectivamente. Conclusiones: los pacientes con EG tienen una DMO normal durante la terapia con imiglucerasa. Parecería que los pacientes puberales están mejor que los prepuberales, lo que refleja la acción de los esteroides sexuales sobre el hueso. Se necesita un estudio longitudinal para confirmar esto.



### **CL38. Análisis histomorfométrico de la asociación de aceite de oliva y bifosfonatos en la remodelación ósea periimplantaria**

**Escudero C, Virga C, Aguzzi A, Ricco V**

*Cátedra de Farmacología y Terapéutica. Departamento de Patología Oral. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.*

Introducción: algunos estudios previos han demostrado que los bifosfonatos son potentes inhibidores de la resorción ósea y aumentan la densidad mineral del hueso. El aceite de oliva (O) es rico en ácidos grasos monoinsaturados relacionados con potentes propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Objetivo: Estudiar el efecto del tratamiento combinado de alendronato (AL) y pamidronato (PA) por vía subcutánea y de O vía oral sobre la regeneración tisular de cavidades óseas neoformadas. Materiales y métodos: se prepararon las fórmulas farmacéuticas con una dosificación de 0,5 mg/kg de peso para AL y de 0,6 mg/kg de peso para PA. El O se administró junto con la dieta, 50 g/kg de comida. Cincuenta y cuatro ratas macho de la línea Wistar de peso  $160 \pm 20$  g se dividieron en 6 grupos. Grupo control (C): los animales recibieron semanalmente 0,3 ml/100 g de peso corporal de solución salina vía subcutánea cercana a la intervención quirúrgica. Grupo (AL): recibió semanalmente 0,5 mg de AL/kg de peso corporal por vía subcutánea. Grupo (PA): recibió de igual manera que el grupo anterior. Grupo (O): fue tratado con aceite de oliva en la alimentación durante el tiempo que duró el experimento y, en las áreas de la cirugía, los animales recibieron inyección subcutánea de solución fisiológica. Grupo (ALO): recibió tratamiento combinado con AL subcutáneo y O por vía oral. Grupo (PAO): recibió de igual manera. Se realizó una incisión longitudinal en ambas tibias produciendo un defecto circular en la parte plana de cada hueso hasta llegar a la médula. Los estudios histopatológicos se realizaron previa descalcificación de las tibias con EDTA y su inclusión en parafina. Los cortes fueron teñidos con H&E y observados con microscopía óptica (MO). Los tiempos experimentales fueron 0, 7, 15, 30, 60 y 90 días. Los estudios estadísticos se realizaron a través del análisis de la variancia a dos y tres criterios de clasificación (tratamientos, tiempo, tibia problema/tibia contralateral). Resultados: en cuanto a la densidad trabecular se observa un incremento de tejido óseo en todos los grupos, en especial en las últimas etapas (60 y 90 días), aunque O registró valores por encima del resto, pero estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Se observó mayor dispersión en los tamaños de lagunas osteocíticas en las primeras etapas. Las dimensiones no variaron significativamente entre etapas. Conclusiones: sobre la base de esta investigación se considera al O de acción dual capaz de influir en el remodelado óseo reequilibrándolo hacia la formación de hueso, actúa a nivel de todos y cada uno de los determinantes de la resistencia ósea, mejorando cualitativamente la estructura del hueso trabecular y cortical y preservando la mineralización, el tamaño y la estructura de los cristales minerales incluso en dosis elevadas. De esta manera, el O mejora significativamente las propiedades biomecánicas del hueso. Palabras clave: alendronato, pamidronato, aceite de oliva, remodelación ósea.

### **CL39. Preparación de leche con alto contenido de calcio, bajo contenido de lactosa y bajo costo** **Fina BL, Brun LR, Rigalli A**

*Laboratorio de Biología Ósea. Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.*

Los lácteos son la principal fuente de calcio (Ca); sin embargo, en la Argentina existe entre un 10-35% de ingesta insuficiente. El alto costo y la pérdida del hábito de consumo de leche por problemas gastrointestinales como la intolerancia a la lactosa contribuyen al bajo consumo de Ca. Esto afecta negativamente el tejido óseo incrementando el riesgo de osteoporosis y fracturas. Ciertos productos comerciales como el yogourt se relacionan con menores alteraciones gastrointestinales pero su costo es elevado. La utilización doméstica de microorganismos con fines de producir leches fermentadas no es habitual pero su implementación resulta sencilla, de bajo costo y sin problemas de contaminación. La falta de directivas precisas con fundamento científico colabora para que esta práctica no se realice. El kefir es un conjunto de microorganismos que fermentan la lactosa, de fácil obtención y mantenimiento. Por otro lado, la cáscara de huevo es una fuente natural de Ca que se desecha. Este trabajo propone desarrollar una bebida láctea tratada con kefir, de bajo contenido en lactosa, enriquecida en Ca a partir de cáscara de huevo y de preparación doméstica. Se midieron durante 1185 min pH, lactosa y Ca de la leche en diferentes situaciones: a) leche sin tratamiento (L), b) leche adicionada con 200 mg de cáscara de huevo molida (LCa), c) leche adicionada con 2,5 ml de gránulos de kefir (LK) y d) leche adicionada con 200 mg de cáscara

de huevo molida y 2,5 ml de gránulos de kefir (LCaK). Posteriormente se preparó el lácteo de acuerdo con el experimento anterior (LCaK) pero utilizando elementos hallados a nivel doméstico y se extrajeron muestras durante un mes para medir Ca y lactosa. Por último, se determinó Ca en orina de 24 horas en voluntarios que ingirieron LCaK y se comparó con la calciuria basal al ingerir L (t de Student). El análisis a lo largo del tiempo se realizó con ANOVA a dos criterios con posttest LSD. Se consideraron diferencias significativas si  $p < 0,05$  (\*). Luego de 730 min se observó disminución significativa del pH en los grupos LK y LCaK en comparación con L y LCa. El contenido de lactosa disminuyó significativamente en los grupos tratados con kefir (LK:  $-12,7 \pm 2,49\%$  y LCaK:  $-15,9 \pm 3,28\%$ ). Por último, el Ca de los grupos L, LCa y LK no se modificó en el tiempo, pero el grupo LCaK mostró un aumento significativo en el contenido de Ca ( $42,1 \pm 16,18\%$ ). El contenido de Ca (mg/dl) en las preparaciones con material doméstico fue significativamente mayor en comparación con la leche sin tratamiento (LCaK  $120 \pm 18,2^*$ ; L  $98 \pm 5,9$ ) y el contenido de lactosa (mg/dl) fue significativamente menor (LCaK  $3,1 \pm 0,43^*$ ; L  $4,2 \pm 0,44$ ), t de Student,  $p < 0,05$ . El lácteo no se contamina con otros microorganismos aun fuera de la heladera y una vez adquirido su mantenimiento es prácticamente indefinido. En los voluntarios, la calciuria basal fue significativamente menor que cuando se consumió el mismo volumen de LCaK; esto indica que el Ca sería biodisponible. La textura y acidez del lácteo no fueron impedimentos para consumirlo, siendo variable la aceptación. En algunos casos la acidez es una característica que produce algún rechazo. Se concluye que el tratamiento con kefir y adición de cáscara de huevo permite obtener un lácteo de menor contenido de lactosa y mayor contenido de calcio, que puede prepararse a nivel doméstico de manera sencilla y sin contaminación. Esta bebida permitirá incrementar la ingesta de Ca en personas con intolerancia a la lactosa, especialmente en aquellas de bajos recursos.

#### **CL40. Salud oral en un grupo de mujeres jóvenes con insuficiente estado nutricional de calcio y vitamina D**

**Antonenko O,<sup>1</sup> Zeni Coronel M,<sup>1</sup> Pellegrini GG,<sup>1,2</sup> Gonzales Chaves MM,<sup>1,2</sup> Somoza J,<sup>1</sup> Brito G,<sup>1</sup> Bryk G,<sup>1,2</sup> Zeni SN<sup>1,2</sup>**

*1 Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas, Hospital de Clínicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) CONICET-UBA; 2 Cátedra de Bioquímica General y Bucal. Facultad de Odontología, UBA.*

Recientemente se ha sugerido que el consumo de hidratos de carbono proveniente de productos lácteos prevendría el desarrollo de flora acidófila y que la vitamina D mediante su acción a nivel inmunológico controlaría el estado inflamatorio oral. Ambos procesos influyen en la salud oral. Objetivo: evaluar el efecto del estado nutricional de calcio (Ca) y vitamina D sobre la salud oral en mujeres jóvenes. A 85 mujeres entre 20-30 años ( $24,6 \pm 0,4$ ) que concurrían a la Universidad ISALUD donde cursaban el primer año de la carrera de Nutrición se les evaluó la ingesta habitual de Ca (ICa) a través de un cuestionario de frecuencia de consumo de leche, productos lácteos y alimentos enriquecidos con Ca. Se les extrajo sangre en ayunas en invierno (finales de agosto hasta el 15 de septiembre) donde se evaluaron 25(OH)vitamina D (25OHD), Ca, fósforo (P), fosfatasa alcalina ósea (FAo) y parathormona intacta (iPTH). El estado dental se determinó mediante un odontograma completo, el cual incluía el índice CPO [número total de dientes obturados (O), perdidos (P) y cariados (C)] para evaluar la pérdida de piezas dentarias y la presencia de caries. Se evaluó también el índice de placa de Loe Silness (PI) y el momento de azúcar (MA) como riesgo de cariogenicidad. Resultados: debido al bajo consumo de leche y productos lácteos, la mediana de la ICa fue de 498 mg/d [ $381; 792$ ]). Solo el 24% cubría las recomendaciones poblacionales de 800 mg Ca/día; 17% tuvieron una ICa  $< 800$  mg/día y 59% deficiente ( $< 600$  mg/día). El valor medio de los parámetros bioquímicos estudiados se encontró dentro del rango de referencia: iPTH:  $39,2 \pm 4,9$  pg/ml; FAo:  $63 \pm 1$  UI/l; calcemia:  $9,4 \pm 0,2$  mg/dl; fosfatemia:  $4,0 \pm 0,3$  mg/dl. Los niveles de calcemia y fosfatemia estuvieron por debajo del valor de referencia, en un 7% y 3%, respectivamente; ninguna tuvo valores más elevados que el normal. El valor medio de 25OHD fue de  $25,0 \pm 1,0$  ng/ml; solo el 29% presentaba niveles mayores o iguales a 30 ng/ml; 71%  $< 30$  ng/ml; 39% entre 21-29 ng/ml; 32%  $< 20$  ng/ml y 15%  $< 10$  ng/ml. El 100% de las estudiantes presentaba gingivitis crónica y un valor medio de MA  $5,2 \pm 0,1$  para un valor de referencia  $< 4$ . El 3% tenía al menos un diente perdido y el 20% tenía la boca afectada por caries. No se observaron dientes obturados. El componente C del CPO aumentó a medida que disminuía la ICa; el mayor valor de componente P y PI se observó a  $Ca < 600$  mg/d. El menor componente C y PI se observó cuando el nivel de 25OHD fue  $< 30$  ng/ml. Conclusión: los resultados del presente estudio evidenciaron el alto grado de



actividad cariogénica y la gran severidad de la enfermedad oral en mujeres estudiantes jóvenes. Asimismo alerta sobre los efectos de la baja ingesta de productos lácteos y el estado nutricional de vitamina D, los cuales no solo afectan negativamente la homeostasis fosfocálcica y el metabolismo óseo sino también la salud oral. Este estudio trae a la luz la necesidad de realizar intervenciones nutricionales específicamente diseñadas para incrementar el consumo de leche y productos lácteos como una estrategia nutricional para preservar una buena dentición y mejorar la calidad de vida previniendo la pérdida de piezas dentales que puedan afectar la elección de alimentos y con ello el desarrollo de patologías sistémicas. Este estudio es parte de la tesis de doctorado de la odontóloga O. Antonenko. Parcialmente subsidiado por un UBACyT CO21 y CONICET.

**CL41. El efecto antiapoptótico del 17 $\beta$ -estradiol en células de músculo esquelético involucra a PKC $\delta$ , JNK y p66Shc**

**La Colla AB, Pronsato L, Milanesi LM, Boland RL, Vasconsuelo AA**

*Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.*

La hormona 17 $\beta$ -Estradiol (E2) actúa sobre diversos tejidos no asociados a la reproducción, entre los que se incluye al músculo esquelético. Hemos demostrado que el E2 en concentraciones fisiológicas previene la apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en mioblastos de músculo esquelético. El objetivo del presente trabajo es profundizar el conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la acción antiapoptótica del E2 en células musculares. Observamos que el agente apoptótico activa a PKC $\delta$  y a JNK en células C2C12. Por ensayos de TUNEL usando inhibidores específicos mostramos que la activación de dichas quinasas media la apoptosis inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en células de músculo esquelético. Además, ensayos de Western blot revelaron que PKC $\delta$  actúa corriente arriba de JNK. Y demostramos que E2 inhibe la activación de ambas quinasas, lo que conduce a la inhibición de la fosforilación y de la translocación a mitocondria de la proteína adaptadora p66Shc, la cual está asociada a estrés oxidativo. De importancia, el pretratamiento con E2 disminuyó los niveles de ARN mensajero de p66Shc, inducidos por el agente apoptótico. Mediante la utilización del colorante catiónico TMRM demostramos que el pretratamiento con E2 previene la pérdida del potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\psi_m$ ) inducida por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, al inhibir la translocación mitocondrial de p66Shc. Finalmente, por qRT-PCR cuantitativa demostramos que E2 disminuyó los niveles de ARNm inducidos por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de las proteínas apoptóticas PERP y Puma asociadas a la pérdida del  $\Delta\psi_m$ , mientras que aumentó los de la proteína antiapoptótica Bcl-2. En conjunto, nuestros resultados contribuyen al discernimiento de los mecanismos activados por el E2 que se traducen en un efecto protector frente a la apoptosis en células musculares. El conocimiento de estos mecanismos será de ayuda para encontrar nuevos blancos en el desarrollo de terapias para miopatías asociadas a desregulación de apoptosis por déficits hormonales.