



## COMUNICACIONES LIBRES

**CL1. *Streptococcus mutans*: inhibición del crecimiento por bifosfonatos****Montangero V, Roldan E, Canigia L***Universidad Maimónides, Hospital Alemán. Buenos Aires*

Los bifosfonatos son compuestos ampliamente utilizados para el tratamiento de una variedad de condiciones mórbidas. Mientras que su uso medicinal ha sido relativamente reciente (se sintetizaron por primera vez hace un siglo), es importante destacar su contribución para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades óseas. La primera síntesis fue realizada en 1897 por Von Baeyer; sin embargo, la aplicación comercial de estos compuestos se produjo recién en 1960, cuando Blazer y Works informaron su uso para soluciones de detergentes, como agentes quelantes de calcio y magnesio. A principios de 1960, los investigadores de la compañía Procter & Gamble (P&G) emplearon el etidronato de sodio para estudiar su afinidad sobre la superficie de cristal de hidroxapatita y las propiedades físicas similares a los polifosfatos pero de efecto más consistente. Estos hallazgos llevaron a P&G a probar estos compuestos en aplicaciones dentales y luego en las médicas. Con el aporte clave de otros investigadores universitarios, estos antecedentes condujeron a la utilización médica del primero de los bifosfonatos, el etidronato de sodio en 1968. Este estudio evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de tres bifosfonatos (olpadronato, pamidronato y etidronato) en dos concentraciones clínicas posibles diferentes (1,5% y 3%) contra dos patógenos orales representativos: *Streptococcus mutans* y *Actinobacillus actinomycescomitans*. La capacidad inhibidora de estos bifosfonatos se midió por el método de difusión. Las zonas de inhibición alrededor de las seis soluciones bifosfonatos resultantes eran iguales ( $6,0 \pm 0,0$  mm) contra *S. mutans*, pero eran diferentes en contra de *A. actinomycescomitans*, que muestra olpadronato 3% y 1,5% soluciones de los mayores diámetros ( $19,5 \pm 0,7$  mm y  $15,5 \pm 0,7$  mm, respectivamente). También se midió la acción antibacteriana de los bifosfonatos, la definición de la actividad bactericida como una  $\geq 3 \log_{10}$  UFC/ml disminución y actividad bacteriostática como  $\leq 2 \log_{10}$  UFC/ml disminución en el recuento de colonias medidas a las 0, 8 y 24 horas después de la incubación. Todas las soluciones de bifosfonato mostraron actividad bactericida frente a *A. actinomycescomitans* después de 8 y 24 horas de incubación, pero solo actividad bacteriostática contra *S. mutans* después de 24 horas de incubación. Por lo tanto, el olpadronato, el pamidronato y el etidronato pueden inhibir el crecimiento de *S. mutans* y el desarrollo, en concentraciones similares a las que se encuentran en la cavidad oral después de cepillado con dentífrico en cuya formulación se encuentre etidronato de sodio, o después de su administración en dosis orales clínicas. Por lo tanto, es posible especular con un efecto antibacteriano transitorio de estos bifosfonatos en esa localización.

**CL2. Evaluación de la osteopenia posmenopáusica en pacientes con y sin tratamiento con bifosfonatos****Malachane S, Lupo E, Bustos V, Osorio E, Hosem D, Urzich L***Hospital Argerich. Ciudad Autónoma de Buenos Aires*

Existen controversias en cuanto a la evolución de la osteopenia y si es necesario o no su tratamiento. **Objetivo:** evaluar las modificaciones observadas en la densitometría de mujeres con osteopenia al inicio y a los 3 años de seguimiento con tratamiento mediante bifosfonatos o sin él. **Materiales y métodos:** se evaluaron retrospectivamente 72 mujeres posmenopáusicas de 48-65 años. Los datos que se registraron fueron: calcemia, vitamina D, fosfatemia, calciuria y DMO al inicio y a los 3 años (32-40 meses). Todas las pacientes recibieron calcio y vitamina D. Se dividió a la población en 2 grupos, G1 y G2, este último compuesto por las pacientes que recibieron tratamiento con bifosfonatos. Se consideró la evolución densitométrica del T-score en columna lumbar (CL) y cuello femoral (CF) en ambos grupos. **Resultados:** se expresan en G1 pacientes que recibieron calcio y vitamina D y en G2 pacientes que además recibieron bifosfonatos (alendronato 36 pacientes, ibandronato 7, risedronato 1). En ambos grupos, la dosis de

calcio estuvo entre 500-1.000 mg/día y la vitamina D entre 400 y 1.000 U/día hasta lograr un valor > 30 ng/ml. En la tabla se expresan los valores de *T-score* de la DMO en ambos grupos al inicio y a los 3 años de seguimiento.

|    | n  | edad     | T-score CL inicio | T-score CL 3 años | T-score CF inicio | T-score CF 3 años |
|----|----|----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| G1 | 28 | 58,1±5,3 | -1,75±0,4         | -1,55±0,7         | -1,65±0,3         | -1,52±0,6         |
| G2 | 44 | 59,2±5,3 | -1,8±0,7          | -1,71±0,9         | -1,59±0,4         | -1,43±0,5         |

No hubo diferencias significativas en los valores densitométricos tanto en CL como en CF al inicio y los 3 años en ambos grupos. La evolución a osteoporosis fue en G1 de 3/28 y en G2 de 4/44. *Conclusiones:* el tratamiento con bifosfonatos no mostró diferencias en los valores densitométricos con los pacientes osteopénicos que solo recibieron calcio y vitamina D en dosis adecuadas.

### CL3. Funcionalización de implantes permanentes de acero inoxidable recubiertos: la calidad ósea como parámetro de éxito

**Ballarre J<sup>1</sup>, Desimone M<sup>1</sup>, Katunar MR<sup>1</sup>, Baca M<sup>2</sup>, Orellano JC<sup>2</sup>, Ceré SM<sup>1</sup>**

1. Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (INTEMA), Universidad Nacional del Mar del Plata-CONICET. Mar del Plata. 2. Traumatología y Ortopedia, Hospital Interzonal General de Agudos Oscar Alende, Mar del Plata

Actualmente sigue siendo utilizado masivamente el acero inoxidable para implantes permanentes dado que se presenta como la opción más económica para la mayor parte de la población en Latinoamérica. Los metales no crean, en general, una unión natural con el tejido óseo y es necesario producir un anclaje mecánico. Este anclaje puede lograrse mediante cementación o por la creación de una superficie capaz de generar una respuesta activa del tejido óseo sobre la prótesis. El tiempo necesario para que una prótesis se una mediante creación de tejido óseo así como la calidad de ese tejido son factores muy importantes para el éxito del procedimiento. En este trabajo se propone la modificación superficial de implantes de acero inoxidable de grado quirúrgico mediante la aplicación de recubrimientos híbridos orgánico inorgánicos funcionalizados con base de sílice, por el método de sol gel. Esto se presenta como una estrategia para generar una superficie que, además de impedir la liberación de iones nocivos al tejido periférico, presente una interfase "bioactiva". Se espera que esta genere una unión natural entre el implante y el hueso existente, sin necesidad de cementación externa. El objetivo de este trabajo fue analizar la generación y calidad ósea en términos inorgánicos, del tejido neoformado luego de 8 semanas de implantación en fémur de ratas Wistar adultas, mediante técnicas de espectroscopia micro-Raman, microfluorescencia y absorción de rayos X. En las muestras con implantes sin recubrimiento se observa la formación de una fina capa ósea, posiblemente generada en estadios tempranos de integración ósea. Esta capa, con el tiempo, se desprende del implante y tiende a encapsularse por tejido conectivo. Los recubrimientos híbridos sin funcionalizarse (sin partículas bioactivas) presentan generación ósea alrededor de los implantes, con una alta concentración de calcio y fósforo en la interfase implante/tejido neoformado. Este hecho parece estar relacionado con la presencia de nanopartículas de sílice en la capa protectora y plantea la capacidad de la sílice como iniciador o catalizador para la deposición de hidroxiapatita. La adición de partículas bioactivas promueve y mejora notablemente la calidad ósea del tejido neoformado, con una concentración homogénea de calcio y fósforo en todo el tejido así como con una menor velocidad de sustitución de los beta carbonatos y cristalinidad de los cristales de hidroxiapatita, relacionándose con un tejido consolidado pero más joven y mecánicamente más resistente.

### CL4. Relaciones de la robustez del cuello femoral con el patrón de disminución de su densidad mineral ósea en mujeres posmenopáusicas

**Claus-Hermsberg H, Lozano Bullrich MP, Rey M, Boffa S\*, Pozzo MJ**

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires. \*Técnica en densitometría

*Introducción:* Diversos estudios de cadera en cadáveres y *ex vivo* utilizando técnicas de adquisición y análisis de imágenes no aplicables *in vivo* o aún no accesibles para su aplicación clínica encuentran que la morfología externa del cuello, adquirida durante el desarrollo del esqueleto, es uno de los factores



determinantes de los patrones de los cambios densitométricos y geométricos observables en esa región esquelética en el contexto de la pérdida sistémica de masa ósea, más acentuada en las mujeres a partir de la menopausia. La definición de esos patrones no solo tiene importancia para una mejor comprensión de dichos cambios, sino porque se especula acerca de que los cambios podrían ayudar a identificar a las personas con mayor riesgo de sufrir una fractura de cadera. **Objetivo:** Evaluar si los cambios densitométricos (DMO), de masa (CMO) y areales (A) del cuello femoral (CF) observables longitudinalmente en un período de 4-4,5 años en mujeres posmenopáusicas con la metodología DXA convencional permiten identificar patrones en el comportamiento de esas variables asociados a ciertas características morfológicas del CF. **Población y métodos:** En un estudio de cohorte retrospectivo se evaluaron 41 mujeres sanas posmenopáusicas con un amplio rango de edad (52,7 a 79 años) y tiempo de menopausia espontánea (1-32 años) sin antecedentes de medicaciones osteoactivas. Se analizaron DMO de cadera repetidas con un intervalo de 4 a 4,5 años y realizadas con el mismo equipo (Lunar Prodigy) y personal técnico. La característica morfológica del CF se definió por su “robustez”, dividiendo el área del CF por el largo del eje de la cadera, lo que normaliza el área con el tamaño de la cadera independizándolo de la talla y el tamaño corporal. **Resultados:** La diferencia de medias de la DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) del CF entre la primera medición ( $0,879 \pm 0,11$ ) y la segunda ( $0,854 \pm 0,11$ ) evidencia una disminución significativa ( $p < 0,001$ , T-test). Esta diferencia ( $0,034 \text{ g}/\text{cm}^2$ ) no se relacionó con la edad ni con los años de menopausia. La diferencia de DMO del CF no se correlacionó con la robustez en el total de la población; se observó correlación negativa en el grupo de mujeres mayores de 61 años ( $n=26$ ,  $R: -0,59$ ,  $p=0,002$ , Spearman's Rank Test). Considerando la media de la robustez (4,58 mm) como valor de corte para categorizar el cuello de la cadera como “delgado” o “robusto”, se observa solo en el grupo de mujeres  $>61$  años una significativa mayor pérdida de masa ósea (diferencia de CMO g: robusto:  $-0,17$  ( $-0,27/-0,1$ ), delgado:  $-0,08$  ( $-0,14/0,035$ ), ( $p=0,006$ ) y aún una más significativa disminución de la DMO (diferencia DMO  $\text{g}/\text{cm}^2$ : robusto:  $-0,042$  ( $-0,06/-0,03$ ), delgado:  $-0,0045$  ( $-0,0029/0,0035$ ) ( $p=0,003$ ) (mediana [cuartiles], Mann-Whitney U test) en los cuellos robustos. Esto último también mediado por una tendencia a un mayor aumento de A ( $p=0,06$  tercilo superior vs. tercilo inferior de robustez). **Conclusiones:** 1) En los primeros años de la menopausia la DMO del CF disminuye a expensas de una disminución de la masa ósea independientemente de su robustez. 2) En las mujeres mayores de 61 años, la DMO disminuye como consecuencia de una disminución del CMO y una tendencia al aumento del A en parte determinado por las características morfológicas del CF. 3) Esta constelación de modificaciones densitométricas observables por DXA en los CF más robustos de las pacientes de mayor edad son asimilables a las descriptas con metodologías más sofisticadas, que las relacionan con un mayor riesgo de fractura.

#### **CL5. Estudio histomorfométrico del hueso alveolar y las tibias en ratas diabéticas**

**Sánchez LM, Lewicki M, De Lucca RC, Reznik C, Villarino ME, Ubios AM**

*Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, UBA*

La diabetes mellitus tipo 1 altera el metabolismo óseo como consecuencia de la cronicidad de la evolución de la patología. Aunque poca bibliografía refiere que dicha alteración asiente en el hueso de los maxilares, es así como la disminución de la densidad ósea fue descripta clínica y experimentalmente en huesos largos de ratas a las que se les indujo la diabetes. En estudios previos demostramos la disminución del volumen del hueso subcondral en tibias de ratas diabéticas a 1 semana de inducida la diabetes experimental, que resultó más marcada a las 7 semanas. En los mismos tiempos experimentales, dicha alteración no se manifestó en el hueso interradicular del maxilar evaluado por histomorfometría estática. Sin embargo, en el hueso maxilar de las ratas diabéticas a las 7 semanas de su inducción comprobamos la presencia de mayor número de osteocitos esclerostina positivos que en sus controles. Dado que este hallazgo indicaría la posibilidad de la aparición de osteopenia a más largo plazo en el hueso maxilar, el objetivo de este trabajo fue estudiar histomorfométricamente el efecto de la diabetes crónica en hueso alveolar interradicular y en el hueso subcondral de tibias de ratas a las 12 y a las 18 semanas postinducción de la diabetes. **Materiales y métodos:** Se utilizaron 24 ratas Wistar machos de 130 g de peso, que fueron divididas en 2 grupos: a) eutanasiados a las 12 semanas y b) eutanasiados a las 18 semanas. Cada uno de esos grupos se dividió en un grupo experimental (E) que recibió una dosis única i.p. de 60 mg/kg de peso de estreptozotocina y un grupo control (C). Los maxilares superiores y las tibias fueron fijados y descalcificados, continuándose con la técnica histológica corriente. Se obtuvieron cortes a la altura del primer molar superior orientados en sentido bucopalatino a nivel de las raíces distales y cortes longitudinales frontales de las tibias. Sobre fotografías de los cortes y mediante un software analizador de imágenes (Image ProPlus 4.5), se estudiaron: a) en las tibias: volumen óseo subcondral, b) en

el hueso interradicular de las raíces distales del primer molar superior: volumen óseo y actividad ósea. Los resultados obtenidos fueron analizados con el t de Student, considerando una  $p < 0,05$  como estadísticamente significativa. **Resultados:** A las 12 semanas, los valores del estudio histomorfométrico en las tibias fueron: volumen óseo: C: 24,79%±4, E: 14,4%±3,86 ( $p < 0,05$ ) y en el hueso interradicular del maxilar superior: volumen óseo: C: 30,89%±1,81, E: 27,83%±1,44. **Actividad ósea:** Reabsorción: C: 19,16%±8,33; E: 26,02%±9,27. **Formación:** C: 30,13%±5,49; E: 22,59%±6,94. **Reposo:** C: 50,18%±6,77; E: 53,19%±4,77. A las 18 semanas, los valores del estudio histomorfométrico en las tibias fueron: **Volumen óseo:** C: 27,8%± 3,08, E: 5,64%±1,08 ( $p < 0,05$ ) y en el hueso interradicular del maxilar superior: **Volumen óseo:** C: 40,46%±4,95, E: 45,63%±6,64. **Actividad ósea:** Reabsorción: C: 22,06%±9,44; E: 21,77%±7,44. **Formación:** C: 24,22%±8,9; E: 18,73%±10,14. **Reposo:** C: 61,71%±11,78; E: 56,95%±3,7. Los resultados obtenidos muestran que en el hueso interradicular del maxilar no aparece la osteopenia que se manifiesta en el hueso subcondral de la tibia marcando una respuesta a la diabetes crónica diferente entre ellos. La diferencia en la respuesta ósea frente a la diabetes de estos huesos podría deberse al diferente origen embriológico.

#### **CL6. Evaluación de la seguridad del uso prolongado de bifosfonatos**

**Premrou MV, Conejos L, Geloso G, Pozniak S, Maffei LE**

*Centro Médico Dra. Laura Maffei. Buenos Aires*

**Introducción:** Los bifosfonatos (BF) son drogas de 1ª línea en el tratamiento de la osteoporosis por su eficacia en disminuir el riesgo de fractura, pero su uso prolongado se ha relacionado con eventos adversos serios (EAS) como fracturas atípicas, osteonecrosis de mandíbula y cáncer de esófago. El objetivo de este trabajo fue evaluar la prevalencia de EAS en la población de pacientes con osteoporosis tratadas en forma prolongada con BF de un centro privado de endocrinología de la ciudad de Buenos Aires. **Materiales y métodos:** Se analizaron en forma retrospectiva las historias clínicas de los pacientes con osteoporosis que habían recibido tratamiento con BF por más de 5 años. Se analizó el tiempo de tratamiento, la aparición de eventos adversos (EA), EAS y de fracturas (Fx) por fragilidad. **Resultados:** Se analizaron 431 pacientes (media: 69,95 años [50-92]), 425 mujeres y 6 hombres. La duración del tratamiento fue de 7,1 años (IC 95% 6,83-7,28); 339 pacientes (78,7%) recibieron tratamiento vía oral (VO) y 91 pacientes (21,1%) lo recibieron de manera combinada VO/IV (intravenosa). Tratamiento complementario: sales de calcio en 355 pacientes (82,4%), vitamina D<sub>2</sub> o D<sub>3</sub> en 372 pacientes (86,3%) y tiazidas en 74 pacientes (17,2%); 74 pacientes (17,2%) sufrieron Fx durante el tratamiento con BF, 58 de ellos 1 sola Fx; 15, 2 Fx y 1, 3 Fx (91 Fx total). Las Fx fueron 30 de muñeca (33%), 20 vertebrales (22%), 14 de cadera (15,4%), 10 de húmero (11%), 8 costales (8,8%), 4 de pelvis (4,4%), 3 de peroné (3,3%), 1 de tibia (1,1%) y 1 de tobillo (1,1%); no hubo informes de Fx atípicas. La media de edad para las pacientes con Fx fue 73,2 años vs. 68,94 años en las que no tuvieron Fx ( $p < 0,001$ ). Los pacientes que no tuvieron Fx registraron una media de tratamiento de 6,9 años vs. 7,60 ( $p = 0,54$ ). Los EA más frecuentes fueron los gastrointestinales (81 gastritis, 16 esofagitis, 17 dolor abdominal, 1 diarrea, 4 hernia hiatales, 2 úlceras gástricas) en 115 pacientes (26,8%). Síntomas pseudogripales: 5 (1,2%), leucopenia en 3, plaquetopenia en 1, lesiones cutáneas en 1, litiasis renal en 1, alveolitis dental en 1 y osteonecrosis de mandíbula en 1. **Conclusiones:** Las últimas publicaciones sugieren no continuar más de 5 años con BF, salvo en pacientes con alto riesgo de Fx. En nuestra población tuvimos una prevalencia de EA de 26,8%, como EAS tuvimos 1 solo caso de osteonecrosis de mandíbula y ningún paciente con fractura atípica ni cáncer de esófago. Los BF fueron un tratamiento seguro para la osteoporosis en esta población de pacientes tratados con BF durante más de 5 años.

#### **CL7. Aumento en la biodisponibilidad de Ca, P y Mg mediante la incorporación de una mezcla de GOS/FOS® a una dieta con bajo aporte de calcio: modelo experimental en ratas durante el crecimiento normal**

**Medina D<sup>2</sup>, Bryk G<sup>1,2</sup>, Pellegrini GG<sup>1,2</sup>, Zeni Coronel CM<sup>2</sup>, Portela ML<sup>3</sup>, Zeni SN<sup>1,2</sup>**

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

Es conocido que ciertos prebióticos mejoran la absorción de Ca, Mg y P; sin embargo, el efecto sobre su biodisponibilidad continúa indeterminado. Basándose en ello se evaluaron los cambios en la absorción, el pH y la retención en hueso de Ca, Mg y P en ratas con crecimiento normal, mediante la adición de galacto-



oligosacáridos y fructooligosacáridos (GOS/FOS®) a 2 dietas preparadas de acuerdo con los requerimientos para roedores en crecimiento (AIN'93-G). Desde el destete y hasta los 40 días de vida ratas macho de la cepa Wistar (n=10/grupo) fueron alimentados con una de cuatro dietas experimentales isocalóricas y quedaron constituidos los siguientes grupos: A5: AIN'93-G con 0,5% de Ca; A3: AIN'93-G con 0,3% de Ca, GF3 y GF5, las cuales eran similares a A3 y A5, respectivamente, con el agregado de 5,3% de GOS/FOS®. Las absorciones aparentes (AP) de Ca, Mg y P se determinaron dos veces: al inicio del estudio y durante los 3 últimos días de la experiencia, mediante la medición del consumo de alimentos y la recolección de heces. Al final del estudio (tf) se evaluó pH cecal y el contenido mineral (CM) de Ca, Mg y P en fémur. Resultados (promedio±DS): A5; GF5; A3 y GF3, respectivamente. AP de Ca (mg/100 g rata/d): 66,7±5,9\*#; 77,5±7,0\*#; 40,9±5,4; 43,8±4,3; AP de Mg (mg/100 g rata/d): 5,17±0,52; 7,24±1,00\*\*\*; 4,92±1,25; 6,41±0,60\*\*\*; AP de P (mg/100 g rata/d): 40,6±2,7; 48,6±2,4\*\*\*; 37,8±5,4; 43,7±5,1; pH: 7,1±0,02; 6,4±0,2\*\*\*; 7,0±0,1; 6,4±0,2\*\*\*. CM de Ca (mg/g): 117,03±2,58\*\*; 146,38±3,78\*\*\*#; 102,39±0,26; 132,48±3,20\*\*\*; CM de Mg (mg/g): 1,34±0,03\*\*\*#; 1,33±0,03\*\*\*#; 1,18±0,03; 1,20±0,03; CM de P (mg/g): 70,03±1,06\*\*; 82,66±2,14\*\*\*#; 60,89±1,28; 74,43±1,47\*\*\*; \*p<0,05 respecto A3; \*\*p<0,05 respecto de A5; #p<0,05 respecto de GF3. Al inicio no se observaron diferencias en las AP. Al final del estudio, los grupos GF3 y GF5 mostraron una significativa disminución en el pH cecal respecto de A3 y A5 (p<0,01). La presencia de la mezcla de GOS/FOS® aumentó significativamente la absorción de Ca, Mg y P y el contenido de dichos minerales en fémur (p<0,01). **Conclusión:** Estos resultados evidencian el incremento en la biodisponibilidad de Ca, Mg y P y confirman el efecto benéfico de GOS/FOS® en la salud de los huesos durante el crecimiento normal. © N.V.Nutricia. CONICET: PIP 002/2011.

### CL8. Nuestra experiencia asistencial a un año de tratamiento con denosumab

**Sarli MA, Rey PG, Zanchetta MB, Spivacow RF**

*Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM). Buenos Aires*

El denosumab es un anticuerpo monoclonal humano que antagoniza los efectos estimulantes del RANKL sobre la diferenciación osteoclástica, disponible en nuestro país desde 2011 para el tratamiento de la osteoporosis. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad y seguridad de este tratamiento y comparar nuestros resultados con los publicados en la literatura médica internacional. **Pacientes y métodos:** trabajo prospectivo abierto en el que se incluyeron pacientes osteoporóticos tratados en IDIM con denosumab desde septiembre de 2011 hasta septiembre de 2012. Se recabaron los datos densitométricos en columna lumbar y cuello femoral basales y al año de tratamiento, y se calculó su variación ( $\Delta$ DMO%). La evaluación de los parámetros de recambio óseo inicial, tres, seis y doce meses, incluyó: fosfatasa alcalina total (FAL). Método: colorimétrico. VN [valor normal] 90-280 UI/l, osteocalcina (BGP). Método: electroquimioluminiscencia. VN en mujeres: 11-43 ng/ml y en varones 14-42 ng/ml) y  $\beta$ -crosslaps (CTX). Método: electroquimioluminiscencia. VN en mujeres posmenopáusicas: 556±226 pg/ml y en varones de 50-70 años: 304±200 pg/ml y en mayores de 70 años: 394±230 pg/ml). Se registraron los efectos adversos y el antecedente de tratamientos previos. Los cambios en la DXA y en los parámetros de laboratorio se evaluaron mediante t de Student para muestras apareadas considerando significativo p<0,05. **Resultados:** se incluyeron 86 pacientes (2 varones y 84 mujeres); 35 mujeres completaron un año de tratamiento. Edad: 65,70±9,25 años; edad de menopausia: 47,48±5,82 años; DXA columna lumbar basal: 0,840±0,111 g/cm<sup>2</sup> (T-score: -2,94±0,88); DXA cuello femoral basal: 0,711±0,09 g/cm<sup>2</sup> (T-score: -2,27±0,71). El 40% eran vírgenes de tratamiento y el 60% habían sido pretratadas con bifosfonatos orales o intravenosos. Veintiún pacientes carecían de fracturas prevalentes y 14 pacientes tuvieron 30 fracturas (22 vertebrales, 5 muñecas, 1 cadera, 1 húmero, 1 calcáneo). La DXA en columna lumbar luego de un año de tratamiento fue 0,904±0,115 g/cm<sup>2</sup> (T-score -2,40±0,91)  $\Delta$ DMO%: +6,95±4,47, p<0,00001 y en cuello femoral 0,742±0,089 g/cm<sup>2</sup> (T-score -1,90±0,71)  $\Delta$ DMO%: +4,57±5,29, p<0,00001. El CTX basal fue 427,10±259,66 pg/ml, disminuyó significativamente a los tres meses: 51,34±22,68 pg/ml (p=0,049) y permaneció bajo al año de iniciado el tratamiento: 89,67±64 pg/ml (p<0,001). La BGP basal fue 25,13±10,20 ng/ml, disminuyó significativamente a los tres meses: 12,91±3,64 ng/ml (p=0,0013) y permaneció baja al año de iniciado el tratamiento: 8,72±1,93 (p=0,013). La FAL basal fue 164,53±42,42 UI/l y disminuyó gradualmente para ser significativo su descenso al año: 125±10,45 UI/l (p=0,0001). Efectos adversos: 6 pacientes (6,97%) experimentaron un efecto adverso; edema bipalpebral, prurito luego de la aplicación, aumento de las infecciones respiratorias en una paciente con EPOC, osteonecrosis de mandíbula en una paciente previamente tratada con bifosfonatos intravenosos, celulitis y aftas en boca luego de la administración. Solo 2 pacientes debieron interrumpir el tratamiento. **Conclusiones:** el tratamiento con denosumab produjo una profunda y rá-

pidia inhibición de los marcadores del recambio óseo y, luego de un año de tratamiento, un significativo incremento de la DMO en columna lumbar y cuello femoral. La tolerancia al tratamiento fue buena y la incidencia de efectos adversos baja. La eficacia y seguridad de la droga fue similar a la informada en la literatura médica.

### **CL9. Meningiomas con invasión ósea: diagnóstico diferencial con displasia fibrosa**

**Galich AM, Buttazzoni M**

*Sector osteopatías metabólicas, Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear. Hospital Italiano de Buenos Aires*

*Introducción:* El meningioma (MG) es el tumor benigno intracraneal más frecuente y el segundo tumor después de los gliomas. Originado en las células meningoteliales, es más común en adultos que en niños. El MG esfeno-orbital representa el 9% de todos los MG intracraneales. En general, genera hiperostosis del hueso subyacente y/o dilatación del seno maxilar. Es muy rara la invasión ósea. En la angiografía son tumores muy vascularizados y en la RM con contraste hay hiperintensidad, a diferencia de la displasia fibrosa (DF). *Materiales y métodos:* Se describen 2 casos clínicos diagnosticados en nuestro hospital. *Caso 1:* mujer de 62 años (RM) seguida por hipotiroidismo e insulinoresistencia desde 2004. En septiembre de 2012 se objetivó protrusión orbitaria superior derecha, aumento de apertura palpebral y edema del párpado superior. Refería visión borrosa esporádica y lagofalmo de 3 meses de evolución. En la radiografía de cráneo (RxC) se observó esclerosis de huesos de la órbita derecha. La evaluación oftalmológica refirió proptosis de ojo derecho, sin diplopía y en el campo visual computarizado (CVC) se observó escotoma arciforme inferior en ojo derecho. Diagnóstico presuntivo: DF. Se solicitaron estudios complementarios. La TC evidenció alteración en la morfología ósea de la órbita derecha (esfenoides, temporal y frontal) con desviación de los músculos extrínsecos, desplazamiento del nervio óptico (NO) y proptosis. Centellograma óseo: aumento de la captación en calota fronto-temporal y esfenoidal derechas, compatible con DF y leve captación de esfenoides izquierdo. RM de cráneo y macizo facial: lesión extraaxial en placa del ala de esfenoides derecho con compromiso intraorbitario a través de fisura orbitaria superior e intensa esclerosis. Se indicó biopsia: lesión compatible con MG. Hubo deterioro del CVC de ojo derecho. El laboratorio del metabolismo óseo y mineral fue normal. Recibió 3 mg de ibandronato IV con mejoría del edema periocular. Se realizó resección quirúrgica con colocación de malla de titanio. Anatomía patológica: proliferación neoplásica de células meningoteliales de citoplasma sincicial y núcleos ovales o esféricos con leve anisocariosis e hiper cromasia nuclear con disposición en planchas sólidas, tractos fibrosos e invasión dural. KI 67 positividad nuclear en 1% y receptor de progesterona ++ (marcación nuclear en 50-75% de células tumorales). *Caso 2:* mujer de 55 años (BN) que consultó en febrero de 2013 con diagnóstico presuntivo de DF de cráneo. Refería molestia ocular derecha, cefalea occipital, sin alteraciones visuales. Presentaba edema y proptosis derecha. RxC: imagen osteocondensante del piso y cara lateral externa de órbita derecha. TC de cráneo: imagen con aumento de la densidad ósea, en vidrio esmerilado, a nivel del ala mayor del esfenoides derecho. Centellograma óseo: aumento de captación en órbita derecha con extensión fronto-temporal. RM: lesión que refuerza con el contraste, disminución del espacio orbitario, sin compromiso de NO. El laboratorio del metabolismo óseo y mineral fue normal. Se indicó ibandronato 3 mg IV con mejoría del edema periocular. Biopsia ósea: infiltración por MG. Se realizó tratamiento quirúrgico con exéresis del tumor. La anatomía patológica confirmó el diagnóstico. *Conclusión:* El MG con invasión ósea es una patología rara y difícil de diferenciar de la DF. La RM con contraste fue orientadora y la biopsia de la lesión fue confirmatoria. La resección quirúrgica es el tratamiento de elección. Consideramos que las lesiones óseas osteocondensantes en cara y cráneo sugestivas de DF deberían ser biopsiadas, más aún cuando la RM evidencia refuerzo con contraste.

### **CL10. El VDR participa en la regulación del ciclo celular impartida por el $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamina $\text{D}_3$ en células de músculo esquelético**

**Irazoqui AP, Boland RL, Buitrago CG**

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

Previamente, informamos que el receptor de la vitamina D (VDR) participa en eventos no transcripcionales desencadenados por la hormona  $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamina  $\text{D}_3$  (1,25D) en células de músculo esquelético. Además, en diferentes estudios, demostramos que el 1,25D promueve la proliferación y la



diferenciación celular, pero no investigamos en profundidad las acciones de la hormona en estos procesos celulares. En este trabajo presentamos datos que indican que el VDR también ejerce un rol en el mecanismo por el cual el 1,25D estimula la miogénesis. Para investigar la participación de este receptor en la regulación del ciclo celular por la hormona, se redujo significativamente la expresión del VDR. Esto se logró por infección de los mioblastos murinos de la línea C2C12 con partículas lentivirales que contienen el plásmido pLKO.1 con la capacidad de expresar un ARN corto de silenciamiento contra el VDR murino. En estas células [C2C12 (-VDR)] el receptor de la vitamina D fue silenciado en un 80% aproximadamente. 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 provocó un pico máximo de la fase S seguido de un arresto celular en la fase G0/G1, resultando ambos eventos dependientes de la expresión del VDR. Las investigaciones de los cambios en los niveles de expresión de las proteínas reguladoras del ciclo celular, realizadas por *immunoblotting*, mostraron que el 1,25D aumenta los niveles proteicos de la ciclina D3 y no modifica los de la ciclina D1 durante el arresto de las células en la fase G0/G1. La sobreexpresión de la ciclina D3 por el 1,25D fue suprimida en las células C2C12 (-VDR). En paralelo, detectamos un significativo aumento de los niveles de expresión de la miogenina inducido por la hormona, indicando que el arresto en la fase G0/G1 es un evento prodiferenciativo. En concordancia con estas observaciones, determinamos que el 1,25D aumenta los niveles proteicos de los inhibidores de ciclinas p21Waf1/Cip1 y p27Kip1 en las células C2C12 *wild type*. Nuestros resultados indican que el VDR está involucrado en el control del ciclo celular impartido por el 1,25D en células de músculo esquelético, fundamentando la existencia de un mecanismo dependiente del VDR, por el cual la hormona modula la miogénesis.

#### **CL11. Valores de referencia de composición corporal por DXA para ambos sexos de personas de 4 a 19 años de Mendoza, República Argentina**

**Saraví FD<sup>1</sup>, Wilches Visbal JH<sup>1</sup>, Mampel A<sup>2</sup>, Echeverría MI<sup>2</sup>, Vargas AL<sup>2</sup>**

1. Escuela de Medicina Nuclear. 2. Instituto de Genética, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza

*Introducción:* La composición corporal puede afectarse en diversos trastornos nutricionales, intestinales y metabólicos, entre otros. Contar con datos de referencia es útil para diagnosticar y monitorizar el tratamiento de estas condiciones. El presente trabajo proporciona valores de referencia para varones y mujeres de 4 a 19 años. *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, UN Cuyo), 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 198 sujetos (102 varones). Los valores obtenidos fueron clasificados según la edad en bienios. Los sujetos peripuberales se dividieron en pre-puberales/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. *Resultados:* Los principales resultados se presentan en la tabla como media±DD (MC=masa corporal). Se calcularon además los valores de contenido mineral óseo (CMO), masa magra y masa grasa (en gramos y porcentaje) en percentilos. En el rango de edades estudiado, el CMO del esqueleto aumentó linealmente con la edad en los varones, mientras que en las mujeres siguió una función sigmoidea, con una meseta a partir de los 16 años. Por su parte, el índice de masa corporal en mujeres y varones se describe mediante una relación lineal con la edad que crece lentamente en el rango estudiado. El tejido magro blando en varones y mujeres es mejor descrito por una ecuación de 4º orden y una sigmoidea, respectivamente. En varones, el aumento de masa magra se hace más pronunciado a partir de los 14 y hasta los 18 años, con tendencia a seguir aumentando, pero a menor ritmo. En las mujeres, el aumento de masa magra empieza alrededor de los 10 años, alcanza un máximo cerca de los 16 años y luego se estabiliza. El porcentaje de masa grasa mostró con la edad tendencias lineales a crecer en las mujeres y a decrecer en los varones. Los datos obtenidos están dentro de los rangos informados por otros estudios pediátricos. *Conclusión:* La base de datos presentada puede emplearse para establecer valores de referencia para contribuir al diagnóstico, la evolución y la monitorización del tratamiento en pacientes pediátricos con alteraciones de la composición corporal.

| Edad           | 4-5            | 6-7            | 8-9            | 10-11          | 12-13          | 14-15          | 16-17          | 18-19          |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Varones</b> |                |                |                |                |                |                |                |                |
| CMO (g)        | 608,5 (69.0)   | 824,6 (153)    | 1.037 (124)    | 1.418 (195)    | 1.937 (217)    | 2.287 (341)    | 2.667 (473)    | 3.110 (236)    |
| Grasa (g)      | 3.481 (1.400)  | 3.723 (1.705)  | 6.121 (2.803)  | 5.806 (2.393)  | 8.492 (2.286)  | 9.098 (2.610)  | 8.949 (1.417)  | 9.243 (2.058)  |
| % MC           | 18,4 (5,5)     | 15,8 (5,3)     | 20,5 (7,3)     | 15,8 (5,5)     | 18,9 (5,9)     | 15,8 (4,2)     | 14,1 (2,9)     | 13,5 (3,0)     |
| Magro (g)      | 14.406 (1.155) | 18.364 (2.196) | 21.380 (2.165) | 28.817 (3.406) | 36.564 (4.088) | 44.965 (4.506) | 51.744 (5.673) | 54.007 (3.864) |
| % MC           | 80,6 (6,0)     | 83,6 (5,5)     | 75,8 (6,9)     | 80,2 (5,3)     | 79,8 (4,3)     | 79,5 (4,9)     | 81,7 (3,6)     | 81,4 (3,0)     |
| <b>Mujeres</b> |                |                |                |                |                |                |                |                |
| CMO (g)        | 544,6 (94)     | 712,5 (62,9)   | 1.032 (146)    | 1.435 (184)    | 2.085 (436)    | 2.235 (285)    | 2.405 (260)    | 2.468 (417)    |
| Grasa (g)      | 3.830 (1.534)  | 5.177 (1.059)  | 7.104 (2.530)  | 8.971 (2.060)  | 10.524 (2.296) | 13.702 (4.618) | 16.001 (3.595) | 17.191 (5.608) |
| % MC           | 21,6 (6,1)     | 23,7 (3,8)     | 23,9 (5,5)     | 23,5 (3,8)     | 24,1 (4,5)     | 26,5 (6,7)     | 29,1 (3,1)     | 29,8 (5,7)     |
| Magro (g)      | 12.967 (1.361) | 15.888 (1.883) | 20.917 (2.211) | 27.975 (4.010) | 32.900 (4.733) | 34.782 (2.100) | 36.038 (4.584) | 36.350 (3.760) |
| % MC           | 75,0 (7,9)     | 72,3 (7,4)     | 72,6 (5,3)     | 73,4 (10,5)    | 71,8 (5,1)     | 69,1 (6,3)     | 66,4 (3,1)     | 65,0 (5,1)     |

## CL12. La señalización de ERK: un evento clave en las acciones antiapoptóticas del 17 $\beta$ -estradiol en músculo esquelético

Ronda AC, Boland R

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

En estudios previos demostramos que el 17 $\beta$ -estradiol (E2) protege a las células musculares esqueléticas de la apoptosis inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a través de la vía mitocondrial. Específicamente, se observó que la hormona preserva la integridad y el potencial de la membrana mitocondrial involucrando la activación de la señalización de ERK. En el presente estudio, usando la línea celular de músculo esquelético C2C12 como modelo experimental, investigamos en mayor profundidad la acción del E2 sobre las mitocondrias y el rol de ERK. Los ensayos de Western blot e inmunocitoquímica mostraron que el E2 activa a ERK y luego induce su translocación a mitocondrias. Mediante el uso del inhibidor farmacológico U0126 se evaluó la contribución de la vía ERK en la regulación por la hormona de la actividad de la citocromo c oxidasa complejo IV (COXIV), una enzima clave en la respiración mitocondrial celular. Los resultados evidenciaron que el E2, a través de la activación de ERK, aumenta la actividad de COXIV. Los ensayos de coimmunoprecipitación revelaron que el estrógeno promueve la interacción entre COXIV y ERK. Por el contrario, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disminuyó la función enzimática de COXIV; sin embargo, la preincubación de las células con E2 antes de la inducción de la apoptosis evita dicho efecto involucrando la vía ERK. En resumen, nuestros datos demuestran que, en las células mioblásticas C2C12, el E2 induce la estimulación y translocación de ERK a mitocondrias y, a su vez, previene la alteración de la actividad de COXIV causada por estrés oxidativo. Estas observaciones indican que la señalización de ERK es un *target* importante para el estrógeno en sus efectos antiapoptóticos sobre las células musculares. Nuestros resultados contribuyen al conocimiento de la acción de supervivencia del E2 en mioblastos satélite y su relación con la sarcopenia dependiente de la edad.



### **CL13. Compromiso óseo e hiperparatiroidismo secundarios a enfermedad celíaca de diagnóstico tardío en un niño de 11 años**

**Viterbo G, Tau C**

*Metabolismo cálcico y óseo, Endocrinología, Hospital de Pediatría J. P. Garrahan. Buenos Aires*

Se presenta el caso clínico de un paciente de 11 años y 10 meses de edad derivado por fracturas. Dos meses antes había iniciado dieta libre de gluten por diagnóstico de enfermedad celíaca. Como antecedente de importancia había tenido 3 fracturas. La ingesta de calcio por lácteos era nula. Sin antecedentes familiares de importancia. Al examen físico presentaba talla baja y deformaciones óseas. Su peso era de 21,4 kg (*Z-score*: -3,2), talla: 117 cm (*Z-score*: -3,9), estadio de Tanner prepuberal. El paciente presentaba *genu valgum* severo con una distancia intermaleolar mayor de 10 cm, incurvación de antebrazo izquierdo y de ambas piernas por secuelas de fracturas. Los exámenes de laboratorio mostraron calcemia: 10,6 mg/dl (VN 8,8-10,8), fosfatemia: 3,6 mg/dl (VN 3,8-6,1), fosfatasa alcalina: 1.872 UI/l (VN 150-600), 25-hidroxivitamina D: 22 ng/ml (VN 20-50), PTH: 260 pg/ml (VN 12-72), uCalcio/uCreatinina: 0,04 mg/mg (VN <0,2), RTP: 77,5% (VN 80-95). Las radiografías mostraron osteopenia, raquitismo severo y deformaciones en miembros superiores e inferiores además de *genu valgum*. En la columna dorsolumbar se observó osteopenia y disminución de altura de cuerpos vertebrales. Una densitometría lumbar realizada a los tres meses de la consulta mostró densidad mineral ósea (DMO) dentro del valor normal para la edad, L2-L4: 0,77 g/cm<sup>2</sup>, *Z-score*: -1,3, y el contenido mineral óseo (CMO) fue de 17,4 gramos. Se realizó diagnóstico de raquitismo e hiperparatiroidismo secundarios por déficit de calcio por malabsorción intestinal debido a enfermedad celíaca. El paciente evolucionó favorablemente con dieta libre de gluten, abundante ingesta de lácteos, 1 gramo de suplemento de calcio oral diario y vitamina D 4.800 UI/semana. Los niveles circulantes de PTH y fosfatemia se normalizaron a los seis meses de tratamiento. La fosfatasa alcalina descendió a 772 UI/l. A los 2 años, las radiografías mostraron franca mejoría, desaparición del raquitismo, osteopenia leve y aumento de altura de los cuerpos vertebrales con los bordes superiores e inferiores de las vértebras más densos, signo de remineralización ósea. La DMO de columna lumbar realizada 3 años después se halló aumentada significativamente, L2-L4: 1.062 g/cm<sup>2</sup>, *Z-score*: +0,9, y del CMO: 36,1 g con un aumento del 38% en la DMO y del 107% en el CMO. A los 14 años y 11 meses de edad el paciente presentaba recuperación total de talla y peso con normalización de estos parámetros: 150,6 cm (*Z-score*: -1,7) y 41,2 kg (*Z-score*: -1,6), respectivamente, con desarrollo puberal en estadio de Tanner 4. *Conclusión*: se presenta el caso clínico de un niño con raquitismo severo, hiperparatiroidismo y fracturas secundarios a malabsorción intestinal por enfermedad celíaca. Evolucionó favorablemente con dieta libre de gluten, abundante ingesta de lácteos, suplementos de calcio y vitamina D, normalizando los parámetros de laboratorio, con curación completa del raquitismo y aumento significativo de la talla, peso y de la masa ósea luego de 3 años de tratamiento. Probablemente el desarrollo puberal influyó para esta recuperación.

### **CL14. Implicancias de la diabetes mellitus experimental en la absorción intestinal de calcio**

**Rivoira M, Rodríguez V, Peralta López M, Tolosa de Talamoni N**

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

La diabetes mellitus experimental inducida por estreptozotocina (STZ) es un modelo clásico de diabetes mellitus tipo I, que produce estrés oxidativo en diversos órganos y sistemas. El objetivo de este trabajo fue estudiar la absorción intestinal de calcio y los mecanismos moleculares involucrados en comparación con ratas controles de la misma edad. Se utilizaron ratas Wistar machos de dos meses de edad a las que se inyectó una sola dosis de 60 mg STZ/kg de peso corporal. Tanto las ratas STZ como los controles se sacrificaron a los 5, 30 o 60 días postratamiento. Las ratas se consideraron diabéticas con glucemias superiores a 250 mg/dl. Se midió la absorción intestinal de Ca<sup>2+</sup> por la técnica del asa ligada *in situ*. Se determinó por Western blot la expresión de las proteínas involucradas en el transporte transcelular del Ca<sup>2+</sup> y la de sus respectivos genes por RT-qPCR. El contenido de glutatión (GSH) y las actividades de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) se midieron por espectrofotometría. Las ratas STZ de 5 y 30 días se trataron con insulina (20 UI/día) por 5 días consecutivos y se analizó la absorción intestinal del catión postratamiento. Los resultados revelaron que la absorción intestinal de Ca<sup>2+</sup> disminuyó significativamente en las ratas STZ en comparación con la de las controles tanto a los 5 como a los 30 días, efecto que se

revirtió con el tratamiento con insulina, mientras que la absorción del catión a los 60 días fue similar a la de los controles. La expresión proteica de TRPV6 fue mayor en las ratas STZ que en los controles en todos los tiempos. Las ratas STZ expresaron  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa e intercambiador  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$  en mayor proporción que las ratas control a los 5 y 30 días, pero a los 60 días la expresión de ambas proteínas fue similar a la de sus controles. La expresión de  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa de las ratas STZ de 60 días fue menor en comparación con la de las ratas STZ de 5 o 30 días. Los niveles de ARNm de  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa y de TRPV6 disminuyeron a los 60 días postratamiento con STZ. En cambio, los niveles de ARNm del intercambiador  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$  fueron mayores en las ratas STZ a los 5 días, similares a los 30 días y menores a los 60 días comparados con los controles en los respectivos tiempos. Las ratas STZ exhibieron valores de GSH menores que los correspondientes a las ratas control en todos los tiempos. La actividad de CAT aumentó en las ratas STZ en relación con la de las controles a los 5 y 30 días y se normalizó a los 60 días postratamiento. En conclusión, la diabetes mellitus tipo I producida por STZ se acompaña de inhibición de la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  debido a la generación de estrés oxidativo. El efecto es transitorio, altera la vía transcelular del catión y desencadena una adaptación fisiológica tendiente a la normalización de la absorción intestinal del catión. Este puede ser un mecanismo de mantenimiento de la homeostasis del  $\text{Ca}^{+2}$  a fin de reducir la pérdida del catión en los reservorios del esqueleto. Por otro lado, el tratamiento con insulina revierte la disminución de la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  en las ratas STZ tal vez por mejorar el estado redox del enterocito.

#### **CL15. Perfil de ingesta de nutrientes y parámetros bioquímicos relacionados con la salud ósea en mujeres $\geq 65$ años**

**Brito GM<sup>1,2</sup>, Somoza J<sup>1</sup>, López LB<sup>2</sup>, Oliveri B<sup>1</sup>**

1. Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas, Hospital de Clínicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM)-CONICET-UBA. 2. Escuela de Nutrición, Facultad de Medicina- UBA

El estado nutricional y los factores socioambientales influyen sobre la salud y calidad de vida del adulto mayor. Las ingestas bajas de proteínas, calcio, vitamina K y los niveles inadecuados de vitamina D afectan la salud ósea. *Objetivos:* Estudio de diseño transversal para evaluar la variación estacional de 1) ingesta (i.) de energía (E), carbohidratos (CHO), proteínas (Prot), grasas (Gr), calcio (Ca), vitaminas D (VD) y vitamina K (VK) en mujeres  $\geq 65$  años; 2) parámetros del metabolismo óseo/mineral; 3) la relación entre la ingesta y los parámetros bioquímicos. *Población:* Grupo total (GT): 151 mujeres ambulatorias, clínicamente sanas de Buenos Aires, que no recibían medicación que afectara el metabolismo óseo/mineral o energético o suplementos de VD, realizaran dietas o tuvieran problemas deglutorios o de malabsorción. Edad ( $X \pm DS$ ) de  $72 \pm 6$  años e índice de masa corporal (IMC)  $28 \pm 4$   $\text{kg}/\text{m}^2$  (rango adecuado para la edad: 24-29  $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 102 se evaluaron en verano (GV) y 49 en otoño-invierno (GO-I). *Métodos:* 1) ficha clínica, cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos y de exposición solar (ExS) y valoración antropométrica; 2) laboratorio: en el GT se midió en suero: 25-hidroxivitamina D (25OHD), *crosslaps* (CTX), fosfatasa alcalina ósea (FAO), calcio (Cas) y fósforo (Ps), y en orina de 24 horas: índice calciuria y creatinuria (Cau/Cru). En el GV se agregó la medición en suero de osteocalcina total (OC) y no carboxilada (OCnc) y PTHi. Análisis estadístico (SPSS 19.0 para Windows). Normalidad por Kolmogorov-Smirnov. Ingestas expresadas en mediana [Pc.25-75], resto de parámetros en ( $X \pm DS$ ). Comparación entre grupos test de Mann-Whitney. Correlaciones lineales con test de Spearman. *Resultados:* El perfil nutricional (analizado de acuerdo con las ingestas dietéticas de referencia del Instituto de Medicina de Estados Unidos) evidenció una ingesta diaria adecuada de E (kcal): 1879 [1678-2153], proveniente 50% de CHO, 16% de Pr y 30% de Gr. En valores absolutos fue adecuada la i CHO (g): 256,3 [208,0-308,9], elevadas en el 33% la i Gr (g): 60,1 [51,3-77,8] y en 87% i Prot (g/kg): 1,04 [0,8-1,3] (sin superar límites máximos). I bajas en 100% de VD ( $\mu\text{g}$ ): 3,1 [1,9-4,4], en 50% de Ca (mg): 887,2 [678,5-1197,9] y 29% de VK ( $\mu\text{g}$ ): 129,7 [83,1-176,1]. Las ingestas de Ca y VD correlacionaron entre sí ( $r=0,53$ ,  $p<0,0001$ ), proviniendo en 70% y 90% de lácteos. La ExS fue similar en GO-I y GV ( $2,5 \pm 1,6$  y  $3,6 \pm 2,6$  h/semana, ns). La 25OHD (ng/ml) de GO-I:  $13,6 \pm 3,5$  [93% deficientes ( $<20$  ng/ml)] y en GV  $22,1 \pm 5,3$  (37,2% deficientes) ( $p<0,001$ ). Los promedios de los parámetros bioquímicos restantes estaban en rango de referencia y sin diferencia estacional. En el GT se observaron correlaciones positivas significativas aunque débiles de 25OHD con Cas, Ps, Cau/Cru, ExpS, iCa e iGr (rangos  $r=0,23$  a  $0,31$ ;  $p<0,02$ - $0,001$ ) en el GT y entre 25OHD e i. VD, solo en GO-I ( $r=0,312$ ,  $p<0,012$ ) y correlación negativa entre 25OHD y CTX en aquellas con niveles 25OHD  $<15$  ng/ml ( $r=-0,5$ ;  $p<0,03$ ). Los niveles de OC y OCnc no mostraron asociaciones con i., VK, i.E, IMC u otros parámetros bioquímicos. *Conclusión:* Se evidenció un patrón de ingesta insuficiente, sin variación estacional, de nutrientes involu-



crados en la salud ósea a excepción de la ingesta proteica que fue mayor que la recomendada. Se confirmó alta prevalencia de deficiencia de vitamina D en la población añosa, mayor en invierno, con impacto negativo sobre metabolismo óseo, solo en aquellas con deficiencia severa. Se refuerza la necesidad de medidas de suplementación y/o fortificación de alimentos con vitamina D y educación alimentaria en los adultos mayores. Subsidiado por: PICT 2006 N°523.

#### **CL16. Los cambios en la concentración extracelular de calcio y fósforo afectan la homeostasis de las células vasculares**

**Sandoval MJ, Rauschemberger MB, Dorronsoro A, Cutini PH, Santillán GE, Massheimer VL**

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

Se ha descrito recientemente que las células vasculares (endoteliales y musculares lisas) expresan el sensor de calcio (CaR), receptor perteneciente a la superfamilia de proteínas G, que detecta cambios en la concentración de calcio en el orden milimolar (mM). La disminución de la expresión de CaR favorece la calcificación vascular (CaV). El aumento del fósforo (P) sérico es otra de las principales causas de CaV principalmente en pacientes con enfermedad renal crónica. Disturbios en Ca o P séricos promueven la CaV por mecanismos independientes y/o por vías comunes. Nos propusimos estudiar el efecto del Ca y el P sobre procesos celulares vitales para la homeostasis vascular. Se empleó tejido aórtico intacto (anillos) o cultivos primarios de células endoteliales (CE) y musculares lisas (CMLV) aislados de aorta de ratas Wistar hembras. Se estudiaron los cambios metabólicos y fenotípicos de las células vasculares en un entorno procalcificante inducido por P o la combinación Ca/P. Evaluamos la transdiferenciación de la CMLV a linaje osteoblástico (OB) partiendo del concepto de que tanto la CMLV como el OB se diferencian a partir de una misma célula mesenquimal pluripotencial. Se cultivaron CMLV durante 25 días con glicerolfosfato (GP) 10 mM y se midió la actividad fosfatasa alcalina (FAL) como marcador de diferenciación osteoblástica y el contenido de Ca. Los niveles de actividad FAL y el contenido de Ca fueron significativamente mayores comparados con CMLV nativas (FAL:  $280 \pm 31$  vs.  $34 \pm 1,8$  UI/mg proteína y Ca:  $45 \pm 6,6$  vs.  $28 \pm 1,9$  mg/mg proteína). Cuando las CMLV se incubaron en un medio que contenía Ca y P (Ca 4 mM+GP 5 mM), se detectó un efecto sinérgico de la calcificación con respecto al uso de GP solo (FAL:  $438 \pm 35$  UI/mg proteína; Ca:  $71 \pm 8,8$  mg/mg proteína). La presencia de depósitos de Ca se corroboró por tinción con rojo de alizarina. Como control positivo se empleó la determinación de FAL en preosteoblastos de calvaria de rata. Sabiendo que la homeostasis vascular depende principalmente de la capacidad de producción de óxido nítrico (NO) por el endotelio vascular, vasoactivo que inhibe la CaV, estudiamos el impacto del entorno procalcificante sobre la producción de NO. Las elevadas concentraciones de Ca (3 y 5 mM) redujeron la biodisponibilidad de NO respecto de condiciones fisiológicas (1 mM Ca) (48% y 44% disminución con respecto al control, respectivamente). Resultados similares se obtuvieron en anillos de aorta. Se observó un notorio descenso de la producción de NO en todas las concentraciones de Ca ensayadas ( $0,69 \pm 0,10$ ;  $0,91 \pm 0,15$ ;  $0,96 \pm 0,19$ ;  $1,35 \pm 0,27$  vs.  $2,55 \pm 0,51$  nmol NO/mg proteína; 2, 3, 4 y 5 vs. 1 mM Ca). Estudiamos si el aumento del Ca afecta la capacidad del tejido de responder a su agonista natural acetilcolina (ACh), activador endógeno de la óxido nítrico sintasa (NOS). La acción estimuladora de ACh sobre la producción de NO (58% s/c,  $p < 0,01$ ) en condiciones fisiológicas (1mM) se anula cuando el calcio extracelular aumenta (2-4% s/c, 2-5 mM calcio). Los resultados presentados sugieren que un entorno procalcificante desencadena una serie de eventos perjudiciales para el sistema vascular, representados por una transformación mineral de la matriz extracelular, un cambio fenotípico de las CMLV y una incapacidad de responder a su agonista natural, procesos determinantes de la patología cardiovascular.

#### **CL17. Nano-hidroxiapatita para su aplicación en reparación de tejido óseo**

**D'Elía NL<sup>1</sup>, Gravina AN<sup>1</sup>, Laiuppa JA<sup>2</sup>, Santillán GE<sup>2</sup>, Messina PV<sup>1</sup>**

*1. INQUISUR. 2. Dpto. Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur-CONICET. Bahía Blanca.*

El hueso es un tejido considerado como un material biológico híbrido por estar compuesto por una proteína orgánica: colágeno, y por un cristal inorgánico: hidroxiapatita (HAP), que se combinan para proporcionar funciones mecánicas y de sostén al cuerpo. La HAP que compone el tejido óseo se encuentra

como cristales de 20-50 nm de longitud y forma de rodillos. Es sabido que la HAP nanométrica presenta buena biocompatibilidad y osteointegración favorable; debido a su alta afinidad a distintos tipos de moléculas, recientemente ha sido sugerida para su uso en el transporte de fármacos y en terapia génica. La síntesis de nanopartículas de HAP que nos permita tener un control preciso de su tamaño y forma es un foco de considerable atención. Una de las maneras de obtenerlas es mediante la utilización de moléculas anfifílicas autoensambladas como agentes directores de estructura, donde compuestos inorgánicos nanoestructurados se pueden montar e integrar en forma de bloques para dar lugar a superestructuras ordenadas complejas como la del hueso. El objetivo planteado para este trabajo fue sintetizar HAP nanocristalina usando una síntesis biomimética con microemulsiones como agentes directores de estructura; además, estudiar la viabilidad y adhesión celular para su posible aplicación biomédica. Para la síntesis del material se utilizaron como plantilla de la reacción micelas tipo rodillo formadas por el surfactante catiónico bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB) embebidas en una red 3D formada por diferentes polímeros. Los precursores inorgánicos ( $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) fueron agregados en secuencia a la solución de CTAB-polímero. Luego de un tratamiento hidrotérmico, el producto final fue separado de la suspensión por filtración y luego secado. Los materiales obtenidos fueron caracterizados por diferentes técnicas: difracción de rayos X (DRX), espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), microscopia electrónica de transmisión de alta resolución (H-TEM) y de barrido (SEM). La relación Ca/P fue cuantificada por energía dispersiva de rayos X (EDX). Para estudiar la bioactividad *in vitro*, los materiales fueron sumergidos en una solución de suero fisiológico simulado (SBF) a 37° durante 7, 15, 30 y 60 días. Para probar la biocompatibilidad de los materiales se evaluó la viabilidad y adhesión celular; para ello se cultivaron osteoblastos de calvaria de rata neonatal en contacto con los materiales sintetizados. Durante la caracterización de las muestras se observó que los patrones de DRX y FT-IR de los materiales sintetizados corresponden al patrón de la HAP [ $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ]. En las micrografías SEM se observa un entramado de fibras y por TEM se observa la presencia de nanorodillos con 37 nm de longitud y 8 nm de ancho. Luego del tratamiento con SBF se depositó una capa de cristales de HAP en forma de esférulas en la superficie de la muestra; esto se encuentra relacionado con la bioactividad del material y con sus propiedades estructurales. Los ensayos de viabilidad y adhesión celular se encuentran en vías de desarrollo. Durante la síntesis se obtuvieron nanocristales con forma de rodillos con morfología y características químicas similares al componente inorgánico del hueso. En contacto con SBF se formaron aglomerados esféricos de cristales de HAP cuya morfología implica una respuesta fisiológica positiva y buena capacidad de unión al tejido huésped. Varios estudios previos han demostrado que las nanopartículas de HAP utilizadas para reparación de tejido óseo exhiben una biocompatibilidad mejorada en comparación con otros materiales, por lo cual los materiales obtenidos en esta síntesis original podrían tener una amplia gama de aplicaciones biomédicas.

#### **CL18. Efecto del pamidronato en equinos con osteoartritis: evaluación de biomarcadores inflamatorios en líquido sinovial y clínico**

**De Simone E, Perrone G, Caggiano N, Polli M, Rolando J, Marino M, Roldan E\*, Chiappe Barbará MA**

*Cátedra Fisiología. Laboratorio de Diagnóstico de Metabolismo Óseo y Mineral. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. \*Gador S.A.*

*Introducción:* El pamidronato, es un amino-bifosfonato ampliamente utilizado en seres humanos y también en equinos. Se ha observado que su acción inhibitoria sobre los osteoclastos disminuye la resorción ósea del hueso subcondral, secundaria a la enfermedad articular, y por otra parte estimula la actividad de los osteoblastos. El uso de pamidronato en equinos podría evitar los fenómenos resortivos asociados a la enfermedad articular y disminuiría el proceso inflamatorio y el dolor asociado. *Objetivo:* evaluar el perfil proteico y los biomarcadores inflamatorios (IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-2 y MMP-9) en líquido sinovial de caballos que presentan enfermedad articular y que fueron tratados con pamidronato. *Materiales y métodos:* Se evaluaron marcadores de inflamación en líquido sinovial de equinos clínicamente sanos (n=5) (score clínico  $\leq 4$ ) y enfermos (n=5) (score clínico  $> 5$  a 9), antes del tratamiento y en los días 3, 10 y 21 de tratamiento. El día 0 y el día 2 se aplicaron 90 mg de pamidronato por vía intravenosa a los equinos enfermos. Las citoquinas IL-6 y TNF- $\alpha$  se evaluaron por ELISA y las MMP-2 y MMP-9 por zimografía. Se evaluó la presencia de cambios en el perfil proteico del líquido sinovial antes y después de la administración de bifosfonatos, mediante SDS-PAGE al 12%. También se evaluó la inhibición directa de



bifosfonatos sobre la actividad de la MMP-9 *in vitro* mediante zimografía. **Resultados:** La IL-6 no presentó variaciones significativas durante el tratamiento; el TNF- $\alpha$  se encontró incrementado al día 21 de tratamiento, presentando diferencias significativas respecto de los grupos sanos y “tratados día 3” ( $p < 0,001$ ) y “enfermos no tratados” ( $p < 0,01$ ). Respecto de la MMP-2, esta no presentó diferencias significativas entre los grupos y la MMP-9 presentó diferencias individuales importantes, ya que luego de la segunda dosis disminuyó de forma manifiesta el nivel de actividad de MMP-9. Se realizó también un estudio del perfil de proteínas en el líquido sinovial antes y después del tratamiento; no se observaron variaciones significativas del perfil de proteínas mayoritarias presentes. Asimismo se evaluó si los bifosfonatos presentaban inhibición directa sobre las MMP-9 y se observó que no las inhiben de manera directa. La terapia con pamidronato presentó como efecto beneficioso la reducción de la actividad de la MMP-9, proteasa que participa en los procesos degenerativos e inflamatorios mediante la degradación de la matriz extracelular. Y por otra parte el incremento del TNF- $\alpha$  observado hacia el día 21 de tratamiento podría estar relacionado con una cierta reagudización del proceso inflamatorio, situación que puede considerarse como beneficiosa para la resolución de las artritis crónicas. **Conclusión:** La terapia con pamidronato incrementó el TNF- $\alpha$  como parte de una fase de reagudización y resolución de la artritis crónica. Por otra parte, también resultó beneficiosa para la resolución de la artritis crónica la disminución de la actividad de la MMP-9 que los BP producen de manera indirecta.

#### **CL19. Calcificaciones aberrantes en esclerodermia e hiperparatiroidismo: una entidad clínica poco conocida**

**Haseitel M, Paris V, Roganovich J, Bedran Z, Staciuk F**

*Hospital Escuela de Agudos Dr. Ramón Madariaga. Posadas, Misiones*

Las calcificaciones cutáneas se clasifican de acuerdo con su etiopatogenia en: metastásicas, tumorales, idiopáticas, la calcifilaxis y las distróficas, responsables de las calcinosis en las enfermedades del tejido conectivo. De estas últimas, los pacientes con esclerodermia sistémica variedad limitada desarrollan con mayor frecuencia calcinosis. El principal mecanismo fisiopatogénico para su formación es la hipoxia de los tejidos comprometidos y el déficit de vitamina D. La calcinosis podría deberse a la reducida absorción por la piel, al compromiso renal en una enfermedad avanzada y/o a la reducción en la absorción intestinal. Presentamos dos pacientes con esclerodermia sistémica variedad limitada con calcinosis atípicas, en los que coincidían dos estados predisponentes: en el caso 1, calcinosis con hiperparatiroidismo primario y, en el caso 2, calcinosis con hiperparatiroidismo terciario. **Caso 1:** mujer de 35 años sin antecedentes patológicos previos conocidos. Comienza en los últimos 10 meses, en el contexto de su último embarazo, con hiperpigmentación cutánea progresiva, acompañada de pápulas eritematosas dérmicas con exulceración y liberación de material blanquecino de consistencia cálcica, en ambas regiones axilares y en pared anterior de abdomen y pliegues inguinales, con severo compromiso de su calidad de vida. Se realiza laboratorio inmunológico, metabolismo fosfocálcico y estudios complementarios, diagnosticándose esclerodermia sistémica variedad limitada e hiperparatiroidismo primario normocalcémico (sin criterios de afectación renal ni ósea). Al examen físico se observa esclerodactilia, hiperpigmentación cutánea generalizada, calcinosis cutánea, fenómeno de Raynaud y úlceras cicatrizales en pulpejos de dedos de manos, sin compromiso pulmonar ni esofágico. **Caso 2:** mujer de 48 años con antecedentes de insuficiencia renal crónica no filiada en diálisis peritoneal desde hace 5 años, hipertensa del mismo tiempo de evolución e hipotiroides desde hace 3 años. Es derivada para evaluación de nódulo tiroideo de rápido crecimiento. Asimismo, al interrogatorio, refiere endurecimiento de la piel con borramiento de pliegues, hiperpigmentación generalizada, dolor, rigidez y deformación progresiva en ambas manos y pies con desarrollo de múltiples fistulas espontáneas con drenaje de material granular blanquecino cálcico. Al examen físico: tiroides 20 g irregular por la presencia de nódulo tiroideo de 3 cm en lóbulo derecho; esclerodactilia y esclerosis proximal en ambos miembros superiores; calcinosis cutis generalizada; mano en garra bilateral; telangiectasias, sin compromiso esofágico ni pulmonar intersticial pero con hipertensión pulmonar leve. Se realiza PAAF que informa clase IV de Bethesda (sospechoso de proceso proliferativo folicular). Se realizan análisis bioquímicos que arrojan los siguientes diagnósticos: esclerodermia sistémica variedad limitada e hiperparatiroidismo terciario (hipercalcemia e hiperfosfate-mia). Se realiza tiroidectomía total y paratiroidectomía total con reimplante en antebrazo derecho. En la mayoría de los casos informados, la esclerodermia se asocia con hiperparatiroidismo secundario a déficit de vitamina D. La profilaxis temprana en estos casos podría prevenir el aumento de la parathormona

como reguladora de los niveles de calcio y, de esta manera, disminuir el incremento de las calcinosis, considerando, además, que en los pacientes con esclerodermia la deficiencia de vitamina D lleva a una evolución más agresiva. Más escasos aún son los informes sobre la asociación con hiperparatiroidismo primario o terciario referente a esta enfermedad, por lo cual se hace difícil el diagnóstico (ya que no se sospecha su asociación) y su manejo por ser multidisciplinario.

#### **CL20. Efecto del fluoruro de sodio sobre el cartílago de crecimiento de ratas**

**Fina BL, Roma SM, Bues F, Di Loreto VE**

*Laboratorio de Biología Ósea. Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Rosario*

La utilización de fluoruro (F) con fines terapéuticos es motivo de controversia desde hace mucho tiempo y la toxicidad del F es un problema de salud que afecta a millones de personas en el mundo. En especial los niños son una población expuesta ya que ingieren grandes cantidades de F con las pastas dentales. En trabajos previos realizados sobre el hueso esponjoso secundario de ratas en crecimiento, demostramos que el F produce la desorganización del tejido, estímulo proliferativo de células óseas y presencia de focos inflamatorios peritrabeculares con deterioro de las propiedades biomecánicas. El crecimiento de los huesos largos ocurre asociado al disco epifisario de crecimiento donde un resto de tejido cartilaginoso es reemplazado por hueso esponjoso primario. Este proceso de osificación endocondral puede ser perturbado por factores biológicos y agentes químicos sistémicos y, de esta manera, afectarse la formación de nuevo hueso y/o producir disturbios en el crecimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes dosis de fluoruro de sodio (NaF) sobre el proceso de osificación endocondral y el hueso esponjoso primario de ratas en crecimiento. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley de 21 días que se dividieron en 3 grupos experimentales de 6 ratas cada uno: NaF0: recibió vehículo, NaF20: recibió 20  $\mu\text{molF}/100$  g de peso corporal (pc) y NaF40: 40  $\mu\text{molF}/100$  g pc. La administración de NaF fue realizada diariamente durante 30 días por sonda orogástrica. Al finalizar el tratamiento se extrajeron las tibias izquierdas y se midió su longitud. En cortes histológicos longitudinales de la metafisis teñidos con hematoxilina-eosina se analizaron cualitativamente las características histopatológicas del cartílago de crecimiento y del hueso esponjoso primario neoformado. Histomorfométricamente, se midió el espesor total del cartílago de crecimiento (GPC.Th) y de las zonas de reserva (RZ.Th), proliferativa (PZ.Th) e hipertrófica (HtZ.Th), las cuales se expresaron como % del espesor total. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  error estándar y las diferencias con respecto al control se consideran significativas si  $p < 0,05$  (\*). Las comparaciones se realizaron utilizando Kruskal-Wallis, *post-test* de Dunn. La observación histopatológica cualitativa de grupos tratados comparados con los controles mostró: 1) hiperplasia de la capa proliferativa del cartílago de crecimiento sin observarse cambios en la capa hipertrófica, 2) hemorragia de leve a moderada y algunas imágenes de apoptosis en la interfase con el hueso subcondral y 3) en el hueso esponjoso primario, presencia de trabéculas inmaduras y signos de inflamación y dilatación sinusoidal de leve a moderada. Estas observaciones fueron similares para ambas dosis de NaF utilizadas. Respecto de las medidas histomorfométricas, se observó un incremento en el espesor de la zona proliferativa con el tratamiento (PZ.Th: NaF0:  $44,6 \pm 0,90\%$ , NaF20:  $46,7 \pm 1,13\%$ , NaF40:  $49,4 \pm 1,13\%$ \*) sin cambios en GPC.Th. El RZ.Th y el HtZ.Th disminuyeron con ambas dosis pero de manera no significativa. La longitud de las tibias tratadas no se diferenció de aquella de los controles sin F. Los resultados obtenidos sugieren que el F administrado crónicamente, en una dosis diaria, no produce modificaciones en el crecimiento lineal del hueso en el tiempo estudiado. Sin embargo, el F alteraría el proceso de osificación endocondral aumentando la proliferación de condrocitos, produciendo un retraso en la madurez del hueso esponjoso primario neoformado y alterando sus características.

#### **CL21. Factores asociados a osteopenia y osteoporosis en pacientes con infección por VIH**

**Mañez NS, de Paz Sierra M, Stefanini LA, Sanchez M, Lopez C, Belloso WH, Galich AM**

*Sección Infectología, Servicio de Clínica Médica, Sección Osteopatías Médicas, Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear. Hospital Italiano de Buenos Aires*

La alteración de la matriz ósea es una comorbilidad frecuente en pacientes con infección por VIH, tanto antes como después del inicio del tratamiento antirretroviral. La prevalencia de factores de riesgo convencionales para la alteración de la densidad mineral ósea, los efectos propios del virus y las ac-



ciones secundarias de agentes antirretrovirales contribuyen para el desarrollo de este fenómeno. Dado su origen celular común, el compromiso óseo podría asociarse asimismo a variaciones patológicas de la distribución de la grasa corporal. El objetivo del presente estudio fue el de establecer la prevalencia de osteopenia/osteoporosis en un conjunto de pacientes con infección por VIH y analizar las variables asociadas a su presencia. *Materiales y métodos:* Corte transversal de datos recabados de pacientes con infección por VIH en seguimiento, a quienes se les realizó al menos una densitometría. Se consideró solo una densitometría por paciente. El análisis de variables asociadas se realizó mediante test de chi cuadrado para variables categóricas y test de suma de rangos de Wilcoxon para las variables continuas, asumiendo una distribución no normal. *Resultados:* Se analizaron los datos de 77 pacientes (18 femeninos), de los cuales 75 se encontraban bajo tratamiento antirretroviral al momento del análisis; 48/66 (72%) presentaban carga viral indetectable al momento del estudio. La edad mediana fue de 41,5 años (r27-70) y la mediana de CD4+ fue de 560 (r142-1362). Treinta y un pacientes presentaron osteopenia/osteoporosis y la mediana del *T-score* para columna lumbar fue de -1,2 (-2,6 a +0,4), y para cuello femoral fue de -1,4 (-3,3 a -0,8). Cuatro de estos pacientes presentaron osteoporosis. El hábito de fumar se asoció significativamente con la presencia de osteopenia/osteoporosis (45% vs. 21%), al igual que un menor valor del índice de masa corporal [24 (18,3 a 32,9) vs. 25 (20,4 a 32,9)]. El subanálisis de los pacientes con osteoporosis demostró una asociación significativa con una menor relación entre la grasa periférica/grasa total ( $p=0,04$ ) y una tendencia a un mayor valor del índice tronco/piernas. *Comentario:* A pesar de tratarse de una muestra reducida y de conveniencia, la prevalencia de osteopenia y osteoporosis es elevada, lo cual reafirma el sustento de la recomendación de evaluar periódicamente a los pacientes con infección por VIH mediante densitometrías, especialmente a aquellos de edad más avanzada y los que presentan bajos recuentos de CD4+. El distinto comportamiento regional determina la necesidad de evaluar no solamente la densidad corporal total sino especialmente la región lumbar (L1-L4) y la cadera. En pacientes con osteoporosis se observa una asociación significativa con una alteración de la distribución de la grasa corporal.

## **CL22. Efecto del cadmio sobre la osificación endocondral en animales en crecimiento** **Rodríguez J, Mandalunis PM**

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

El cadmio (Cd) es un metal pesado que ha cobrado gran importancia en los últimos años, debido a su presencia en fertilizantes, descarte de material electrónico y residuos de tabacaleras. Varios trabajos describen que la intoxicación con este metal genera estrés oxidativo en las células de los túbulos contorneados proximales produciendo falla renal. Si bien esto último podría alterar indirectamente el metabolismo óseo a través de la deficiencia en la síntesis de vitamina D, hay evidencia de que el Cd también tendría un efecto directo sobre el tejido óseo, pero aún no ha sido totalmente clarificado y, por otra parte, no se han informado en la bibliografía estudios experimentales del efecto del Cd sobre la osificación endocondral en animales en crecimiento. Por lo antedicho, el objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto del Cd sobre la osificación endocondral en animales experimentales en crecimiento. *Materiales y métodos:* Se utilizaron 14 ratas Wistar macho de 45 días ( $65\pm 10$  g) y fueron divididas en dos grupos: al Grupo Cadmio (Cd) se le administró  $\text{CdCl}_2$  (0,5 mg/kg, Sigma) vía subcutánea 5 veces por semana durante 3 meses. El grupo control (C) recibió solo vehículo (agua bidestilada) durante el mismo tiempo. Se registró el peso (g) y la talla de los animales (cm) semanalmente. Luego de la eutanasia de los animales, se les extrajeron las tibias, las cuales se pesaron y se midieron con un vernier. El material fue fijado en formol *buffer*, descalcificado y procesado para su inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes histológicos de las tibias orientadas longitudinalmente y se colorearon con H&E. Mediante microfotografías digitales se evaluaron los siguientes parámetros histomorfométricos: a) volumen óseo subcondral (BV/TV)(%), b) espesor trabecular (Tb.Th)(mm), c) número de trabéculas (Tb.N)/(mm), d) separación trabecular (Tb.Sp)(mm), e) espesor total del cartílago de crecimiento (GPC.Th) ( $\mu\text{m}$ ), y f) volumen de médula ósea amarilla (MOA/TV) (%). Los datos obtenidos se analizaron mediante el test t-Student, considerándose significativa una  $p<0,05$ . *Resultados:* No se registraron diferencias significativas en el peso ni en la talla entre los grupos. Tibia: longitud (cm): C:  $4,28\pm 0,11$ , Cd:  $4,33\pm 0,13$   $p=\text{ns}$ , Peso (g): C:  $97,8\pm 68$ , Cd:  $90,8\pm 68$ ,  $p=\text{ns}$ . Histomorfometría: a) BV/TV(%): C:  $14,71\pm 5,28$ , Cd:  $9,35\pm 3,07$   $p<0,05$ , b) (Tb.Th)(mm) C:  $0,071\pm 0,006$ , Cd:  $0,077\pm 0,004$   $p=\text{ns}$ , c) (Tb.N)/(mm): C:  $2,07\pm 0,76$ , Cd:  $1,31\pm 0,26$   $p<0,05$ , d) (Tb.Sp)(mm): C:  $0,47\pm 0,19$ , Cd:  $0,71\pm 0,17$   $p<0,05$ , e) GPC.Th( $\mu\text{m}$ ): Control:  $307\pm 34$ , Cd:  $305\pm 27$ ,  $p=\text{ns}$ , f) MOA(%): Control:  $17,81\pm 6,21$ ,

Cd:  $27,64 \pm 9,16$   $p < 0,05$ . **Conclusión:** Los resultados obtenidos indican que el Cd afecta el tejido óseo trabecular formado mediante osificación endocondral. Futuros estudios permitirán dilucidar si la disminución de volumen óseo relacionado con un menor número de trabéculas se encuentra asociado a un aumento de la reabsorción y/o disminución de la formación. El aumento de médula ósea amarilla sugiere que el Cd podría inhibir la diferenciación de células mesenquimáticas a osteoblastos favoreciendo la diferenciación hacia adipocitos y/o aumentar la reabsorción ósea. UBACyT 20020090100210.

### **CL23. Calcifilaxis extensa: evolución favorable con manejo multidisciplinario**

**Lozano Bullrich MP, Rey M, Martínez MP, Bomarito MJ, Pozzo MJ, Vargas A\*, Vallarino C\***  
*Servicios de Endocrinología y \*Dermatología. Hospital Alemán, Buenos Aires.*

**Introducción:** La arteriopatía urémica calcificante, también llamada calcifilaxis, es una enfermedad rara que ocurre en el 1 al 4 % de los pacientes con enfermedad renal crónica (IRC), en tratamiento sustitutivo. Se caracteriza por isquemia y necrosis cutánea secundaria a la calcificación, fibrodisplasia de la íntima y trombosis de pequeñas arteriolas dermoepidérmicas. Presenta una elevada mortalidad (entre 60-80%) debido a infecciones y enfermedad vascular concomitante. Los factores de riesgo tradicionalmente citados incluyen: hiperparatiroidismo secundario, hipercalcemia, hiperfosfatemia, obesidad, sexo femenino, quelantes cálcicos del fósforo y uso de warfarina. La patogenia sigue siendo poco clara y, por lo tanto, hay falta de consenso sobre el tratamiento. **Caso clínico:** paciente de sexo masculino de 69 años con IRC en hemodiálisis trisemanal de 6 años de evolución y en plan de trasplante renal, que es derivado para paratiroidectomía y desbridamiento quirúrgico de lesiones ulceradas en miembros inferiores. Antecedentes: hipertensión, dislipidemia, reemplazo de válvula aórtica con (válvula mecánica y tratamiento anticoagulante con acenocumarol), cirugía de revascularización miocárdica y endarterectomía carotídea. Presentaba hiperparatiroidismo secundario: Ca iónico  $1,28$  mmol/l ( $1-1,30$ ); Ca:  $10,2$  mg/dl ( $8,8-10,2$ ); P:  $6,8$  mg/dl ( $2,7- 4,5$ ); PTHi:  $1752$  pg/ml ( $15-65$ ); 25OHD:  $29$  ng/ml. Al examen se observaban extensas úlceras con sobreinfección en ambos miembros inferiores por las que había sido tratado durante tres meses con corticosteroides en altas dosis por diagnóstico de vasculitis. Se realizó desbridamiento quirúrgico de las lesiones. Se reconsidera el diagnóstico previo, revisando biopsia inicial y realizando una nueva, que confirma el diagnóstico de calcifilaxis. La Rx de partes blandas con técnica mamográfica mostró calcificaciones de los pequeños vasos de la dermis. Se realizó paratiroidectomía subtotal (3 y  $\frac{1}{2}$  glándulas); en los días posoperatorios presentó extensión de las lesiones dérmicas a los muslos con placas violáceas, extremadamente dolorosas, sobre una base de eritema reticular, que progresaron en pocos días a la formación de escaras negruzcas. Las lesiones llegaron a comprometer el 60% de la pierna derecha y el 40% de la izquierda. Se inició tratamiento con tiosulfato de sodio 25 g en 100 ml de solución fisiológica intravenoso a pasar durante la última hora de diálisis con inicial mejoría del dolor. Cursó con síndrome febril y bacteriemia por enterococo tratado con ATB parenterales, según antibiograma y sobreinfección de herida con *Pseudomonas aeruginosa*. Presentó evolución favorable de las lesiones con notable reducción de estas a los 4 meses y curación completa a los 9 meses del inicio del tiosulfato (trisemanal los 3 primeros meses y bisemanal los 6 meses siguientes hasta la curación). Se agregó cámara hiperbárica 2 veces por semana a partir de los 4 meses del tratamiento y se le realizaron curaciones inicialmente trisemanales, las que fueron espaciadas según evolución. **Conclusiones:** La calcifilaxis es una complicación rara de los pacientes en diálisis. La aparición de lesiones cutáneas dolorosas que se extienden y ulceran debe hacer sospechar el diagnóstico. Se destaca la utilidad del tiosulfato en la evolución favorable, que -junto al resto de las medidas multidisciplinarias- permitió en nuestro paciente modificar el pronóstico frecuentemente fatal.

### **CL24. Displasia fibrosa monostósica de cráneo**

**Buttazzoni M, Galich AM**

*Sector de osteopatías metabólicas, Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear del Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA)*

**Introducción:** La displasia fibrosa (DF) es una patología benigna caracterizada por una proliferación anormal de tejido fibroso dependiente de la mutación del GNAS1 que determina expansión ósea. Se manifiesta en la infancia o adolescencia y cursa en general con lesiones asintomáticas. Es poco frecuente y



no es hereditaria. La incidencia reportada es 1:4.000 a 1:10.000. Representa el 2,5% de todas las lesiones óseas y el 7% de los tumores benignos óseos. La malignización ocurre en un 0,5% de la DF monostótica. **Objetivo:** Describir características clínicas y evolutivas de los pacientes con DF monostótica de cráneo. **Material y métodos:** Se realizó una búsqueda por problema en la historia clínica electrónica (HCE) (2001-2013). Se evaluaron manualmente 22 HCE en forma retrospectiva con diagnóstico DF. Se excluyeron 2 pacientes con diagnóstico final de meningioma. **Resultados:** La población, n=20 (13 mujeres y 7 varones) tenía edad media 38,9 años (rango 17-67) y al diagnóstico 31,6 años (rango 13-60). Los síntomas dependieron de la localización de la DF. El más frecuente fue cefalea (30%), luego compromiso oftalmológico (20%), deformación facial y odontalgia (15%), sinusitis y trastornos auditivos (10%); fue asintomático el 20%. El 75% de los pacientes tenía compromiso de un solo hueso. Los más frecuentes fueron esfenoides (n=5) y frontal (n=5) y el 25% fue craneofacial. El lado más afectado fue el izquierdo (50%), frente a derecho (40%) y medial (10%). El diagnóstico anatómico se realizó por TC (n=15) y/o RM (n=11). Solo el 27% de las RM se efectuaron con gadolinio y no hubo refuerzo con contraste. El centellograma óseo realizado en el 70% de los pacientes mostraba hipercaptación en la zona afectada. La mayoría (80%) se sometió por lo menos a 2 métodos complementarios (TC-RMN-CENTELLO) y el 55% (n=11) tenía confirmación diagnóstica por biopsia. La fosfatasa alcalina (FAL) fue normal. En adultos (n=11)  $75,8 \pm 35,2$  UI/l y en niños (n=5)  $94 \pm 34$  UI/l (VN 30-300 UI/l). El seguimiento (n=18) fue entre 6 y 256 meses. El 27,7% evidenció progresión (3 DF craneofacial y 2 DF esfenoides) luego de un seguimiento superior a 5 años. Ninguno mostró signos clínicos de malignización. Trece pacientes tenían centellograma óseo al diagnóstico y 7 en el seguimiento postratamiento con bifosfonatos (BF) mostrando persistencia de la hipercaptación, similar al basal. Once pacientes recibieron BF, siendo el APD EV el más utilizado (n=7). El tratamiento determinó descenso de FAL, basal  $78,7 \pm 28$  UI/l y post-BF  $62,7 \pm 16,4$  ( $p < 0,003$ ). **Conclusiones:** La DF de cráneo es una patología rara. La DF monostótica fue predominante; el esfenoides y el frontal fueron los huesos más comprometidos. Hubo predominio de mujeres y el lado izquierdo resultó el más afectado coincidiendo con la literatura.<sup>1,2</sup> El tratamiento con BF determinó descenso de FAL, similar a lo publicado,<sup>3</sup> en tanto la actividad ósea evaluada por centellografía permaneció sin modificaciones. Probablemente la disminución del remodelado óseo, relacionado con el tratamiento, determina la escasa progresión de las lesiones en el tiempo y la ausencia de sarcomatización. Dadas las localizaciones críticas de DF en cráneo sería recomendable el tratamiento con bifosfonatos. Referencias: 1. Cheng J, et al. *Orphanet J Rare Dis* 2012;7(80):3-6. 2. Nityasri V, et al. *Dentomaxillofac Radiol* 2011;40:282-9. 3. Charpulat, et al. *J Bone Miner Res* 1997;12:1749-52.

## CL25. Mecanismo de acción del alendronato en sistema vascular

Cutini PH, Rauschemberger MB, Campelo AE, Massheimer VL

Cátedra de Bioquímica Clínica II. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. CONICET

Los bifosfonatos (BF) constituyen una terapia de uso frecuente para el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica. La acción antirresortiva de los BF es mediada por conexina 43 y la vía de señalización ERKs. El estatus hormonal de la menopausia se caracteriza por una disminución de la producción ovárica de estradiol y progesterona, acompañada de niveles plasmáticos sostenidos del estrógeno estrona (E1) debido a su síntesis extragonadal. La terapia de sustitución hormonal con estrógenos combinada con progestágenos sintéticos es una alternativa terapéutica para contrarrestar los signos y síntomas de la menopausia, aún en uso a pesar de los riesgos que se le atribuyen. Si bien los efectos óseos de los BF son ampliamente conocidos, considerando la importancia del eje óseo-vascular, nos preguntamos cuál es el impacto vascular de los BF en presencia de E1 y acetato de medroxiprogesterona (MPA). Los objetivos del trabajo fueron investigar el mecanismo de acción a través del cual el alendronato (ALN) media sus efectos vasculares y realizar un estudio comparativo de la acción del BF en tratamientos conjuntos con E1 y MPA. Se emplearon cultivos primarios de células endoteliales (CE) y células de músculo liso vascular (CMLV) obtenidos a partir de anillos de aorta de ratas Wistar. Los parámetros que se estudiaron fueron: producción endotelial de óxido nítrico (NO) y migración de CMLV, procesos vitales que afectan la salud vascular. Los tiempos cortos de tratamiento (15-30 min.) con ALN ( $5 \mu\text{M}$ ) indujeron un estímulo significativo sobre la producción de NO. El mecanismo de acción del BF involucra la participación de la vía ERKs y el influjo de calcio externo. En presencia de un inhibidor de MEK (PD98059), la acción estimuladora del ALN sobre el NO se suprime ( $220 \pm 20$  vs.  $345 \pm 38$ ,  $210 \pm 21$  vs.  $221 \pm 18$  nmol de NO/mg proteína; C vs. ALN, C+PD vs. ALN+PD;  $p < 0,05$ ). El bloqueo del ingreso del calcio del medio extracelular por verapamil (V), inhibidor de canales de calcio dependiente de voltaje, anuló totalmente la síntesis del vasoactivo inducida por ALN

(238±19 vs. 245±16 nmol de NO/mg proteína; C+V vs. ALN+V; p<0,05). Cuando las CMLV se exponen prolongadamente (21 días) a un medio enriquecido en calcio y fósforo (4 mM calcio, 10 mM β-glicerol fosfato), empleando la técnica de tinción con alizarina, observamos que el tratamiento con ALN inhibió parcialmente la formación de nódulos de calcio comparado con células controles. Al analizar el tratamiento conjunto de E1 y ALN determinamos que E1 (10 nM) incrementó significativamente la producción basal de NO luego de 15 minutos de tratamiento hormonal (32% sobre control; p<0,02), y que la exposición simultánea a ALN y E1 potenció el efecto individual de cada uno de ellos (90, 60, 58% sobre control; ALN+E1, ALN, E1; p<0,05). El estudio comparativo con MPA (10 nM) mostró una acción potenciadora de mayor magnitud en el tratamiento conjunto de ALN y MPA sobre el efecto individual en la síntesis endotelial de NO (56, 80, 250% sobre control; ALN, MPA, ALN+MPA; p<0,02). La migración de CMLV es un indicador del deterioro del tono vascular. Empleando ensayos *wound healing* demostramos que 48 horas de exposición a MPA indujo un manifiesto aumento en la migración a todas las dosis ensayadas (340-320% sobre control; MPA 1-100 nM; p<0,001). Por su parte, ALN no afecta la migración basal y a su vez previene parcialmente la movilidad inducida por MPA (344±39 vs. 219±24 células/campo; MPA vs. MPA+ALN; p<0,001). La acción preventiva de ALN sobre la movilidad de CMLV se corroboró con norepinefrina, un inductor natural de migración vascular. En conclusión, el BF impacta positivamente sobre la homeostasis vascular, situación que se potencia favorablemente cuando se simula un entorno hormonal o terapéutico frecuente en el período posmenopáusico.

#### CL26. Efecto del ranelato de estroncio sobre la masa ósea: seguimiento a 3 años

Brun LR,<sup>1</sup> Galich AM,<sup>2</sup> Maffei L,<sup>3</sup> Premrou V,<sup>3</sup> Vega E,<sup>4</sup> Salerni H,<sup>5</sup> Sarli MA,<sup>6</sup> Costanzo P,<sup>5</sup> Rey P,<sup>6</sup> Larroude MS,<sup>7</sup> Moggia MS,<sup>8</sup> Brance ML,<sup>9</sup> Sánchez A<sup>10</sup>

1. Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas. UNRosario. 2. Servicio de Endocrinología del Hospital Italiano de Buenos Aires. 3. Consultorios Asociados de Endocrinología Dra. Laura Maffei. Buenos Aires. 4. CESAN, Buenos Aires. Instituto de la Mujer, Campana. 5. Consultorios de Investigación Clínica Endocrinológica y del Metabolismo Óseo (CICEMO). 6. Instituto de Investigaciones Metabólicas Dr. Zanchetta. 7. Hospital César Milstein. Buenos Aires. 8. Centro Tiempo. Buenos Aires. 9. Centro de Reumatología. Rosario. 10. Centro de Endocrinología. Rosario

El ranelato de estroncio (SrR) es un tratamiento eficaz para la osteoporosis que reduce la incidencia de fracturas vertebrales y no vertebrales. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del SrR sobre la densidad mineral ósea (DMO) y los marcadores de recambio óseo después de 3 años de tratamiento. Además, se analizó el efecto del SrR en pacientes tratados previamente con bifosfonatos (BF-previo) en comparación con pacientes que recibieron SrR como primera droga (BF-naïve). Este estudio retrospectivo analizó los registros de 482 mujeres posmenopáusicas tratadas con SrR (2 g/día) durante al menos 1 año en once centros argentinos. Del total, 41 pacientes fueron excluidos debido a datos insuficientes, por lo que fueron incluidos 441 tratados con SrR por 1 año, 108 por 2 años y 55 por 3 años. Todos los pacientes había recibido calcio (1.000 mg/día) y vitamina D (800 U/día). La DMO (g/cm<sup>2</sup>) se midió mediante absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) en un equipo GE Lunar Prodigy. Los datos se expresan como media±SEM y se analizaron con la prueba de Mann-Whitney o el test de Wilcoxon. Las características de la población completa fueron: edad (años): 67,20±0,50; índice de masa corporal (kg/m<sup>2</sup>): 24,55±0,18; calcio sérico (mg/dl): 9,36±0,02; fosfato sérico (mg/dl): 3,97±0,03; 25(OH)vitamina D (ng/ml): 32,04±1,00; PTH (pg/ml): 51,00±3,11; fosfatasa alcalina total (FAL, UI/L): 59,70±1,36; osteocalcina sérica (BGP, ng/ml): 17,02±0,98; C-telopéptidos séricos (s-CTX, ng/l): 331,10±16,03. Luego de 1 año de tratamiento con SrR, los marcadores de formación se incrementaron con respecto al basal: FAL 65,76±1,57 vs. 59,70±1,36 UI/L, p<0,0001 y BGP 22,93±1,46 vs. 17,02±0,98 ng/ml, p<0,0001, mientras que disminuyó el marcador de resorción s-CTX 305,60±16,31 vs. 331,10±16,03 ng/l, p=0,0579. La DMO aumentó significativamente en columna lumbar (CL, L2-L4), cuello femoral (CF) y cadera total (CT) al 1º, 2º y 3º año respecto del basal.

|              | basal       | 1º año      | Δ%<br>1º año | 2º año      | Δ%<br>2º año | 3º año      | Δ%<br>3º año |
|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| <b>L2-L4</b> | 0,859±0,005 | 0,890±0,006 | 3,69±0,25    | 0,900±0,012 | 7,39±0,78    | 0,928±0,012 | 10,30±0,98   |
| <b>CF</b>    | 0,718±0,004 | 0,734±0,004 | 2,25±0,25    | 0,742±0,009 | 4,36±0,57    | 0,752±0,011 | 5,38±0,85    |
| <b>CT</b>    | 0,747±0,005 | 0,759±0,006 | 1,59±0,24    | 0,773±0,016 | 4,79±0,58    | 0,793±0,018 | 6,10±1,00    |



Adicionalmente, la DMO se analizó en el grupo BF-previo (n=350) y BF-naïve (n=87) respecto del valor basal; 4 pacientes no se incluyeron en este análisis debido al uso de otros fármacos diferentes de BF. Se observó un incremento de la DMO al 1º, 2º y 3º año de tratamiento en el grupo BF-previo así como un incremento al 1º y 2º año (3º año, datos insuficientes) en el grupo BF-naïve. El % cambió en la DMO luego de 1 año de tratamiento con SrR: fue mayor en los BF-naïve: CL: BF-naïve=4,58±0,62%; BF-previo=3,45±0,28% (p=0,078). CF: BF-naïve=2,79±0,56%; BF-previo=2,13±0,29% (p=0,161). CT: BF-naïve=3,01±0,55%; BF-previo=1,22±0,27% (p=0,0006). El % cambio luego de 2 años de tratamiento no mostró diferencias entre BF-naïve y BF-previo. En conclusión, el tratamiento con SrR incrementó la DMO y los marcadores de formación ósea y disminuyó los marcadores de resorción ósea en el grupo completo con mejor respuesta en los pacientes BF-naïve al 1º año de tratamiento, sugiriendo que el SrR podría ser considerado como un fármaco de primera línea.

**CL27. Rol del AR, ER, PKC $\delta$ , JNK Y MnSOD en el efecto antiapoptótico del 17 $\beta$ -estradiol y la testosterona en células C2C12 de músculo esquelético**

**Pronsato L, La Colla A, Milanesi L, Boland R, Vasconsuelo A**

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

El 17  $\beta$ -estradiol (E2) y la testosterona (T) actúan en casi todos los tejidos, incluido el músculo esquelético. En el envejecimiento, este tejido puede presentar patologías como la sarcopenia asociada con niveles hormonales bajos que causan desregulación de la apoptosis. En trabajos previos mostramos que el E2 y la T inhiben la apoptosis inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en células C2C12. El objetivo de nuestra investigación es profundizar el conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la acción antiapoptótica de ambas hormonas. Aquí demostramos que el E2 aumenta la expresión y actividad de la superóxido manganeso dismutasa (MnSOD). Diversos ensayos farmacológicos e inmunológicos involucran al receptor de estrógenos (ER) en estos acontecimientos. Además, la expresión de la MnSOD disminuye cuando las células son tratadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, efecto que es inhibido por el E2. También mostramos que en la acción apoptótica del peróxido de hidrógeno participan PKC $\delta$  y JNK, las cuales están inactivas cuando las células son pretratadas con E2. Experimentos con el antagonista flutamida implicaron al receptor de andrógenos (AR) en la acción antiapoptótica de la T. Los datos bioquímicos e inmunológicos señalan una localización mitocondrial y microsomal del AR en las células C2C12. Los fraccionamientos en gradiente de sacarosa demuestran su presencia en *rafts* y caveolas. Además, el AR interacciona con caveolina-1, asociación inhibida por el tratamiento con T, sugiriendo que el AR se desplaza desde la membrana hacia compartimentos intracelulares. Nuestros estudios contribuyen al conocimiento del mecanismo por el cual estas hormonas regulan cascadas de señalización, esclareciendo la base molecular de miopatías asociadas con la desregulación de apoptosis por estados de deficiencia hormonales.

**CL28. Osteoporosis inducida por glucocorticoides: utilidad de las guías para la consideración de prevención y tratamiento oportuno**

**Brance ML**

*Centro de Reumatología, Rosario*

La osteoporosis inducida por glucocorticoides (OIG) es la segunda causa de osteoporosis luego de la osteoporosis posmenopáusica, y la más frecuente entre las causas secundarias. Las guías del *American College of Rheumatology* (ACR) del año 2001 ante la presencia de un *T-score* < -1 en pacientes que se encontraban recibiendo glucocorticoides (GC) en dosis  $\geq 5$  mg/día >3 meses recomendaban comenzar tratamiento para OIG, mientras que el *Royal College of Physicians* (RCP) consideraba valores < -1,5 de *T-score*. En el año 2010, el ACR publica las nuevas guías, y continúan en 2011 la *American Society for Bone and Mineral Research* (ASBMR) y en 2012 la *International Osteoporosis Foundation* en forma conjunta con la *European Calcified Tissue Society* (IOF-ECTS). Estas presentaron una serie de cambios, como la consideración de dosis mayores de prednisona, evaluar la presencia de fractura y la edad del paciente, entre otros factores. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar las características clínicas de pacientes que se encontraban bajo tratamiento con GC y el

porcentaje de la población que cumplía requisitos para considerar tratamiento según las diferentes guías. Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, descriptivo de 60 pacientes con enfermedades reumatológicas que se encontraban bajo tratamiento con GC. Los resultados se muestran como medias $\pm$ SD. Edad (años): 49,91 [15-87], IMC (kg/m<sup>2</sup>): 26,24 $\pm$ 4,99; tabaquismo: 27,58%; alcoholismo: 3,45%; sedentarismo: 95%. El 89,65% fueron mujeres de las cuales el 79,31% eran premenopáusicas. Entre los hombres, el 43% tenía <50 años. El GC más utilizado fue prednisona (93,1%), seguido de metilprednisolona (6,9%). La dosis diaria de prednisona al 1<sup>er</sup> mes fue 16,58 $\pm$ 14,95 mg, al 3<sup>er</sup> mes 14,31 $\pm$ 11,80 mg y al año 9,92 $\pm$ 8,77 mg. El 62% de los pacientes presentaba diagnóstico de artritis reumatoidea, un 17,24% lupus eritematoso sistémico y el resto correspondió a vasculitis y otras enfermedades del tejido conectivo. Un 10% de los pacientes presentaban fracturas vertebrales, de los cuales un 50% presentaba más de una fractura vertebral. Del total de pacientes fracturados, un 50% presentó nuevas fracturas desarrolladas entre los primeros 12 meses. Los niveles de vitamina D fueron de 20,41 $\pm$ 5,94 ng/ml. El 54,55% de los pacientes presentó valores <20 ng/ml, el 40,90% entre 20-30 ng/ml y solo un 4,55% presentó valores >30 ng/ml. El resto de las variables bioquímicas analizadas se encontraban en los parámetros de la normalidad. En los pacientes que presentaron fractura, la dosis anual de GC fue de 13,12 $\pm$ 11,03 mg/día, mientras que en los no fracturados la dosis anual fue de 9,14 $\pm$ 8,54 mg/día,  $p=0,07$  (Mann-Whitney U test). El porcentaje de pacientes que reunía criterios para considerar tratamiento según las diferentes guías/consensos fue el siguiente: ACR 2001 = 80%, RCP = 70%, ACR 2010 = 48,33%, ASBMR 2011 = 58,33%, IOF-ECTS 2012 = 26,66%. Un 20% no reunía criterio ni para ACR2001 ni para RCP, mientras que un 41,66% de los pacientes no reunía criterios para considerar tratamiento acorde con las guías actuales. A pesar de que un alto porcentaje de pacientes presentó un consumo de GC superior a 7,5 mg/día, más del 40% no reunía criterios para considerar tratamiento acorde con las guías actuales. Ciertas situaciones tales como la evaluación por FRAX en pacientes jóvenes, la necesidad de densidad mineral ósea en cuello femoral y no en columna para obtener el índice FRAX, la necesidad de presencia de fractura para considerar tratamiento en pacientes jóvenes son aspectos que necesitarían más estudio para tratar de evitar la fractura por fragilidad en pacientes expuestos.

#### **CL29. Acción de las células osteogénicas sobre la resistencia a la insulina. Efecto comparativo en dos cepas de ratas**

**Zeni Coronel CM<sup>1</sup>, Marotte C<sup>1</sup>, Medina MD<sup>1</sup>, Lucero DM<sup>2</sup>, Schreier L<sup>2</sup>, Portela ML<sup>3</sup>, Zeni SN<sup>1</sup>**

1. Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas, Htal. de Clínicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) CONICET- UBA. 2. Laboratorio de lípidos y lipoproteínas. Depto. Bioquímica Clínica. 3. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

La osteocalcina (BGP) es una pequeña proteína con tres residuos de ácido glutámico secretada exclusivamente por el osteoblasto, que regularía el metabolismo energético a través de la señal del receptor de insulina en dicha célula. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la obesidad sobre los niveles de BGP total y sobre la resistencia a la insulina. Para ello se estudiaron dos cepas de ratas: una, espontáneamente obesas (OB) y la otra, Wistar (W). Tres madres de cada cepa fueron alimentadas, desde el comienzo de la preñez, con una dieta adecuada a las recomendaciones para roedores que contenía un nivel de calcio de 0,6 mg%; al destete, las ratas macho (n=10 por grupo) continuaron con el mismo tipo de dieta hasta el final de la experiencia (50 días de vida). En suero se evaluaron: BGP, *crosslaps* (CTX) e insulina por ELISA, glucosa por enzimología colorimétrica. También fue calculado el HOMA-IR. Al final de la experiencia se evaluó la composición corporal (contenido de agua, proteínas, grasas y cenizas) de los animales, según metodología AOAC. Resultados (promedio $\pm$ DS): OB vs. W, respectivamente: grasa total: 39 $\pm$ 10 vs. 18 $\pm$ 4g% ( $p<0,01$ ); cenizas (g%): 2,6 $\pm$ 0,2 vs. 3,2 $\pm$ 0,4 ( $p<0,05$ ); BGP (ng/ml): 375 $\pm$ 46 vs. 840 $\pm$ 106 ( $p<0,01$ ); glucosa (mg/dl): 152 $\pm$ 69 vs. 99 $\pm$ 41; insulina (mg/dl): 4,1 $\pm$ 1,6 vs. 0,1 $\pm$ 0,0 ( $p<0,01$ ); CTX (ng/ml): 83 $\pm$ 8 vs. 94 $\pm$ 6 ( $p<0,01$ ). Los animales OB presentaron significativamente menor contenido mineral, BGP, insulina y resorción ósea, pero mayores valores de glucosa y resistencia a la insulina. *Conclusión:* La obesidad indujo una reducción en los niveles de BGP circulantes, que junto a la menor resorción ósea disminuiría los niveles de BGP biológicamente activa. Esta reducción en la bioactividad de la BGP induciría un aumento en los niveles de glucosa en ayunas y en la resistencia a la insulina. UBACyT 20020100100320.

**CL30. Hipoparatiroidismo. Tratamiento con teriparatida****Kitairodsky AV, Diehl M, Santangelo L, Lovazzano S, Galich AM, Plantalech L***Sección Osteopatías Metabólicas, Servicio de Endocrinología, Hospital Italiano de Buenos Aires*

**Introducción:** El tratamiento convencional del hipoparatiroidismo (HP) resulta insuficiente en algunos casos severos. La terapéutica con teriparatida (PTH1-34) aún no se encuentra aprobada para este uso. En trabajos previos se observó mejoría de la calidad de vida, parámetros de laboratorio y arquitectura ósea en los pacientes con HP medicados con PTH1-34. **Objetivo:** Describir las características de pacientes con HP tratados con PTH1-34. **Materiales y métodos:** Se recopilaron por búsqueda electrónica 198 historias clínicas con diagnóstico de HP. Se seleccionaron aquellas con HP permanente, mayores de 18 años tratadas con PTH1-34. **Resultados:** De 132 pacientes con HP, 8 mujeres (6,1%) de entre 25 y 75 años (a.) fueron tratadas con PTH1-34. Siete pacientes presentaban HP posquirúrgico (5, patología tiroidea benigna; 2, cáncer de tiroides; 1, hiperparatiroidismo primario) y 1, HP idiopático. Dos de ellas tenían litiasis renal y cuatro habían registrado internaciones reiteradas por hipocalcemia. La duración del tratamiento fue variable: 9 meses hasta 7 años. Presentaron mejoría de la calidad de vida y buena tolerancia 7 de 8 pacientes; una suspendió por efectos adversos (náuseas, hipotensión). Otra falleció por causa no relacionada; las 6 restantes continúan en tratamiento. La dosis de PTH1-34 fue 20 µg/día (n=3), 40 µg/día (n=3) y 20-40 µg en días alternos (n=2). Los requerimientos diarios de calcio elemental disminuyeron de 7,4±2,8 g a 2,4±1,3 g (p=0,03). El promedio basal de la calcemia era bajo (7,67±0,78 mg/dl, VN 8,5-10,5) y se incrementó post-PTH1-34 (1 a. 8,57±0,58 mg/dl; 2 a. 8,66±0,41 mg/dl; 3 a. 8,82±0,74 mg/dl, p<0,05). La calciuria basal (294 mg/día, VN <250) y el índice Ca/Cr (0,27, VN <0,30) mostraron tendencia al descenso (1 a. 264 mg/día y 0,21; 2 a. 255 mg/día y 0,22; 3 a. 217 mg/día y 0,16). Lo mismo sucedió con la fosfatemia (basal 5,7 mg/dl (VN 2,5-4,5); 1 a. 4,5 mg/dl; 2 a. 4,7 mg/dl; 3 a. 4,8 mg/dl). Los parámetros de laboratorio a los 5 (n=3) y 7 a. (n=2) de tratamiento se mantuvieron estables. La fosfatasa alcalina (50,7±15,9 UI/l, VN 34-100) aumentó (1 a. 95,1±29,9 UI/l p<0,01; 2 a. 88,8±27,7 UI/l p<0,05) superando el valor normal en 4 casos. A los 3 años resultó en rango normal en 5 pacientes (71,0±17,1 UI/l p>0,05); en un caso se vio elevación en contexto de su menopausia. Los marcadores de resorción se incrementaron en el primer año (x 2,8 veces) y luego se estabilizaron (2 a. x 1; 3 a. x 0,7; 5 a. 0,6). La densitometría ósea (DMO) basal era normal en las 3 pacientes premenopáusicas y aumentó (columna lumbar [CL] >11-18 %, cuello femoral (CF) >1,6-17%), superando en dos casos los valores normales. Se observó marcado descenso en CL en una paciente perimenopáusica tratada con dosis alternas de 20-40 µg/día (CL<31%); se disminuyó la dosis a 20 µg/día y presentó mejoría de la DMO (CL>21% y CF>14%). Ninguna paciente posmenopáusica (n=3) tenía DMO basal normal. La paciente con osteoporosis evolucionó con mejoría de la DMO (CL 1 a. >13%, 2 a. >6%, 3 a. >5%); las restantes con osteopenia se mantuvieron estables. **Conclusiones:** El tratamiento con PTH1-34 en pacientes con HP de difícil manejo permitió mantener valores adecuados de calcemia con reducción significativa de los requerimientos de calcio, mejoría de la calidad de vida y buena tolerancia. Observamos un descenso de la calciuria y aumento de los marcadores de remodelado que se normalizaron a los 3 años. Los cambios en la DMO fueron variables, por lo que consideramos de importancia el seguimiento con DMO en estas pacientes. La teriparatida es una opción para considerar en pacientes con HP complicado o con intolerancia al tratamiento convencional.

**CL31. DL-butionina-S,R-sulfoximina incrementa el efecto antitumoral del calcitriol en células intestinales neoplásicas****Liaudat AC, Bohl LP, Tolosa de Talamoni NG, Picotto G***Laboratorio "Dr. F. Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas. INICSA (CONICET-Universidad Nacional de Córdoba)*

El cáncer colorrectal es una de las causas más importantes de muerte por tumores malignos en el mundo. La incidencia y el pronóstico de esta enfermedad están en estrecha relación con los niveles plasmáticos de 25(OH)D<sub>3</sub>, metabolito indicador del estado nutricional de vitamina D. Por otro lado, la inclusión de drogas oxidantes tales como D,L-butionina-S,R-sulfoximina (BSO) aumenta la sensibilidad de las células neoplásicas a los tratamientos, especialmente en cánceres resistentes a la terapia convencional. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar el efecto del calcitriol y BSO sobre la proliferación de las células de cáncer de colon y evaluar los posibles mecanismos involucrados. Para ello, las células Caco-2, derivadas de adenocarcinoma de colon humano, se trataron con calcitriol (D) (200 nM), BSO

(100  $\mu\text{M}$ ), con ambas drogas o etanol (vehículo) en distintos tiempos de exposición. La proliferación celular se determinó por la técnica de cristal violeta. La actividad de las enzimas del sistema antioxidante superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), así como la enzima marcadora de diferenciación celular fosfatasa alcalina (FAL) y los niveles de glutatión (GSH) se midieron por espectrofotometría. El potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi\text{m}$ ) y el ciclo celular se evaluaron por citometría de flujo y la fragmentación del ADN mediante la técnica de TUNEL. La morfología nuclear se observó a través de la tinción con DAPI. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el test de ANOVA a una vía seguido del test de Bonferroni como *post-hoc*. Los resultados demuestran que tanto D como BSO inhibieron el crecimiento de las células Caco-2, efecto que resultó mayor con el tratamiento combinado. El contenido total de GSH disminuyó a las 6 y 48 horas con BSO y con BSO + D. A las 96 horas la actividad de CAT aumentó solo con el tratamiento combinado y la actividad de SOD no se modificó en ningún tiempo evaluado. BSO + D indujo arresto del ciclo celular en fase S/G2 a las 48 horas de exposición y posteriormente se observó una disminución del número de células en mitosis (96 h). La actividad de FAL y el número de células con el  $\Delta\Psi\text{m}$  alterado se acrecentaron en las células tratadas con D y con ambas drogas durante 96 horas. En conclusión, BSO incrementa el efecto antiproliferativo del calcitriol sobre las células Caco-2 mediante aumento del estrés oxidativo, arresto del ciclo celular e inducción de fragmentación del ADN. El incremento de FAL sugiere una inducción de la diferenciación celular debida al calcitriol.

### **CL32. Análisis tomográfico (pQCT) y bioquímico de los efectos de los entornos mecánico y sistémico sobre la integridad biomecánica ósea en insuficientes renales crónicos hemodializados (IRC-HD).**

**Grappiolo I, Reina P, Nocciolino L, Ferretti JL, Cointry G, Capozza R, Feldman S**

*CEMFoC/LABOATEM, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Rosario*

La integridad de la estructura ósea responde solamente a su entorno mecánico, regulando su rigidez mediante el mecanostato, y a su entorno metabólico, aportando al equilibrio del medio interno, a expensas de su rigidez y resistencia. Como la IRC-HD afecta ambos entornos, sus efectos óseos solo pueden interpretarse en conjunto. Con ese fin, evaluamos los *Z-scores* (vs. una referencia de 300 individuos normales) de indicadores tomográficos de masa (CMO y DMOv total, cortical y trabecular); de calidad material (DMOv cortical); de geometría seccional cortical “no regulada” por el mecanostato (diámetros endóstico y perióstico, espesor cortical EC, *buckling ratio* BR); de geometría “regulada” por ese sistema (momentos de inercia flexor y torsional, MIs), y de resistencia (SSI) óseos, y el área máxima muscular (AMM), en antebrazos y piernas (6 cortes/caso) de 46 hombres, 20 mujeres pre-MP y 14 pos-MP de 25-70 años con IRC-HD, y de 22 controles sanos, y los correlacionamos con su grado de actividad física (GAF) evaluado por el cuestionario IPAQ de Booth de 0 a 3 puntos, equivalentes a caminar 0 (hipoinactividad), <30, 31-70, o >70 (hiperactividad) cuadras/semanales (n=8,51,14,9), y con sus niveles séricos de PTHi y TRAP-5b. Los resultados fueron similares en antebrazos (no portantes) y piernas (portantes), pero más conspicuos en las piernas. Se describen estos últimos. La IRC-HD redujo en forma variable los *Z-scores* tibiales de masa cortical y trabecular y especialmente la DMOv cortical ( $p<0,001$ ), con menor efecto en las mujeres pre-MP (aunque con un impacto mecánico relativo incierto), y los indicadores geométricos corticales “no regulados” (no así los MIs), especialmente el EC y el BR ( $p<0,001$ ), con fuerte impacto mecánico. Los valores residuales de las relaciones entre indicadores óseos y AMM (relaciones hueso(y)/músculo(x), h/m) fueron más bajos que el control ( $p<0,05$  o mejor). El incremento de los MIs, compensatorio de la menor DMOv cortical (relación distribución(y)/calidad(x), d/c) fue francamente insuficiente (*Z-scores* < -3,0) en un tercio de los pacientes. El GAF tendió a oponerse proporcionalmente al deterioro de todos los indicadores corticales, neutralizándolo en general en el nivel 3 (con un leve incremento supernormal de los MIs en esas condiciones), en paralelo con la relación d/c ( $p<0,001$ ). El deterioro de todos los indicadores (excepto los trabeculares y los MIs) y de las relaciones h/m y d/c se acentuó con el nivel de TRAP-5 sérica ( $p<0,01$  a  $p<0,001$ ), más ajustadamente que con el de PTHi. Además de relativizar el valor clínico de las diferencias entre datos crudos, porcentuales o *Z-scores* de indicadores de masa total, trabecular o cortical en la IRC, esto indica un fuerte efecto del entorno metabólico por exceso reabsortivo (relaciones vs. TRAP-5b), responsable del deterioro estructural óseo, con fuerte impacto mecánico cortical (alta porosidad, bajo EC, alto BR) y riesgo de falla por “enrollamiento” (*buckling*), pese a la variable adecuación del control de los MIs por el mecanostato (relaciones d/c). Este deterioro predominantemente cortical explicaría la fragilidad diafisaria propia de la IRC-HD. Su causa sería el exceso



de PTHi, porque su actividad responde al control del medio interno, y no a las necesidades estructurales esqueléticas; su efecto final se define por la variabilidad del control mecanostático de los MIs. La protección que ejercen los estrógenos y el GAF (directa, o vía mecanostato) sobre todos estos efectos es evidente. Las interacciones metabólico/biomecánicas en la IRC-HD se describen por primera vez con este detalle, y analizando ambos entornos en conjunto. La cuantificación de los efectos del GAF es inédita.

### **CL33. Comparación densitométrica de tratamiento con bifosfonatos continuo vs. secuencial con ranelato de estroncio**

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

*Centro Médico Dra. Laura Maffei. Buenos Aires*

*Introducción:* La osteoporosis es una enfermedad desencadenada por una alteración del recambio óseo, con aumento en la resorción ósea y disminución en la formación. Los bifosfonatos (BF) son drogas inhibitoras de la resorción ósea y el ranelato de estroncio (SrR) es una droga de acción dual estimulante de la formación e inhibitora de la resorción ósea. *Objetivos:* Evaluar la respuesta densitométrica en pacientes que habían recibido 3 años de BF y continuaron con BF por 2 años más vs. pacientes que rotaron el tratamiento a SrR. *Materiales y métodos:* Se analizaron retrospectivamente las historias clínicas de pacientes atendidas en nuestro centro, evaluándose las densitometrías en raquis lumbar (RL) y cuello femoral (CF) al 4º y 5º año de tratamiento con BF en forma continua vs. secuencial con SrR. *Resultados:* Se analizaron 79 mujeres, de las cuales 41 recibieron BF en forma continua (74,1±9 años) y 38 recibieron SrR (70,2±8,4 años). Luego de 5 años de tratamiento más pacientes con el tratamiento secuencial que con BF continuo tuvieron mejoría densitométrica tanto en RL como en CF: 89,7% vs. 64,7% en RL  $p=0,020$  y 92,6% vs. 64,7 en CF  $p=0,01$ . Las pacientes tratadas con SrR presentaron un incremento paulatino en la DMO ( $g/cm^2$ ) en RL (0,815±0,088, 0,860±0,096 y 0,901±0,095 a los 3, 4 y 5 años de tratamiento, respectivamente;  $p=0,001$ ), BF continuo (0,875±0,117; 0,876±0,100; 0,868±0,091 a los 3, 4 y 5 años, respectivamente;  $p=ns$ ). Si analizamos los pacientes respondedores, la mejoría en la DMO en RL fue 8,90±5,21% en el grupo SrR y 4,72±3,6% en BF continuo ( $p=0,003$ ). Similares resultados observamos en CF: DMO 0,666±0,112, 0,718±0,100, 0,739±0,095 a los 3, 4 y 5 años de tratamiento, respectivamente en el grupo SrR ( $p=0,017$ ) y 0,719±0,083, 0,716±0,089, 0,723±0,084 a los 3, 4 y 5 años de tratamiento en el grupo BF ( $p=ns$ ). *Conclusiones:* El tratamiento de la osteoporosis es prolongado y muchas veces es necesario rotarlo para optimizar la respuesta o disminuir eventos adversos. El SrR mostró un aumento significativo y progresivo luego de la administración de BF en RL y CF, siendo esta respuesta superior a la administración continua de ambos. Por lo ello consideramos que la terapia secuencial BF-SrR es una herramienta atractiva en el tratamiento de la osteoporosis.

### **CL34. Compromiso significativo de la microarquitectura ósea evaluada por tomografía computarizada periférica de alta resolución en mujeres premenopáusicas con enfermedad celíaca de reciente diagnóstico**

**Zanchetta MB<sup>1</sup>, Longobardi VC<sup>1\*</sup>, Silveira F<sup>1</sup>, Zanchetta JR<sup>1</sup>, Mazure R<sup>2</sup>, Costa F<sup>2</sup>, Vázquez H<sup>2</sup>, Mauriño E<sup>2</sup>, Bai JC<sup>2</sup>**

*1. Instituto de Investigaciones Metabólicas. Buenos Aires. 2. Sección de Intestino Delgado, Departamento de Medicina Dr. C. Bonorino Udaondo, Hospital de Gastroenterología. Buenos Aires.*

*Introducción:* Está bien establecido que, en personas con enfermedad celíaca (EC), se produce un deterioro de la masa ósea, lo que condiciona un mayor riesgo de padecer osteoporosis y fracturas por fragilidad. La densitometría ósea es el método de elección para realizar el diagnóstico de osteoporosis y estimar el riesgo de fracturas osteoporóticas; sin embargo, no siempre representa un indicador preciso de daño ni un predictor fiable de riesgo de fractura. La tomografía computarizada cuantitativa periférica de alta resolución (HR-pQCT) permite la evaluación de la microarquitectura y densidad ósea volumétrica. *Objetivo:* Describir la microarquitectura ósea evaluada por HR-pQCT, en un grupo de mujeres adultas premenopáusicas con reciente diagnóstico de EC. *Métodos:* Se incluyeron en forma prospectiva 31 mujeres premenopáusicas con diagnóstico reciente de EC a quienes se les realizó DXA (Lunar Prodigy Advance) de columna lumbar (CL), cuello femoral (CF) y radio ultradistal (UD); HR-pQCT (XtremeCT; Scanco Medical AG, Bassersdorf, Switzerland) en el radio y la tibia distal; laboratorio de

rutina y específico (vitamina D, *crosslaps* sérico y PTH intacta) y anamnesis nutricional y focalizada en factores de riesgo osteometabólicos. Un grupo de 22 mujeres sanas premenopáusicas de similar edad e índice de masa corporal (IMC) se utilizó como grupo control. **Resultados:** Según el diseño del estudio no hubo diferencias en edad, peso, talla e IMC ( $p=ns$ ) entre los grupos. La edad media de las pacientes con EC fue  $30,3\pm 8,5$  y el IMC  $22,9\pm 5,8$ . El valor de Z-score en CL, CF y radio UD en el grupo con EC fue significativamente menor comparado con el de las mujeres sanas (media $\pm$ DS):  $-0,5\pm 0,9$  vs.  $0,2\pm 0,7$  ( $p=0,003$ );  $-0,2\pm 0,8$  vs.  $0,3\pm 0,8$  ( $p=0,03$ ),  $-1,9\pm 1,3$  vs.  $-0,5\pm 1,1$  ( $p=0,001$ ), respectivamente. Sin embargo, solo en el radio UD del grupo con EC el valor fue cercano al límite esperado para la edad. Los resultados de laboratorio específicos en las pacientes con EC fueron (media $\pm$ DS): 25OH vitamina D  $20,2\pm 10,4$ ; *crosslaps*  $614,1\pm 737,9$ ; PTHi  $64,6\pm 34,6$ . En el radio, los parámetros estructurales (volumen óseo:  $9,9\pm 2,6$  vs.  $13,5\pm 2,8$ ;  $p<0,0001$ , número:  $1,69\pm 0,27$  vs.  $1,89\pm 0,26$ ;  $p=0,009$  y grosor trabecular:  $0,058\pm 0,010$  vs.  $0,071\pm 0,008$ ;  $p<0,0001$ ) y volumétricos (densidad trabecular:  $119\pm 31,5$  vs.  $162\pm 34$ ;  $p<0,0001$  y cortical:  $860\pm 57$  vs.  $893,9\pm 43$ ;  $p=0,02$ ) en las pacientes con EC fueron significativamente menores con respecto al grupo control. En la tibia los resultados fueron similares (Tabla).

|       | EC (n=31)                      | Sanas (n=22)      | p                 |         |
|-------|--------------------------------|-------------------|-------------------|---------|
| Radio | Dcomp (mg HA/cm <sup>3</sup> ) | 860 $\pm$ 57      | 893,9 $\pm$ 43,0  | 0,02    |
|       | Dtrab (mg HA/cm <sup>3</sup> ) | 119 $\pm$ 31,5    | 162 $\pm$ 34      | <0,0001 |
|       | BV/TV (%)                      | 9,9 $\pm$ 2,6     | 13,5 $\pm$ 2,8    | <0,0001 |
|       | Tb.N (1/mm)                    | 1,69 $\pm$ 0,27   | 1,89 $\pm$ 0,26   | 0,009   |
|       | Tb.Th (mm)                     | 0,058 $\pm$ 0,010 | 0,071 $\pm$ 0,008 | <0,0001 |
| Tibia | Dcomp (mg HA/cm <sup>3</sup> ) | 902,7 $\pm$ 48,7  | 932,6 $\pm$ 32,6  | 0,01    |
|       | Dtrab (mg HA/cm <sup>3</sup> ) | 127,9 $\pm$ 28,7  | 157,6 $\pm$ 15,6  | <0,0001 |
|       | BV/TV (%)                      | 10,6 $\pm$ 2,4    | 13,1 $\pm$ 1,3    | <0,0001 |
|       | Tb.N (1/mm)                    | 1,53 $\pm$ 0,32   | 1,80 $\pm$ 0,26   | 0,002   |
|       | Tb.Th (mm)                     | 0,069 $\pm$ 0,011 | 0,073 $\pm$ 0,010 | 0,16    |

*Parámetros densitométricos:* Dcomp: densidad cortical. Dtrab: densidad trabecular.

*Parámetros estructurales:* BV/TV: volumen óseo (% de hueso trabecular). TbN: número de trabéculas. TbTh: espesor trabecular.

El grosor cortical no se vio afectado en ninguna de las regiones evaluadas. **Conclusión:** En este grupo de mujeres jóvenes con enfermedad celíaca de reciente diagnóstico, a pesar de tener valores densitométricos por DXA en CL y CF dentro del rango normal para la edad, observamos una grave afección de la densidad y de la estructura ósea con predominio del compartimento trabecular pero sin indemnidad de la densidad cortical. Estas observaciones podrían explicar la mayor fragilidad y prevalencia de fracturas en esta patología. En el seguimiento prospectivo de este grupo de pacientes podremos evaluar si es posible la recuperación de la densidad y estructura ósea con el cumplimiento de la dieta libre de gluten.

### **CL35. El péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP) estimula la proliferación en células de adenocarcinoma de colon humano a través de las vías de señalización ERK 1/2, p38 MAPK y PI3K/AKT**

**Martín MJ, Calvo NG, Wies Mancini V, Russo de Boland A, Gentili CR**

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

El análogo tumoral de la hormona paratiroidea (PTHrP) está presente en el feto, en la mayoría de los tejidos adultos y en diversos tumores. Su expresión se correlaciona con la gravedad del carcinoma de colon y, en ciertas líneas celulares intestinales, su sobreexpresión aumenta la proliferación celular. Previamente demostramos que el tratamiento con PTHrP exógeno ( $10^{-8}$  M) estimula la proliferación en la línea celular Caco-2 derivada de adenocarcinoma de colon humano a través de la activación de la vía ERK1/2 MAPK. En el presente trabajo se investigó si PTHrP además activa en estas células intestinales otras MAPKs y la vía de señalización de PI3K/Akt (o PKB) que median respuestas celulares como proliferación y supervivencia celular. Los resultados obtenidos por Western blot revelaron un incremento en



la activación de p38 MAPK y de Akt luego del tratamiento por 10-60 minutos con PTHrP. El aumento de la fosforilación de ERK1/2 inducida por el péptido fue revertido por LY 294002, un inhibidor de PI3K, sugiriendo que la vía PI3K/Akt participa en la activación de esta quinasa. Las imágenes obtenidas por microscopia de fluorescencia revelaron que la hormona induce cambios en la distribución subcelular de p38 y Akt favoreciendo la ubicación nuclear de ambas enzimas. Se observó además que los factores de transcripción CREB y ATF-1, que regulan genes involucrados en la proliferación celular, son fosforilados/activados por PTHrP; el aumento en la fosforilación de ambos factores es bifásico, con una fase temprana (10-15 min.) y una segunda fase que alcanza valores significativos a la hora de tratamiento. Este efecto fue abolido por los inhibidores de ERK (PD98059) y p38 MAPK (SB203580), sugiriendo que ambas MAPKs están involucradas en la modulación por PTHrP de la fosforilación de CREB y ATF-1. Finalmente, comprobamos que la proliferación de estas células inducida por el péptido es suprimida por los inhibidores PD 98059, SB 203580 o LY 294002. En conjunto, nuestros resultados indican que el PTHrP exógeno estimula la proliferación de las células Caco-2 y revelan que las vías de señalización ERK1/2, p38 MAPK y PI3K/Akt están involucradas en el efecto mitogénico de PTHrP en estas células intestinales.

### **CL36. Efectos opuestos del ácido ursodeoxicólico y del deoxicolato de sodio sobre la absorción intestinal de calcio**

**Rivoira M, Rodríguez V, Marchionatti A, Perez A, Guizzardi S, Tolosa de Talamoni N.**

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

El ácido biliar ursodeoxicólico (UDCA) se utiliza en la clínica para el tratamiento de patologías hepáticas que transcurren con retención de ácidos biliares (AB). Protege a los hepatocitos frente a AB hidrofóbicos citotóxicos como el deoxicolato de sodio (DXCS). Dado que en nuestro laboratorio se demostró que el DXCS inhibe la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  (Rivoira y col., *Comp Biochem Physiol*, 2012), el objetivo del presente trabajo fue determinar si UDCA tendría capacidad de bloquear la respuesta inhibitoria de DXCS. Además, nos propusimos conocer el efecto individual de UDCA sobre la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  y los mecanismos moleculares involucrados. Se utilizaron pollos de 4 semanas de edad: 1) controles, 2) tratados con DXCS (10 mM), 3) tratados con UDCA (60  $\mu\text{g}/100$  g peso corporal) y 4) tratados con UDCA + DXCS (vía luminal 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 proteica y génica por RT-PCR en tiempo real y por Western blot, respectivamente, de  $\text{Ca}^{+2}$ -ATPasa (PMCA1b), intercambiador  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$  (NCX1) y calbindina  $\text{D}_{28\text{k}}$  (CB). Además, se midieron por espectrofotometría las actividades de fosfatasa alcalina (FA), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD), el contenido de grupos carbonilos y de glutatión (GSH). En mitocondrias aisladas de enterocitos se estudiaron los cambios en la permeabilidad de la membrana interna mitocondrial por espectrofotometría. Los resultados se evaluaron estadísticamente mediante ANOVA a una vía, seguido del test de Bonferroni. Los resultados indican que UDCA incrementó la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  con respecto a la de los animales controles (UDCA:  $3,02 \pm 0,21$  nmol  $^{45}\text{Ca}^{+2}/\text{ml}$  plasma vs. controles:  $1,90 \pm 0,15$  nmol  $^{45}\text{Ca}^{+2}/\text{ml}$ ,  $*p < 0,05$ ). El tratamiento conjunto de UDCA + DXCS restauró el efecto inhibitorio producido por DXCS sobre la absorción del catión (UDCA + DXCS:  $1,29 \pm 0,18$  nmol  $^{45}\text{Ca}^{+2}/\text{ml}$  plasma vs. DXCS:  $0,73 \pm 0,06$  nmol  $^{45}\text{Ca}^{+2}/\text{ml}$ ,  $*p < 0,05$ ). El tratamiento con UDCA aumentó la expresión proteica y génica de PMCA1b, NCX1 y CB; el efecto sobre la expresión génica es más acentuado que sobre la proteica. El tratamiento combinado produjo niveles de expresión proteica y génica similares a los de los controles, contrarrestando el efecto inhibitorio producido por el DXCS. La actividad de FA no se modificó con UDCA, mientras que la combinación de UDCA + DXCS evitó la disminución producida por DXCS. El DXCS disminuyó el contenido total de GSH y aumentó el contenido de grupos carbonilos y la actividad de SOD. Estos indicadores de estrés oxidativo no aparecieron con el tratamiento combinado. La alteración de la permeabilidad mitocondrial producida por

DXCS se evitó cuando DXCS se administró en conjunto con UDCA. En conclusión, el UDCA favorece la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  mientras que el DXCS produce efecto inhibitorio mediado por estrés oxidativo. El tratamiento combinado con ambas sales biliares bloquea el efecto del DXCS, probablemente debido a que UDCA protege al intestino de la depleción de GSH y del incremento en la producción de carbonilos proteicos inducido por DXCS. El efecto estimulador del UDCA sobre la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{+2}$  sería a través del aumento en la expresión génica y proteica de las moléculas involucradas en la vía transcelular de la absorción de  $\text{Ca}^{+2}$ . El uso de UDCA en pacientes con cirrosis biliar primaria u otros desórdenes hepáticos podría ser beneficioso sobre la absorción intestinal del catión, contrarrestando el efecto inhibitorio del estrés oxidativo causado por los AB hidrofóbicos tales como el DXCS.

### **CL37. ¿A nivel vascular es lo mismo un SERM que un bifosfonato?**

**Rauschemberger MB, Cutini P, Cepeda S, Sandoval MJ, Massheimer VL**

*Cátedra de Bioquímica Clínica II., Dto. BByF-Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca. CONICET. UTN-FRBB*

La calcificación vascular (CaV) es la etapa más avanzada de la lesión aterosclerótica, representada por una pérdida de la arquitectura vascular y el reemplazo por estructura de tipo osteogénica. Existen procesos celulares y moleculares que inhiben la CaV entre los que se pueden mencionar: a) a nivel de células endoteliales (CE), mantener la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) e inhibir la interacción monocito-plaqueta-endotelio; b) a nivel de células musculares lisas vasculares (CMLV), inhibir la producción de NO y la proliferación y la migración celular. En trabajos anteriores demostramos que los fármacos raloxifeno (Ral), modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM) y el aminofosfonato alendronato (Al), utilizados en el tratamiento de la pérdida de masa ósea, son activos a nivel vascular. El Ral actúa a través de la activación del receptor de estrógenos y la vía mensajera PI3K, mientras que el Al lo hace a través de la cascada MAPK dependiente. Nos preguntamos cuál es el efecto de estos fármacos sobre los eventos que participan en la CaV; por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la acción de Ral y Al sobre los procesos celulares antes mencionados. Como sistema experimental se emplearon cultivos primarios de CE y CMLV o anillos de aorta de rata tratados *in vitro* con Ral 10 nM o Al 5  $\mu\text{M}$ , en condiciones fisiológicas o de calcificación (1 o 5 mM calcio en el medio extracelular, respectivamente). En CE, los dos fármacos estimularon marcadamente la producción de NO ( $85 \pm 2$ ;  $142,8 \pm 1,3$ ;  $132 \pm 7$  nmoles NO/mg prot. C; Ral; Al, respectivamente,  $p < 0,01$ ). Al estudiar la interacción de células sanguíneas y el endotelio vascular, observamos que tratamientos de 24 horas con Al inhibieron la adhesión de monocitos a CE inducida por el proinflamatorio LPS, cuantificado por microscopía óptica ( $20 \pm 3$ ;  $42 \pm 8$ ,  $28 \pm 6$  monocitos/cpo, C; LPS; LPS+AL, respectivamente). Usando el método turbidimétrico de Born demostramos que Ral 10 nM inhibe significativamente la agregación plaquetaria (IAP) dependiente de endotelio (79-55% IAP, Ral 1-10 nM,  $p < 0,05$ ). En CMLV, ambos fármacos inhibieron la producción de NO ( $144 \pm 9$ ;  $29 \pm 2,3$ ;  $66,2 \pm 3$  nmoles NO/mg prot. C, Ral; Al,  $p < 0,05$ ). En ensayos de migración celular se determinó que 48-72 horas de tratamiento con los fármacos previenen la movilidad de la CMLV. Cuando los ensayos de producción de NO se realizaron en condiciones de CaV (calcio 5 mM), el Al mantuvo su capacidad de estimular e inhibir la síntesis del vasoactivo en CE y CMLV, respectivamente (CE: 160% estímulo s/c; CMLV 48% inhibición vs. C,  $p < 0,02$ ). Bajo estas condiciones, el efecto del Al no depende del influjo de calcio externo ya que la preincubación con nifedipina (antagonista de canales de calcio) no modifica la acción del bifosfonato. En cambio, en condiciones de elevado calcio extracelular, el Ral pierde su acción sobre la síntesis de NO en ambos tipos celulares. En conclusión, los resultados presentados suponen que, si bien ambos fármacos ejercen una acción positiva sobre la homeostasis vascular en condiciones fisiológicas, el alendronato, a diferencia del raloxifeno, mantiene su potencial actividad también en situaciones desfavorables representadas por el aumento de calcio extracelular.