



COMUNICACIONES LIBRES (CL)



CL1. Adenoma solitario de paratiroides en una adolescente. Modo de presentación y evolución postquirúrgica.

Viterbo G, Tau C, Ayarzabal V, Castagneto J.

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

El hiperparatiroidismo primario es extremadamente raro durante la niñez y la adolescencia. Se presenta un caso clínico de una paciente de 16 años y 7 meses de edad, cuyo cuadro comenzó 6 meses antes de la consulta con dos episodios de cólicos renales. No presentaba antecedentes personales ni familiares de importancia. Al examen físico se halló buen estado general, peso: 47 kg (z-Score: 0,0), talla: 159 cm (Z-Score: 0,0), desarrollo puberal completo y menstruaciones regulares (menarca: 13 años). Tensión arterial: 110/70 mmHg. La exploración del cuello no evidenció patología, la glándula tiroidea presentaba tamaño normal a la palpación. Los exámenes de laboratorio mostraron hipercalcemia con rango de 11,8 a 13,9 mg/dl (v.n. 8,8-10,6), hipofosfatemia: 2,5 mg/dl (v.n. 3,0-4,5), hipercalciuria de 359 mg/día, 7,6 mg/kg/día (v.n. <4), e hiperparatiroidismo: PTH: rango de 317 a 569 pg/ml (v.n. 12-72), con función renal normal. El dosaje de catecolaminas urinarias fue normal. La ecografía de cuello mostró una imagen hipoeoica sólida de 1,8x1 cm en relación al polo inferior del lóbulo tiroideo izquierdo que coincidía con una imagen hipercaptante en la centellografía con sestamibi-Tc99 y Tc99. El diagnóstico presuntivo fue adenoma paratiroideo. Las radiografías de cráneo y miembros mostraron osteopenia generalizada moderada a severa con ausencia de la lámina dura periodontal, sin imágenes osteolíticas. Las densitometrías óseas de columna lumbar y esqueleto total informaron: L2-L4: 0,83 gr/cm², Z-score: -3,5, y 0,8 gr/cm², Z-score: -4,1, respectivamente. Se realizó la excéresis quirúrgica de la glándula paratiroidea inferior izquierda que pesaba 1,225 g y medía de 2,2x1,7 cm y la anatomía patológica informó adenoma de células principales. Los niveles circulantes de hormona paratiroidea disminuyeron a 40 pg/ml a los 15 minutos y 27 pg/ml a los 30 minutos de la extirpación de la glándula. La calcemia se mantuvo elevada, sin embargo disminuyó a 10,9 mg/dl a los 30 minutos. El primer registro de hipocalcemia postoperatoria fue a las 18 hs de la cirugía (8,3 mg/dl), cuando inició calcitriol 0,75 µg y calcio 1 gr/día, normalizando la calcemia en pocas horas durante 5 días. Luego del 6° día de la cirugía, la intercurencia de un cuadro de gastroenteritis impuso el tratamiento con calcio endovenoso por 24 hs. Persistió con hipocalcemia leve asintomática durante los siguientes 9 días, y a los 15 días de la cirugía tuvo una severa hipocalcemia sintomática con hormigueos en los dedos (Ca: 5,8 mg/dl; P: 4,2 mg/dl; PTH 138 pg/ml), por lo que se aumentó el calcitriol a 1,5 µg y el suplemento de calcio a 2 gr/día. La hipocalcemia leve, asociada a hipercalciuria, se normalizó 12 días después. La hipofosfatemia se corrigió a las 48 hs de la cirugía. Por presentar disfonía en el postoperatorio, se realizó una endoscopía que constató parálisis de la cuerda vocal izquierda. Una densitometría ósea realizada al mes de la cirugía mostró aumento de 35% de densidad mineral ósea en columna lumbar (L2-L4: 0,96 gr/cm², Z-score: -2,4), y casi no tuvo cambios en esqueleto total. Conclusión: se presenta el caso de

una adolescente con hiperparatiroidismo primario por adenoma solitario de paratiroides que evolucionó favorablemente tras la exéresis quirúrgica con normalización de los parámetros de laboratorio y recuperación parcial de la masa ósea.

CL2. Fracturas femorales por insuficiencia: Uso de teriparatida.

Plantalech L¹, Comba F², Morandi A³

¹Servicios de Endocrinología, ²Traumatología y ³Anatomía Patológica del Hospital Italiano de Buenos Aires.

El uso de bifosfonatos (BF) en el tratamiento de la osteopenia/osteoporosis es muy difundido. En los últimos años se han descrito fracturas (Fx) diafisarias y subtrocantéricas uni o bilaterales de los fémures y otros huesos, vinculadas al uso prolongado de BF; se las denomina Fx atípicas. Presentamos el caso de una paciente con fracturas bilaterales de ambos cuellos femorales y la respuesta al tratamiento con teriparatida. Caso clínico: Una mujer de 65 años consultó por dolor de cadera izquierda de 9 meses de evolución. Se observó fractura incompleta de cuello femoral izquierdo e incipiente derecha (Fx de Milkman). Se colocó un clavo endomedular y se la deriva por inadecuada consolidación ósea y presencia de Fx de cadera derecha incompleta medial. Se le diagnostica osteoporosis/osteopenia por densitometría ósea (DMO) cuatro años antes y se la trata durante los dos últimos años con alendronato y calcio. Refiere como antecedentes: litiasis renal, hipotiroidismo, hipertensión arterial, antecedentes familiares de cáncer de colon y mama. Se destaca dificultad en la marcha y dolor a la movilización pasiva de ambas caderas. Datos complementarios: Rx de ambas caderas Fx completa subcervical de fémur izquierdo (clavo endomedular) e incompleta del fémur derecho. Engrosamiento de las corticales femorales. DMO Raquis lumbar: 0,854 mg/cm², T -2,0/ Femur Total: 0,963 mg/cm², T: -0,1. Centellograma óseo captación del radionucleido en ambos cuellos femorales a predominio izquierdo. Laboratorio: PTH 147 (65 pg/ml), 25OHD 16,5 ng/ml, Falc 33 (40-100U I/L) FAO: 25 (10-43 UI/ml), calcemia: 8,4 mg%, fosfatemia 2,5 mg%, N-telopéptidos: 46,7 nm/nmolcr, Ca/cru 0,15. La biopsia ósea (histomorfometría) de cresta ilíaca revela: Disminución del volumen trabecular (7,8%), ausencia de tejido osteoide (Vol y sup osteoide 0%), Idem superficie de resorción ósea, de osteoblastos y osteoclastos. Superficie con doble marcación disminuida (2,9%), superficie con simple marcación incrementada (3,42%), velocidad de mineralización retardada (0.3 micrones/día). Se diagnostica hueso adinámico. Se indica tratamiento con calcio y colecalciferol 100.000 UI/bimestral. Mejora la calcemia e incrementa la calciuria, se agrega tiazidas, corrige el hiperparatiroidismo óseo. A los 3 meses se inicia teriparatida 20 U/diarias SC. Se observa a los 6 meses, mejoría radiológica de la Fx derecha y parcial de la izquierda. Disminución de la captación del radiotrazador en la cadera izquierda y ausencia en la derecha de marcación ósea en el centellograma. Incremento de los marcadores bioquímicos del remodelado óseo. Continúa con vigilancia ortopédica y con el tratamiento con teriparatida, calcio, tiazidas y vitamina D. Conclusión: En este caso se observó fracturas por insuficiencia en ambos cuellos femorales (no clásica) en una paciente con poco tiempo de exposición a BF debida a la presencia de hueso adinámico. El tratamiento con teriparatida fue útil en mejorar la fractura contralateral y formar el callo óseo en el fémur intervenido. La vinculación de Fx atípicas del fémur con el uso crónico de bifosfonatos es controvertida y se postula cierta predisposición a este tipo de fracturas en sujetos con bajo remodelado óseo (previo al tratamiento con BF). Se destaca la importancia de evaluar el tipo de biología ósea antes de indicar potentes BF. La teriparatida activa las unidades de remodelación ósea y es un tratamiento útil para este tipo de fracturas con lenta consolidación ósea.

**CL3. Efecto del ejercicio moderado sobre el metabolismo óseo en ratas Wistar adultas.**Pietrelli A^{1,2}, Bryk G³, Paglia N^{1,4}, Orzuza R^{1,3}, Zeni S^{3,5}, Basso N^{1,5}

¹Departamento de Investigación, Fac. de Medicina, Universidad de Ciencias Empresariales y Sociales (UCES). ²Instituto de Biología Celular y Neurociencias "Prof. E. De Robertis", UBA, CONICET. ³Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas. UBA, CONICET. ⁴Instituto de Investigaciones Cardiológicas "Prof. Alberto C. Taquini", UBA, CONICET. ⁵Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, UBA, CONICET.

Es conocido que la actividad física es un factor importante para alcanzar una óptima densidad mineral ósea (DMO) durante la juventud y reducir la tasa de resorción ósea en la adultez. El tejido óseo responde iniciando osteogénesis cuando se lo somete a procesos dinámicos de carga (actividad física). Sin embargo, se sugiere que para que dicha actividad tenga un efecto osteogénico, los procesos mecánicos de carga aplicados a huesos deben ser mayores a los realizados comúnmente en la vida diaria. En este sentido, varios reportes recientes demuestran una relación significativa entre el ejercicio de resistencia aeróbica y la DMO. Además diversos ensayos clínicos han demostrado la relevancia de su impacto en distintos aspectos como por ejemplo: reducción en los niveles de glucosa (Glu), colesterol total (Col. T), LDL-colesterol, triglicéridos (TGL) y aumento en los de HDL-colesterol, considerándolo uno de los mejores medios no-farmacológicos para reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. En los últimos años se ha señalado la correlación negativa entre masa ósea y tejido graso ya que este último libera citoquinas proinflamatorias responsables de favorecer la osteoclastogénesis. Objetivo: En el marco de un amplio proyecto experimental, evaluar los cambios en la DMO y el contenido mineral (CMO) del esqueleto total y subáreas por efecto de entrenamiento aeróbico crónico en ratas macho Wistar desde el período pre-puberal hasta la adultez. Materiales y Métodos: Un total de 16 ratas Wistar machos (200-300 g) fueron asignados aleatoriamente a uno de los siguientes grupos: entrenamiento aeróbico (EA) (n=8) ó controles sedentarios (CS) (n=8). La metodología empleada trata de reproducir las adaptaciones cardiovasculares, respiratorias, metabólicas y a nivel de SNC que ocurren en humanos expuestos al ejercicio realizado, sin fines competitivos ni de alto rendimiento, practicado de manera moderada y regular a lo largo de la vida. Los animales fueron entrenados desde los 2 meses de edad (pre-puberal) hasta los 12 meses (adultez o mediana edad), en un "treadmill" motorizado siguiendo una rutina de características aeróbicas: baja a moderada intensidad que representa el 65-70% del consumo máximo de oxígeno (VO₂ max), con una frecuencia de 3 veces/semana y, con un progresivo ajuste de la carga total (frecuencia, duración y pendiente) en función del rendimiento y la edad. Todos los procesos experimentales fueron realizados durante el periodo de oscuridad (actividad). En suero se evaluaron calcio (Ca), fósforo (P), fosfatasa alcalina ósea (FAO), Col-T, Glu y TGL. Al sacrificio se evaluó la composición corporal, CMO (g) y DMO (mg/cm²) del esqueleto total (et) por DXA (Small Animal Software, Lunar DPX). Resultados (X±SD):

Ratas	CMO (g)	Área (cm ²)	DMO (mg/cm ²)	Grasa (%)	Tejido (g)	Grasa (g)	Magro (g)
CS	13,4±1,4	39,2±3,2	342±80	28,3±3,9	581±46	165,5±32,2	415±26
EA	16,6± 0,8*	46,6±1,7*	356±50	11,8±3,5*	562±41	66,7±23,2*	495±31*

Ratas	CaS (mg/dL)	PS (mg/dL)	FAO (UI/L)	Col.T(mg/dL)	Glu (mg/dL)	TGL (mg/dL)
CS	9,6±0,4	6,4±0,5	29±5	121±6,8	182±28	135±13
EA	9,3±0,3	5,7±0,8	27±2	115±7,8*	191±12	130±38

(*) p<0,01 EA vs. CS

Conclusiones: Bajo las presentes condiciones experimentales, el ejercicio aeróbico da lugar a una mayor masa ósea que junto con una marcada disminución de tejido graso y aumento de tejido magro, para un mismo peso corporal, sugiere la existencia de una interrelación negativa entre contenido de masa grasa y hueso. Subsidio: Asociación de Fomento a la Investigación Científica (AFIC).

CL4. Evaluación tomográfica frontal de las superficies óseas articulares de cóndilos mandibulares.

Azcona S, Giambartolomei L, Pescio J, Salica D.

Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

Introducción: el compromiso de las articulaciones témporomandibulares, constituye una patología frecuente en la práctica médica y odontológica, para cuyo diagnóstico se hace indispensable recurrir a medios imagenológicos complementarios a la clínica. Objetivos: diseñar un método de evaluación de tomografía axial computada frontal que permita determinar el compromiso de la estructura ósea superficial del cóndilo mandibular. Materiales y métodos: Se relevaron 40 articulaciones témporomandibulares (ATM) en 20 personas desdentadas portadoras de prótesis (12 mujeres y 8 varones), se cuantificaron en 80 superficies articulares los grados de osteoartrosis mediante tomografía axial computada (TAC), en cortes coronales frontales de CM. Para el estudio se retiraron las prótesis dentales y en su lugar se interpuso un bloque de silicona de 18 mm. de alto por 40 mm. de largo y 11 mm. de ancho, con el objetivo de estandarizar la separación de ambos maxilares. Luego se ubicó al paciente decúbito prono con la cabeza en la mayor flexión posible y se lo inmovilizó mediante los posicionadores provistos en la camilla del equipo. Se procedió a obtener la imagen craneal de referencia en esta posición y se paralelizó la guía del equipo con el eje largo de la mandíbula, generando un ángulo de inclinación que el operador trasladó a la posición del emisor de radiación (*gantry*). Se utilizó un tomógrafo helicoidal computado General Electric CTE High Speed Helicoidal; con la workstation Advantage Windows 4.0; el software: eFilmLite 1.5.2; en los parámetros se determinaron: 120,0 Kv. 160,0 Ma. Matriz: 512 x 512 Ventana maxilar (bone). Cortes cada 1 mm. Para la identificación de la superficie se utilizaron parámetros anatómicos a partir de una línea media paralela a la rama mandibular que determinó la superficie articular medial (SAM) y lateral (SAL). Para la cuantificación de las alteraciones de la cortical ósea se determinaron: Grado I: cortical conservada y continua, médula ósea de imagen normal. Grado II: cortical interrumpida, sin afectación de la médula ósea (osteoartrosis leve). Grado III: pérdida de la cortical, más pérdida de médula ósea (osteoartrosis severa). En la secuencia de imágenes obtenidas se seleccionó el corte más representativo, el criterio de elección fue la mayor dimensión ósea látero-medial, determinada mediante el uso de la herramienta digital prevista en el software descripto. Resultados: Para la SAM: según el orden de incidencia, la osteoartrosis de superficie se evidenció en igual número de casos (12) para el Grado I (normalidad) y el Grado III (mayor afección); sin embargo la mayor incidencia correspondió para al Grado II (menor afección, 16 casos). Por otra parte para la SAL: según el orden de incidencia, la osteoartrosis de superficie se evidenció en igual número de casos (11) para el Grado I (normalidad) y el Grado III (mayor afección); sin embargo la mayor incidencia fue para el grado II (menor afección, 18 casos). Se constató osteoartrosis en las superficies articulares, según su orden de incidencia en las superficies lateral y medial del CM. La coincidencia entre las superficies afectadas SAM (28) y SAL (29) se reportó en 21 casos (75,5%). Para la probabilidad estadística de 0,05 el Test de Chi Cuadrado resultó



0,589 y el Test Exacto de Fisher de 0,704. Conclusiones: La principal afección encontrada a nivel de las superficies óseas articulares de cóndilos mandibulares, fue la osteoartrosis (leve y severa). La TAC en cortes frontales, en esta evaluación resultó la apropiada como complemento del diagnóstico de las afecciones de las superficies óseas articulares de la ATM.

CL5. Efecto del fluoruro sobre el consumo de oxígeno por diferentes tejidos de la rata. Estudio con concentraciones comparables a las halladas *in vivo* en tratamientos habituales con fluoruro.

Fina BL, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

El fluoruro ingresa al organismo a través de alimentos, durante tratamientos contra pérdida de masa ósea o como prevención de la aparición de caries dentales. Tiene efecto osteoformador, pero se ha demostrado que puede afectar el estrés oxidativo, la cadena respiratoria y enzimas de la glucólisis. La información es contradictoria y no siempre las concentraciones utilizadas son comparables a las halladas *in vivo*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del fluoruro sobre el consumo de oxígeno en tejidos animales, cuando el fluoruro se encuentra en concentraciones semejantes a las halladas en plasma luego de una dosis para tratamiento de osteoporosis o luego del consumo de agua con concentración de flúor utilizada en la prevención de caries. Se midió el consumo de oxígeno de cortes de hígado, riñón y músculo con concentraciones de fluoruro 0-100 μM con un electrodo de Clark. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley que se dividieron en tres grupos experimentales: controles; tratadas con F^- : que recibieron agua de bebida con NaF 15 ppm durante 30 días y OVX+MFP: ratas ovariectomizadas que recibieron monofluorofosfato de sodio 80 $\mu\text{mol/día}$ durante 60 días. Los dos tratamientos aplicados son coincidentes con prácticas farmacológicas en la prevención de caries dentales y la osteoporosis postmenopáusica, respectivamente. Los animales no recibieron tratamiento las 12 hs previas a las determinaciones y se obtuvieron los tejidos mencionados luego de practicar la eutanasia de los animales. Se prepararon cortes de $1 \times 1 \text{ mm}$ y se incubaron sucesivamente con concentraciones de fluoruro 0, 10, 50 y 100 μM a 37 °C. Se observó que la presencia de fluoruro en el buffer de incubación disminuye el consumo de oxígeno en el tejido hepático y muscular de los tres grupos experimentales. Lo contrario sucedió con el tejido renal. La tabla muestra los valores de consumo de oxígeno (nmol/min mg proteínas) como media \pm SEM de los tres grupos experimentales. * indica diferencia significativa respecto de 0 μM . No se compararon consumos entre tejidos.

	Grupo	0 μM	10 μM	50 μM	100 μM
Hígado	Control	15,67 \pm 2,53	13,07 \pm 2,64	11,45 \pm 2,72*	10,47 \pm 2,22*
	Tratadas con F	14,86 \pm 1,45	10,66 \pm 0,95	10,49 \pm 1,57*	9,38 \pm 1,07*
	OVX+MFP	13,05 \pm 0,90	11,60 \pm 0,84	11,20 \pm 0,83*	10,24 \pm 0,75*
Riñón	Control	18,20 \pm 1,23	19,34 \pm 1,36	24,10 \pm 1,89	31,93 \pm 2,53*
	Tratadas con F	13,96 \pm 1,83	15,70 \pm 1,96	22,45 \pm 3,00	29,04 \pm 5,18*
	OVX+MFP	18,63 \pm 2,01	30,10 \pm 5,54	37,08 \pm 7,14*	32,03 \pm 2,99*
Músculo	Control	9,55 \pm 1,05	5,43 \pm 0,75	5,27 \pm 1,03	4,57 \pm 0,93*
	Tratadas con F	11,58 \pm 4,21	8,03 \pm 3,19	6,62 \pm 3,69	5,48 \pm 2,59*
	OVX+MFP	9,38 \pm 2,11	6,78 \pm 1,33	5,62 \pm 2,07	3,98 \pm 1,44*

Se determinó actividad de transaminasas, creatina kinasa y clearance de creatinina en los animales a los que se les determinó consumo de oxígeno. Se realizó estudio anatomopatológico de los tejidos utilizados. Las variables mencionadas indicaron que los tejidos no presentaban alteraciones al inicio de las mediciones. En conclusión, el fluoruro produce modificaciones del consumo de oxígeno con concentraciones comparables a las halladas *in vivo* luego de la ingestión de fluoruro en forma terapéutica. Estos resultados estarían indicando que la modificación del estrés oxidativo podría deberse a cambios en la producción de especies reactivas de oxígeno a nivel de la cadena respiratoria. Experimentos adicionales para determinar el efecto del fluoruro sobre las enzimas antioxidantes con estas mismas dosis están siendo realizados.

CL6. Modelo experimental de osteonecrosis asociada al uso de bisfosfonatos. Estudio piloto.

Pellegrini GG^{1,2,3}, Gonzales-Chaves MMS^{1,2,3}, Marotte C^{1,2,3}, Bryk G³, Orzuza R¹, Somoza J^{2,3}, Friedman SM¹, Zeni SN^{1,2,3}.

¹Cát. de Bioquímica Gral y Bucal, FOUBA; ²CONICET; ³Sección de Osteopatías Médicas. Htal. de Clínicas UBA.

Los bisfosfonatos (BPs) se han utilizado por más de 40 años en el tratamiento de osteoporosis y por más de 5 años en el tratamiento de neoplasias. Recientemente se ha sugerido un potencial efecto colateral negativo, especialmente de aquellos más potentes, como la osteonecrosis de los maxilares (ONM). La frecuente localización de la ONM en los maxilares podría deberse al estrés fisiológico al que se encuentran sometidas dichas áreas, únicas en exponer hueso al medio externo. Si bien la fisiopatología es desconocida se postula que la disminución de la resorción ósea que ejercen los BPs contribuiría a la falla que ocurre en el remodelamiento óseo alrededor del alvéolo post-exodoncia. Objetivo: fue investigar aspectos de la patogénesis de la ONM inducida por el uso de BPs en el tratamiento de neoplasias a partir del desarrollo de un modelo experimental. En este resumen presentaremos el modelo y su desarrollo y algunos de los hallazgos obtenidos. Materiales y métodos: 24 ratas Wistar adultas hembras ovariectomizadas permanecieron 60 días libres de tratamiento y/o intervención con el objeto de provocar osteopenia por deficiencia estrogénica. A continuación, se las inoculó con dime-tilbenza [a] antraceno (DMBA) en una dosis suficiente para causar un 100% de incidencia tumoral mamaria. Al día 75 se dividieron en 3 grupos, que recibieron: pamidronato (PAM) o ácido zoledrónico (ZOL) en la dosis equivalente a la suministrada en los casos oncológicos humanos mientras que el 3er. grupo sólo recibió solución fisiológica como vehículo (Vh). Con el fin de diferenciar entre ONM inducida y espontánea, a los 4 meses de iniciado el tratamiento con BPs (equivalentes a 3 años en el humano) (*Abu-Id M, et al, 2008; Marx Re, et al, 2003*), se sometió a 4 animales de cada grupo a la exodoncia del 1º molar inferior. Diariamente se observó la mucosa oral para determinar cambios clínicos (supuración, inflamación). Al final del estudio se tomaron radiografías de ambos maxilares y en sangre se evaluó: calcio total (espectrofotometría de absorción atómica); fósforo (espectrofotometría UV-Visible Metrolab 2100); fosfatasa alcalina (FAL) total e isoenzima ósea (FAO) (colorimetría, previa precipitación de la isoforma ósea con lectina de germen de trigo). Resultados: a) clínicos: Si bien durante las exodoncias mandibulares ocurrieron fracturas ocasionales que resultaron en la presencia de restos radiculares, se observó cicatrización alveolar en todas las ratas del grupo con Vh así como en las tratadas con PAM, contrariamente se observó retardo cicatrizal, presencia de supuración y signos inflamatorios en las ratas del grupo ZOL. El sitio no cicatrizado permaneció en los ani-



males con ZOL 30 días luego de la intervención dental. b) bioquímicos en suero: Ca (mg/dL) Vh=10,0±0,1a; ZOL=10,0±0,1a; PAM= 9,9±0,1a (n.s). P (mg/dL): Vh = 6,2±0,2a; ZOL=6,6±0,2a; PAM=7,4±0,4b (p<0,05). FAO (UI/L): Vh= 82±7a; ZOL= 54±3b; PAMI= 75±7a (p<0,02). FAL (UI/L): Vh= 498±33a; ZOL= 435±22a; PAM= 466±14a (n.s). Los niveles de calcemia no presentaron diferencias significativas, sin embargo los niveles de fosfatemia fueron significativamente mayores en el grupo tratado con Vh vs. PAM; los de FAO fueron significativamente menores en los animales tratados con ZOL respecto de los otros dos grupos. Conclusiones: Si bien se debe perfeccionar el modelo se observó que bajo nuestras condiciones experimentales aquellos animales con neoplasia tratados con ZOL y a los cuales se les realizó una intervención dental presentaron retardo cicatrizal y menor nivel de remodelamiento óseo, dos situaciones que podrían estar implicadas en la aparición de ONM.

CL7. Estudios clínicos, moleculares y de la homeostasis ósea en pacientes con Hiperplasia Adrenal Congénita

Martín S¹, Muñoz L¹, Pérez A², Sobrero G¹, Picotto G², Ochetti M¹, Carpentieri A², Silvano L¹, Díaz de Barboza G², Signorino M¹, Rupérez C³, Bertolotto P³, Ulla MR⁴, Tolosa de Talamoni N², Miras M¹.

¹Servicio de Endocrinología Hospital de Niños, ²Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular FCM-UNC, ³FAMAF-UNC. ⁴CEOM - Córdoba, Argentina.

La terapia crónica con glucocorticoides utilizada en pacientes con Hiperplasia Adrenal Congénita (HAC) puede alterar el crecimiento e inducir alteraciones en la homeostasis ósea. Diferentes polimorfismos incluidos los de los genes del receptor de vitamina D (VDR), del receptor de estrógenos (ER), de IGF1 y del gen del receptor de glucocorticoides (GCR) han sido asociados con variaciones en la homeostasis ósea y en la respuesta terapéutica. Objetivos: 1) Determinar indicadores de la respuesta a la terapia con glucocorticoides. 2) Analizar la frecuencia de variantes polimórficas de diferentes genes y determinar posibles asociaciones con marcadores del *turnover* óseo y del sistema IGF. 3) Analizar los resultados del tratamiento en relación a tallas finales. Sujetos y Métodos: En 59 pacientes (0,50-34 años) se determinaron: 17-OH-progesterona, androstenediona, DHEA-S, testosterona, osteocalcina, β -crosslaps, IGF1 y IGFBP3. Utilizando el método PCR-RFLP se analizaron polimorfismos de los genes: receptor de vitamina D (Bsm I y Fok I), receptor de estrógenos (Pvu II), colágeno tipo1 (Bal I), GCR (Bcl I) y microsatélite de IGF1, en pacientes HAC y en 114 controles normales. Se analizaron datos de talla final de 43 pac HAC. Resultados: SDS de tallas finales fueron: masc. -1.46, fem. -0.96. La frecuencia relativa de los diferentes polimorfismos estudiados fue similar a la de los controles. No se observó asociación entre polimorfismos y marcadores del metabolismo óseo, IGF1 ni DMO. Conclusiones: Nuestros datos muestran que los parámetros del metabolismo óseo y los genotipos analizados, con una distribución comparable a la población normal, no son suficientes para explicar variaciones en el crecimiento y tallas finales obtenidas.

CL8. La cantidad diaria administrada de vitamina D (D) sería un factor importante para igualar la efectividad del colecalciferol y ergocalciferol.

Gonzales Chaves MMS^{1,2,3}, Marotte C^{1,2,3}, Pellegrini GG^{1,2,3}, Friedman SM³, Zeni SN^{1,2,3}

¹Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas. UBA, ²CONICET, ³Bioquímica General y Bucal. Facultad de Odontología. UBA. Argentina.

Algunos autores consideran que D₂ y D₃, a igualdad de dosis diaria, presentan la misma efectividad para elevar y mantener los niveles séricos de 25OHD (Holick, 2008). Sin embargo otros autores sugieren que D₃ es más efectiva que D₂ (Romagnoli, 2008). Objetivo: Determinar en un modelo de insuficiencia de D y osteopenia establecida (Bone, 2006) si la efectividad de la D₂ y D₃ varía en función de la cantidad diaria administrada. Se estudiaron 128 ratas Wistar adultas (200±50 g), 64 fueron ovariectomizadas (OVX) y 64 sufrieron una operación simulada (SHAM). Durante 15 días postcirugía todas recibieron una dieta comercial (Granave SA, Bs As) que aportaba los nutrientes necesarios según los estándares internacionales. Luego adicionalmente por 45 días recibieron una dieta semisintética según AIN97 sin D (0UI%), para desarrollar insuficiencia. A los 60 días se las dividió en 2 grandes grupos: A: 100IU% y B: 200IU% de D₂ ó D₃, respectivamente. Inicialmente en 16 ratas al azar se determinó el nivel basal de 25OHD (ng/ml) (¹²⁵I RIA Kit, DiaSorin, Stillwater, MN, USA) y luego se evaluó este metabolito en todas las ratas a los 60, 85 y 105 días de experiencia. Los resultados longitudinales de los niveles de 25OHD (ng/ml) fueron los siguientes (x±ES):

Grupo A	T=60	T=85	T=105	Grupo B	T:60	T:85	T:105
OVXD ₃	6,0±0,7a	12,9±2,5c	14,5±2c	OVXD ₃	5,0±0,6a	15,1±0,6b	15,9±1,0b
OVXD ₂	6,4±0,5a	8,9±1,0b	8,7±0,9b	OVXD ₂	5,0±0,9a	16,6±1,5b	15,5±0,3b
SHAMD ₃	7,0±0,4a	11,6±1,0c	14,0±1,9c	SHAMD ₃	6,0±1,2a	16,9±2,1b	18,0±1,3b
SHAMD ₂	6,0±0,5a	7,7±0,9b	8,1±0,7b	SHAMD ₂	4,8±0,5a	14,7±1,4b	15,5±0,9b

Letras diferentes indican un p<0,05

Los niveles basales de 25OHD fueron: 19,2±0,3 ng/ml; a T=60 no existieron diferencias entre los grupos estudiados. El grupo B no presentó diferencias en los niveles de 25OHD desde el día 85 y hasta el final de la experiencia; en cambio, en el grupo A los niveles de 25OHD alcanzados por aquellos animales que recibieron D₃ fueron significativamente mayores que aquellos que recibieron D₂. Conclusiones: Bajo nuestras condiciones experimentales, en condiciones de insuficiencia de D, la D₃ y D₂ tendría diferente efectividad según la cantidad diaria administrada. PIP 6483

CL9. Metodología DXA en la evaluación de las modificaciones densitométricas, geométricas y de la redistribución de la masa ósea del cuello femoral asociadas a la edad.

Claus-Hermberg H, Lozano MP, Rey M, Martínez MP, Pozzo MJ.

Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina

Introducción: la perimenopausia marca el comienzo de un descenso más acelerado de la densidad mineral ósea (DMO) del esqueleto. En el cuello femoral (CF) ésta se acompaña de un aumento de su volumen por aposición perióstica y una redistribución de su masa ósea que son interpretados como una adaptación de sus propiedades geométricas y estructurales, funcionales a las exigencias de la bipedestación, compensando la pérdida progresiva de la masa ósea. De acuerdo a algunas hipótesis este proceso debilitaría al CF para resistir cargas en otras configuraciones, consecuentes de caídas laterales. El objetivo del presente estudio fue examinar si el DXA puede capturar algunas de las transformaciones del CF mencionadas y descritas con métodos de imágenes en 3D más sofisticados. Materiales y métodos: estudio observacional y transversal. Se incluyeron 224 mujeres mayores de 45 años a las que se les realizó una DMO de la cadera izquierda con un equipo LUNAR PRODIGY. Se midieron DMO, conteni-



do mineral óseo (CMO) y área (A) del cuello femoral y CMO del sector superior (CMOsup) e inferior (CMOinf) del mismo. Se registraron la talla y el peso. Análisis y estadística: el CMOsup y CMOinf se relacionaron como un parámetro por la razón CMOsup/inf. Estadística descriptiva. Test de student para la comparación y diferencias de medias entre grupos. Test de regresión de Pearson. Análisis multivariado. Resultados: DMO, CMO, CMOsup y CMOinf descendieron mientras que el A aumentó con la edad. El CMOsup y CMOinf descendieron en forma asimétrica: el CMOsup fue un 17% menor en el cuartilo de edad mayor que en el menor, mientras que el CMOinf fue un 8% menor; diferencia -9% (IC 95%: -4%; -14%). Consecuentemente CMOsup/inf correlacionó negativamente con la edad. Peso y talla correlacionaron positivamente con DMO, CMO, A, CMOsup y CMOinf, pero el peso y CMOsup/inf correlacionaron negativamente. CMOsup/inf correlacionó positivamente con DMO y CMO e inversamente con A (todas las correlaciones $p < 0,01$). Edad, CMO, A y peso fueron predictores independientes significativos de CMOsup/inf en análisis multivariado ($R^2 = 0,37$; $p < 0,001$). Conclusiones: 1) a partir de edades próximas a la perimenopausia el CMO (la masa ósea) disminuye mientras aumenta el A (expansión subperiostica) del CF. 2) El proceso tiende a preservar el CMO del sector inferior lo que es influenciado por el efecto del peso. 3) El DXA estaría en condiciones de capturar algunas de las transformaciones relacionadas con la propuesta adaptación del CF a las exigencias mecánicas de la bipedestación.

CL10. Desarrollo de un modelo experimental de distracción osteogénica en hueso alveolar de mandíbula de rata.

Pujadas Bigi MM, Kokubu S, Lewicki M, Nenda MM, Ubios AM, Mandalunis PM.
Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología. UBA.

La distracción osteogénica (DO) es una técnica quirúrgica que posibilita el alargamiento del callo óseo de un hueso fracturado, con el consiguiente alargamiento del hueso y tejidos blandos que lo rodean. Esta técnica utilizada a partir de los años 40' en huesos largos, de origen endocondral; también ha sido menos empleada en el esqueleto craneofacial, de origen endomembranoso. El hueso resultante puede originarse a través de un proceso de osificación endocondral, endomembranosa o transcondroide. El hueso alveolar, corresponde al sector de los huesos maxilares, que contienen a los alveolos de las piezas dentales. Este hueso de osificación endomembranosa, corresponde a un hueso funcional que presenta una tasa de remodelación superior al resto del tejido óseo. El objetivo del trabajo es presentar el desarrollo y perfeccionamiento de un modelo experimental de distracción osteogénica para hueso alveolar de mandíbula de rata, incluyendo las etapas desde el trabajo con los animales hasta el laboratorio, cortes histológicos y mediciones histomorfométricas. Materiales y métodos: se utilizaron ocho ratas Wistar de 80 g de peso, a las que se le realizó la exodoncia de los molares mandibulares. Una vez alcanzados los 400 g de peso corporal, se realizó la osteotomía hemimandibular derecha y colocación del distractor. Luego de transcurrido 6 días del período de latencia, se inicia la activación del distractor a una tasa de 0,175 mm/día, una vez al día, durante 6 días y se lo deja en esa posición, como un tutor externo, durante 28 días correspondiendo a la fase de consolidación. Los animales fueron sacrificados y se resecaron las hemimandíbulas. Se estandarizó la técnica para realizar radiografías y se puso a punto la orientación de las piezas para lograr cortes reproducibles para realizar mediciones histomorfométricas. Se diseñó una metodología para el registro y comparación de estas mediciones. Las hemimandíbulas se procesaron para la obtención de cortes mesiodistales y coloración con hematoxilina-eosina. Ini-

cialmente, tuvimos el inconveniente del aflojamiento de los tornillos y pérdida del dispositivo durante la fase de consolidación (SAIO, 2008). El diseño original fue perfeccionado para evitar la movilidad. Resultados: el nuevo diseño del dispositivo se mantuvo en posición hasta el final del experimento. Se obtuvieron de cortes mesiodistales orientados y comparables entre sí. Conclusión: este modelo experimental de distracción osteogénica mandibular, permitirá estudiar los eventos celulares y moleculares que se producen durante la DO bajo diferentes condiciones experimentales.

CL11. Estudio comparativo de la respuesta tisular frente a la colocación de dos sustitutos óseos en tejido celular subcutáneo.

Fontana S¹, Carpentieri AR², Plavnik LM¹.

Grupo interdisciplinario de Biología ósea. Cátedras de ¹Histología y ²Química Biológica. Facultades de ^{1,2}Odontología y ²Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

Los rellenos óseos se utilizan con la finalidad de aumentar rebordes óseos reabsorbidos, regenerar pérdidas óseas periodontales y realizar procedimientos implantológicos. En las últimas décadas se han intensificado las investigaciones sobre sustitutos para lograr un adecuado volumen y calidad ósea. Los tratamientos clínicos con nuevos biomateriales necesitan de estudios básicos en modelos experimentales que permitan establecer la biocompatibilidad de los mismos. Por otro lado, cuando se caracteriza un material de relleno óseo es necesario determinar qué mecanismos biológicos de formación ósea se activan. El objetivo del presente trabajo es comparar estructuralmente la biocompatibilidad y el efecto osteoinductivo de dos sustitutos óseos producidos en el Laboratorio de Hemoderivados de la UNC en el tejido celular subcutáneo. Como sustitutos óseos se utilizaron: matriz ósea en polvo (MOP-UNC) y Lámina Ósea desmineralizada (LOD-UNC). El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba. Se utilizaron ratas Wistar que fueron anestesiadas intraperitonealmente con ketamina/xilazina. En la región dorsal superior de todos los animales se realizaron dos incisiones hasta abordar el tejido celular subcutáneo. En todos los casos, la incisión del lado izquierdo se trató como Control y la derecha, como caso Experimental. Los animales se separaron en dos grupos: Grupo MOP, donde se implantaron tubos de silicona estériles con partículas de MOP-UNC y Grupo LOD, donde los tubos contenían LOD-UNC. A los 30 días se sacrificaron los animales, se disecaron muestras de los sitios de implante, que fueron fijadas en formol al 10%, se procesaron con la técnica de inclusión en parafina y se colorearon con Hematoxilina-Eosina. Se realizó un análisis descriptivo para determinar la biocompatibilidad del material implantado y la neoformación ósea alrededor de los materiales experimentales (osteoinducción). En los Controles se observaron los tubos de silicona en el tejido celular subcutáneo rodeados por una fina capa de tejido conectivo fibroso. En los casos experimentales no se identificaron signos ni fenómenos inflamatorios. En el grupo MOP, se analizaron los extremos y el interior de los tubos de silicona donde se apreciaron las partículas de MOP-UNC rodeadas por tejido conectivo moderadamente laxo, sin hallarse signos de inflamación aguda o crónica, sin embargo tampoco se encontró tejido óseo neoformado. En el grupo LOD tampoco se observó que el producto implantado desencadenara fenómenos inflamatorios y además se observó que la lámina ósea desmineralizada se encontraba rodeada por tejido óseo neoformado. Podemos concluir que tanto LOD-UNC como MOP-UNC, se comportan como materiales biocompatibles, pero solamente LOD-UNC fue capaz de desencadenar procesos osteoinductivos, en las condiciones experimentales utiliza-



das en este trabajo. Se necesitan realizar más estudios para determinar los mecanismos moleculares implicados en estos procesos osteoinductivos. Aval Académico Facultad de Odontología y SECyT-UNC. Trabajo subsidiado por el Laboratorio de Hemoderivados-UNC.

CL12. Raquitismo Hipofosfatémico familiar y esporádico: Clínica y hallazgos moleculares.

Alonso G¹, Plantalech L², Guelman R², Gonzalez S³, Redal MA³, Cassinelli H⁴, Pasqualini T¹.

¹Sección Endocrinología, Departamento de Pediatría, ²Servicio de Medicina Nuclear y Endocrinología; ³Unidad de Medicina Molecular y Genética (ICBME), Hospital Italiano de Buenos Aires. ⁴División Endocrinología, Hospital de Niños R Gutiérrez, CABA.

Introducción: El raquitismo hipofosfatémico (RH) es la causa más frecuente de las formas heredables de esta enfermedad. Se han descrito cuatro presentaciones clínicas: RH ligado al X (XLRH); RH autosómico dominante (ADRH); RH asociado a hipercalcúria (HCRH), RH autosómico recesivo (ARRH), que expresan alteraciones moleculares de los genes: PHEX, FGF23, SLC34A3 y DMP1 respectivamente. Analizamos la forma genotípica (PHEX, FGF23) y fenotípica de casos familiares y esporádicos. Población y métodos: Se evaluaron 29 casos (5 esporádicos) que procedían de familias (flia) con diverso grado de afectación [2:2, 3:4, 4:2 (n miembros: n flias)]. Se constató hipofosfatemia, normocalcemia e hiperfosfaturia, y evidencias radiológicas de raquitismo. Se evaluaron los genes PHEX y FGF23 en 33 personas. Se analizaron las mutaciones del gen FGF23 por secuenciación directa con primers de secuencia específica del exon 3 del gen para detectar mutación R176Q (527G/A) y R179W (535C/T); las del gen PHEX (22 exones y regiones intrónicas linderas) mediante SSCP/HD y secuenciación directa de las regiones con patrón de bandas alterado. Resultados: La manifestación de RH fue de predominio familiar (24/29) y se diagnosticó en la infancia en el 89,6% de los casos. Tres de ellos se manifestaron en la adultez. La relación mujer/varón fue 3,4:1. Familiares: El 75% de los casos con XLRH presentaba alteraciones del gen PHEX. Se detectó en una flia ADRH (niña, madre, abuela, tío) por mutaciones del gen FGF23 (12,5%) y una flia no presentó ninguna mutación. Esporádicos: Se observó mutaciones del gen PHEX en el 44% de los casos. Uno de ellos de manifestación tardía (24 años) y con bioquímica poco característica (calcemia baja, hipofosfatemia, PTH elevada, calcitriol indetectable). Los pacientes con alteraciones del PHEX presentaban fenotipo somático más grave (talla baja, genu varum), sin embargo se observó expresiones variadas en algunos familiares (hipofosfatemia sin alteraciones esqueléticas). Las manifestaciones somáticas del ADRH se presentaron en forma incompleta, menos grave y a variable edad de comienzo. Las mutaciones halladas fueron: A- Gen FGF23 sustitución heterocigota de Guanina por Adenina en el exón 3 (G>A, R179Q). B- Se observaron 4 nuevas mutaciones del gen PHEX: Flia 1: (madre e hijo) inserción G +1 del intron 3-4 en sitio *splicing* dador. Flia 2: (hijo, madre y tía) mutación silenciosa C>A en posición 11 exón 3. Flia 3: (hija y madre) mutación C>G en posición 105 del exón 9. Una niña mostró una mutación silenciosa T>G en posición 93, exón 20 (esporádico). Conclusiones: Se detectaron mutaciones del PHEX en la mayoría de los casos especialmente en los familiares. Describimos 4 nuevas mutaciones del gen PHEX no consignadas (PHEX db.mcgill.ca). Si bien se observaron diferentes tipos de mutaciones, el fenotipo fue similar en las distintas familias. El ADRH presentó una forma menos grave y de variable manifestación entre los miembros de la familia. Se aconseja la evaluación genética en las manifestaciones clínicas esporádicas y tardías; son frecuentes las mutaciones del gen PHEX y su detección descarta otras enfermedades como tumores inductores de osteomalacia que son de lenta

expresión clínica. El estudio molecular del PHEX y FGF23 es una herramienta útil para establecer diagnóstico, pronóstico y consejo genético para los pacientes y su descendencia.

CL13. Análisis del impacto diferencial de modificaciones del diseño arquitectónico y de la calidad del material mineralizado sobre la resistencia ósea en hombres y mujeres pre- y post-menopáusicas.

Reina P, Feldman S, Ferretti JL, Cointy GR, Capozza RF.
CEMFoC/UNR/CONICET, Rosario.

Hace tiempo establecimos y validamos el primer indicador no invasivo de la resistencia ósea (*Bone Strength Index*, BSI) aplicado a huesos largos en flexión, que resultaba del producto de dos indicadores tomográficos: uno de la calidad mecánica del material cortical (vCtDMO), y el otro de la eficiencia del diseño diafisario (momento de inercia seccional calculado para flexión ántero-posterior, xMI; *Bone* 18:97,1996). La experiencia ha indicado que esos dos factores presentan variancias intra e interindividuales muy distintas: mucho menores para la vCtDMO que para cualquier MI. Hoy podemos determinar, empleando pQCT, MIs optimizados (maximizados) por rotación de la imagen previa al análisis, calculados para flexión ántero-posterior o lateral, y para torsión (xMI_{max}, yMI_{max}, pMI_{max}, respectivamente). La variancia de los MI_{max} es menor que la de los MIs clásicos, pero aun sigue siendo mucho mayor que la de la vCtDMO. Esta desigualdad plantea problemas prácticos, debido al diferente impacto que la variación de cada factor tiene sobre los BSIs para flexión o torsión, o sobre otros indicadores derivados, como el *Stress-Strain Index* (SSI, para torsión), dados sus muy diferentes rangos naturales de valores. Para neutralizar ese problema, y para mejorar la interpretación del impacto mecánico de las variaciones de la vCtDMO y de los MI_{max} inducidas por cualquier tratamiento, este trabajo aproximó una comparación aplicable entre esos impactos, mediante dos procedimientos analíticos sucesivos: 1. análisis de correlación múltiple entre cada indicador de resistencia (xBSI, y_a; yBSI, y_b; pBSI, y_c; SSI, y_d) y sus dos determinantes matemáticos (xMI_{max}, yMI_{max} ó pMI_{max}; x₁; vCtDMO, x₂), determinando los respectivos coeficientes de correlación parciales, r₁, r₂, para cada y; y 2. cálculo de los correspondientes coeficientes de regresión, b₁, b₂, en cada caso, estandarizados en base a la expresión de x₁ y x₂ en unidades de DS de su media, para homogenizar sus rangos de variación. Ese análisis se aplicó a datos de MI_{max} y de vCtDMO obtenidos de scans de pQCT (*Stratec XCT-2000*) tomados al 38% de la altura tibial en 60 hombres, 80 mujeres pre-MP y 120 post-MP normales y sanos. Conforme la naturaleza matemática de las asociaciones estudiadas, los coeficientes de correlación r parciales obtenidos fueron siempre superiores a 0,9. Los coeficientes de regresión b, en cambio, variaron entre grupos y para cada uno de los dos determinantes: siempre fueron mayores para los MI_{max} que para la vCtDMO (0,93-1,03 vs 0,04-0,19). Para los MI_{max}, no variaron significativamente entre grupos (hombres, 0,93-1,03; mujeres pre-MP, 0,96-1,03; mujeres post-MP, 0,97-1,02); pero para la vCtDMO respetaron la relación: Mujeres post-MP (0,15-0,18) > mujeres pre-MP (0,04-0,10) = hombres (0,04-0,11). Estos resultados indican que 1. las variaciones relativas estandarizadas (es decir, expresadas en términos de DS dentro de sus propias distribuciones gaussianas) de la eficiencia arquitectónica del diseño diafisario tuvieron un impacto proporcionalmente mayor sobre la resistencia del hueso que las variaciones de la calidad del material; 2. que el impacto mecánico de las variaciones del diseño seccional sobre la resistencia ósea fue independiente del sexo; y 3. que el impacto de la variación de la calidad del material, si bien siempre menor que el del diseño, fue mayor para las mujeres post-MP que para los otros grupos. Esto implica, en la práctica, que los efectos de los tratamientos para mejorar osteopenias y osteoporosis tendrían



mayores chances de éxito cuando se ejercen sobre la eficiencia del diseño óseo (coordinación espacial de la modelación y la remodelación por el *mecanostato* óseo) que cuando actúan sobre la remodelación haversiana intracortical, en general; y en particular, para las mujeres pot-MP, los efectos de este último tipo son más importantes que para los otros dos grupos, precisamente por su mayor grado de remodelación intracortical por falta de estrógenos.

CL14. Nuevo cálculo de los momentos de inercia de secciones tomográficas de huesos tubulares humanos. Referencias fisiológicas y aplicaciones diagnósticas originales.

Capozza RF, Reina P, Feldman S, Mortarino P, Ferretti JL, Cointy GR.
CEMFoC/UNR/CONICET, Rosario.

La resistencia a la compresión de un hueso depende casi totalmente de la *masa* de tejido mineralizado presente en sus secciones transversales a las cargas. Pero su resistencia a la flexión y a la torsión depende, además, de la *distribución* de ese material con respecto a los ejes de referencia para flexión o torsión. En las secciones transversales diafisarias, la eficiencia arquitectónica de la distribución del material cortical para flexión antero-posterior (A-P) y lateral, y para torsión, está descrita por sus “momentos de inercia” (MIs) calculados con respecto a los ejes respectivos. En imágenes tomográficas (pQCT), esos ejes son: x (para flexión A-P, xMI), y (para flexión lateral, yMI), y z (para torsión, MI polar, pMI). La pQCT calcula los MIs en forma estándar determinando el centro de gravedad de la sección, independientemente de su posición, por el cual traza luego un eje horizontal (x) y otro vertical (y). xMI e yMI se calculan sumando los productos del área de cada pixel cortical de la imagen por el cuadrado de su distancia al eje de referencia. pMI se calcula a partir de los datos empleados para obtener xMI e yMI. Este método resulta aceptable para huesos de secciones cilíndricas o elípticas; pero para secciones poligonales, el posicionamiento previo de la imagen resulta crítico en términos de exactitud, precisión y variancia experimental. Este trabajo pretende 1. desarrollar y validar por comparación un nuevo método de cálculo de MIs para secciones de ese tipo, optimizado por rotación de la imagen; y 2. establecer correlaciones fisiológicas de estos noveles Mis con la masa o la calidad del tejido cortical de las secciones en adultos normales, como referencias diagnósticas. El nuevo recurso, a partir del cálculo estándar del centro de gravedad de la imagen, la gira paso a paso, calculando los xMis en cada paso en forma estándar, hasta obtener un valor máximo (xMI_{max}) que se da por definitivo. Luego toma como referencia el eje x aplicado en ese cálculo, y su perpendicular pasante por el centro como eje y, y calcula yMI y pMI por el método clásico. Con este procedimiento se analizaron 780 *scans* tomados con equipo *Stratec XCT-2000* en los sitios estándar de la pierna (a 4, 14 y 38% de la altura tibial) en 60 hombres, 80 mujeres pre-MP, y 120 post-MP normales y sanos. El nuevo método redujo la variancia (DS de los datos alrededor de las curvas, ó *Z-scores*) de las correlaciones entre los MIs y el contenido mineral total (ToCMO) como indicador de masa (curvas “distribución/masa”, d/m), o la DMO volumétrica cortical (vCtDMO) como indicador de la calidad mecánica del tejido cortical (curvas “distribución/calidad”, d/c). Las curvas d/m fueron exponenciales comunes para hombres y mujeres ($r=0,945-0,952$, $p<0,001$), con valores menores de ambas variables para las mujeres. Las d/c fueron hiperbólicas ($r=-0,431$ a $-0,523$, $p<0,001$), con ordenadas mayores para los hombres que para las pre-MP (ANCOVA, $p<0,001$), mostrando las post-MP una reducción mayor de vCtDMO que de MIs respecto de las pre-MP (ANCOVA, $p<0,001$). Los nuevos MIs describen mejor que los clásicos algunas relaciones funcionales interesantes: la distribución del tejido cortical para optimizar el diseño diafisario para resistir flexión y torsión en función de su disponibilidad (ToCMO) parece una constante propia de la especie, independiente del sexo. Pero su dis-

tribución en función de su calidad mecánica intrínseca (vCtDMO) es mucho más eficiente en hombres que en mujeres. Además, las mujeres post-MP, que pierden mucha vCtDMO, tienden saludablemente a mantener la eficiencia de su diseño diafisario, pero no tanto como para mantener la relación con la vCtDMO que muestran las pre-MP. La *Z-scorización* de las curvas d/m y d/c provee, respectivamente, referencias normales para diagnósticos comparativos originales de dos aspectos diferentes del estado funcional del *mecanostato* óseo; uno propio de *Homo sapiens*, y el otro propio de las mujeres post-MP, inaccesibles a otros métodos.

CL15. Suplementación con vitamina D₂ y D₃ en adolescentes sanos de Ushuaia, Argentina.

Castagneto J¹, Tau C¹, Scaiola E², Rodríguez M², De Roccis C², Pellisa Z¹.

¹*Metabolismo Cálcico y Óseo, Endocrinología, Hospital de Pediatría J.P.Garrahan, Buenos Aires, Argentina,* ²*Servicio de Pediatría, Clínica Médica y Laboratorio, Hospital Regional de Ushuaia, Provincia de Tierra del Fuego, Argentina.*

Con el objeto de mejorar los niveles de vitamina D en adolescentes sanos de Ushuaia (55°S), zona de riesgo de deficiencia del sur de Argentina, se administraron 100.000 UI de vitamina D₂ (ergocalciferol) o vitamina D₃ (colecalfiferol) cada 3 meses: al inicio del invierno (Marzo), durante el invierno (Junio) y en primavera (Septiembre). Los niveles séricos de 25-hidroxi-vitamina D (25OHD) fueron medidos al inicio del estudio, un mes luego del primer suplemento y dos meses después de recibir la última dosis (Septiembre 2008, Abril y Noviembre 2009). Luego de firmar cada familia un consentimiento informado, se estudiaron 34 adolescentes sanos, edad (media±DS) 18,5±2 años (rango de 14,7 a 21,6), 23 mujeres y 11 varones. Se les realizó un cuestionario con referencia a la exposición solar y la ingesta diaria de calcio a cada sujeto. Se registraron el peso, la talla y el tipo de piel de cada uno de los individuos. Ninguno había recibido previamente suplementos de vitamina D. Al inicio del estudio se les midió los niveles séricos de calcio (SCa), fósforo (SP) y de fosfatasa alcalina (AP). El peso fue de 0,16±0,74 (Z-Score) y la talla de 0,2±0,81. Diecisiete adolescentes recibieron vitamina D₂ y 17 recibieron vitamina D₃. SCa fue de 9,4±0,4 mg/dl, SP fue de 4,3±0,7 mg/dl y AP fue de 91±63 UI/L. Los niveles basales de 25OHD séricos fueron de 13,4±6,3 ng/ml (rango 4-26) en septiembre/primavera 2008 (grupo D₂ 14,6±6,4, grupo D₃: 12,1±6,1, n.s.). Un mes luego del primer suplemento, mayo 2009, los niveles séricos de 25OHD se incrementaron significativamente en todos los adolescentes: 29,3±7,8 rango 12-44 ng/ml (p<0,000), pero fueron más altos en el grupo D₃ con respecto al grupo D₂ (33,3±5,2 vs 25,1±7,9 ng/ml, p<0,001). La mayoría de los adolescentes que recibieron vitamina D₃ (84%) llegaron a niveles de 30 ng/ml y tan solo 4 adolescentes del grupo que recibió vitamina D₂ (24%) llegaron a esos niveles. Al final del estudio, 14 meses luego de su inicio y dos meses después del último suplemento, los niveles séricos de 25OHD disminuyeron significativamente con respecto al pico alcanzado al mes del primer suplemento: 21,3±4,6 rango 12-31 ng/ml (p<0,000). Sin embargo, a pesar de que los niveles de 25OHD decrecieron en el grupo total, no hubo diferencia significativa entre los dos grupos al final del estudio (D₃: 22,5±4,3; D₂: 20,1±4,7 ng/ml, n.s.). Ninguno de los adolescentes presentó niveles de intoxicación durante el estudio (>50 ng/ml). La ingesta de calcio fue menor que la recomendada por la FDA: 569±323 mg/día. Conclusión: estos resultados indican que, para prevenir el déficit de vitamina D en zonas de riesgo, 3 suplementos de 100.000 UI de vitamina D administrados durante el otoño, el invierno y la primavera resultarían adecuados y seguros para incrementar los niveles séricos de 25OHD. Si bien los niveles de 25OHD no fueron diferentes al final del estudio entre los adolescentes que recibieron D₂ o D₃, la vitamina D₃ parecería ser más efectiva que la D₂ en alcanzar valores normales de 25OHD al mes de recibir el suplemento.



CL16. El deoxicolato de sodio altera la vía transcelular de la absorción intestinal de calcio.

Rivoira MA, Marchionatti AM, Centeno V, Díaz de Barboza G, Peralta López ME, Tolosa de Talamoni N.

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico "Dr. Fernando Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

La bilis es una secreción esencial para la digestión y absorción de lípidos. Los ácidos biliares o sus derivados, son componentes importantes de dicha secreción. El ácido deoxicólico, o su sal sódica (DXCS) se producen en el intestino a partir del ácido cólico. Este ácido biliar, el DXCS, es uno de los que se forman en mayor proporción y produce efectos oxidantes que alteran el epitelio intestinal. Sin embargo, poco se sabe acerca del papel de los ácidos biliares sobre el transporte transcelular del catión y menos aún sobre el efecto del DXCS, presente en gran cantidad en el agua fecal del intestino. En este trabajo, se analizó el efecto del DXCS sobre la absorción intestinal de Ca^{2+} y los mecanismos moleculares involucrados. Se usaron pollos de 4 semanas de edad, los cuales se dividieron en dos grupos: controles y tratados con DXCS en la luz intestinal, a diferentes tiempos y concentraciones. La absorción de Ca^{2+} se midió por la técnica del asa intestinal ligada *in situ*. La expresión de genes involucrados en el transporte transcelular del catión se determinó por RT-PCR, el contenido de glutatión (GSH) y de enzimas del sistema antioxidante mediante espectrofotometría. Los radicales libres hidroxilo (OH.) se midieron por espectrofotometría de resonancia de spin. En mitocondrias aisladas de enterocitos de pollo, se estudiaron los cambios en la permeabilidad de la membrana interna mitocondrial, mediante la técnica de *swelling*. En cortes histológicos intestinales se estudió por inmunohistoquímica la expresión de la proteína calbindina $\text{D}_{28\text{K}}$ (CB). En homogeneizados de enterocitos aislados del ápice de la vellosidad intestinal, se analizó la expresión de proteínas que participan en la absorción intestinal del calcio por la técnica de Western-Blot. Como indicadores de apoptosis, se analizó la localización del citocromo c por inmunocitoquímica y la fragmentación del ADN mediante la técnica de TUNEL. La absorción intestinal de Ca^{2+} disminuyó 15 min después del tratamiento con DXCS, efecto que fue dependiente de la concentración. La expresión del gen de la bomba Ca^{2+} -ATPasa disminuyó a los 30 y 60 minutos post tratamiento, mientras que la del intercambiador $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ y de CB no se modificó. La expresión de la proteína CB como la de la bomba Ca^{2+} -ATPasa disminuyó con el tratamiento, mientras que la del intercambiador $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ no cambió. Además, DXCS desencadenó estrés oxidativo, lo cual se evidenció por aparición de radicales libres OH. y disminución transitoria del contenido de GSH. La actividad de las enzimas del sistema antioxidante se incrementó. La permeabilidad de la membrana interna mitocondrial se alteró por el DXCS, efecto que fue dependiente de la concentración. La apoptosis vía liberación de citocromo c y fragmentación de ADN también aumentó con el tratamiento. En conclusión, DXCS inhibe la absorción intestinal de Ca^{2+} . El mecanismo inhibitorio es mediado por estrés oxidativo, el cual afecta la integridad de la membrana interna mitocondrial, el movimiento transcelular del catión y la supervivencia celular. Pese a que el sistema antioxidante incrementa su actividad, no logra compensar el estrés oxidativo producido por DXCS. Las dietas occidentales, ricas en grasas y pobres en fibras, y el incremento de las expectativas de vida hacen que el DXCS circule mayor número de veces por el circuito enterohepático aumentando, en consecuencia, sus efectos citotóxicos, produciéndose una disminución de la capacidad de transporte del catión, con lo cual se podría favorecer el desarrollo de patologías asociadas a alteraciones en el metabolismo óseo.

CL17. Rol de la testosterona en la vía intrínseca de la apoptosis en músculo esquelético.

Pronsato L, Boland R, Milanese L.

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

La apoptosis comprende un conjunto de eventos que culmina en la autodestrucción/muerte celular, sin inflamación ni daño a los tejidos circundantes. Datos experimentales obtenidos con animales de edad avanzada muestran la activación de la apoptosis en músculo esquelético, contribuyendo este proceso a la patogénesis de la sarcopenia. Dado el papel central que desempeñan las mitocondrias en la inducción y regulación de la muerte celular programada, las investigaciones se han centrado en la apoptosis mionuclear impulsada por estas organelas. Anteriormente demostramos que la testosterona protege frente a la apoptosis inducida por H_2O_2 en células musculares C2C12. Los cambios típicos de la apoptosis como fragmentación nuclear, desorganización del citoesqueleto, reorganización/disfunción mitocondrial y liberación de citocromo c inducidos por el H_2O_2 , son inhibidos cuando las células son previamente expuestas a la hormona. En este trabajo, identificamos eventos moleculares que ocurren durante el efecto antiapoptótico de la testosterona sobre las células C2C12. A tiempos cortos de exposición al H_2O_2 , las células activan un mecanismo de defensa el cual consiste en la fosforilación de ERK2, Akt y Bad y en un aumento en la expresión de la proteína HSP70. A tiempos largos de tratamiento con el agente apoptótico, se observa defosforilación de las proteínas antes mencionadas, liberación de citocromo c, clivaje de PARP y fragmentación del ADN. Sin embargo, cuando las células son tratadas con testosterona, previo al H_2O_2 , observamos inactivación de Bad, incremento de los niveles de actina, traslocación de la HSP90 a mitocondria y disminución de los niveles de la proteína apoptótica Bax. Estos resultados muestran un importante rol del esteroide en la regulación de la vía apoptótica intrínseca mitocondrial. Si bien se requieren estudios adicionales para establecer las bases moleculares de la sarcopenia relacionada al déficit de testosterona, estos datos nos permiten comenzar a elucidar los mecanismos mediante los cuales la hormona protege frente a la apoptosis en músculo esquelético.

CL18. Alendronato ejerce acción mitogénica *in vitro* y activa las vías de señalización de MAPK en células osteoblásticas.

Lezcano V, Boland R, Morelli S.

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

En trabajos previos hemos demostrado la presencia de un sitio de ligado específico y saturable de alta afinidad para bisfosfonatos (BPs) en células osteoblásticas ROS 17/2.8 y osteoblastos derivados de calvaria. Notablemente, sustratos de proteínas tirosina fosfatasas (PTPs) desplazaron el [3H]-alendronato. Asimismo, tanto los BPs como el inhibidor de PTP, Na_3VO_4 , aumentaron la proliferación de osteoblastos e inhibieron la actividad de PTP en células ROS 17/2.8, sugiriendo que los BPs se unen e inhiben a las PTPs. Además, se ha reportado que los BPs inhiben la apoptosis de osteoblastos y osteocitos a través de la activación de quinasas reguladas por señales extracelulares (ERKs). En este trabajo, se estudió si el alendronato (ALN) es capaz de estimular otros miembros de la familia de las MAP quinasas y la expresión de genes de factores de transcripción. Dependiendo de la concentración de ALN utilizada (10^{-7} - 10^{-5} μ M) se obtuvieron diferentes perfiles temporales en la fosforilación de JNK y p38 MAPK. Por otro lado, estudiamos el estado de fosforilación de CREB y determinamos que este factor



de transcripción era activado por ALN 1 μ M en forma dependiente del tiempo. También, investigamos el efecto de ALN sobre la fosfatasa de MAPK, MKP-1, un miembro de la superfamilia de PTPs. MKP-1 es una fosfatasa dual capaz de desfosforilar ERK, JNK y p38 MAPK en residuos tirosina y serina/treonina, regulando de esta manera la cascada de señalización blanco. Consistente con los cambios observados en la fosforilación de MAPKs, en este estudio demostramos que el ALN 1 μ M disminuye la expresión de MKP-1 dentro de los 60 min. de tratamiento. La evidencia que liga los sitios de ligado específico del BP, la activación subsecuente de las vías de señalización de MAPK y la respuesta proliferativa inducida por ALN en osteoblastos, provee nuevas bases moleculares sobre el rol de los amino-BPs en osteopatías frecuentes como la osteoporosis.

CL19. Efecto sobre la masa ósea de una terapéutica secuencial con monofluorofosfato (MFP) y zoledronato (Z) en ratas con diferente estado de remodelación ósea.

Branche ML, Lupo M, Arias L, Brun LR, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

El estado de la remodelación ósea es determinante en la ganancia y pérdida de masa ósea. El zoledronato disminuye la resorción ósea, fenómeno que contribuye a ganancia de masa ósea mientras que el MFP aumenta la formación ósea debido al aumento de actividad osteoblástica. Este efecto sería en parte por potenciar el efecto de factores de crecimiento y por otra parte al unirse a alfa-macroglobulinas e interactuar con receptores LRP podría modificar la acción de las proteínas Wnt sobre el sistema Frizzled-LRP5/6. Dado que el efecto del MFP es mediado por factores de crecimiento y estos son liberados de la matriz ósea por osteoclastos (OC), se ha planteado la hipótesis que el efecto de esta droga sería más efectivo sobre un hueso con alto estado de remodelación. El objetivo de este trabajo fue estudiar sobre el hueso el efecto de una terapéutica secuencial con MFP y Z en ratas con diferente estado de remodelación ósea. Ratas Sprague Dawley de 7 semanas (n=7/grupo) fueron ovariectomizadas (OVX) y tratadas con MFP por sonda orogástrica y Z subcutáneo en combinación con dieta de diferente contenido de calcio (Tabla 1, grupos T3 y T4). Se realizaron grupos control sin tratamiento (T2) y con cirugía simulada (T1).

Tabla1	T1	T2	T3	T4
OVX	-	+	+	+
Dieta hipocálcica (0,2%) (del día 0 al 30)	-	-	-	+
Dieta hipercálcica (2%) (del día 31 al 150)	-	-	-	+
MFP (del día 30 al 90) 40 mmol/100g.día	-	-	+	+
Z (del día 91 al 150) 1,5 mg/Kg. mes	-	-	+	+

Para apreciar la evolución de cada grupo se realizaron sacrificios a 90 y 150 días. La administración de dieta hipocálcica tuvo como objetivo producir un aumento en la secreción de PTH, mayor actividad OC y mayor liberación de factores de crecimiento que actuarían sobre osteoblastos (OB). Al finalizar el experimento se realizaron medidas bioquímicas, histomorfometría ósea y medidas de densidad mineral ósea (DMO) total por densitometría (DXA). Se muestran

resultados a 150 días (Tabla 2, media±SD). Se consideran diferencias significativas si $p < 0,05$, ANOVA, post test Newman-Keuls.

Tabla 2	T1	T2	T3	T4
Calcemia (mg/dl)	10,9±1,5	9,6±1	10,3±0,7	10,4±1,7
Fosfatemia (mg/dl)	5,1±1,1	4,7±0,6 ^a	5,8±1,9	7,5±1,3 ^a
Calciuria (mg/24 hs)	919±762	219±34 ^a	658±546 ^b	2058±497 ^{ab}
FAL (U/L)	194±117	268±165	147±17	173±137
Deoxipiridinolina (nmol/mmol creatininuria)	45±29	97±69	38±9	55±44
% cambio DMO		- 1,2±3,1 * vs T1	+ 9,1±4,8 * vs T2	+ 9,1±2,8 * vs T2
Tejido trabecular (%)	26,3±11,9	18,2±2,3 ^a	13,5±3,2 ^{ab}	29,4±11 ^b
Grosor trabecular (mm)	52,3±7,2 ^a	57,4±11,7	47±5,4 ^b	75,4±34,8 ^{ab}
Nº trabecular (1/mm)	4,8±1,7 ^a	3,3±0,8 ^{ab}	2,8±0,6 ^b	3,9±0,6
OC (%)	0,63±0,68	0,42±0,41	1,07±0,5	1,17±1,79
OB (%)	15,1±4,3	8,3±1	13,4±7	9,2±5,7

Letras iguales y * indican diferencias significativas.

Entre los parámetros bioquímicos solo se observó aumento de fosfatemia y calciuria en T4, reflejando un menor estado paratiroideo resultado de la dieta hipercálcica. T4 mostró aumento del tejido trabecular a expensas de un aumento del grosor trabecular. Este resultado no se observó en T3 que recibió dieta normocálcica. La DMO fue mayor en T3 y T4 respecto de T2. En T3 el aumento de la DMO no refleja la pérdida de hueso trabecular, lo que estaría indicando que en ausencia de dieta secuencial este efecto sería sólo a nivel cortical. Los marcadores bioquímicos de remodelación (FAL y deoxipiridinolina) disminuyeron respecto de T2, aunque no se observaron diferencias en el porcentaje de superficie ósea cubierta por OC y OB. A los 90 días se observó una relación OB/OC menor en el grupo T3 respecto de T2, explicando la pérdida de hueso trabecular a los 150 días. Por su parte esta relación fue mayor en T4, expresando el aumento del volumen óseo observado a 150 días. Se encuentra en estudio un grupo OVX a 150 días que recibirá dieta hipocálcica e hipercálcica sin tratamiento lo cual permitirá comprender en que grado la dieta secuencial influye sobre el resultado hallado, independientemente del tratamiento con Z y MFP. Se concluye que el estímulo paratiroideo con dieta hipocálcica potencia el efecto posterior del MFP generando una relación OB/OC mayor, lo cual conduce a una recuperación de la masa ósea a valores normales.

CL20. Evaluación de la microarquitectura ósea en mujeres postmenopáusicas con fracturas atípicas y tratamiento crónico con bifosfonatos.

Zanchetta MB, Spivacow R, Negri A, Buttazoni M¹, Sesta M, Silveira F, Bogado C, Massari F, Zanchetta JR.

Instituto de Investigaciones Metabólicas, ¹Hospital Italiano, Buenos Aires.

Introducción: En los últimos cinco años se han reportado casos de fracturas atípicas en pacientes en tratamiento crónico con bifosfonatos. Las características clínicas de dichas fracturas incluyen su aparición atraumática o luego de un trauma mínimo, retardo en la curación y sitios atípicos, entre otros. Objetivo: Nuestro objetivo fue evaluar la microarquitectura ósea usando tomografía periférica de alta resolución (HR-pQCT) en mujeres postmenopáusicas que presentaron fracturas atípicas



cuando se encontraban recibiendo bifosfonatos de manera crónica. Materiales y métodos: Identificamos 5 mujeres postmenopáusicas que habiendo recibido tratamiento con bifosfonatos por más de 10 años (media $14,8 \pm 3,9$ años) presentaron una fractura atípica. Tres de las pacientes presentaron fracturas diafisarias del fémur y dos sufrieron fracturas de pelvis. La edad media era de $74,8 \pm 7$ años, el T score medio de columna lumbar era de $-2,4 \pm 0,80$ y en cadera de $-2,0 \pm 0,9$. Ninguna paciente tenía antecedentes de fracturas vertebrales. Comparamos los resultados obtenidos en estas pacientes con 8 mujeres postmenopáusicas sin fracturas que también hubieran recibido tratamiento crónico con bifosfonatos (media $9,6 \pm 4,9$ años) (grupo 2) y con otras 54 mujeres sanas postmenopáusicas sin antecedentes de fracturas ni de tratamientos osteoactivos seleccionadas de nuestra base de datos por similar edad y valores densitométricos (grupo 3). La densidad mineral ósea (DMO g/cm^2) de columna lumbar y cuello femoral fue medida usando densitometría (Hologic QDR4500; Hologic, Bedford, MA). La densidad mineral ósea volumétrica (mg/cm^3) y los parámetros microarquitectónicos fueron medidos en el radio distal y la tibia usando HR-pQCT (XtremeCT; Scanco Medical AG, Bassersdorf, Switzerland). Las comparaciones entre los grupos fueron evaluadas por el T test. Cuando la distribución de las variables no era normal, se utilizó el Wilcoxon Rank Sum Test. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Resultados: No hubo diferencias significativas en edad, años de menopausia, índice de masa corporal o valores densitométricos entre los grupos. En el radio la densidad cortical en el grupo de las fracturas atípicas fue de $781,9 \pm 85,0$ mg HA/ccm comparado con $850,0 \pm 50,5$ en el grupo 2 (con tratamiento crónico sin fracturas) ($p=0,1643$) y con $791,4 \pm 70,0$ ($p=0,8383$) en el grupo 3 (sin tratamiento) y el grosor cortical fue de $0,462 \pm 0,136$ mm vs $0,625 \pm 0,173$ mm en el grupo 2 ($p=0,102$) y vs $0,546 \pm 0,157$ mm en el grupo 3 ($p=0,25$) respectivamente. En la tibia la densidad cortical en el grupo de las fracturas atípicas fue de $727,8 \pm 81$ mg HA/ccm comparado con $818,8 \pm 51,7$ mg HA/ccm en el grupo 2 (con tratamiento crónico sin fracturas) ($p=0,0338$) y con $784,9 \pm 52$ mg HA/ccm en el grupo 3 ($p=0,19$) y el grosor cortical fue de $0,612 \pm 0,247$ mm vs $0,842 \pm 0,279$ mm en el grupo 2 ($p=0,1591$) y vs $0,815 \pm 0,205$ mm en el grupo 3 ($p=0,0413$) respectivamente. Conclusión: En el grupo de mujeres con fracturas atípicas la arquitectura cortical parece estar comprometida. Desconocemos si esta tendencia es debido a una respuesta atípica al tratamiento crónico con bifosfonatos o si constituye una característica genética basal de la arquitectura cortical de estas mujeres. Aunque son todas fracturas atípicas, las fracturas diafisarias femorales y las pélvicas pueden no tener la misma fisiopatología. Se necesitan estudios prospectivos para establecer una asociación clara entre las fracturas atípicas y el tratamiento prolongado con bifosfonatos.

CL21. Evidencia tomográfica original de que los osteocitos sólo sensarían deformaciones en compresión/tracción, y tres nuevas aplicaciones diagnósticas derivadas.

Cointry GR, Feldman S, Mortarino P, Reina P, Rittweger J, Ferretti JL, Capozza RF.

CEMFOC/UNR/CONICET, Rosario; Inst of Aerospace Med, Div Space Physiology, German Aerospace Center (DLR), Colonia, Alemania.

La resistencia a la compresión o a la tracción axial en los huesos largos es lineal a la cantidad de masa mineralizada presente en la sección diafisaria transversal a la carga (que la pQCT puede medir como su CMO). Pero su resistencia a la flexión o torsión depende también de la *distribución* de ese material respecto de los ejes de flexión o torsión de las secciones (que la pQCT mide como sus *momentos de inercia, I_{ms}*). El *mecanostato* óseo regula la resistencia diafisaria a la compresión/tracción, flexión y torsión, adaptando la distribución modelatoria del material cortical (diseño óseo) según el sensado osteocítico de las deformaciones tisulares locales, empleando la

mínima masa posible. Se cree que cualquier tipo de deformación provocado en el seno del tejido duro se reduciría siempre únicamente a valores variables de compresión/tracción en distintos puntos del hueso; y que los osteocitos sólo podrían deformarse *in situ* en compresión/tracción; pero no es fácil evidenciarlo. Nosotros, analizando secciones tibiales humanas en función de los tipos de deformación usuales predominantes, demostramos que, cerca del tobillo, donde esas cargas son compresivas, las secciones son casi circulares, con mínima masa, y mínimos MIs para flexión y torsión; y más distalmente, al agregarse esfuerzos en flexión y torsión que adicionan compresiones y tracciones en distintos sectores, su diseño se complica (formas triangular o elipsoide, etc), y los MIs para flexión y torsión crecen exponencialmente. Ahora pretendemos probar que esos cambios reflejarían una tendencia a homogenizar y minimizar (neutralizar) las cargas adicionales en compresión y tracción provocadas por flexiones y torsiones, uniformando el régimen de carga como en compresión/tracción en todo el hueso, adecuando el diseño diafisario al sensado osteocítico de deformaciones que sólo serían de esa clase. Para eso demostramos, en 380 cortes seriados de pQCT de las piernas no-hábiles de 10 varones y 10 mujeres normales de 20-40 años (19 *scans* por pierna), que 1. los MIs para flexión y torsión (y) crecen exponencialmente en sentido proximal con el CMO total de las secciones ($r= 0,480-0,670$, $p<0,001$; curvas *distribución/masa, d/m*); y 2. en cada corte, el CMO total de las secciones tibial y peronea juntas (y) correlaciona linealmente con el área seccional muscular de la pantorrilla ($r=0,410-0,590$, $p<0,001$; curvas *músculo/hueso, m/h*), en ambos sexos. Datos adicionales de 300 hombres y mujeres normales de 20-80 años tomados en los sitios standard del aparato (4, 14 y 38% de la altura tibial) confirmaron esas relaciones y permitieron la *Z-scorización* referencial de las curvas. El ajuste de las curvas d/m prueba que la adecuación del diseño cortical para resistir flexión y torsión en la tibia proximal se logra empleando *mínima masa*. La linealidad de las curvas m/h indica que esa masa correspondería a la estrictamente necesaria para resistir *sólo a la compresión/tracción* provocada a través de las palancas óseas por las contracciones de la pantorrilla. Esto sugiere que, en la tibia medial-proximal, los osteocitos “aprenderían a distribuir” el material cortical según los *patrones de deformación en compresión/tracción resultantes* de los esfuerzos óseos usuales en flexión y tracción; y que, al mismo tiempo, “disfrutan del resultado” de esa distribución, que les homogeniza el régimen usual de cargas en *valores únicos “cómodos” de compresión/tracción*. Por sobre las posibilidades de la DXA, el correlato biomecánico de estas relaciones soporta su empleo referencial para 3 diagnósticos comparativos originales: 1. del estado funcional del *mecanostato* (proporcional a los *Z-scores* de la relación d/m); 2. de la etiología mecánica o sistémica de osteopenias (*Z-scores* normales o bajos de la relación m/h), en ambos sexos y a cualquier edad; y 3. del Factor de Seguridad (CMO seccional disponible/necesario en relación con la fuerza muscular regional), sin el cual no se puede diagnosticar fragilidad ósea.

CL22. Referencias tomográficas originales para un diagnóstico no-invasivo de fragilidad ósea basado en el “factor de seguridad”, con correlato biomecánico.

Cointry GR, Feldman S, Reina P, Ferretti JL, Capozza R.
CEMFoC/UNR/CONICET, Rosario.

Ya nadie discute el paradigma “*los huesos son como la musculatura regional quiere*”. Pero no es fácil evidenciarlo, porque las relaciones antropométricas músculo/hueso entorpecen el análisis no-invasivo de las relaciones implicadas. La dinamometría de la pierna humana con plataforma de piso ha mostrado directamente, salvando esas limitaciones, que la fuerza muscular extensora del pie es un determinante mayor del área cortical tomográfica (AC) tibio-peronea (relación músculo-



hueso *dinámica*). Estudios de nuestro grupo (que presentamos aparte) han sugerido que las cargas usuales que determinarían la cantidad de masa mineralizada presente en las secciones transversales tibio-peroneas (que la pQCT puede medir como AC) responderían a un patrón casi exclusivo de compresión/tracción uniaxial. Como se acepta que la resistencia de un hueso largo a la compresión/tracción es lineal al AC presente en su sección transversal a la carga, y que la fuerza de un músculo es lineal al área de su sección transversal AM, debería existir una relación también lineal entre el AC tibio-peronea y el AM de la pantorrilla, medidos tomográficamente. Si esa correlación músculo-hueso *estática, del tipo masa/masa*, pudiera demostrarse y describirse estadísticamente, las gráficas obtenidas podrían ofrecer una referencia para evaluar la relación *dinámica fuerza/masa* referida arriba, obviando el empleo de la plataforma dinamométrica. Para conseguirlo, analizamos *scans* de pQCT (equipo *Stratec XCT-2000*) obtenidos a un 66% de la altura tibial (punto correspondiente a la máxima AM de la pantorrilla) en 60 hombres, 80 mujeres pre-MP y 120 post-MP normales y sanos de 20-80 años, para determinar el AC tibio-peronea y el AM (sin filtrado de grasa) del lado no hábil, aplicando un *mask* específico del *software* del aparato, y correlacionamos luego AC (y) vs AM (x) para cada grupo por separado. Las correlaciones resultaron lineales, positivas y significativas para hombres y mujeres pre-MP en curva única ($r=0,806$; $p<0,001$) y para mujeres post-MP con una menor pendiente ($r=0,317$; $p<0,001$; ANCOVA, $p<0,001$), y comprendieron el origen de las gráficas. La dispersión de los datos alrededor de las curvas (S_y) resultó en general de 30 mm^2 (8,7% de la media global de AC = 340 mm^2). Las gráficas se *Z-scorizaron*, considerando la relación $\pm 1 \text{ Z-score} = \pm 1 S_y$ particular para cada una. La relación funcional del tipo masa/masa entre huesos y músculos regionales no es nueva. Fue propuesta y demostrada hace tiempo por nosotros mismos, entre otros, de acuerdo con la teoría del *mecanostato* óseo de Frost. Pero su descripción estadística en una muestra representativa de personas normales, como se presenta aquí, analizando una región anatómica cuyos correlatos biomecánicos músculo-esqueléticos son conocidos en base a nuestros propios estudios seriados de pierna entera de individuos similares, ofrece algunas referencias inéditas para estimar, por comparación, el estado de las interrelaciones músculo-hueso en casos individuales. Las relaciones establecidas permiten determinar, para el valor obtenido de área (fuerza) muscular de cualquier individuo, el correspondiente valor de AC tibio-peronea que *debería alcanzar* para resistir a los esfuerzos máximos (compresivos) impuestos por la actividad de esa musculatura a los huesos de la pierna, conforme la Teoría del *mecanostato*. Por comparación de los datos obtenidos directamente del individuo-problema con las gráficas de referencia, se puede calcular el cociente entre el AC *disponible* (d) y la que sería *necesaria*(n) para lograr una resistencia normal. El cociente $100 \cdot \text{ACd}/\text{ACn}$ indica cuánto se aparta estadísticamente el individuo estudiado del valor normal del Factor de Seguridad (calculable directamente por dinamometría) provisto naturalmente por el *mecanostato*, representado aquí por la referencia gráfica. Esta es, por ahora, la única forma de diagnosticar biomecánicamente una *fragilidad ósea* (o una osteoporosis) empleando sólo recursos absorciométricos.

CL23. Participación de la fosfatasa alcalina intestinal en la absorción de calcio.

Brun LR, Arias L, Alonso E, Guglielmi C, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

La asociación de la fosfatasa alcalina intestinal (FAi) con el proceso de absorción de calcio (Ca^{2+}) es parcialmente conocida pero indiscutible. Experimentos previos indicaron que el Ca^{2+} se fija a la FAi produciendo modificaciones en su actividad y estructura. Con la enzima purificada se demostró que el Ca^{2+} modifica la actividad de manera bifásica y participaría en el mantenimiento de la estructura dimérica activa. *In vivo*, la actividad de la FAi ligada a la membrana aumentó siguiendo

una función directa de la concentración de Ca^{2+} luminal. Existe evidencia de que la disminución del pH del lumen intestinal modificaría la actividad de los canales TRPV6 encargados del pasaje de Ca^{2+} a través de la membrana apical del enterocito y es conocido que la FAi hidroliza éster fosfóricos generando fosfato y descenso del pH. El aumento de actividad de FAi podría generar fosfato y precipitar el Ca^{2+} como fosfato de calcio y el descenso del pH podría disminuir la actividad del canal TRPV6; en ambos casos se asociaría una disminución de la absorción de Ca^{2+} . El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del pH generado por la acción de la FAi expuesta a diferentes concentraciones de Ca^{2+} luminal sobre la absorción intestinal de Ca^{2+} . Se realizaron experimentos de sacos duodenales evertidos con el objetivo de evaluar el efecto del pH y el fosfato sobre la absorción de Ca^{2+} y su relación con la actividad de la FAi. La mucosa intestinal fue expuestas a una solución Tris 1mM, MgCl_2 1mM, glucosa 160 mM, Ca^{2+} 1, 10, 50 o 100 mM, pH 9 y la serosa a la misma solución pero sin Ca^{2+} (n=4 por grupo), bajo agitación constante y temperatura de 37 °C. Se tomaron muestras de la solución en contacto con la mucosa a tiempo inicial, 10 y 20 minutos en las que se determinó calcio, fósforo y pH. El porcentaje de Ca^{2+} absorbido se calculó a través de la diferencia entre la concentración de Ca^{2+} inicial y a los 20 minutos con un kit comercial (Ca Color, Wiener Lab, Rosario, Argentina). La concentración de fósforo total se determinó con un kit comercial (Fosfatemia UV, Wiener Lab, Rosario, Argentina) al inicio, 10 y 20 minutos y el pH con un pHmetro HANNA HI 9017. Con la concentración de fósforo, el pH y la concentración de Ca^{2+} se estimó la cantidad de fosfato de calcio formado, no disponible para el proceso de absorción. Los experimentos detallados también fueron llevados a cabo en presencia de L-fenilalanina, inhibidor de la FAi. Se observó un descenso significativo del porcentaje de Ca^{2+} absorbido al aumentar la concentración de Ca^{2+} (Ca^{2+} 1 mM = 45 ± 4 ; Ca^{2+} 10 mM = 42 ± 11 ; Ca^{2+} 50 mM = 38 ± 11 ; Ca^{2+} 100 mM = 30 ± 11). Simultáneamente se observó un descenso significativo del pH en la solución en contacto con la mucosa (Ca^{2+} 1 mM = $7,81 \pm 0,12$; Ca^{2+} 10 mM = $7,35 \pm 0,05$; Ca^{2+} 50 mM = $6,90 \pm 0,15$; Ca^{2+} 100 mM = $6,86 \pm 0,09$). En todos los experimentos, la formación de fosfato de calcio fue despreciable, no pudiendo atribuirse a la misma la disminución de la fracción de absorción de Ca^{2+} . Cuando los experimentos fueron llevados a cabo en presencia de L-fenilalanina no se observó un descenso de pH tan marcado (Ca^{2+} 1 mM = $8,33 \pm 0,15$; Ca^{2+} 10 mM = $8,05 \pm 0,18$; Ca^{2+} 50 mM = $8,17 \pm 0,17$; Ca^{2+} 100 mM = $8,28 \pm 0,21$) y se obtuvo un incremento en la fracción de absorción de Ca^{2+} (Ca^{2+} 1 mM = 53 ± 5 ; Ca^{2+} 10 mM = 56 ± 6 ; Ca^{2+} 50 mM = 42 ± 10 ; Ca^{2+} 100 mM = 40 ± 6) en todas las concentraciones de Ca^{2+} investigadas. Estos resultados fortalecerían la hipótesis que el pH regularía la entrada de Ca^{2+} al enterocito y la FAi actuaría como sensor de las concentraciones de Ca^{2+} luminal e impediría el ingreso de cantidades tóxicas del catión al enterocito. Están siendo llevados a cabo experimentos *in vivo* a fin de observar el impacto biológico de estos hallazgos.

CL24. Resultados preliminares de una metodología para la determinación de las isoenzimas de fosfatasa alcalina circulantes en plasma.

Guglielmi C, Brun LR, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

La fosfatasa alcalina (FA) se encuentra como diferentes isoenzimas en el plasma, siendo las más importantes las isoenzimas ósea (FAo), hepática (FAh) e intestinal (FAi). La actividad de FAo interesa particularmente porque es una medida de formación del proceso de remodelación ósea. Existen diferentes técnicas para su determinación, como el ELISA en el que la simplicidad compete con su alto costo. La medición de actividad pre y post precipitación con lectina también es utilizada. La búsqueda de una técnica rápida y económica, requerimientos de un laboratorio de investigación, motivaron este trabajo. Por lo tanto, los objetivos fueron caracterizar las isoenzi-



mas séricas de FA de rata en función de la sensibilidad de su actividad a la temperatura (T), el pH y la concentración de fenilalanina (Phe), plantear un modelo matemático y desarrollar una metodología para medir las actividades individuales de las isoenzimas en una mezcla. Para ello se aislaron FAo, FAh y FAi a partir de sus respectivos órganos en ratas Sprague-Dawley. En cada caso se obtuvo la enzima con los siguientes factores de purificación: FAo 21, FAh 68, FAi 95. Se planteó un modelo que tiene como base un sistema de ecuaciones algebraicas lineales, donde las actividades de FAo, FAh y FAi en plasma son las incógnitas, la actividad total de FA constituye los términos independientes; y los coeficientes son los porcentajes de actividad de cada isoenzima a un dado valor de T, pH y Phe. Se determinó la actividad de cada isoenzima a pH= 8, T= 37°C, Phe= 0mM y variando en el medio de incubación: a) pH de 6 a 10; b) T de 10 a 45 °C; c) Phe de 0 a 16 mM. En cada caso se mantuvieron valores constantes de las otras dos variables. Se asignó el valor 100% a la actividad a pH= 8, T= 37°C y Phe= 0mM y se calculó el % de actividad para los rangos de pH, T, Phe analizado. Se seleccionó un valor de cada variable investigada donde los % de actividad de cada isoenzima conduzca a una solución única del sistema de ecuaciones: T*= 25 °C, pH*= 9, Phe*= 8 mM. En una mezcla de las tres isoenzimas a un dado valor de la variable fisicoquímica, la actividad total de la FA (Act) será la suma algebraica de las actividades de cada isoenzima multiplicada por su porcentaje de actividad, pudiéndose escribir:

$$\begin{cases} Act(pH^*) = Act FAo \times \%_{pH} + Act FAh \times \%_{pH} + Act FAi \times \%_{pH} \\ Act(T^*) = Act FAo \times \%_T + Act FAh \times \%_T + Act FAi \times \%_T \\ Act(Phe^*) = Act FAo \times \%_{phe} + Act FAh \times \%_{phe} + Act FAi \times \%_{phe} \end{cases}$$

La solución de este sistema son los valores de actividad de FAo, FAi y FAh en plasma.

Se realizó la medición de la actividad de cada isoenzima en una mezcla artificial de las tres isoenzimas purificadas (90% FAi, 5% FAo, 5% FAh) utilizando la metodología descripta. Los valores de actividad total de FA (expresados en pNFF pmol/L.seg) en las diferentes situaciones fueron: T*(25 °C)= 2,14; pH*(9)= 9,93; Phe*(8 mM)= 3,25. Se aplicó la metodología desarrollada para obtener la actividad de las isoenzimas de la mezcla obteniéndose: FAi: 3,15 pNFF pmol/L.seg (68,12%); FAo: 0,75 (16,18%) y FAh: 0,73 (15,70%).

Si bien son resultados preliminares la metodología planteada ha dado valores aceptables. Las ventajas de esta metodología son bajo costo, rapidez, permite distinguir las tres isoenzimas, pudiendo ser ampliado a la medición de otras isoenzimas como la placentaria y renal, con el solo agregado de una nueva variable. Se están llevando a cabo mediciones en plasma en modelos animales con valores modificados de cada isoenzima para perfeccionar la metodología.

CL25. Alteración de la absorción intestinal de calcio en un modelo experimental de diabetes mellitus.

Rodríguez VA, Peralta López ME, Rivoira MA, Tolosa de Talamoni NG.

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico "Dr. Fernando Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

La Diabetes mellitus (DM) tipo I es un trastorno metabólico caracterizado por hiperglucemia producida por falta de secreción de insulina. Como consecuencia de la hiperglucemia crónica, se observa disfunción y lesión en diversos órganos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la absorción intestinal de calcio, la actividad de fosfatasa alcalina duodenal y la expresión de genes relacionados con la absorción intestinal de calcio, en un modelo experimental de inducción de DM. Se utilizaron ratas Wistar machos de dos meses de edad (208,25±8,85 gr), asignadas aleatoria-

mente en dos grupos, control (n=5) y experimental (n=5). A este último grupo se le indujo DM mediante la administración intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) (60 mg/kg de peso) disuelta en buffer citrato 100 mM (pH 4,5), después de 12 horas de ayuno. Los controles se inyectaron sólo con el vehículo. Se determinó la glucemia en suero y orina antes de la inducción y 5 días después de la misma. Las ratas se consideraron diabéticas con valores de glucemia superiores a 250 mg/dl. Se evaluó la absorción de Ca^{2+} por la técnica del asa intestinal ligada *in situ* y la actividad de fosfatasa alcalina (FA) en mucosa duodenal por espectrofotometría. La expresión de genes involucrados en el transporte transcelular de calcio (bomba Ca^{+2} -ATPasa y calbindina $\text{D}_{28\text{K}}$) se determinó por RT-PCR. El peso de las ratas tratadas con STZ disminuyó significativamente a los 5 días comparado con el de los controles (196,7±12,2 gr. vs 238±6 gr, p<0,05) y las glucemias fueron significativamente más elevadas que las del grupo control (406±13 mg/dL vs 142±17 mg/dL, p<0,001). Las ratas diabéticas presentaron poliuria y glucosuria. La absorción intestinal de Ca^{+2} fue menor en las ratas diabéticas en comparación con la de las ratas controles (0,26±0,01 nmol/ml Ca^{+2} plasma vs 0,65±0,05 nmol Ca^{+2} /ml plasma, p<0,001). La actividad enzimática de FA fue significativamente más baja en las ratas diabéticas que en las controles (0,31±0,06 UI/mg proteína vs 0,59±0,10 UI/mg proteína, p<0,05). Determinaciones preliminares indican que la expresión de los genes de la bomba Ca^{+2} -ATPasa y calbindina $\text{D}_{28\text{K}}$ sería similar. En conclusión, la alteración metabólica producida en la diabetes alteraría la absorción intestinal de calcio y la actividad de FA intestinal. Los mecanismos involucrados responsables de estos efectos están bajo investigación.

CL26. Evaluación de membrana ósea en defectos óseos críticos. Estudio preliminar.

Jammal MV¹, Missana LM^{1,2}

Cátedra Anatomía y Fisiología Patológicas. Laboratorio de Patología Experimental Bucal. CONICET-FOUNT. ^{1,2}Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos. PROIMI-CONICET. Tucumán. Argentina.

El hueso es un tejido mineralizado que posee capacidad de remodelación y regeneración. Sin embargo, cuando la pérdida ósea es extensa y su arquitectura tisular está dañada, es incapaz de regenerar por sí mismo, siendo necesaria la aplicación de estrategias terapéuticas para su resolución. Entre ellas, existen los materiales de relleno óseo, que pueden actuar como osteoconductores. Objetivo: evaluar partículas óseas humanas liofilizadas en forma de membrana (Laboratorio de Hemoderivados UNC), en defectos óseos críticos (DOC) en calota de ratas. Método: se utilizaron 18 ratas *Wistar* hembras (150±50 g) donde se realizaron DOC de 5mm de diámetro en hueso parietal. Se dividieron en dos grupos: el grupo control (GC) sin tratamiento; y grupo experimental (GE) cubriendo el DOC con la membrana ósea (MO). Se evaluó su comportamiento biológico a la 1°, 3° y 6° semana post quirúrgica, utilizando rayos X blandos, estudios histológicos y morfométricos. Resultados radiográficos: en ambos grupos se observaron áreas radiolúcidas circulares correspondientes al DOC, en su interior áreas radiopacas internas e irregulares que fueron de mayor tamaño en GE. Resultados histológicos e histométricos: GC: A la 1° semana se observó la presencia de costra en piel, tejido celular subcutáneo (TSC) y músculo interrumpidos. Por debajo, el hueso parietal presentó un DOC; en el interior del mismo se observó tejido de granulación y seno cavernoso sagital congestivo. En los extremos, neoformación ósea escasa (0,21%). A la 3° semana, piel, TCS y músculo estaban reparados. En el área del DOC, se observó la presencia de tejido fibroso; en los extremos, al igual que en la 1° semana, la neoformación ósea fue incipiente (0,65%). A la 6° semana los resultados fueron semejantes a la 3° semana, aunque formación ósea fue mayor, tanto en extremos como en el área central (1,06%). GE: A la 1° semana, al igual que en el



grupo control se observó costra cutánea, TCS y músculo interrumpidos. En la zona del DOC se observó la presencia de tejido de granulación y seno cavernoso sagital congestivo. Además se observó escasa neoformación ósea (7,2%). Además se detectó la lámina de hueso de tipo laminar, correspondiente a la MO implantada. A la 3° semana, presentó piel, TCS y músculo sin particularidades. En el área del DOC se observó tejido fibroblástico, y persistencia de la MO. Sobre ella, se distinguió neoformación ósea con presencia de osteoblastos activos (35,8%). A la 6° semana; piel, TCS y músculo no presentaron particularidades. En el área del defecto, persistió la MO cubierta por formación ósea así también como islotes (47,2%). Las células óseas proliferaron sobre la MO. Conclusión: La membrana ósea humana presentó biocompatibilidad y actuó como osteoconductor al aplicarlo sobre DOC de calota de ratas.

CL27. Efecto biológico de la parathormona recombinante intermitente en defectos óseos críticos.

Jammal MV¹, Missana LM^{1,2}

¹*Cátedra Anatomía y Fisiología Patológicas. Laboratorio de Patología Experimental Bucal. CONICET -FOUNT.* ²*Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos. PROIMI-CONICET. Tucumán. Argentina.*

La parathormona recombinante humana (rhPTH 1-34) es una terapéutica eficaz para el tratamiento de la osteoporosis severa, sin embargo se desconoce su respuesta en pérdidas óseas extensas de distintas etiologías. Objetivo: El objetivo de éste estudio fue evaluar el efecto biológico de rhPTH intermitente durante la regeneración de defectos óseos de tamaño crítico (DTC) en calota de ratas. Método: se utilizaron 43 ratas *Wistar* hembras (150±50 g) donde se realizaron DTC de 5 mm de diámetro en hueso parietal. Se dividieron en dos grupos: el grupo control (GC) no recibió ningún tratamiento postquirúrgico; y el grupo experimental (GE) que recibió una inyección diaria de 20 g/kg/día (rhPTH) vía subcutánea. Se recogieron muestras de sangre y orina, para estudiar marcadores bioquímicos óseos. La regeneración ósea se evaluó a la primera, tercera y sexta semana post quirúrgica; utilizando rayos X blandos, estudios histológicos y morfométricos. Resultados bioquímicos: rhPTH incrementó los niveles de fosfatasa alcalina y calcio sérico durante los tres períodos estudiados acompañados de una disminución en la excreción renal de éste ión. La fosfatasa ácida tartrato resistente disminuyó a la primera semana mientras que retornó a niveles cercanos al basal en los estadios más tardíos. En el grupo control, se observó un incremento leve de la FAT y calcemia en los tres periodos de tiempo. Mientras que la TRAP se encuentra elevada solo a la 1° semana, volviendo a sus niveles basales a la 3° y 6°. Resultados radiográficos: en ambos grupos se observaron áreas radiolúcidas circulares correspondientes al DTC, en su interior áreas radiopacas internas e irregulares de mayor tamaño que en GE. Resultados histológicos: GC: a la primera y tercera semana se observó neoformación ósea incipiente en extremos del DTC (0,21% y 0,65% respectivamente), con importante presencia de osteoblastos y células lining; y escasos osteoclastos. A la sexta semana la formación ósea fue mínima tanto en extremos como en el área central del defecto (1,06%). En el GE a la primera y tercera semana la neoformación ósea fue similar al grupo control (0,84%, 0,42%). A la 6° semana la neoformación ósea fue mayor (2,81%). A la tercera semana, el hueso neoformado presentó mineralización ósea desordenada y a la sexta semana sobre el hueso parietal se dispuso en capas arremolinadas globulares. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el test de Mann Withney, observándose diferencias significativas entre los GC y GE a la sexta semana ($p=0,023$). Conclusión: La rhPTH en

defectos óseos críticos en calota, activó e incrementó la actividad de la Unidad Multicelular Ósea. La neoformación perióstica y endóstica sobre el hueso parietal fue semejante a la Hiperostosis descrita por Long P y col. en Guía para Patología Toxicológica (AFIP 1993).

CL28. La deficiencia nutricional de calcio como factor de riesgo, no sólo para la salud ósea sino también para el desarrollo de sobrepeso y obesidad. Estudio experimental.

Marotte C^{1,5}, Weisstaub A², Gonzales Chaves MMS^{1,5}, Pellegrini GG^{1,5}, Olguin M³, Lucero DM⁴, Schreier L⁴, Portela ML², Zeni SN^{1,5}

¹Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas. ²Cátedra de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. ³Universidad Nacional de Rosario. ⁴Laboratorio de lípidos y lipoproteínas. Depto. Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. ⁵CONICET.

La alta deficiencia nutricional de calcio (Ca) en Argentina ha quedado reflejada en la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud realizada durante 2004-2006. A través de análisis posteriores de la misma (Zeni SN y col) se observó una relación inversa entre ingesta de Ca e incidencia de sobrepeso y obesidad, datos que concuerdan con el estudio NHANES III de USA. Estos hallazgos epidemiológicos se enmarcan en los postulados fundamentales de la teoría propuesta por MB Zemel en 2004 que sugieren que “*las elevadas ingestas de Ca serían un factor de prevención para el padecimiento de sobrepeso y obesidad*”. Objetivo: sobre estas bases se evaluó si el contenido de Ca dietario influye no sólo sobre el metabolismo óseo sino también sobre la composición corporal y parámetros lipídicos y glucosídicos en ratas macho genéticamente obesas (IIMbb). Metodología: Hembras adultas se alimentaron desde el inicio de la preñez con dietas isocalóricas según AIN’93, variando sólo en el contenido de Ca: 0,9 g % (GA), 0,5% (GN) ó 0,3% (GB). Como control se utilizó un grupo de ratas Wistar (GW) alimentado con una dieta AIN’93 (0,5% Ca). Al destete las crías macho continuaron recibiendo *ad libitum* las mismas dietas experimentales que sus madres hasta los 50 días de edad (Tf). El consumo de dieta y peso corporal (PC) se determinó tres veces por semana. A Tf se sacrificaron y se determinó contenido corporal de: agua (en estufa a 100±2°C), grasa (%G) (Soxhlet), nitrógeno (Kjeldhal) (%proteínas = %N x 6,25), cenizas (550°C), Ca (absorción atómica) y fósforo (P) (Gomori); en suero: osteocalcina (BGP) y telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (CTX) por ELISA, insulina (RIA); glucosa, colesterol total y triglicéridos (TGL) por los métodos habituales. Resultados (X±ES):

	GA	GN	GB	GW
Peso Corporal final (g)	195±9a	227± 13b	262±7c	192±6a
Cenizas totales (g/100 g PC)	2,4±0,1a	2,2±0,1a	1,5±0,1b	3,2±0,0c
Ca corporal (mg/100 g PC)	720±34a	640±22b	394±40c	850±26a
P corporal (mg/100 g PC)	532±22a	520±31a	882±15b	728±32c
%Grasa corporal	14,2±0,9a	13,7±0,9a	15,9±0,6b	9,7±0,7c
BGP (ng/dl)	271±39a	381±40b	478±32c	841±38d
sCTX (ng/dl)	31,1±0,3a	57,0±3,7b	69,7±2,3c	88,3±5,7d
Col T (mg/dl)	67,4±8,0a	78,2±5,4b	64,5±3,1a	30,1±3,3c
TGL (mg/dl)	272,6±39,9a	205,0±35,2b	216,4±26,8b	69,7±9,2c
Glucosa (mg/dl)	111,8±25,5a	151,9±21,9b	207,0±11,0c	98,7±14,6a
Insulina (ng/ml)	1,92±0,75a	4,07±0,93b	6,87±2,24c	0,13±0,01d

Letras diferentes indican una p<0,05.



El PC, el %G, los niveles de insulina y glucosa fueron significativamente mayores y el porcentaje de cenizas y el contenido de Ca corporal menores en GB. Los marcadores óseos fueron mayores que en el resto de las ratas obesas pero menores que en las ratas controles. Conclusiones: Como se esperaba también en ratas espontáneamente obesas el bajo contenido de Ca de la dieta afecta negativamente el contenido de Ca corporal total con modificaciones en el remodelamiento del hueso. Un hallazgo importante es que la baja ingesta de Ca induce un aumento en el depósito de grasa corporal con alteración en la resistencia a la insulina. UBACYT (2008-10) B 091.

CL29. Efecto modulador del monofluorofosfato (MFP) sobre la acción del zoledronato (Z) en ratas ovariectomizadas (OVX).

Lombarte M, Roma SM, Moreno H, Rigalli A, Di Loreto V.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

Con el fin de optimizar la prevención y tratamiento de la osteoporosis, han sido probadas varias terapias combinando drogas antirresortivas con osteoformadoras. El Z, bifosfonato de tercera generación, es utilizado como agente antirresortivo eficaz. El MFP, al producir fluoruro por hidrólisis, aumenta la diferenciación y proliferación de precursores de osteoblastos incrementando la masa ósea. El objetivo de este trabajo fue evaluar histológicamente el efecto preventivo del uso combinado de Z y MFP en ratas OVX. Se realizó OVX a ratas Sprague Dawley hembras de 70 días. Luego de la cirugía, se las dividió en cuatro grupos experimentales (n=8): Control: sin tratamiento; MFP: tratadas con MFP; Z: tratadas con zoledronato y MFP+Z: tratadas con MFP y Z. Se utilizaron las siguientes dosis: MFP: 80 $\mu\text{mol/día}$ vía orogástrica. Z: 1,5 $\mu\text{g/kg/semana}$ vía subcutánea. A 8 ratas se les realizó cirugía simulada (sham). A los controles y sham se les suministró vehículo. A los 30 días fueron sometidas a eutanasia y se extrajeron las tibias derechas en las que se realizaron estudios histomorfométricos e histopatológicos de hueso trabecular (metáfisis proximal). Histomorfométricamente se determinó el volumen óseo, número de trabéculas, ancho y separación de las mismas. Los resultados se expresan como media \pm error estándar, la comparación entre grupos se realizó con ANOVA y post test de Dunnett. Las diferencias se consideraron significativas si $p < 0,05$. El análisis histológico consistió en la evaluación de la relación hueso-tejido hemocitopoyético (H/TH); maduración trabecular; y la presencia de osteoclastos (OCL), osteoblastos (OBL) activos y células de revestimiento (CR).

Variables histomorfométricas de hueso trabecular de tibia de grupos experimentales

Variable	Sham	OVX control	MFP	Z	MFP+Z
Volumen óseo (%)	35,3 \pm 4,74	21,5 \pm 1,51*	17,1 \pm 1,00*	64,3 \pm 3,48*	52,2 \pm 3,15*
Ancho trabecular (μm)	55,5 \pm 3,81	51,9 \pm 1,05	40,3 \pm 1,79	61,6 \pm 10,4	50,1 \pm 5,74
Nº de trabéculas(1/mm)	6,3 \pm 0,5	4,3 \pm 0,3	4,2 \pm 0,3	10,6 \pm 1,24*	9,89 \pm 0,61*
Separación trabecular (μm)	108,0 \pm 13,64	189,6 \pm 19,43*	202,9 \pm 15,17*	38,4 \pm 2,35*	49,8 \pm 3,93*

p<0,05 respecto a sham

El análisis histopatológico mostró, en el grupo de ratas sham, una relación hueso-tejido hemocitopoyético adecuada y trabéculas óseas maduras. El grupo control, presentó TH que superó la cantidad de hueso. Se evidenciaron trabéculas inmaduras, con pocos OBL y un aumento de los OCL, todo ello con respecto al grupo sham. En el grupo tratado con MFP se reconoció abundante TH; el hueso esponjoso mostró trabéculas delgadas, con abundantes CR y OBL. En el grupo Z

se observaron trabéculas anastomosadas, inmaduras, con tendencia invasiva sobre el espacio medular y con mínima expresión del TH. Fue relevante la disminución de osteoblastos. Contrariamente, en el grupo MFP+Z se reconocieron trabéculas maduras, con espacios medulares bien definidos. El borde trabecular se encontró revestido por numerosas CR y OBL.

Podemos concluir que el tratamiento con Z solo o combinado con MFP previno la pérdida de hueso producida por la OVX. Su combinación con MFP normalizó las características histológicas del hueso. El MFP, al estimular la actividad osteoblástica, podría modular el remodelado óseo produciendo un hueso de mejor calidad.

CL30. Melatonina. ¿Hormona protectora de la absorción intestinal de calcio?

Carpentieri AR^{1,2}, Marchionatti AM¹, Pérez A del V¹, Centeno VA¹, Areco VA¹, Tolosa de Talamoni NG¹.

¹Laboratorio de metabolismo fosfocálcico y Vitamina D "Prof. Dr. Fernando Cañas". Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, ²Química y Física Biológicas, Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

En un trabajo previo, se observó que en pollos normales la melatonina (MEL) revierte el efecto inhibitorio de menadiona (MEN) sobre la absorción intestinal de calcio. El presente trabajo tuvo como objetivo dilucidar los mecanismos moleculares que median el efecto protector de MEL. Para ello se utilizaron pollos de 4 semanas de edad, los cuales se dividieron en cuatro grupos: 1) controles, 2) tratados i.p. con MEN (2,5 µmol/kg de peso), 3) tratados i.p. con MEL (10 mg/kg de peso) y 4) tratados con MEL i.p. 30 minutos después de la administración i.p. de MEN. Se estudió la expresión de los genes y proteínas involucrados en el transporte transcelular de Ca²⁺ en intestino mediante RT-PCR y western blot, respectivamente. Se analizaron las expresiones del intercambiador Na⁺/Ca²⁺ (NCX1), la bomba Ca-ATPasa (PMCA1) y la calbindina D_{28k} (CB). El estrés oxidativo se evaluó mediante las determinaciones del contenido de glutatión (GSH) y la actividad de las enzimas del sistema antioxidante por espectrofotometría, mientras que la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna se evaluó mediante la técnica de "swelling". La apoptosis se determinó en base a la fragmentación del ADN (técnica de TUNEL), expresión inmunocitoquímica del citocromo c y actividad de caspasa-3 por ELISA. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con ANOVA seguido del test de Bonferroni. Los resultados indican que NCX1, gen involucrado en la salida de calcio de las células, y el de CB, gen que participa en la difusión del calcio intracelular desde el polo apical hacia la membrana basolateral del enterocito, no se afectaron por los tratamientos. Sin embargo, la expresión génica de la PMCA1 disminuyó ante el tratamiento con MEN, efecto que se revirtió completamente con el posterior tratamiento con MEL. Estos resultados se correlacionaron con la expresión proteica de PMCA1. Por otro lado, el incremento en el estrés oxidativo, reflejado por la disminución en el contenido GSH intracelular intestinal y el aumento en la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna de los enterocitos, observados tras el tratamiento con MEN, se contrarrestó por administración de MEL, siendo la reversión dependiente de la dosis de la hormona. Las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, cuyas actividades habían incrementado con el tratamiento con MEN, retornaron a los valores controles después del tratamiento con MEL. La apoptosis desencadenada por MEN en las vellosidades intestinales se contrarrestó con el tratamiento con MEL, a juzgar por la normalización en la actividad de caspasa-3 y en la inmunoexpresión de citocromo c como así también en el índice apoptótico calculado de las tinciones de TUNEL. De por sí, MEL no altera la absorción intestinal de calcio ni otras variables estudiadas a excepción de la expresión génica de la PMCA1, la cual



es estimulada por la sola administración de la hormona. En base a los datos obtenidos, se puede concluir que MEL revierte la alteración de la absorción intestinal de Ca^{+2} producida por MEN contrarrestando el estrés oxidativo y la apoptosis mitocondrial pero a su vez estimulando directamente la expresión de la bomba de calcio, principal molécula que participa en la salida del catión desde el enterocito. Estos hallazgos sugieren que MEL podría ser una potencial droga de elección para la reversión de la alteración de la absorción intestinal de Ca^{+2} producida por estrés oxidativo. Las Dras. Tolosa de Talamoni y Carpentieri son miembros de la Carrera del Investigador Científico del CONICET. Subsidiado por FONCyT, CONICET y SeCyT-UNC.

CL31. Diagnóstico original tomográfico-biomecánico de la pérdida diferencial de masa ósea trabecular y cortical.

Capozza RF, Feldman S, Mortarino P, Reina P, Rittweger J, Ferretti JL, Cointy GR.
CEMFOC/UNR/CONICET, Rosario; Inst of Aerospace Med, Div Space Physiology, German Aerospace Center (DLR), Colonia, Alemania.

En las osteopatías fragilizantes, sea su etiología metabólica o mecánica, es difícil establecer la proporción cuantitativa entre las pérdidas de masa ósea trabecular y cortical. Tanto más, cuanto la metodología más difundida para diagnosticar osteopenias (DXA) expresa resultados obtenidos en regiones de estructura combinada trabecular/cortical en proporciones a-priori indefinidas, con referencia a valores de individuos jóvenes normales, distintos del estudiado, en forma independiente para cada región estudiada. Este inconveniente podría obviarse, estudiando con otras metodologías sitios únicos o múltiples de regiones únicas, con más alta predominancia de estructuras cortical o trabecular que las estudiadas mediante DXA. Mejor aun, si fuera posible establecer correlatos biomecánicos precisos, que justifiquen alguna proporcionalidad "natural", específica de especie, entre las masas esperables de uno y otro tejidos en distintos sitios esqueléticos de un mismo individuo. Esto eliminaría factores confundidores no-mecánicos (inadecuados para evaluar la resistencia a la fractura), así como la variancia propia de comparaciones inter-individuales. Es posible establecer relaciones de ese tipo, analizando por pQCT la tibia distal de los mismos individuos. Escaneando esa región cada 5% de la longitud tibial en hombres y mujeres normales, hemos establecido ya una proporcionalidad bastante ajustada entre los CMO's totales, de 1,5:1,0 para los sitios al 5 y al 15%, y de 1,0:1,0 para los sitios al 5 y al 40% de altura, para cualquier edad, sexo, peso y talla. La primera relación, entre sitios que normalmente soportan la misma carga en compresión pura, expresa una proporción de 2/3 entre la eficiencia de sostén de la estructura combinada altamente trabecular del sitio al 5% y la de la predominantemente cortical al 15%. La segunda relación refleja la recuperación, al 40% de altura, del CMO total presente al 5%, resultante de la adición de masa cortical por el *mecanostato*, en respuesta a la influencia incipiente de cargas en flexión y tracción hacia la mediocrural. Este trabajo pretende establecer valores referenciales de Z-scores de esas proporciones naturales biomecánicas, evaluadas en los sitios estándar del aparato (vecinos a los referidos), que puedan aplicarse al diagnóstico de la relación entre pérdidas diferenciales de masa cortical y trabecular en un mismo esqueleto. Para conseguirlo, se determinó el CMO total en los sitios estándar, al 4, 14 y 38% de altura tibial, en 60 hombres, 80 mujeres pre-menopáusicas (MP) y 120 post-MP normales y sanos de 20 a 80 años (equipo *Stratec XCT-2000*), y se correlacionaron los valores obtenidos al 4% (y) y al 14 ó al 38% (x_1 , x_2). Las curvas obtenidas para hombres y mujeres pre-MP fueron lineales, altamente ajustadas ($r=0,938$ y $0,815$; $p<0,001$), comprendiendo el origen. Las ecuaciones de ajuste ($y=0,31+1,08x$, $y=-0,45+1,54x$) mostraron pendientes estadísticamente similares a las esperadas de 1,5 y 1,0.

Los *Z-scores* calculados para ambas relaciones (± 1 *Z-score* = ± 1 DS de los datos alrededor de las curvas) fueron de 0,25 y 0,30 g; es decir, de sólo 6,5-7,8% del valor medio de CMO al 4% (3,8 g). Las mujeres post-MP sanas mostraron reducciones no significativas de ambos *Z-scores*. Una determinación preliminar de estos *Z-scores* en 60 insuficientes renales dializados (que se expone en detalle aparte) mostró una alta dispersión de los valores (entre +2,5 y -3,8), que permite una fácil distinción entre casos con pérdidas óseas predominantemente trabeculares o corticales, apta para discriminar etiopatogénicamente su osteodistrofia. Los resultados 1. Confirmaron las proporciones esperadas en relación con los hallazgos anteriores en sitios próximos, verificando la aptitud de las relaciones biomecánicas pre-establecidas para predecir los hallazgos; y 2. Les adscribieron a esas características atributos estadísticos adecuados para su empleo como referencias diagnósticas comparativas para casos individuales.

CL32. Análisis tomográfico de la estructura ósea por pQCT en dializados renales crónicos. Correlaciones biomecánicas y con la actividad sérica de TRAP-5.

Grappiolo I, Reina P, Cointry GR, Acosta F, Nicola G, Mascheroni C, Ransdale P, Sack Behar G, Capozza RF, Ferretti JL, Feldman S.

CEMFOC/CONICET, Cátedra de Química Biológica, Fac. de Medicina, UNR, y Servicio de Diálisis y Trasplantes, Hospital Provincial del Centenario, Rosario.

La estructura ósea en la osteodistrofia renal varía con su etiopatogenia; pero algunos de sus patrones biomecánicos podrían describirse en forma sistematizada. Para verificarlo, determinamos por pQCT (*Stratec XCT-2000*) indicadores de masa (área, CMO y vDMO), calidad material (vDMO cortical, vCtDMO), diseño (diámetros endo y perióstico, espesor cortical, momentos de inercia, MIs; *buckling ratio*, BR) y resistencia (*Bone Strength Indices*, BSIs, SSI), en los sitios estándar al 4, 14 y 38% de altura tibial, de 41 hombres, 16 mujeres pre-MP y 15 post-MP renales crónicos con >1 año de diálisis (D), y de 15 controles simultáneos sanos (CSS). Los datos de esos indicadores; de los cocientes entre CMO's totales al 4 y al 14 o al 38% (que estiman la proporción entre las masas trabecular y cortical), y de las curvas de distribución/calidad (d/c) entre los MIs y la vCtDMO (que evalúan la aptitud del *mecanostato* para distribuir el tejido cortical en función de su calidad) se expresaron como *Z-scores* con referencia a 60 hombres, 80 mujeres pre-MP y 120 post-MP controles normales de referencia (CNR), y se correlacionaron con la actividad sérica de TRAP-5 en D y CSS (n= 41, 11). La enfermedad redujo la masa y la calidad material ósea y el espesor cortical, y aumentó el perímetro endóstico respecto de los CNR (ANOVA, $p < 0,05$ a $p < 0,001$). Estas alteraciones correlacionaron con la TRAP-5 sérica en D y CSS ($r = 0,268$ a $0,543$, $p < 0,05$ a $p < 0,001$). Los indicadores de diseño y resistencia diafisarios (MIs, BSIs, SSI) no difirieron entre D y CNR, ni correlacionaron con la TRAP-5; pero el BR fue menor en D que en CNR ($p < 0,001$). Los *Z-scores* de los cocientes de CMO, 4/14% y 4/38%, mostraron valores dispersos, positivos y negativos, sin correlación con la TRAP-5. Los *Z-scores* de las curvas d/c fueron menores en D que en CNR ($p < 0,001$). El deterioro de los indicadores de masa y calidad material de diáfisis y metáfisis, que no están directamente afectados por el *mecanostato*, fue correlativo con la TRAP-5 sérica, como era de esperar dado su dependencia *remodelatoria*. Pero los indicadores de diseño y resistencia diafisarios, que están también afectados por la redistribución *modelatoria* del material cortical a cargo del *mecanostato*, se mantuvieron normales (las pérdidas corticales se dieron del lado endóstico, que es el que menos afecta a los MIs), y no correlacionaron con la TRAP-5. Esto sugiere una llamativa integridad funcional del *mecanostato* óseo en estos pacientes, que tendería a compensar las consecuencias mecánicas del déficit remodela-



latorio de masa cortical, optimizando su distribución arquitectónica. Eso explicaría el mantenimiento de una cierta resistencia a las fracturas diafisarias tibiales en estos casos. De todos modos, la vCtDMO (el indicador más claramente afectado en D) y los Z-scores de la curva d/m, que evalúan la eficiencia del *mecanostato* para distribuir el tejido cortical *en función de su vCtDMO*, se redujeron en correlación con la TRAP-5. Además, cuando la pérdida endóstica de masa adelgazó mucho las cortezas, la eficiencia del diseño se afectó por un importante incremento del BR. Esto señala el riesgo de sobre-estimar la eficiencia del diseño diafisario a partir de datos de Mis, si los espesores corticales son muy delgados. En esos casos, la eficiencia aparente del diseño derivada de la distribución sectorial del tejido duro en la sección, que reflejan los MIs, quedaría neutralizada, o aun superada, por el riesgo de claudicación cortical por excesiva delgadez, que el BR denuncia, pero los MIs no capturan. La expresión de los indicadores de masa como Z-scores impide estimar proporcionalmente los deterioros de las masas cortical y trabecular; pero los Z-scores de los cocientes de ToCMO, que sí pueden hacerlo, muestran una amplia dispersión de valores. Eso permitiría detectar factores etiológicos de las pérdidas diferenciales corticales y trabeculares en estos pacientes, que varían mucho, en correlación o no con la gravedad de su condición.

CL33. El calcitriol en combinación con DL-butionina-S,R-sulfoximina inducen alteraciones en la proliferación, estado redox y diferenciación de células neoplásicas intestinales.

Liaudat AC, Bohl LP, Tolosa de Talamoni NG, Picotto G.

Laboratorio Dr. F Cañas, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNC, Córdoba, Argentina.

El cáncer colorrectal es considerado un proceso multifacético caracterizado por alteración de la proliferación celular, escape de la regulación del crecimiento por contacto, formación de estructuras adenomatosas y futuras transformaciones malignas. La incidencia y la prognosis de esta enfermedad, como así también del cáncer de mama, próstata y del melanoma, están en estrecha relación con los niveles plasmáticos de vitamina D₃. En los últimos años se han descrito varias acciones no clásicas del metabolito activo de la vitamina D, el 1,25(OH)₂D₃, también denominado calcitriol. Entre ellas se destacan la modulación del crecimiento y la adhesión celular de varios tipos celulares benignos y malignos. Por otra parte, en cánceres resistentes a los tratamientos convencionales con radioterapia y quimioterapia, la inclusión de drogas oxidantes tal como D,L-butionina-S,R-sulfoximina (BSO) aumenta la sensibilidad de las células neoplásicas a los tratamientos. 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 humano, se trataron con calcitriol (1-200 nM), BSO (2-500 M), con ambas drogas o su vehículo a 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), como así también de la enzima marcadora de diferenciación celular fosfatasa alcalina (FAL) y los niveles de glutatión (GSH) se midieron por espectrofotometría. 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 calcitriol como BSO inhibieron el crecimiento de las células Caco-2, efecto que resultó dependiente del tiempo y de la concentración de droga utilizada. El contenido total de GSH disminuyó a las 6 hs de tratamiento con BSO y con el tratamiento combinado. A las 96 hs se observó aumento en la activi-

dad de FAL en las células tratadas con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y con ambas drogas. La actividad de CAT aumentó sólo con el tratamiento combinado y la actividad SOD no se modificó. En conclusión, BSO incrementa el efecto antiproliferativo del calcitriol sobre las células Caco-2 mediante aumento del estrés oxidativo, el cual puede ser sólo parcialmente compensado por el sistema enzimático antioxidante. El incremento de FAL sugiere una inducción de la diferenciación celular. Este trabajo fue subsidiado por FONCYT, CONICET, MINCYT (Córdoba) y SECYT (UNC), Argentina. La Prof. Dra. Nori Tolosa de Talamoni y la Dra. Gabriela Picotto son miembros de la Carrera de Investigador Científico de CONICET.

CL34. Alteraciones de la remodelación fisiológica de los alvéolos dentarios causadas por intoxicación con plomo.

Mitre P, Soria N, Meheris H, Garat J.

Cátedras de Histología y Farmacología. Facultad de Odontología. Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Tucumán.

El objetivo de este trabajo fue determinar eventuales alteraciones de los parámetros histomorfométricos que rigen la actividad modeladora de las corticales periodontales mesial y distal del hueso alveolar interradicular en ratas intoxicadas con plomo. Se utilizaron ratas Wistar de 150 ± 10 gr de peso alimentadas con dieta dura convencional distribuidas en dos grupos denominados control y experimental. El grupo control tuvo ingesta de agua de bebida libre de plomo. El grupo experimental con ingesta de agua de bebida con acetato de plomo en dosis de 1000 ppm durante un período de tiempo de 2 meses. Al término del período experimental los animales fueron sacrificados. Luego del sacrificio se realizó la extracción de sangre intracardiaca en tubos de vidrio heparinizados para las determinaciones de plumbemia. Además se disecaron los maxilares inferiores. Los huesos fueron divididos por la línea intere incisiva, fijados en formol al 10% y procesados según técnica habitual para inclusión en parafina previa descalcificación en EDTA al 10% a pH 7,2. De los tacos obtenidos se realizaron cortes medio-distales del primer molar inferior, se colorearon con H&E, se observaron al microscopio óptico y fueron sometidos al análisis histomorfométrico. Determinaciones: En las muestras de sangre se determinó en los animales de ambos grupos: plumbemia. En los cortes histológicos, según los principios de la estereología, se determinaron los porcentajes de las siguientes superficies: (1) Formación ósea (FO). (2) Reabsorción ósea (RO). (3) Reposo (R). Las determinaciones fueron realizadas por separado en las paredes mesial (remodelación) y distal (modelación) del hueso interradicular del primer molar inferior. Se determinó además el peso corporal al inicio y al final de la experiencia. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el test de Mann-Whitney. Resultados: Los resultados indicaron que la plumbemia fue significativamente mayor en el grupo experimental. Del análisis histométrico de la actividad modeladora de la cortical periodontal mesial (remodelación) del hueso interradicular se obtuvieron los siguientes resultados: FO (control $8 \pm 5\%$ vs. experimental $16 \pm 13\%$). RO (control $72 \pm 1\%$ vs. experimental $42 \pm 7\%$). R (control $14 \pm 5\%$ vs experimental $41 \pm 18\%$). En la cortical periodontal distal (modelación) del hueso interradicular se obtuvieron los siguientes resultados: FO (control $19 \pm 14\%$ vs. experimental $12 \pm 8\%$). RO (control $11 \pm 5\%$ vs. experimental $9 \pm 7\%$). R (control $71 \pm 13\%$ vs experimental $78 \pm 9\%$). El peso corporal al final de la experiencia fue significativamente mayor en el grupo experimental. Estos resultados sugieren que la intoxicación con plomo inhibe la actividad reabsortiva del hueso en la remodelación fisiológica de los alvéolos dentarios. Subsidiado por CIUNT.



CL35. 17β -Estradiol regula negativamente el rol proapoptótico de Bax en células musculares esqueléticas.

Ronda A, La Colla A, Stockman G, Boland R, Vasconsuelo A.

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

El músculo esquelético es blanco de la acción estrogénica. Patologías degenerativas de la masa muscular como la sarcopenia observada en mujeres menopáusicas se deben a la disminución de los niveles de estrógeno. Asimismo, esta hormona es importante en el mejoramiento de la masa muscular en casos de atrofia. Aunque no se conocen totalmente los mecanismos moleculares que desencadenan la sarcopenia, existen evidencias que sugieren que la aceleración de la pérdida de miocitos y de la fuerza muscular relacionada con la edad ocurriría vía un proceso apoptótico. También se ha reportado que una apoptosis elevada de los miocitos en ratas seniles conduce a la atrofia muscular. Previamente evidenciamos que el 17β -estradiol (E2) inhibe la apoptosis en células musculares esqueléticas C2C12. En este trabajo se demuestra que la proteína proapoptótica Bax se encuentra unida a la proteína citoplasmática 14-3-3 y a ERK. Cuando las células musculares son tratadas con E2 la interacción Bax/14-3-3 aumenta y el complejo Bax/ERK disminuye, esto último en concordancia con la translocación de ERK a mitocondrias inducida por la hormona. El estímulo apoptótico con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) induce la disociación de Bax/14-3-3 y aumenta la interacción Bax/ERK, efectos que son inhibidos por el pretratamiento con E2. Además, por citometría de flujo mostramos que el H_2O_2 disminuye el potencial de membrana mitocondrial, cambio que no se observa en células tratadas con E2 antes de la inducción de apoptosis. Estos hallazgos involucran a Bax en la regulación negativa de la apoptosis muscular por el E2 afectando la función mitocondrial.

CL36. Determinación de osteocalcina en niños con deficiencia de hormona de crecimiento por dos inmunoensayos comerciales: electroquimioluminiscencia (ECLIA) y quimioluminiscencia (CLIA).

Páez Núñez A, Honeker M, Schvab G, Muñoz L, Sobrero G, Silvano L, Miras M.

Centro Privado de Endocrinología Infanto Juvenil (Córdoba-Argentina). Hospital de Niños de Córdoba (Córdoba-Argentina).

Introducción: La determinación de osteocalcina (OC) ha sido propuesta en niños con deficiencia de hormona de crecimiento (GHD) para evaluar el efecto del tratamiento con hormona de crecimiento (GH) sobre el remodelado óseo. Su verdadera utilidad es controvertida. Objetivos: Comparar los valores de OC en pacientes con GHD bajo tratamiento con GHr (n=47) con un grupo control (n=40) utilizando dos inmunoensayos: ECLIA y CLIA y analizar los valores obtenidos de OC en suero versus plasma, por ambos métodos. Resultados: La media (ng/ml) obtenida en GHD fue significativamente más alta que el grupo control con ambas metodologías (CLIA: GHD $74,5 \pm 28,6$, control $57,5 \pm 25,6$; ECLIA: GHD $109,6 \pm 37,8$, control $79,9 \pm 29,6$; $p < 0,001$). Con ambos métodos se obtuvo correlación entre suero y plasma, con diferencias significativas entre valores medios: ECLIA suero: 30 ng/ml; plasma: 34 ng/ml ($r: 0,9976$; $p < 0,0001$). CLIA: suero: 31,5 ng/ml; plasma: 40,1 ng/ml ($r: 0,9821$; $p < 0,0001$). Conclusión: Si bien GH tiene un efecto bifásico sobre el remodelado óseo, se desconoce la proporción relativa de OC y fragmentos que proviene de cada proceso. Nuestros resultados demuestran la conveniencia de la utilización de un mismo método en el segui-

miento de pacientes tratados con GH debiéndose estandarizar el tipo de muestra para contribuir a una mejor utilidad clínica.

CL37. Quiste óseo aneurismático como complicación de displasia fibrosa craneana.

Claus-Hermberg H, Lozano MP, Pozzo MJ.

Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

Introducción: la displasia fibrosa (DF) ósea es una enfermedad poco frecuente con un amplio espectro de presentación clínica y que afecta primariamente los huesos de la región craneofacial. El cuadro radiológico está determinado por la evolución de las lesiones a lo largo del tiempo (tienden a hacerse más escleróticas con los años) y por la aparición de cambios sobregregados como la degeneración quística. Los quistes óseos aneurismáticos (QOA) representan una evolución muy poco frecuente de la DF. La localización más frecuente es en huesos largos, mientras que los QOA de la región craneofacial son excepcionales y de difícil manejo.

Caso clínico: mujer en la que a los 15 años de edad se observan en forma incidental en radiografía de senos paranasales imágenes en calota compatibles con DF (2001). La TAC de cráneo confirma la sospecha de DF y la distribución poliostótica de la misma que afectaba en las siguientes regiones: frontal derecha, supraorbitaria bilateral, parietales y base cráneo. Centellograma óseo: captación en zonas amplias de calota y base cráneo, sin compromiso de otras regiones esqueléticas. Clínicamente asintomática, examen ocular, campo visual, audición y pares craneales normales. Menarca 12 años, ciclos regulares ovulatorios. Examen físico: se observaba tumoración supraorbitaria derecha y se palpaban tumoraciones frontales y parietales (ninguna de ellas había sido valorada previamente). La clínica y el laboratorio descartaron disfunciones extraesqueléticas asociadas a la DF (McCune Albright y tubulopatía renal perdedora de fosfatos). Laboratorio: Fosfatasa alcalina ósea: 45 U/L (VR: 11,6-30), Dpir/Cr en orina matinal: 14,9 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ (VR 3-8), Ca: 9,6 mg/dl (VR: 8,4-10,2), P: 3,8 mg/dl (VR: 2,7-4,5), RTP: 92%. Se indicó tratamiento con pamidronato intravenoso, pero durante la primera infusión de 60 mg sufrió intensa cefalea que obligó a interrumpir la misma y la paciente rehusó intentos posteriores. Inició tratamiento oral con alendronato 70 mg 2 veces por semana que luego de un año se redujo a una dosis semanal. Comenzó anticonceptivos orales a los 21 años. Los controles anuales no mostraron cambios de las imágenes ni de los marcadores de recambio óseo, que se mantuvieron en rango normal. A los 4 años se suspendió el tratamiento sin observarse cambios clínicos, radiológicos ni bioquímicos durante los 4 años posteriores. Al finalizar ese período (2009, edad 23 años) la paciente palpa una zona circunscripta de reblandecimiento de 2 cm en la lesión de DF del parietal izquierdo. La TAC mostró una imagen lítica circunscripta con solución de continuidad de la tabla externa sin comprometer la tabla interna de tamaño algo mayor a 1 cm. La RMN reveló que su contenido tenía la característica de "nivel líquido-líquido", fuertemente compatible con QOA. El control a los 4 meses revela extensión de la lesión sin compromiso de la tabla interna. Se realizaron numerosas consultas con especialistas nacionales y extranjeros las que variaron desde conducta expectante a resolución quirúrgica. Se propuso una cirugía consistente en craneoplastia de toda la lesión displásica, opción que la paciente por el momento no aceptó prefiriendo continuar con conducta expectante. Conclusión: los QOA de la región craneana son una complicación muy poco frecuente y de difícil tratamiento de la DF. El rápido crecimiento de las lesiones conocidas debe hacer sospechar el diagnóstico de degeneración quística. La RNM ("nivel líquido-líquido"), si bien no patognomónica es muy compatible con QOA.

**CL38. Determinación de la velocidad de captación del fluoruro por el tejido óseo.**

Lupo M, García B, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

El fluoruro (F) es una droga con potencial terapéutico para prevenir la pérdida de masa ósea y con aplicación diagnóstica para la medida del estado de la remodelación ósea. Se ha desarrollado un modelo matemático para medir la formación y la resorción ósea en ratas a partir de la velocidad de captación de fluoruro por el tejido óseo. La metodología utiliza datos de fluoremia y fluoruria luego de una dosis intravenosa no tóxica de fluoruro de sodio (NaF). Este método ha sido validado en diferentes modelos animales con remodelación ósea modificada en forma farmacológica, quirúrgica y nutricional. Sin embargo, existen valores no esperados como consecuencia de los supuestos del modelo que no se cumplirían en todos los animales. Una de las incongruencias detectadas es que cuando se calcula la constante de incorporación de fluoruro al hueso (k_o), en el 33% de los animales se obtiene un valor negativo, no coherente con el planteo del modelo y sus supuestos. Una de las posibles causas de estos valores no esperados sería el proceso de distribución de fluoruro que no ha podido aun ser completamente caracterizado y afectaría el cálculo de las constantes de eliminación plasmática (k_e) y de depuración urinaria (k_u) necesarias para el cálculo de k_o . Una desventaja adicional es que la determinación de F plasmática no posee alta precisión y requiere una semana para la obtención de los valores. El modelo farmacocinético permitiría obtener las constantes farmacocinéticas exclusivamente a partir de datos de fluoruria utilizando sencillas manipulaciones de los animales. El objetivo de este trabajo fue obtener las constantes farmacocinéticas del F en la rata a partir de datos de fluoruria luego de una dosis intravenosa de NaF. Se emplearon ratas Sprague Dawley adultas bajo el efecto de anestesia general y con hidratación rectal (flujo 8 ml/hora). Se obtuvieron muestras de orina cada 15 minutos a través de cateterismo uretral durante un tiempo t_0 (60 min). A continuación se inyectó 1 μmol F/100 g peso corporal por vía intravenosa (D_o). Se continuó la recolección de orina durante 240 min. Se determinó la cantidad de F en orina y se calculó la excreción de F (U , μmoles) antes de la dosis de NaF, la que se ajustó por la ecuación: $U=a.t$, donde a es la velocidad de excreción urinaria basal de F. También se calculó la excreción urinaria luego de D_o , la que se ajustó con la ecuación:

$$U = (k_u.D_o/k_e).(1-e^{-k_e.(t-t_0)})+a.(t-t_0)$$

Los datos de fluoruria se ajustaron con las ecuaciones mencionadas utilizando ajuste no lineales por el método de los mínimos cuadrados y se obtuvieron los valores de las constantes farmacocinéticas: k_e y k_u . Por diferencia entre ambas se obtuvo el valor de k_o . Los valores de las constantes calculadas se expresan en min^{-1} y los resultados se muestran como media \pm sem, de 8 ratas: $K_e= 0,0129\pm 0,0025$; $K_u= 0,0013\pm 0,0006$; $K_o= 0,0116\pm 0,0031$. En el 100% de los casos se obtuvieron valores de k_o compatibles con el modelo subyacente, permitiendo una valoración más adecuada de la captación del F por el hueso facilitando la estimación de la remodelación ósea. Además, el método propuesto tiene las ventajas de permitir la obtención de los valores de las constantes farmacocinéticas en el día y que la precisión de la técnica de medición de F en orina es superior a la determinación plasmática. Desde el punto de vista de la invasividad, si bien no requiere la obtención de muestras de sangre requiere anestesia general, cateterismo vesical y sondaje rectal, todas intervenciones de baja complejidad.

CL39. Construcción de una base de datos actualizada del contenido de calcio en lácteos de consumo en la provincia de Santa Fe.

Vicente D, Brun LR, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

La suplementación con calcio (Ca) al aporte normal producido por la dieta es necesaria en ciertas etapas de la vida, estados metabólicos o enfermedades, en los cuales la contribución de este elemento es insuficiente. La utilización de comprimidos con Ca trae una solución al problema pero como toda medicación tiene inconvenientes tales como el costo y la adhesión del paciente. La falta de información sobre el real contenido de Ca de los alimentos o la disponibilidad de datos provenientes de otros países hace difícil la utilización racional de los productos lácteos como fuente de Ca. Sin embargo, no sólo el contenido de Ca influirán en el aprovechamiento del catión por el organismo sino que también influye su biodisponibilidad. Si bien algunos productos contienen una tabla de composición o la misma puede ser obtenida a partir de información de las firmas comerciales, algunos productos lácteos carecen de dicha información. El Gobierno de la provincia de Santa Fe ha financiado un proyecto para evaluar el contenido de Ca y vitamina D y su biodisponibilidad en los lácteos de comercialización en la provincia, datos que son extensibles al resto del país debido que los productos son en realidad de consumo nacional. El primer objetivo de este proyecto fue evaluar el contenido de Ca de lácteos de consumo habitual en la provincia de Santa Fe. Se recolectaron muestras en días diferentes y de sitios de venta disímiles en locales comerciales en la provincia de Santa Fe. En ningún caso el producto fue provisto por empresas fabricantes. Una alícuota de cada producto fue calcinada a 550 °C durante 4 hs, la ceniza se disolvió en medio ácido (HCl 0,5N) y se ajustó a volumen final de 2 ml. Se realizaron las diluciones adecuadas y se determinó Ca por espectroscopía de absorción atómica (Arolab MK II). Paralelamente se procesaron muestras como standard con contenido de Ca conocido (0, 5, 10, 25, 50, 75 y 100 mg/ml). Se procesaron las muestras que se detallan en la tabla, se clasificaron por tipo prescindiendo de la marca ya que no hubo diferencias significativas en los valores entre ellas. Los valores se expresan en mg Ca/100 ml en caso de productos líquidos (leches) y en mg Ca/100 g de producto sólido o semisólido (quesos, yogurt, crema, dulce de leche). Los resultados de los valores medidos (VM) se compararon con los valores teóricos (VT) expresados por la empresa fabricante con la prueba T de student para una sola muestra de datos. Se consideraron diferencias significativas (**) si $p < 0,01$. LE: Leche entera. LD: Leche descremada. LP: Leche en polvo.

Producto	n	VT	VM	Producto	n	VT	VM
LE	7	110	134±5 **	Queso crema	10	270	181±143
LE + Ca	13	140	150±43	Queso untable	18	347	342±104
LD	8	110	150±25 **	Queso cremoso	22	633	702±111
LD + Ca	8	140	155±36	Queso por salut	12	650	581±129
LP entera	3	888	1002±52	Queso fynbo	3	700	936±37 **
LP descremada	9	1227	1232±186	Queso provolone	3	900	926±42
LP desc + Ca	3	1850	1437±57 **	Queso pategrás	10	961	944±95
Yogurt	18	98.60	113±39	Queso sardo	5	818	855±65
Yogurt + Ca	3	400	499±58	Queso reggianito	24	1267	1312±88
Crema de leche	19	64	66±17	Dulce de leche	19	193	212±57

Se concluye que: 1. Los valores de Ca medidos no discrepan entre diferentes marcas para un dado producto. 2. En la mayoría de los casos los valores medidos no fueron diferentes de los



valores teóricos expresados en los envases o en la información provista por fabricantes en medios de difusión. 3. En tres de los cuatro casos que no coincidió el VM, el contenido de Ca fue mayor que el VT. Se están realizando estudios de biodisponibilidad en animales de los productos descriptos en este trabajo.

CL40. Dinámica de la formación de osteoclastos gigantes en animales tratados con bisfosfonatos.

Escudero ND, Mina NF, Mandalunis PM.

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

Introducción: Históricamente se considera que los bisfosfonatos nitrogenados (BF-N) actúan inhibiendo la reabsorción ósea mediante la disminución del número de osteoclastos (Ocs) como consecuencia del aumento de su tasa de apoptosis y/o una disminución en su reclutamiento. Sin embargo en trabajos previos hemos descripto un cuadro similar a los reportados el pasado año por varios autores, entre ellos Manolagas y col. en NEJM, de pacientes con formación de numerosos Ocs gigantes bajo el tratamiento con BF-N. El estudio de la fusión de preosteoclastos para formar Ocs maduros puede realizarse mediante dos técnicas: *timidina tritiada*, para lo que es necesario realizar autorradiografías para detectar la emisión de los nucleótidos marcados con tritio; y la técnica de *5-Bromo-2-dioxiuridina (BrdU)*, donde el nucleótido marcado también se incorpora al ADN en el período S del ciclo celular y permanece detectable mediante técnicas inmunohistoquímicas. Por lo tanto la intensidad de la marcación resulta inversamente proporcional al número de mitosis que sufre la célula marcada. Objetivo: Describir la dinámica del reclutamiento de precursores de Ocs para la formación de Ocs maduros en animales tratados con dos BF-N: olpadronato (OPD) y alendronato (ALN). Materiales y métodos: se utilizaron 21 ratas Wistar hembra divididas en tres grupos: OPD, ALN y Sham. Los animales de los grupos OPD y ALN recibieron el BF-N correspondiente en una dosis ip semanal de 0.3 mg/kg durante 5 semanas. El grupo Sham recibió vehículo. Todos los animales recibieron una única dosis ip de 100 mg/kg de BrdU. En cada grupo experimental los animales fueron divididos en tres subgrupos de acuerdo al día de inyección de BrdU (día 7, 28 o 34 de experiencia, que corresponden a 1 mes, 1 semana o 1 día antes del sacrificio respectivamente). La semana 6 de experiencia se sacrificaron todos los animales y se extrajeron los fémures (F) y hemimandíbulas (HM). Se procesaron para la detección inmunohistoquímica de BrdU (Biogenex AM247-5M) en cortes descalcificados. Se evaluó histomorfométricamente la zona del tejido óseo subcondral del fémur distal y el tejido óseo mandibular de cortes mesio distales a nivel del primer molar inferior. Se evaluó el número total de núcleos por Oc (Nu/Oc) y el número de núcleos BrdU positivos por Oc en relación al número total de núcleos (%Nu+/Oc). Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando el test de Anova para Nu/Oc y el test de Kruskal Wallis para el %Nu+/Oc. Valores de $p < 0,05$ fueron considerados significativos y se aplicó el test de Bonferroni para comparaciones múltiples. Resultados: el número de núcleos por Oc (Nu/Oc) fue significativamente mayor en los grupos tratados con BF-N, tanto en F como en HM. F: Sham $4,5 \pm 1,7$, OPD $8,1 \pm 5,1$, ALN $8,9 \pm 5$; $p < 0,05$; HM Sham $3,9 \pm 0,9$, OPD $6,5 \pm 1,3$, ALN $6,5 \pm 0,9$; $p < 0,05$. Para analizar los núcleos BrdU+ por Oc (%Nu+/Oc) en F se estudiaron 825 Oc que mostraron: en el día 7: Sham: $10,3 \pm 19,6$, OPD: $30,5 \pm 31,6$, ALN: $16,3 \pm 25,6$, $p < 0,05$; día 28 Sham: $0,98 \pm 4,5$, OPD: $7 \pm 14,2$, ALN: $8,3 \pm 15,3$, $p < 0,05$, día 35 Sham: $0,63 \pm 3,5$, OPD: $4,6 \pm 11,2$, ALN: $7,4 \pm 13,5$, $p < 0,05$. En HM se estudiaron 628 Oc: día 7: Sham: $6,3 \pm 17,1$, OPD: $12,2 \pm 23$, ALN $17,9 \pm 30,6$, $p > 0,05$, día 28 Sham: $0,64 \pm 3,6$, OPD $6,1 \pm 12,8$, ALN $16,3 \pm 17,2$, $p < 0,05$, y día 35 Sham: $0,32 \pm 2,1$, OPD $0,17 \pm 1,4$, ALN

18,6±31,03, p<0,05. Conclusión: El aumento del número de Ocs y la formación de Ocs gigantes en el tratamiento de BFs se debe a un aumento de la fusión de pre Ocs que se evidenció como un aumento de los núcleos marcados con BrdU. En la bibliografía se sugiere que los Ocs gigantes serían células con el ciclo vital alterado y resistentes a la apoptosis. En nuestro trabajo el desvanecimiento de la marcación nuclear en el tiempo más alejado del sacrificio (1 mes) sugiere que los Ocs gigantes de los animales tratados con BF-N no poseen un período vital más prolongado que los Ocs de los animales del grupo control. Subsidio UBACyT O406, Subsidio de la Fundación Roemmers, Gador SA.

CL41. Suplementación con vitamina D₂ o vitamina D₃ en dosis diarias: ¿son equivalentes?

Seijo M, Mastaglia SR, Somoza J, Oliveri B.

Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

Existen datos controvertidos sobre la forma de administración y la equivalencia entre las dosis necesarias de vitamina D₂ (D2) y vitamina D₃ (D3) para obtener niveles adecuados de 25 hidroxivitamina D (25OHD). Los objetivos del presente trabajo fueron 1: comparar la eficacia de 800UI diarias de D2 y D3 sobre los niveles de 25OHD en mujeres clínicamente sanas > de 65 años. 2: evaluar la eficacia de la administración tanto en gotas como en comprimidos de vitamina D. Población y métodos: se evaluó a 27 mujeres ambulatorias, de edad promedio (X±DS) 77.1±6.8 años durante 45 días en los meses de invierno (junio a agosto). Los criterios de exclusión fueron: cualquier condición o medicación que afectara el metabolismo mineral y óseo y haber recibido suplementación con vitamina D durante los 12 meses previos al estudio. Se les realizó un laboratorio en sangre: calcio, fósforo, 25OHD, fosfatasa alcalina ósea y en orina, índice calciuria /creatininuria antes de iniciar el estudio para descartar alteraciones del metabolismo mineral. Posteriormente se las dividió en 2 grupos (G) de suplementación oral con vitamina D: G1: 800UI/día de D3 en comprimidos y G2: 800 UI/día de D2 en gotas. Se tomaron muestras basales (previo a la suplementación con vitamina D) y a los 7, 28 y 45 días. Ambos grupos recibieron 500 g calcio por día. Se excluyeron 3 pacientes del análisis, dos de G1 por no tomar la medicación (o por falta de compliance) y otra por posible hiperparatiroidismo primario. Para el análisis estadístico se utilizó un procesador SPSS 11.0 Chicago. IL, USA. Las comparaciones fueron realizadas usando un test no paramétrico, no apareado (Mann-Whitney) y un test no paramétrico, apareado (Wilcoxon). Un valor de p<0.05 fue considerado como significativo. Resultados: basalmente se observó un 91.7% de la población con niveles de insuficiencia (<20 ng/ml) de vitamina D. Los valores de 25OHD del grupo total fueron: 13,4±4,8 ng/ml (rango: 5,2-22,5 ng/ml) no encontrándose diferencias significativas de 25OHD en los niveles basales entre los grupos (Tabla). Se observó un aumento precoz (día 7) de los valores de 25OHD en G1. A los 45 días de tratamiento se mostraron aumentos significativos de los niveles de 25OHD en ambos grupos analizados (Tabla). Al comparar entre los grupos, G1 mostró un mayor aumento de 25OHD que G2 en todos los tiempos estudiados (Tabla). Se observó en ambos grupos pacientes no respondedoras: G1: 1 paciente (12.5%) y G2: 6 pacientes (37,5%). Las otras variables bioquímicas analizadas se mantuvieron dentro de valores normales.

	25OHD Basal	25OHD día 7	25OHD día 28	25OHD día 45
Grupo 1 (n=8)	14,0±4,8	18,6±5,2 ¹	21,5±3,6 ¹	22,9±4,6 ^{1,2}
Grupo 2 (n=16)	12,6±4,5	12,7±3,1*	14,8±5,2* ¹	16,3±5,4* ^{1,2,3}

*p < 0,001 vs Grupo 1. ¹ p < 0,02 vs basal; ² p < 0,05-0,02 vs día 7; ³ p < 0,02 vs día 28



Conclusiones: 1- Se confirma la alta prevalencia de deficiencia de vitamina D en mujeres ambulatorias > de 65 años. 2- 800UI D2 diarias resultaron menos efectivas que 800UI D3 para aumentar los niveles séricos de 25OHD y ambas fueron insuficientes a los 45 días para alcanzar niveles adecuados de 25OHD en este grupo de mujeres con deficiencia de vitamina D. 3- Las menores concentraciones de 25OHD obtenidas con 800UI D2 podrían deberse a diferentes preparados farmacológicos (gotas vs comprimidos) o diferencias intrínsecas de la potencia de D2 y D3. Proyecto realizado con subsidio ANPCyT - PICT 523 y colaboración agencia PAMI Capital Federal.

CL42. Tránsito en el tracto digestivo superior de formulaciones bebibles y sólidas de alendronato. Estudio cuantitativo, randomizado, por Video-deglución.

Gómez Acotto C, Antonelli C, Roldán EJA.

Dpto. de Diagnóstico por imágenes y Dpto. de Metabolismo Fosfo-cálcico, Universidad Maimónides, Buenos Aires.

A diferencia de la mayoría de las medicaciones que se administran por vía oral, los bisfosfonatos tienen un periodo de absorción muy crítico que depende del tiempo de ayuno postoma, generalmente es de solo 30 minutos, probablemente sea menos en la práctica. Las formulaciones bebibles son convenientes en tomas de intervalos de dosis semanales o mayores, porque evitan las eventuales demoras por adhesión a mucosas que padecen las tabletas, o las típicas variaciones de disgregación y disolución, alcanzando las primeras porciones del intestino en forma rápida. Además, la solución bebible de alendronato se dispone en concentraciones <1% de bajo poder irritante. Con el objeto de mostrar las diferencias entre formulaciones se reclutaron a 24 adultos, voluntarios sanos, quienes en forma randomizada ingirieron una solución bebible de alendronato al 0,7% (Gador SA, Buenos Aires), y una tableta de rápida disolución (Fosamax®). Los sujetos fueron estudiados en posiciones erguida y acostada (3 test cada uno) con un sistema radiológico telecomando de 750Ma, 150Kv, con intensificador de alta resolución y digitalización de imagen con Pinnacle, almacenada a Hp dv 1025 la. Los tiempos de tránsito desde boca a estómago fueron de 3,3 segundos con la solución y de 4,2 segundos con la tableta (test t < 0,0 en posición de pié). De interés fue el hallazgo de 3 hernias hiatales asintomáticas las que no impidieron el tránsito del líquido. En otros 3/72 mediciones el comprimido se disgregó prematuramente en el esófago, mientras que en 2 casos permanecía inalterable en el estómago por más de 20 minutos, justificando la mayor variación en su acceso al sitio de absorción. En conclusión la forma bebible es de rápido acceso al sitio de absorción, en forma más constante optimizando la calidad del tratamiento con alendronato. Visto los numerosos reportes de variaciones y la existencia de comprimidos de baja calidad de disgregación (Epstein S 2005, Dansereau 2008 y 2009, Pellegrini 2009) se sugiere el uso de formas bebibles para garantizar la disposición de una mejor cuota de alendronato. Además, el estudio de video-deglución debiera considerarse en usuarios de tabletas, porque puede explicar el motivo de respuestas clínicas pobres o la intolerancia digestiva en algunos pacientes; siendo estos problemas asintomáticos y de una frecuencia mayor a la pensada en la práctica.

CL43. Déficit nutricional de calcio, vitamina D e ingesta calórica en mujeres \geq de 65 años que viven en su hogar familiar o en residencias para autovalidos: influencia sobre el metabolismo mineral.

Brito GM^{1,2}, Mastaglia SR^{1,3}, Seijo M¹, Goedelmann C¹, Somoza J^{1,3}, Oliveri B^{1,3}.

¹Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas - UBA, ²ANPCyT, ³CONICET.

El estado nutricional y factores socio-ambientales influyen sobre la salud y calidad de vida del adulto mayor. La ingesta inadecuada de proteínas, calcio y vitamina D afectan la salud ósea. Existen escasos estudios que evalúan comparativamente el patrón de consumo de vitamina D en adultos mayores que residen en su hogar familiar (HF) con aquellos que lo hacen en residencias como población semicautiva (RSC). Objetivos: 1) Evaluar el aporte de energía, proteínas, calcio y vitamina D en mujeres autoválidas³ de 65 años según el lugar de residencia. 2) Analizar según pertenezcan a HF o RSC la relación de la ingesta con parámetros bioquímicos del metabolismo mineral. Población: Cuarenta y cuatro mujeres postmenopáusicas con edad promedio ($X \pm DS$) 75 ± 7 años, índice de masa corporal (IMC) de 28 ± 4 kg/m² que no recibieron suplementos de vitamina D en los 12 meses previos al estudio y no refirieron condición médica o medicación que afectará el metabolismo mineral. Materiales y métodos: Se estimó la ingesta de energía, proteínas, calcio y vitamina D empleando un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos. La evaluación de las mismas se realizó teniendo en cuenta las recomendaciones de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos (NAS)^{1,2}. Se interrogaron antecedentes patológicos y nivel de exposición solar. Laboratorio: En sangre: 25-hidroxitamina D (25OHD) (RIA Diasorin), crosslaps (CTXs) (ELISA), calcio (Cas) y fosfatasa alcalina ósea (FAO) por métodos tradicionales. En orina de 2 hs se calculó el índice calcio/creatinina (Cau/Cru). Resultados: Las participantes que residían en HF fueron más jóvenes que aquellas que lo hacían en RSC (77 ± 7 vs. 72 ± 6 años, $p < 0,02$), sin diferencias significativas en IMC (27 ± 5 vs. 28 ± 5 kg/m²). Ambos grupos de mujeres presentaron ingestas inferiores a las recomendadas en todos los nutrientes estudiados excepto en proteínas, siendo el déficit más marcado en RSC. El grupo de HF mostró niveles de ingestas superiores en un 14% en energía, 32% calcio y 46% vitamina D comparados con RSC ($p < 0,02-0,04$). La ingesta proteica fue adecuada en ambos grupos, HF mostró un aporte un 14% mayor que RSC (Tabla 1). Los niveles séricos de 25OHD, Cas y Cau/Cru fueron mayores en HF comparado con RSC, sin diferencias significativas en FAO y CTX (Tabla 2). Se observó una correlación positiva entre los niveles de 25OHD y tiempo de exposición solar ($r = 0,5$; $p < 0,001$) y una correlación negativa entre los niveles séricos de CTX y 25OHD ($-r = -0,53$; $p < 0,02$).

Tabla 1: Ingesta de Nutrientes comparados con las recomendaciones de la NAS (Mediana[Pc25-Pc75])

Ingesta de Nutrientes	HF (n=17)	% < IDR (NAS)	RSC (n=27)	% < IDR (NAS)
Energía (kcal/d)	1879(1739-2015)*	18	1622(1285-1978)	74
Calcio (mg/d)	1084(623-1288)*	65	734(497-1160)	93
Vitamina D (ug/d)	4,5(2,7-6,6)*	100	2,4(1,6-3,5)	100
Proteínas (g/d)	79(68-94)*	0	68(59-76)	7

* $p < 0,02-0,04$ HF vs. RSC

Tabla 2: Parámetros Bioquímicos ($X \pm DS$)

	HF (n= 17)	RSC (n=27)	p<	Valores de Referencia
25OHD (ng/ml)	15,4 \pm 4	12,7 \pm 4	0,007	>30 ²
Cas (mg%)	9,4 \pm 0,4	9,2 \pm 0,3	0,04	8,9-10,4
FAO (UI/l)	68,6 \pm 15,3	68,3 \pm 16,5	NS	31-95
CTX (ng/l)	543,7 \pm 182,3	673,2 \pm 341,6	NS	251-716
Cau/Cru (mg/mg)	0,2 \pm 0,07	0,1 \pm 0,05	0,001	<0,11

Conclusión: Los niveles de 25OHD hallados, junto con ingestas inadecuadas de calcio, ambos relacionados con mayor resorción ósea marcarían un aumento del riesgo de osteoporosis. Se requieren programas de educación alimentaria y adecuada suplementación de calcio y vitamina D en este grupo etéreo enfatizando en poblaciones de riesgo como RSC. Proyecto realizado con subsidio ANPCyT-PICT 523- y colaboración Agencia PAMI Capital Federal. Ref: ¹Institute of Medicine. Dietary Reference Intake for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. National Academy Press 1997. ² Institute of Medicine. Dietary Reference Intake for energy, Carbohydrate, fiber, fat, fatty Acid, Cholesterol, protein and Amino Acid. National Academy Press 2002. ³Dawson-Hughes. Osteoporosis International 2005.

CL44. Estimación de la resorción ósea en ratas por medidas de deoxipiridinolina urinaria. Comparación de equipos comerciales.

Lupo M, Rigalli A.

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Fac. de Ciencias Médicas. UNRosario.

El conocimiento del estado de la remodelación ósea es de importancia a la hora de instrumentar tratamientos orientados a la conservación de la masa ósea o de evaluar el deterioro de la misma en situaciones patológicas. Existen diferentes métodos que permiten estimar el estado de la remodelación ósea: histomorfometría, uso de isótopos radioactivos, modelos matemáticos aplicados a trazadores no radiactivos y marcadores bioquímicos como la deoxipiridinolina (Dpd), CTX, osteocalcina y fosfatasa alcalina ósea. La practicidad de los últimos compite con su elevado costo, los trazadores, radiactivos o no, presentan la dificultad de que no siempre se cumplen los supuestos del modelo matemático subyacente. A su vez, la histomorfometría da una visión exacta pero de un sector muy reducido del esqueleto y es operador dependiente. La resorción y formación ósea se encuentran acopladas en una gran variedad de situaciones fisiológicas o patológicas, por esta razón es posible obtener medidas de remodelación con la determinación de un marcador de uno de los dos procesos. La Dpd aparece como el más indicado por la posibilidad de ser medido en orina, el menor costo y la disponibilidad de dos metodologías: ELISA y RIA. Los primeros tienen la desventaja de un mayor precio pero requieren equipo menos costoso y personal con menor calificación. Por el contrario el segundo requiere laboratorios y personal autorizados por entidades regulatorias, pero son de menor costo. Independientemente de estas diferencias no hay estudios previos comparativos de sensibilidad y especificidad de estos dos métodos. El objetivo de este trabajo fue comparar equipos de medición de Dpd urinaria con distinta metodología: ELISA y RIA y validarlos en modelos con remodelación ósea modificada. Se realizaron mediciones de Dpd con ambos métodos en orina de ratas con remode-

lación ósea predecible de acuerdo a su edad, por las modificaciones inducidas quirúrgicamente o por modificaciones dietarias. Las comparaciones se realizaron utilizando muestras de ratas de diferente edad (21-150 días), ratas con resorción ósea aumentada (por ovariectomía, por dieta hipocálcica y por nefrectomía parcial) y con resorción ósea disminuida (por tratamiento con zoledronato y por paratiroidectomía). Los estados de remodelación fueron confirmados por captación ósea de fluoruro y por histomorfometría estática. Se calcularon los valores de Dpd con las dos metodologías (nmol dpd/mmol creatinina) para cada uno de los modelos estudiados. Los valores de Dpd medidos por RIA fueron coincidentes con los valores esperados para cada modelo. Se halló una regresión lineal significativa entre los valores obtenidos por ELISA en función de los obtenidos por RIA: $r^2=0,60$, pendiente= $0,59\pm 0,06$, $p<0,005$. Sin embargo, la medida de Dpd por ELISA, en el caso de ratas paratiroidectomizadas y con dieta hipocálcica no coincidió con los valores esperados para dichos modelos biológicos. Conclusiones: 1- Los valores medidos por RIA son coincidentes con los esperados para cada modelo biológico. 2- Los valores obtenidos por ELISA, en el caso de los modelos de ratas ovariectomizadas con dieta hipocálcica y paratiroidectomizadas, no son acordes a lo esperado para esos modelos biológicos. 3- A partir de las comparaciones entre las dos metodologías se observa una sub-estimación de la medición por ELISA. 4- La medición de la resorción ósea utilizando la metodología RIA para la detección de Dpd permite una mayor discriminación entre grupos con distinto tratamiento y menor costo que el ELISA. 5- Los resultados indican que no sería aconsejable comparar valores obtenidos por ambas metodologías.