

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación cuatrimestral de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral



**A.A.O.M.M.**

(Asociación Argentina de  
Osteología y Metabolismo Mineral)

VOL. 6, Nº 1

enero / abril 2010

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

[www.osteologia.org.ar](http://www.osteologia.org.ar)

Rosario (Santa Fe), Argentina

Indizada en EBSCO, Latindex, LILACS, Scopus & Embase y SIIC Data Bases

Nueva presentación del **LÍDER** en calcio

# Calcio Base Dupomar®

Efervescente Granulado en sobres  
Carbonato de calcio

**NUEVO**

## Indicaciones <sup>(1)</sup>

- Profilaxis de la deficiencia de calcio. Pacientes con deficiencia de calcio
- Estados carenciales de calcio en períodos de crecimiento, embarazo y lactancia
- Prevención y tratamiento de Osteoporosis de diversa etiología.
- Raquitismo u Osteomalacia establecida.
- Hipocalcemia crónica.

Granulado  
en sobres



### Referencias bibliográficas:

1) Información para Prescripción del Producto

### CALCIO BASE DUPOMAR® EFERVESCENTE

#### CARBONATO DE CALCIO

#### Granulado efervescente

**Composición.** Cada sobre con granulado efervescente contiene Carbonato de Calcio 1250 mg (equivalente a 500 mg de calcio elemental), excipientes c.s.

**Indicaciones.** Profilaxis de la deficiencia de calcio. Pacientes con dieta deficiente de calcio. Estados carenciales de calcio en períodos de crecimiento, embarazo, lactancia.

Tratamiento de la osteoporosis de diversa etiología (senil, postmenopáusica, inducida por corticoides, en la inmovilización hasta la recuperación de la movilidad) Raquitismo u osteomalacia establecida. Hipocalcemia crónica.

**Presentación.** Envase conteniendo 30 sobres con granulado efervescente.

**Nota.** Para mayor información ver prospecto de envase.

**VALE+**  
SALUD



**FERRING**  
PHARMACEUTICALS

www.ferring.com.ar

Laboratorios Ferring S.A.: Av. Juan B. Justo 4840  
C1416DKP Capital Federal / Tel.: (011) 4585-8900

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.



*"Drago" de Xul Solar  
Acuarela sobre papel 25,4x32 cm – 1927.  
Derechos reservados Fundación Pan Klub-Museo Xul Solar.*

**VOL. 6, Nº 1**  
enero / abril 2010  
ISSN 1669-8975 (*Print*); ISSN 1669-8983 (*Online*)  
[www.osteologia.org.ar](http://www.osteologia.org.ar)  
Rosario (Santa Fe), Argentina

Indizada en EBSCO, Latindex, LILACS, Scopus & Embase y SIIC Data Bases



# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación cuatrimestral de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

**VOL. 6, Nº 1**

enero / abril 2010

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

[www.osteologia.org.ar](http://www.osteologia.org.ar)

Rosario (Santa Fe), Argentina

**Aparición: cuatrimestral**

**Director: Julio Ariel Sánchez**

[actualizaciones@aaomm.org.ar](mailto:actualizaciones@aaomm.org.ar)

Centro de Endocrinología, San Lorenzo 876, 1er. piso, (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina.

*Actualizaciones en Osteología es el órgano científico de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM). Aceptará para su publicación trabajos redactados en español o en inglés, que aborden aspectos clínicos o experimentales dentro de la osteología y el metabolismo mineral que puedan considerarse de utilidad e interés para nuestra comunidad científica. Dichos trabajos habrán de ser inéditos, cumplir los requisitos de uniformidad para el envío de manuscritos y estar comprendidos en algunas de las secciones de la revista (Artículos de revisión, Artículos originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Imágenes en Osteología, Editoriales, Cartas al editor, Comentarios Bibliográficos, Misceláneas).*

## **Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral**

9 de Julio 1324, (2000) Rosario. Santa Fe. Argentina

[www.aaomm.org.ar](http://www.aaomm.org.ar) / [info@aaomm.org.ar](mailto:info@aaomm.org.ar)

## **Actualizaciones en Osteología**

Los artículos publicados en Actualizaciones en Osteología son indizados en EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), LILACS (Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud), base de datos corporativa del Sistema BIREME (Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) y SIIC Data Bases (Sociedad Iberoamericana de Información Científica).

Todos los derechos reservados para AAOMM. Se prohíbe su reproducción total o parcial por cualquier medio sin el consentimiento escrito de la AAOMM. Derechos de autor en trámite.

El contenido y las opiniones expresadas en los manuscritos son de entera responsabilidad del(los) autor(es).

## ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación cuatrimestral de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

### DIRECTOR

**Julio Ariel Sánchez**

Médico Director, Centro de Endocrinología. Rosario, Argentina.  
editor@aaomm.org.ar

### SECRETARIO DE REDACCIÓN

**Lucas R. M. Brun**

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.  
redaccion@aaomm.org.ar

### COMITÉ EDITORIAL

**Alicia Bagur**

Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, UBA. Buenos Aires.  
Centro de Osteopatías Médicas Dr. Carlos Mautalen. Buenos Aires, Argentina.

**Teresita Bellido**

*Dept. of Anatomy & Cell Biology Adjunct Professor. Division of Endocrinology, Dept. of Internal Medicine Indiana University School of Medicine. Indianapolis, USA.*

**Ricardo Boland**

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

**Haralado Claus Hermberg**

Servicio de Endocrinología y Metabolismo del Hospital Alemán. Buenos Aires, Argentina.

**Adriana Dusso**

*Renal Division. Department of Internal Medicine. Washington University School of Medicine. St. Louis, Missouri, USA.*

**José Luis Ferretti**

Director del Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFoC). Hospital del Centenario. Rosario. Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y del CIUNR. Miembro del *Committee of Scientific Advisors (CSA)* de la *International Osteoporosis Foundation (IOF, Lyon)*.

**Carlos Mautalen**

Centro de Osteopatías Médicas Dr. Carlos Mautalen. Buenos Aires, Argentina.

**Armando Negri**

Profesor de Fisiología y Medicina. Escuela de Medicina Universidad del Salvador. Profesor de la cátedra de postgrado en osteología. Escuela de Postgrado Universidad del Salvador. Médico osteólogo y nefrólogo (Academia Nacional de Medicina). Médico de Planta senior. Instituto de Investigaciones Metabólicas. Editor de la Revista Argentina de osteología. Editor Asociado Revista de Nefrología diálisis y transplante.

**Beatriz Oliveri**

Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, UBA. Buenos Aires. Centro de Osteopatías Médicas Dr. Carlos Mautalen. Buenos Aires, Argentina. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

**Luisa Plantalech**

Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.



**Rodolfo Puche**

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.

**Alfredo Rigalli**

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Cátedra de Química Biológica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.

Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

**Emilio Roldán**

Departamento de Investigaciones Musculo-esqueléticas, Instituto de Neurobiología (IDNEU) Buenos Aires; Dirección Científica, Gador SA. Buenos Aires, Argentina.

**Ana Russo de Boland**

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

**Nori Tolosa de Talamoni**

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

**Helena Salerni**

Ex presidente de la Sociedad Argentina de Osteoporosis. Médica especialista en Osteopatías Médicas. División Endocrinología del Hospital Durand. Buenos Aires, Argentina.

**Eduardo Slatopolsky**

Renal Division. Department of Internal Medicine. Washington University School of Medicine. St. Louis, Missouri, USA.

**AUTORIDADES DE AAOMM  
COMISIÓN DIRECTIVA 2010-2011**



**Presidente**

Dra. Nori Tolosa de Talamoni

**Vicepresidente**

Dra. Ana María Galich

**Secretaria**

Dra. Gabriela Picotto

**Tesorero**

Dra. Ana María Marchionatti

**Vocales**

Dr. Lucas Brun

Dra. Ágata Carpentieri

Dra. Viviana Centeno

Dra. Gabriela Díaz de Barboza

Dra. Susana Morelli

Dra. Adriana Pérez

Dra. Josefina Pozzo

Dra. María Rosa Ulla

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 6, Nº1, enero / abril 2010

## ÍNDICE

### EDITORIAL / Editorial

---

#### **Conflictos de intereses en la investigación ortopédica**

*Conflict of interest in orthopedic research*

**Stella Maris Martínez**

7

### ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

---

#### **Importancia relativa de las modificaciones del contenido mineral óseo y del área en la determinación del descenso de la densidad mineral ósea del cuello femoral en la posmenopausia**

*Decrease in femoral neck bone mineral density after menopause: relative importance of changes in bone mineral content and area*

**Haraldo Claus-Hermberg, María Pía Lozano Bullrich, Magdalena Rey, María Josefina Pozzo.**

9

### ACTUALIZACIONES / Reviews

---

#### **Bifosfonatos, conexinas y apoptosis de osteoblastos y osteocitos: nuevo mecanismo de acción con implicancias terapéuticas**

*Bisphosphonates, connexins and apoptosis of osteocytes and osteoblasts: a novel mechanism of action with therapeutic potential*

**Lilian I. Plotkin**

16

#### **Mecanismo de acción de PTH en células de adenocarcinoma de colon humano**

*Mechanism of action of PTH on cells of human colonic adenocarcinoma*

**Claudia Gentili, Natalia Calvo, Ana Russo de Boland**

24



**COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments**

---

*Increased circulating heat shock protein 60 induced by menopause, stimulates apoptosis of osteoblast-lineage cells via up-regulation of toll-like receptors*  
**Adriana del Valle Pérez** 31

*Prostaglandin D<sub>2</sub> receptors control osteoclastogenesis and the activity of human osteoclast*  
**Susana Morelli** 33

**INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors** 35



**EDITORIAL / Editorial**

## **CONFLICTOS DE INTERESES EN LA INVESTIGACIÓN ORTOPÉDICA**

**Stella Maris Martínez \***

*Facultad de Ciencias Médicas, Consejo de Investigaciones, Universidad Nacional de Rosario.*

“...uno no está solo al creer en cosas que son verdaderas.”

**Vincent van Gogh**

La influencia de los intereses de la industria farmacéutica se relaciona con la Medicina en dos aspectos centrales: el descubrimiento y prueba de nuevos tratamientos, y su producción y venta al mercado. Supuestamente, esto debería asentar en un armónico equilibrio de mutuos beneficios para la población y las compañías farmacéuticas. Sin embargo, un cuerpo creciente de evidencias señala que, con fines de lucro, numerosas empresas ejercen a través de dinero, invitaciones a eventos y/o regalos, una influencia ilegítima en la investigación científica. Esto se traduce en la manipulación de los datos y de su análisis, en la omisión de resultados negativos y en presiones indebidas sobre los comités editoriales que fuerzan la publicación o el rechazo de determinados artículos, no según su relevancia y el provecho para la población sino de acuerdo a las conveniencias de la industria.<sup>1</sup> En teoría, aunque el investigador debe declarar de antemano si ha establecido algún tipo de relación personal con la compañía comercial –transparentar todo posible conflicto de intereses–, muchas veces esta obligación es soslayada si su responsabilidad profesional puede entrar en colisión con su deseo de incrementar sus ingresos económicos, sus méritos académicos y/o la obtención de mayor reconocimiento social.

Recientes publicaciones muestran que la investigación ortopédica no es una excepción y que en ella los conflictos de intereses, particularmente en el campo de las cirugías reconstructivas de rodilla, cadera y columna vertebral en adultos, influyen los resultados que se comunican. Un estudio evidenció la existencia de conflictos de intereses –habían sido informados por los propios autores–, en el 40% de las presentaciones a los congresos anuales de la *American Academy of Orthopaedic Surgeons* entre 2001 y 2002. Sugestivamente, los autores vinculados a las empresas como consultores o por la recepción de algún tipo de regalía fueron significativamente más proclives a la publicación de resultados positivos, favorables al producto en investigación.<sup>2</sup>

Por otra parte, muchos médicos no transparentan sus relaciones con la industria. Una investigación efectuada en Estados Unidos reveló una notable discrepancia entre el porcentaje de ortopedistas que habían recibido dinero por parte de las compañías proveedoras de prótesis de cadera y rodilla, según publicaciones de las mismas compañías en Internet, y lo admitido

---

\* Correo electrónico: [smartinez948@yahoo.com.mx](mailto:smartinez948@yahoo.com.mx)



por los médicos en sus presentaciones y publicaciones en 2007. Aunque nuevas regulaciones federales obligaron a las compañías a publicar cualquier pago directo o indirecto a los médicos desde 2008, las mismas decidieron adelantarse y comunicaron también el 2007, dejando al descubierto las omisiones cometidas por los profesionales ese año. Si se considera que en el 42.4% de los casos el monto anual otorgado a cada médico fue superior a los 100.000 dólares y que el porcentaje de ocultamiento de ciertos pagos alcanzó el 50%, se tiene una noción clara de la magnitud del problema.<sup>3</sup>

Estas indebidas relaciones entre la industria y los médicos exceden a la investigación y se ramifican en la práctica clínica. Los médicos seducidos mediante invitaciones a eventos y regalos, pueden ser proclives a recetar medicamentos o a emplear equipos de determinadas marcas a pesar de la disponibilidad de otros más baratos e igualmente eficaces. En el Primer Mundo estas realidades se van dando a conocer y se analizan sus peligrosas consecuencias buscando ponerles límites, porque en ellos existe una creciente política de las instituciones destinada a exigir transparencia y prácticas más éticas tanto a médicos como a empresas. Bien distinta es la realidad en la Argentina donde las relaciones financieras entre los laboratorios patrocinantes y los médicos suelen ser secretos bien guardados, muy difíciles de transparentar. Por eso mismo, y aunque la tarea de desvelamiento parezca ciclópea, debe hacerse. Sobre todo para que los médicos puedan comprender que esas turbias relaciones están destinadas a influir en sus prácticas y para que ponderen los potenciales efectos que sus propias asociaciones pueden tener sobre sus pacientes.<sup>4</sup>

## Referencias

1. DeAngelis C. The influence of money on medical science (Editorial). *JAMA* 2006; 296: 2925-6.
2. Okike K, Kocher MS, Mehlman CT, Bhandari M. Conflict of interest in orthopaedic research: an association between findings and funding in scientific presentations. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89: 608-13.
3. Okike K, Kocher MS, Wei EX, Mehlman CT, Bhandari M. Accuracy of conflict-of-interest disclosures reported by physicians. *N Engl J Med* 2009; 361: 1466-74.
4. Campbell EG. Doctors and drug companies. Scrutinizing influential relationships. *N Engl J Med* 2007; 357: 1796-7.

ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

## IMPORTANCIA RELATIVA DE LAS MODIFICACIONES DEL CONTENIDO MINERAL ÓSEO Y DEL ÁREA EN LA DETERMINACIÓN DEL DESCENSO DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA DEL CUELLO FEMORAL EN LA POSMENOPAUSIA \*

Haraldo Claus-Hermberg, María Pía Lozano Bullrich, Magdalena Rey, María Josefina Pozzo. \*\*

Servicio de Endocrinología y Metabolismo, Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

### Resumen

La densidad mineral ósea (DMO, g/cm<sup>2</sup>) del cuello femoral (CF) está determinada por el contenido mineral óseo (CMO, g) y el área (A, cm<sup>2</sup>) de la región escaneada. En el presente trabajo nos propusimos estudiar el comportamiento relativo del CMO y del A en la determinación del descenso de la DMO en las etapas tempranas y más tardías de la menopausia. Se evaluó la DMO del CF de 191 mujeres peri y posmenopáusicas. Las mismas fueron divididas en grupo 1: ≤ 60 años de edad y grupo 2: > 60 años. Se analizó el efecto de la edad sobre la DMO, el CMO y el A en toda la población y en ambos grupos mediante análisis de regresión univariado y se compararon las diferencias de las medias de las tres variables de ambos grupos. Resultados: DMO 0,897±0,12 vs. 0,80±0,11 y CMO 4,2±0,7 vs. 3,87±0,53 fueron significativamente mayores (p<0,01) en el grupo 1 que en el grupo 2 respectivamente, mientras que el A fue menor en el grupo 1 que en el grupo 2: 4,69±0,3 vs. 4,81±0,3 (p<0,01). La DMO, el CMO y el A correlacionaron con la edad en toda la población: r = -0,49; -0,34 y 0,26 respectivamente (todas p < 0,01). La DMO se correlacionó significativamente con la edad, r = -0,38 y -0,31

en los grupos 1 y 2 respectivamente, mientras que el CMO solamente lo hizo en el grupo 1, r = -0,27 y A solamente en el grupo 2, r = 0,3. CMO y A no correlacionaron con la edad en grupo 2 y grupo 1 respectivamente. Conclusiones: la pérdida de masa ósea (disminución del CMO) y la expansión perióstica (aumento del A) son respectivamente los principales determinantes de la caída de la DMO del CF en las etapas temprana y tardía de la menopausia.

**Palabras clave:** contenido mineral óseo, área, cuello femoral, menopausia.

### Summary

#### **DECREASE IN FEMORAL NECK BONE MINERAL DENSITY AFTER MENOPAUSE: RELATIVE IMPORTANCE OF CHANGES IN BONE MINERAL CONTENT AND AREA**

*Bone mineral density (BMD) of the femoral neck (FN) is determined by two variables: bone mineral content (BMC) and area (A). We evaluated the changes of these two factors in women after menopause. In a cross sectional study, BMD, BMC and A of the FN were measured with DXA (Lunar Prodigy) in 191*

\* Este trabajo obtuvo el 2º Premio "Investigación Clínica Günther Fromm" en la XXVI Reunión Anual de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral, Buenos Aires, Agosto 2009.

\*\* Correo electrónico: [hclaus@fibertel.com.ar](mailto:hclaus@fibertel.com.ar)



women who required bone evaluation. The population was divided in two groups: group 1 ( $\leq 60$  years old) and group 2 ( $> 60$  years old). The effect of age on BMD, BMC and A were evaluated by univariate analysis regression in the whole population and in both groups and means of the three variables were compared between groups. Results: BMD:  $0,897 \pm 0,12$  vs.  $0,80 \pm 0,11$  and BMC:  $4,2 \pm 0,7$  vs.  $3,87 \pm 0,53$  were significantly higher ( $p < 0,01$ ) in group 1 than in group 2 respectively, while A was smaller in group 1 than in group 2:  $4,69 \pm 0,3$  vs.  $4,81 \pm 0,3$  ( $p < 0,01$ ). BMD, BMC and A correlated with age in whole population:  $r = -0,49$ ,  $-0,34$  and  $0,26$  respectively ( $p < 0,01$ ). BMD correlated significantly with age,  $r = -0,38$  and  $-0,34$  in groups 1 and 2 respectively, while BMC only did so in group 1,  $r = -0,27$  and A only did so in group 2,  $r = 0,3$ . BMC and A did not correlate with age in group 2 and 1 respectively. Conclusions: loss of bone mass (decrease of BMC) and periosteal expansion (increase of A) are respectively the principal determinants of the decrease of BMD in the early and late stages of menopause.

**Key words:** bone mineral content, area, femoral neck, menopause

## Introducción

La densidad mineral ósea (DMO,  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) del cuello femoral (CF) está determinada por dos magnitudes: el contenido mineral óseo (CMO, g) –la masa ósea– y el área (A,  $\text{cm}^2$ ) –el componente geométrico– de la región escaneada. La evolución de la DMO del cuello femoral a lo largo de la vida de mujeres adultas ha sido evaluada en estudios transversales y longitudinales. Existe discordancia en cuanto a su comportamiento en el período de vida fértil. Algunos estudios no encuentran cambios significativos,<sup>1,2</sup> mientras que otros reportan una disminución anual de hasta un 0,6%.<sup>3-5</sup> Hay una mayor coincidencia respecto a los patrones de cambio relacionados con la menopausia, que se caracteriza por un descenso más acelerado de la DMO que se inicia alrededor de 2 años antes de la última menstruación y

se prolonga en forma asintótica por un período de 4 a 8 años (varía según distintos autores) luego de ese evento.<sup>5-11</sup> Todos estos estudios adjudican la disminución de la DMO a una pérdida de la masa ósea interpretándolos como sinónimos, lo que implicaría aceptar que la disminución de la DMO se explicaría exclusivamente por una disminución del CMO, el numerador de la expresión  $\text{DMO} = \text{g}/\text{cm}^2$ . Hay sin embargo evidencias de que la DMO en distintas edades luego del pico máximo es el resultado de un proceso más complejo y no tan lineal. Las mismas se basan en que además de una disminución del espesor y número de trabéculas y una disminución del ancho cortical por erosión endocortical, el periostio está activo, depositando hueso compacto en la superficie de los mismos. Este proceso ha sido relacionado tanto al esqueleto en general como a estructuras anatómicas definidas como las vértebras y el cuello femoral.<sup>11-15</sup> Este tejido depositado en la periferia de las estructuras anatómicas mencionadas aumenta también el área de las mismas. Es por lo tanto muy probable que el descenso de la DMO areal del cuello femoral a partir de la perimenopausia sea el resultado de las modificaciones relativas entre su masa (g) y su área ( $\text{cm}^2$ ).

Por lo tanto, en el presente trabajo nos propusimos examinar los cambios en el CMO y el A del CF en mujeres posmenopáusicas de un amplio rango de edades y su implicancia en la determinación de la DMO. Con el objeto de determinar si el comportamiento de estas variables difiere en la menopausia temprana con respecto a los años más tardíos se compararon los resultados obtenidos en mujeres menores de 60 años con los de las mayores de esa edad. Tentativamente se tomó esa edad de corte estimando una edad de perimenopausia entre 48 y 52 años.

## Población y Métodos

El diseño del estudio es observacional y transversal. Se incluyeron 191 mujeres peri o posmenopáusicas que en el contexto de una

evaluación de rutina de su salud ósea efectuaron una DMO de cadera izquierda con un equipo DXA (Lunar Prodigy). Se computaron los datos correspondientes a la DMO, el CMO y el A de la región del CF.

**Análisis estadístico:** Se utilizó estadística descriptiva para toda la población. Test *t* de Student para la comparación de medias entre mujeres  $\leq$  de 60 años de edad (grupo 1) y mujeres  $>$  60 años de edad (grupo 2). Test de regresión de Pearson para evaluar la influencia de la edad sobre DMO, CMO y A en toda la población y en cada uno de los grupos.

### Resultados

Acorde con el criterio con el que se constituyeron los grupos, las edades de ambos difirieron significativamente (Tabla). La tabla muestra también que las mujeres de mayor edad (grupo 2) tienen una talla significativamente menor que las más jóvenes (grupo 1), hecho observado por varios autores, mientras

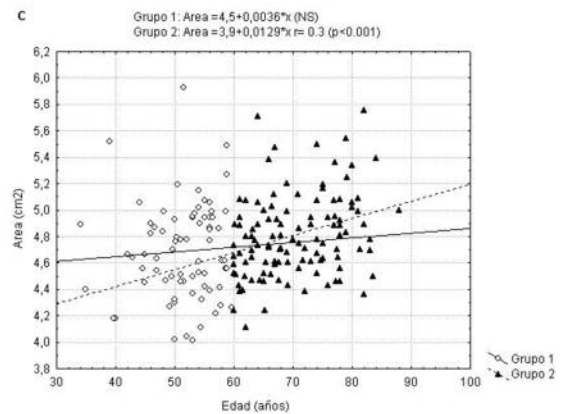
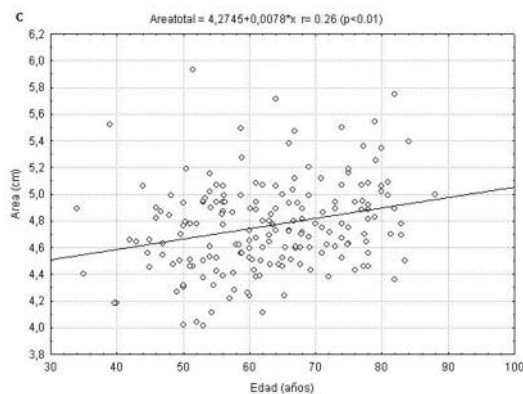
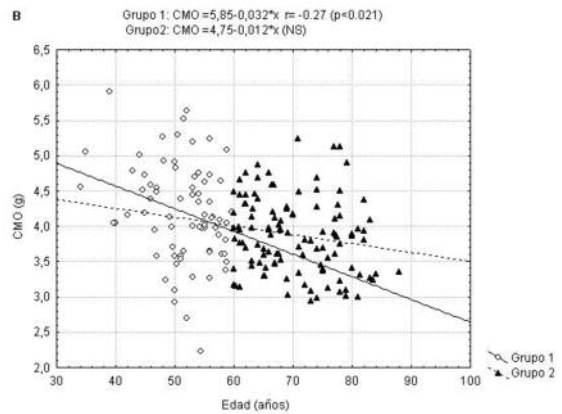
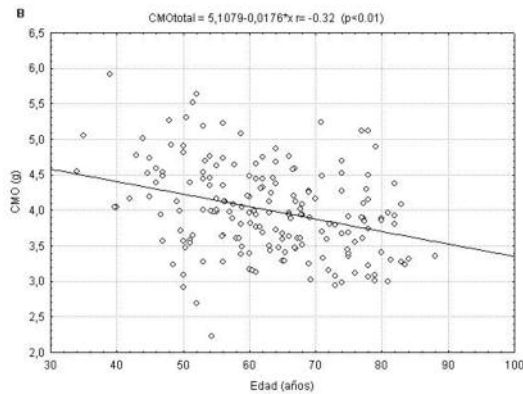
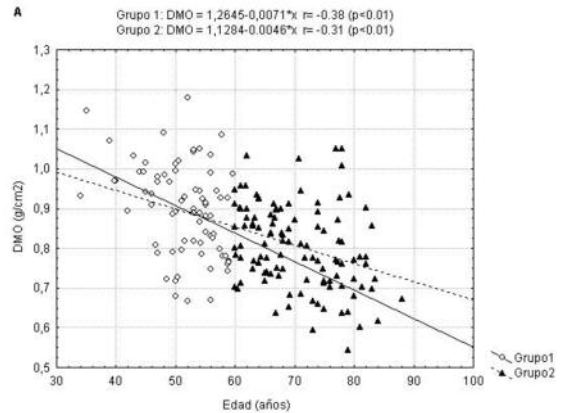
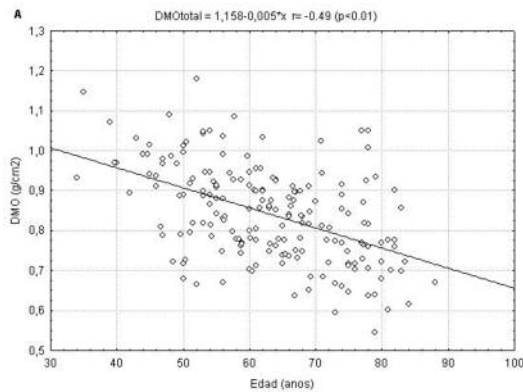
que no hay diferencias con respecto al peso entre ambos grupos. En cuanto a las magnitudes que cuantifica y parámetros que calcula la DXA a nivel del cuello del fémur, las mujeres del grupo 2 exhiben una DMO y un CMO menor y un A mayor que el grupo 1. Estas diferencias son altamente significativas ( $p < 0.01$ ). Las tres variables correlacionan significativamente ( $p < 0.01$ ) con la edad en la muestra total de mujeres, el CMO y la DMO lineal y negativamente ( $r = -0,49$  y  $-0,32$  respectivamente) mientras que el A lo hizo en forma positiva ( $r = 0,26$ ) (Figura 1). Es por lo tanto posible que las diferencias observadas en el CMO, DMO y A entre ambos grupos sea simplemente la consecuencia de estas correlaciones con la edad. Esta presunción es válida para la DMO (Figura 2, panel A). El panel B en cambio muestra que el CMO sólo disminuye significativamente en el grupo de mujeres jóvenes, mientras que el A sólo aumenta en las mujeres de mayor edad (panel C).

**Tabla.** Características demográficas y estadística descriptiva de la población total, grupo 1 y grupo 2 (Media  $\pm$ DE)

	<b>Población Total n=191</b>	<b>Grupo 1 <math>\leq</math> 60 años n=73</b>	<b>Grupo 2 <math>&gt;</math> 60 años n=118</b>
<b>Edad (años)</b>	63 $\pm$ 11	51 $\pm$ 6	70 $\pm$ 7*
<b>Talla (cm)</b>	158 $\pm$ 6,5	160 $\pm$ 6,4	157 $\pm$ 6,0*
<b>Peso (kg)</b>	65 $\pm$ 11	64 $\pm$ 11	66 $\pm$ 10 (ns)
<b>CMO (g)</b>	4 $\pm$ 0,62	4,2 $\pm$ 0,7	3,87 $\pm$ 0,53*
<b>Área (cm)</b>	4,76 $\pm$ 0,30	4,69 $\pm$ 0,30	4,81 $\pm$ 0,30*
<b>DMO (g/cm<sup>2</sup>)</b>	0,841 $\pm$ 0,120	0,897 $\pm$ 0,120	0,80 $\pm$ 0,11*

ns: no significativo

\* Grupo 1 vs. Grupo 2  $p < 0.01$



**Figura 1:** Regresión de la DMO (A), el CMO (B) y el A (C) en función de la edad en todo el conjunto de mujeres.

**Figura 2:** Regresión de la DMO (A), el CMO (B) y el A (C) en mujeres del grupo 1 (rombos vacíos) y del grupo 2 (triángulos llenos).

### Discusión

Los datos del presente estudio muestran que en el rango de edades de las mujeres estudiadas, la DMO y el CMO del cuello femoral

descienden mientras que el A aumenta con la edad, relación que es lineal para las tres variables dependientes. Como consecuencia de ello el grupo de mujeres más jóvenes tienen

DMO y CMO más elevados y A más pequeña que las mujeres mayores de la población estudiada (Tabla). Si bien no se indagó en forma específica la historia ginecológica ni menstrual de cada una de las mujeres, hemos considerado que 60 años es una edad que razonablemente permite separar a las mujeres perimenopáusicas y/o con no más de 5-7 años de menopausia (grupo 1) de aquéllas con más años de exposición menopáusica (grupo 2). Repitiendo en forma diferencial en cada grupo las regresiones realizadas en el conjunto de la población observamos que la DMO correlaciona en forma negativa y con coeficientes de regresión similares en ambos grupos, mientras que no ocurre lo mismo con el CMO y el A. El descenso que la DMO experimenta a partir de la perimenopausia es avalado por abundante información bibliográfica.<sup>5-11</sup> Existen controversias referidas especialmente al comportamiento más o menos asintótico de la curva de descenso de la DMO con el incremento de la edad. Estudios basados en metodologías variadas como el balance cálcico, comportamiento cinético del calcio, histomorfometría estática y cinética (doble marcación con tetraciclina), marcadores del recambio óseo,<sup>17-21</sup> coinciden en demostrar que a partir de la perimenopausia se produce un aceleramiento de la remodelación ósea con un desequilibrio a favor de la reabsorción sobre la formación en las unidades que la componen. El descenso de la DMO durante esa etapa de la vida de las mujeres, sería una manifestación más del proceso de pérdida de masa ósea, es decir del CMO, el numerador de la expresión  $DMO = CMO/A$ . No solamente en determinadas condiciones fisiológicas como el embarazo<sup>22</sup> y patológicas como el hiperparatiroidismo primario y secundario<sup>23</sup> se produce una expansión de los huesos por aposición perióstica, sino también a lo largo de la vida en ambos sexos, pero especialmente en la menopausia en las mujeres.<sup>12-16</sup> Esto tiene una doble implicancia sobre el CMO y el A. Ya no sería válido el concepto de que el CMO de una mujer posmeno-

páusica es simplemente el resultado de la masa pico obtenida en la juventud menos la pérdida experimentada a partir de la perimenopausia, por cuanto la ecuación tendría tres términos: masa pico - pérdida + aposición subperióstica. El aumento del A disminuye la DMO independientemente de lo que ocurre con el CMO. La aposición perióstica implica una disposición más periférica del tejido cortical, de gran significación biomecánica para estructuras anatómicas como el cuello femoral.<sup>12</sup> Las diferencias de la evolución relativa del CMO y del A en las mujeres menores y mayores de 60 años de edad constituyen una observación del presente estudio, cuya interpretación permitiría integrar procesos biológicos de distinta índole que operarían en forma sucesiva o simultánea a partir de la perimenopausia. Desde el punto de vista fisiológico los estrógenos son un factor fundamental para la adquisición de la masa ósea en las mujeres y los varones.<sup>24-29</sup> Durante el período de edad fértil la mayor exposición a los estrógenos sería responsable de la adquisición y mantenimiento de una masa ósea (reserva de calcio) adicional a la requerida desde un punto de vista biomecánico.<sup>30-32</sup> Esa "reserva" de calcio es transferida al feto durante el embarazo pero especialmente a la leche durante la lactancia, período que entre otras cosas se caracteriza por una privación de estrógenos.<sup>33,34</sup> El hueso sería así un efector metabólico más de los estrógenos en el marco de las funciones reproductivas. La privación estrogénica de la menopausia moviliza hueso desde las superficies endósticas, subcorticales e intracorticales cuyas consecuencias biomecánicas son sensadas por el mecanostato que responde con una aposición ósea que, aunque cuantitativamente menor que la reabsorbida, por su distribución periférica, compensa en forma muy eficiente el efecto negativo de esa pérdida sobre las propiedades biomecánicas de los huesos, al mejorar el componente geométrico de estas últimas.<sup>16,35</sup> Esta interpretación de que en el descenso de la DMO a partir de la perimenopausia operarían



dos procesos fisiológicos distintos, metabólico y biomecánico, está acorde con la perspectiva propuesta por Jarvinen y col.<sup>36</sup>

El presente trabajo es un aporte más respecto de la expansión perióstica a nivel del cuello femoral y sus implicancias en la determinación de la DMO y contribución al mantenimiento de la capacidad biomecánica en mujeres peri y posmenopáusicas. Es oportuno mencionar que se han señalado controversias con los datos y conclusiones aquí expuestas, para los cuales no tenemos explicación.<sup>37</sup> Se basan en que no sería posible un aumento del área del CF por cuanto esta región anatómica se encuentra integrada a la cápsula de la articulación de la cadera y por ello carece de periostio.

(Recibido: octubre de 2009.

Aceptado: noviembre de 2009)

## Referencias

1. Chapurlat RD, Garnero P, Sornay-Rendu E, Arlot ME, Claustrat B, Delmas PD. Longitudinal study of bone loss in pre- and perimenopausal women: evidence for bone loss in perimenopausal women. *Osteoporos Int* 2000; 11: 493-8.
2. Arlot ME, Sornay-Rendu E, Garnero P, Vey-Marty B, Delmas PD. Apparent pre- and postmenopausal bone loss evaluated by DXA at different skeletal sites in women: The OFELY cohort. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 683-90.
3. Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Connor MK, O'Fallon WM, Riggs BL. Determinants of bone loss from the femoral neck in women of different ages. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 24-31.
4. Slemenda C, Longcope C, Peacock M, Hui S, Johnston CC. Sex steroids, bone mass and bone loss: a prospective study of pre-, peri-, and postmenopausal women. *J Clin Invest* 1996; 97: 14-21.
5. Recker R, Lappe J, Davies K, Heaney R. Characterization of perimenopausal bone loss: a prospective study. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1965-73.
6. Ravn P, Hetland ML, Overgaard K, Christiansen C. Premenopausal and postmenopausal changes in bone mineral density of the proximal femur measured by dual-energy x-ray absorptiometry. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1975-80.
7. Harris S, Dawson-Hughes B. Rates of changes in bone mineral density of the spine, heel, femoral neck and radius in healthy postmenopausal women. *Bone Miner* 1992; 17: 87-95.
8. Mazess RB, Barden H. Bone density of the spine and femur in adult white females. *Calcif Tissue Int* 1999; 65:91-9.
9. Hedlund LR, Gallagher JC. The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 639-42.
10. Aloia JF, Vaswani A, Ross P, Cohn SH. Aging bone loss from the femur, spine, radius and total skeleton. *Metabolism* 1990; 39:1144-50.
11. Pouilles JM, Tremollieres F, Ribot C. Effect of menopause on femoral and vertebral bone loss *J Bone Miner Res* 1995; 10:1531-6.
12. Garn SM, Sullivan TV, Decker SA, Larkin FA, Hawthorne VM. Continuing bone expansion and increasing bone loss over a two-decade period in men and women from a total community sample. *Am J Hum Biol* 1992; 4: 57-67.
13. Duan Y, Turner CH, Kim BT, Seemam E. Sexual dimorphism in vertebral fragility is more the result of gender differences in age-related bone gain than loss. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 2267- 75.
14. Ahlborg HG, Johnell O, Turner CH, Rannevik G, Karlsson MK. Bone loss and bone size after menopause. *N Engl J Med* 2003; 349: 327-34.
15. Pauwels F. Principles construction of the lower extremity. Their significance for the stressing of the skeleton of the leg. En: Pauwels F (ed.) *Biomechanics of the*



- locomotor apparatus. Springer-Verlag; Berlin 1980: 193-204.
16. Beck JT, Looker AC, Ruff CB, Sievanen H, Wahner HW. Structural trends in the aging femoral neck and proximal shaft: Analysis of the Third Nacional Health and Nutrition Examination Survey dual-energy X-ray absorptiometry data. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2297-304.
  17. Frost HM. Postmenopausal osteoporosis: a disturbance in osteoclasia. *J Am Geriatr Soc* 1961; 9: 1078-85.
  18. Heaney RP, Whedon GD. Radiocalcium studies of bone formation rate in human metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1958; 18: 1246-67.
  19. Nordin BEC. Osteoporosis. *Adv Metab Dis* 1964; 1: 125-51.
  20. Nordin BEC. The pathogenesis of osteoporosis. *Lancet* 1961; 1: 1011-4.
  21. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy M, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 337-49.
  22. Naylor KE, Iqbal P, Fledelius C, Fraser RB, Eastell R. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 129-37.
  23. Parfitt M. PTH and periosteal bone expansion. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1741-3.
  24. Canalis E. The hormonal and local regulation of bone formation. *Endocr Rev* 1983; 4: 62-77.
  25. Riggs BL, Khosla S, Melton L Jr. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23: 279-302.
  26. Schiessl H, Frost HM, Jee WS. Estrogen and bone-muscle strength and mass relationships. *Bone* 1998; 22: 1-6.
  27. Smith EP, Boyd J, Frank GR, et al. Estrogen resistance caused by mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med*. 1994; 331: 1056-61.
  28. Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3689-98.
  29. Carani C, Quin K, Simoni M, et al. Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* 1997; 337: 91-5.
  30. Frost HM. On the estrogen-bone relationship and postmenopausal bone loss: a new model. *J Bone Mineral Res* 1999; 14: 1473-7.
  31. Schonau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. The development of bone strength at the proximal radius during childhood and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 613-8.
  32. Schonau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. Gender-specific pubertal changes in volumetric cortical bone mineral density at the proximal radius. *Bone* 2002; 31: 110-3.
  33. Holmberg-Marttila D, Sievanen H. Prevalence of bone mineral changes during postpartum amenorrhea and after resumption of menstruation. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 537-8.
  34. Ritchie LD, Fung EB, Halloran BP, et al. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 693-701.
  35. Frost HM. On our age-related bone loss: insights from a new paradigm. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1539-46.
  36. Jarvinen TLN, Kannus P, Sievanen H. Estrogen and bone: a reproductive and locomotor perspective. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1921-31.
  37. Lotz JC, Cheal EJ, Hayes WC. Stress distribution within the proximal femur during gait and falls: implications for osteoporotic fracture. *Osteoporos Int* 1995; 5: 252-61.



## ACTUALIZACIONES / Reviews

# BIFOSFONATOS, CONEXINAS Y APOPTOSIS DE OSTEÓBLASTOS Y OSTEÓCITOS: NUEVO MECANISMO DE ACCIÓN CON IMPLICANCIAS TERAPÉUTICAS

Lilian I. Plotkin, PhD\*

Department of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN. Estados Unidos de América.

### Resumen

Los bifosfonatos son drogas ampliamente utilizadas para el tratamiento de patologías en las que hay un aumento en la fragilidad ósea. Estos agentes detienen la pérdida de hueso al inhibir la actividad de los osteoclastos, las células que resorben el hueso. Sin embargo, el modesto efecto de los bifosfonatos en el aumento en la masa ósea no explica completamente la disminución en la incidencia de fracturas observada en individuos tratados con estos agentes. Basados en la falta de correlación entre el aumento de la densidad mineral y la disminución en la incidencia de fracturas, hemos explorado la posibilidad de que parte del efecto beneficioso de los bifosfonatos se debe a la inhibición de la apoptosis de los osteocitos. Los osteocitos, osteoblastos diferenciados que se rodean de matriz ósea, constituyen la mayoría de las células que forman el hueso y, a través de sus prolongaciones, forman una red que recorre el hueso. Debido a su posición en el hueso, los osteocitos constituyen las células ideales para percibir cambios mecánicos u hormonales e iniciar señales que llevan a la reparación del tejido, previniendo el deterioro del hueso y la posibilidad de fracturas. Los osteocitos se comunican entre sí y

con las células en la superficie del hueso a través de canales de conexinas (Cx), especialmente Cx43. Nuestro grupo ha demostrado que los bifosfonatos, aún los que carecen de actividad anti-catabólica, previenen la apoptosis de osteocitos *in vitro* e *in vivo*. La protección de la viabilidad celular requiere la apertura de hemicanales de Cx43, pero es independiente de la activación de las uniones *gap*. La apertura de los hemicanales es seguida por la activación de las quinasas Src y ERKs. Esto lleva a la fosforilación de factores citoplasmáticos y a la inhibición de la apoptosis. Utilizando ratones modificados genéticamente en los cuales la expresión de Cx43 es eliminada de células osteoblásticas, demostramos que Cx43 también es necesaria para el efecto de los bifosfonatos en estas células *in vivo*. Encontramos además que un análogo de los bifosfonatos que no inhibe la acción de los osteoclastos previene la apoptosis de osteoblastos y osteocitos, la pérdida de masa ósea y la reducción en la habilidad del hueso de resistir fuerzas mecánicas inducidos por glucocorticoides. Estos resultados muestran un nuevo mecanismo de acción desencadenado por la apertura de hemicanales de Cx43, que lleva al mantenimiento de la integridad de la

\* Dirección postal: Department of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine, 635 Barnhill Drive, MS-5035. Indianapolis, IN 46202-5120, USA. Correo electrónico: [lplotkin@iupui.edu](mailto:lplotkin@iupui.edu)

red formada por los osteocitos. Esta acción de los bifosfonatos y la posibilidad de disociarla de su acción sobre osteoclastos utilizando análogos que carecen efecto anti-catabólico, abre posibilidades terapéuticas para tratar patologías en las que la disminución en la resorción ósea no es aconsejable.

### Summary

#### **BISPHOSPHONATES, CONNEXINS AND APOPTOSIS OF OSTEOCYTES AND OSTEOBLASTS: A NOVEL MECHANISM OF ACTION WITH THERAPEUTIC POTENTIAL**

Bisphosphonates are widely used for the treatment of conditions with increased bone fragility. These agents stop bone loss by inhibiting the activity of osteoclasts, the bone resorbing cells. However, the modest effect of bisphosphonates on bone mass cannot completely explain the reduction in fractures observed in patient treated with these agents. Based on the lack of correlation between increased bone mass and decreased fracture incidence, we have explored the possibility that part of the beneficial effect of bisphosphonates on the skeleton is due to prevention of osteocyte apoptosis. Osteocytes, mature osteoblasts that become surrounded by bone matrix, constitute the majority of the cells in bone. Osteocytes and their projections form a network that spreads out throughout the bone. Due to their position within the bone matrix, osteocytes are ideally located to perceive changes in mechanical and hormonal stimuli and to trigger signals that lead to bone repair, preventing the deterioration of the bone quality and the possibility of bone fractures. Osteocytes communicate among themselves and with cells on the bone surface through connexin (Cx) channels, in particular, those formed by Cx43. Work of our group has demonstrated that bisphosphonates, even those that do not have anti-catabolic actions, are able to

prevent osteocyte apoptosis *in vitro* and *in vivo*. This survival effect requires the opening of Cx43 hemichannels, but it is independent of gap junctions. Hemichannel opening is followed by activation of the kinases Src and ERKs. This leads to the phosphorylation of cytoplasmic factors and to inhibition of apoptosis. Using genetically modified mice in which Cx43 expression was specifically deleted from osteoblastic cells, we have demonstrated that Cx43 is also required for the effect of bisphosphonates on these cells *in vivo*. In addition, we found that a bisphosphonate analog that does not inhibit osteoclast activity is still able to prevent apoptosis of osteoblasts and osteocytes, and the loss of bone mass and strength induced by glucocorticoids. Our studies revealed a novel mechanism of action triggered by opening of Cx43 hemichannels, which results in the maintenance of the osteocytic network. This action of bisphosphonates and its dissociation from their effect on osteoclasts using analogs that lack anti-catabolic actions open new therapeutic possibilities for conditions in which a decreased in bone resorption is not desired.

#### **Los bifosfonatos previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos a través de la activación de las kinasas activadas por señales extracelulares (ERKs)**

El hueso está formado por dos tipos celulares que mantienen su estructura y su capacidad mecánica: los osteoblastos y los osteoclastos. Los osteoblastos son las células que forman el hueso, depositando la matriz orgánica formada principalmente por colágeno e induciendo su mineralización. Los osteoclastos, a su vez, resorben el hueso gracias a la acción de enzimas que son secretadas al medio extracelular. Como en otros tejidos que se regeneran continuamente, el número de células maduras en el hueso depende no solamente de la velocidad con que se diferencian los progenitores, pero también de la muerte de las células maduras.<sup>1</sup> En base a observa-



ciones histomorfométricas, realizadas principalmente por el Dr. Michael Parfitt,<sup>2</sup> se determinó que todos los osteoclastos y aproximadamente el 50% de los osteoblastos mueren por apoptosis. El resto de los osteoblastos se convierten en "lining cells", las células que cubren la superficie en reposo del hueso, o en osteocitos. Los osteocitos son las células más abundantes del hueso. Derivan de los osteoblastos, luego que estos completaron su función secretoria de matriz ósea y se rodean de dicha matriz. Debido a su ubicación en el hueso y a su habilidad de conectarse entre sí y con células de la superficie ósea, se ha postulado que los osteocitos son las células encargadas de detectar la necesidad de aumentar o disminuir la cantidad de hueso, así como también la presencia de daño localizado en el hueso y de enviar señales que lleven a su reparación. Mientras que la disminución en el número de osteoblastos debido a un exceso en apoptosis resultaría en una tasa de formación ósea disminuida, el aumento en la prevalencia de la apoptosis de osteocitos llevaría a la interrupción de la comunicación entre estas células y la superficie del hueso, con la consecuente disminución de la calidad del hueso y su capacidad mecánica. Efectivamente, numerosos trabajos de nuestro grupo, así como también de otros investigadores, demostraron que en condiciones que resultan en disminución de la masa ósea y aumento de la fragilidad hay un aumento en la apoptosis de osteoblastos y osteocitos; mientras que agentes que mantienen la integridad del hueso previenen la apoptosis de estas células.<sup>3-11</sup> Basadas en esta evidencia, en estudios hechos bajo la dirección de la Dra. Teresita Bellido investigamos si parte de la acción beneficiosa de los bifosfonatos se debe a la prevención de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos. Utilizando la línea celular osteocítica MLO-Y4, así como también cultivos primarios de células de calvaria, nuestros estudios demostraron que los bifosfonatos previenen la apoptosis inducida por diversos agentes, incluyendo el

glucocorticoide dexametasona y el inhibidor de la reparación de ADN etopósido.<sup>12</sup> Este efecto beneficioso de los bifosfonatos fue observado también *in vivo*, utilizando un modelo animal de enfermedad ósea como consecuencia de la administración excesiva de glucocorticoides<sup>13</sup> y en animales en los cuales la apoptosis de los osteocitos fue inducida por sobrecarga mecánica.<sup>14</sup>

La prevención de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos resultante del tratamiento con bifosfonatos es mediada por un mecanismo de acción diferente a la inhibición de la vía del mevalonato, el mecanismo responsable de la acción de estas drogas en los osteoclastos.<sup>15</sup> Nuestro grupo ha demostrado que los bifosfonatos inducen la activación de ERK1/2,<sup>13</sup> un reconocido mediador de señales de sobrevivencia.<sup>16</sup> La prevención de la apoptosis y la activación de ERKs es conferida no solamente por los bifosfonatos clásicos que actúan bloqueando la acción de los osteoclastos, sino también por compuestos tales como IG9402 (1-OH-pentane-1,1-bisphosphonate),<sup>13</sup> o NE1 1809,<sup>17</sup> que no afectan a los osteoclastos y no inhiben a las enzimas de la vía del mevalonato.<sup>18-21</sup> Más aún, la concentración de bifosfonatos necesaria para prevenir la apoptosis de osteoblastos y osteocitos es 3 órdenes de magnitud menor que la necesaria para inhibir la actividad de los osteoclastos.<sup>13,21</sup>

### **Los bifosfonatos previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos a través de la apertura de hemicanales de conexina 43**

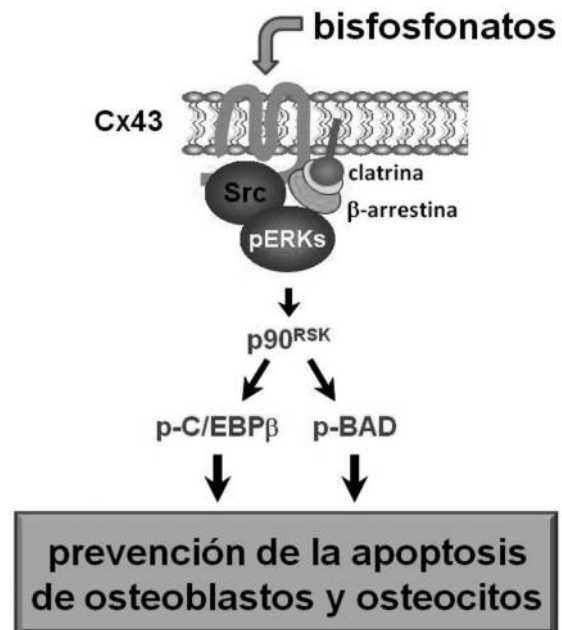
La comunicación entre las células que forman la red de osteocitos y los osteoblastos en la superficie del hueso se mantiene a través de uniones o canales *gap*, canales intercelulares que normalmente se encuentran cerrados y que se abren en forma transitoria para permitir el pasaje de moléculas de menos de 1 kDalton.<sup>22</sup> Un canal *gap* se forma por la unión de 2 hemicanales en células adyacentes, cada uno compuesto por seis moléculas de conexina. Los hemicanales también se locali-

zan en membranas celulares que están en contacto con el medio extracelular, permitiendo la comunicación entre la célula y el exterior.<sup>23,24</sup> La conexina más abundante en las células óseas es conexina 43 (Cx43),<sup>25-30</sup> y su ausencia lleva a la reducción de la expresión de genes específicos de los osteoblastos y a una disminución de la fusión de los osteoclastos y su actividad resorptiva *in vitro*.<sup>31-35</sup> Nuestro grupo ha demostrado que los hemicanales de Cx43, pero no los canales *gap*, son esenciales para la transmisión de las señales de supervivencia de los bifosfonatos *in vitro* y en un ratón en el cual la expresión de Cx43 fue eliminada específicamente en osteoblastos y osteocitos.<sup>36,37</sup> Más aún, solamente Cx43 (y no otros miembros de esta familia) es capaz de transformar células que no expresan conexinas y no responden a la acción de bifosfonatos en células respondedoras. Esta acción de Cx43 como mediador del efecto anti-apoptótico de los bifosfonatos requiere la molécula intacta, conteniendo la región transmembrana que forma el canal y el dominio C-terminal de la molécula, que se orienta hacia el citoplasma y que interactúa con quinasas y proteínas estructurales, incluyendo a la quinsa Src.<sup>38,39</sup> Estos resultados permiten agregar a Cx43 a la lista de proteínas de membrana capaces de mediar la transmisión de señales de supervivencia en respuesta a estímulos extracelulares.

**La inhibición de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos es mediada por la activación de ERKs en el citoplasma**

La mayoría de los agentes que inducen activación de ERKs resultan en la acumulación de las quinasas en el núcleo y la activación de factores de transcripción, lo que lleva a un aumento en la transcripción de genes dependientes de ERKs. Tal es el caso de los esteroides sexuales estrógenos y andrógenos, que también previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos a través de un mecanismo que requiere activación de ERKs y Src.<sup>7,40,41</sup> En el caso de los bifosfonatos, nues-

tros trabajos han demostrado que el efecto anti-apoptótico de estos agentes mediado por la vía de Cx43/ERK requiere la activación de la quinsa citoplasmática p90<sup>RSK</sup>, la que a su vez media la fosforilación de la proteína pro-apoptótica BAD y de C/EBP $\beta$ . La fosforilación de BAD resulta en su inactivación, mientras que la fosforilación de C/EBP $\beta$  resulta en la formación de un dominio intramolecular que se une a pro-caspasas, inactivándolas independientemente de la función de C/EBP $\beta$  como factor de transcripción (ver **Figura**). Más aún, estudios recientes demostraron que la proteína  $\beta$ -arrestina es necesaria para que ERKs sean retenidas en el citoplasma, un paso indispensable en la vía de inhibición de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos por acción de los bifosfonatos.<sup>42</sup> En forma consistente con la evidencia que los bifosfonatos y estrógenos inducen la fosforilación de diferentes tipos de sustratos de ERKs, estos agentes tienen un efecto aditivo en la prevención de la apoptosis de células osteoblásticas.<sup>41</sup>



**Figura.** Vía de señalización activada por los bifosfonatos en osteoblastos y osteocitos.



**La inhibición de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos sin afectar la resorción ósea es suficiente para prevenir al menos en forma parcial los efectos deletéreos de la administración de glucocorticoides**

Estudios de nuestro grupo, así como también otros investigadores indican que los bifosfonatos no solamente son capaces de frenar la resorción ósea a través de su efecto directo sobre células de linaje osteoclástico,<sup>15</sup> sino que también previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos *in vitro* e *in vivo*.<sup>13,14,17</sup> Sin embargo, debido a que el efecto anti-resortivo predomina, no es posible determinar la contribución del efecto anti-apoptótico sobre células osteoblásticas en el efecto de los bifosfonatos en el esqueleto. Por ese motivo estudiamos una serie de compuestos análogos de los bifosfonatos tradicionales y encontramos que varios compuestos son capaces de prevenir la apoptosis de osteoblastos y osteocitos sin afectar a los osteoclastos.<sup>21</sup> La disociación de estos dos efectos fue confirmada recientemente por el grupo del Dr. Brendon Noble.<sup>17</sup> IG9402, uno de los compuestos que no inhibe la vía del mevalonato y no induce la apoptosis de osteoclastos *in vitro*, no afecta los indicadores de formación y resorción ósea cuando es inyectado diariamente a ratones, a diferencia de alendronato, que los reduce. A pesar de no afectar la remodelación ósea, IG9402 es tan efectivo como alendronato en la prevención de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos y de la pérdida de masa y fuerza ósea. En base a estos experimentos podemos concluir que la inhibición de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos contribuye al efecto beneficioso de los bifosfonatos en el esqueleto.

### Conclusión

La prevención de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos es parte importante en el modo de acción tanto de agentes anti-catabólicos así como agentes anabólicos.<sup>1</sup> En particular, los bifosfonatos, conocidos por su

acción anti-resortiva, además de inhibir la acción de los osteoclastos, previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos *in vitro* e *in vivo*.<sup>13</sup> Por lo tanto, parte de sus efectos beneficiosos en el esqueleto se deben a la prolongación de la vida activa de los osteoblastos y al mantenimiento de la red celular formada por los osteocitos. Sin embargo, debido a que los bifosfonatos inhiben la acción de los osteoclastos,<sup>43</sup> no es posible determinar la contribución del efecto anti-apoptótico sobre osteoblastos y osteocitos sobre el efecto general de estos agentes. Nuestro grupo ha identificado recientemente un grupo de análogos de los bifosfonatos que previenen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos sin afectar la actividad de los osteoclastos.<sup>21,44</sup> Utilizando uno de estos compuestos hemos determinado que la prevención de la apoptosis de osteoblastos y osteocitos es suficiente para contrarrestar algunos de los efectos deletéreos de los glucocorticoides en ratones, abriendo la posibilidad de la utilización terapéutica de estos compuestos en condiciones en las cuales una disminución del remodelado óseo está contraindicada.

### Agradecimientos

Estos trabajos fueron realizados gracias a subsidios de los *National Institutes of Health* R01-AR053643 (L.I.P.) KO2-AR02127, R03 TW006919 y P01-AG13918 (Teresita Bellido), *American Cancer Society Pilot Study Subaward* IRG-91-021-11 (L.I.P.) y un subsidio interno de la Escuela de Medicina, UAMS (L.I.P.).

(Recibido y aceptado: noviembre de 2009)

### Referencias

1. Jilka RL, Bellido T, Almeida M, *et al.* Apoptosis in bone cells. En: Principles of Bone Biology (JP Bilezikian, LG Raisz, TJ Martin, editors). San Diego; Academic Press, 2008:237-61.

INNOVACIÓN  
EN OSTEOPOROSIS  
POSTMENOPAUSICA

# PROTOS<sup>®</sup>

Ranelato de estroncio

**Superior eficacia en hueso, para una superior eficacia contra las fracturas**

Respeta al hueso como tejido vivo

Forma hueso nuevo día a día

Mejora la microarquitectura ósea

Reduce el riesgo de fracturas  
vertebrales y de cadera



Servier Argentina S.A., Av. Belgrano 1480 Capital Federal  
Tel 5199-7627. Fax 4383-4145. [www.servier.com](http://www.servier.com)

[WWW.PROTELOS.COM](http://WWW.PROTELOS.COM)

Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud y Ambiente. Director Técnico. A. Barravecchia.  
Farmacéutica Protos: certificado N° 53088

**1 SOBRE POR DÍA**

# Innovación en Osteoporosis



- ▣ **Aumenta** significativamente la masa ósea
- ▣ **Disminuye** el riesgo de fracturas
- ▣ **Mejora** la adhesión al tratamiento

Femorel<sup>®</sup>  
max

Femorel<sup>®</sup>  
ibandronato  
UNA TOMA MENSUAL

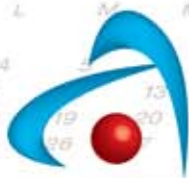
Femorel<sup>®</sup> i.v.  
ibandronato 3 mg  
1 vez cada 3 meses



enero

D L M M J V S

3  
10  
17  
24  
31



Ácido Zoledrónico 5mg/100ml

# simpla®

febrero

D L M M J V S  
7  
14  
21  
28

## UNA DOSIS ANUAL

SOLUCIÓN INYECTABLE PARA INFUSIÓN INTRAVENOSA

UN TRATAMIENTO DE UNA SOLA DOSIS  
QUE PROTEGE DURANTE TODO UN AÑO

- Tratamiento de la Osteoporosis en mujeres postmenopáusicas
- Reducción de la incidencia de fracturas vertebrales, no vertebrales y de cadera
- Incremento de la densidad mineral ósea
- Prevención de Fracturas Clínicas tras una fractura clínica en hombres y mujeres



Para mayor información: **Laboratorio Elea** (Dirección Médica)

Tel: 4379-4300 - 0800-333-ELEA (3532)

Visite nuestra página web: [www.elea.com](http://www.elea.com)

**ELEA**  
OSTEOARTICULAR



## XXVII REUNIÓN ANUAL ASOCIACIÓN ARGENTINA DE OSTEOLÓGÍA Y METABOLISMO MINERAL

9-11 de Septiembre de 2010 / Hotel "Dr. César C. Carman" / Av. Sabattini 459. Córdoba, Argentina.

### PROGRAMA PRELIMINAR



#### CONFERENCIAS

##### ***"Genomic effects of vitamin D in cell differentiation"***

##### ***"Vitamin D signaling links bone and energy metabolism"***

Dra. JoEllen Welsh. Prof. de GenYsis Center for Excellence in Cancer Genomics, University at Albany, Albany, USA.

##### **"Nuevas herramientas para el estudio de la función osteoclástica"**

Dr. Ricardo A. Battaglini. Dept. Oral Medicine, Infection, and Immunity, Harvard School of Dental Medicine and the Cytokine Biology Department The Forsyth Institute, Boston, USA.

##### **"Origen, histología y remodelación del hueso maxilar"**

Dra. Patricia Mandalunis. Prof. de la Fac. de Odontología de la UBA.

##### **"Hormona de crecimiento y hueso: efecto de la deficiencia y los excesos"**

Dr. Darío Bruera. Presidente de la SEMCO.

##### **"Monitoreo de los niveles de vitamina D"**

Dra. Claudia Sedlinsky. Grupo de Investigación en Osteopatías Metabólicas y Minerales, Universidad de La Plata.

#### SIMPOSIOS

##### **Enfermedades Raras**

"Manejo clínico de las Fibrodisplasias Óseas". Dra. Virginia Fano, Hospital Garrahan.

"Procesos para la Investigación y Manejo Clínico de las enfermedades óseas de baja prevalencia". Dr. Emilio Roldán, Director Médico, Laboratorios Gador.

"Manejo clínico de las calcificaciones ectópicas". Dra. María Rosa Ulla, Directora de CEOM, Córdoba.

##### **Diferentes problemas y un denominador común: PTH**

"La PTH en el laboratorio". Andrea Kozak.

"Hipertiroidismos secundarios y primarios normocalcémicos: un desafío diagnóstico". Dr. Rodolfo Guelman.

"Dificultades en el manejo del hipertiroidismo secundario a insuficiencia renal crónica". Dr. Armando Negri.

##### **Nuevas tendencias en el Tratamiento de la Osteoporosis (Auspicio Servier)**

"¿Cuál es el tamaño real de la enfermedad en la Argentina?" Dra. Diana González.

"La acción osteoformadora como factor clave de éxito en el tratamiento de la osteoporosis: ranelato de estroncio". Dra. Ana María Galich. Hospital Italiano. Buenos Aires.

#### SIMPOSIO de Jóvenes Investigadores AAOMM

#### COMUNICACIONES ORALES

**Fecha límite de presentación de trabajos: Viernes 18 de JUNIO de 2010.**

#### TALLER DE DENSITOMETRÍA PARA MÉDICOS Y TÉCNICOS

Coordinadora: Dra. Ana María Galich. Hospital Italiano. Buenos Aires.

#### CONFERENCIAS SATÉLITES DE SOCIEDADES CIENTÍFICAS AFINES

**SIBOMM:** "Diabetes y hueso". Dr. Daniel Salica. Prof. Fac. de Cs Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, ex Presidente de SIBOMM.

**IOF:** "Evaluación de la Micro-arquitectura Ósea mediante Tomografía Computada Periférica de Alta Resolución (HRpQCT)". Dra. María Belén Zanchetta.

**SAO.** "Fracturas por osteoporosis en América Latina". Dr. Fernando Somma.

[www.aaomm.org.ar](http://www.aaomm.org.ar)

2. Parfitt AM. Bone-forming cells in clinical conditions. En: Bone: A Treatise (BK Hall, editor). Boca Raton; CRC Press, 1990:351-430.
3. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids: potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998; 102: 274-82.
4. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM, Manolagas SC. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. *J Clin Invest* 1999; 104: 439-46.
5. Bellido T, Plotkin L, O'Brien CA, Manolagas SC, Jilka RL. PTH-mediated control of proteasome-mediated degradation of runx2/cbfa1: a pivotal determinant of the longevity of PTH-initiated anti-apoptosis signaling in osteoblastic cells. *J Bone Min Res* 2002; 17: S128 (Abstract).
6. Aguirre JI, Plotkin LI, Stewart SA, et al. Osteocyte apoptosis is induced by weightlessness in mice and precedes osteoclast recruitment and bone loss. *J Bone Min Res* 2006; 21: 605-15.
7. Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, et al. Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell* 2001; 104: 719-30.
8. Kousteni S, Chen JR, Bellido T, et al. Reversal of bone loss in mice by nongenotropic signaling of sex steroids. *Science* 2002; 298: 843-6.
9. Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, Noble BS. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3128-35.
10. Almeida M, Han L, Martin-Millan M, et al. Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *J Biol Chem* 2007; 282: 27285-97.
11. Plotkin LI, Mathov I, Aguirre JI, Parfitt AM, Manolagas SC, Bellido T. Mechanical stimulation prevents osteocyte apoptosis: requirement of integrins, Src kinases and ERKs. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289: C633-43.
12. Stefanelli C, Bonavita F, Stanic I, et al. Inhibition of etoposide-induced apoptosis with peptide aldehyde inhibitors of proteasome. *Biochem J* 1998; 332: 661-5.
13. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest* 1999; 104: 1363-74.
14. Follet H, Li J, Phipps RJ, Hui S, Condon K, Burr DB. Risedronate and alendronate suppress osteocyte apoptosis following cyclic fatigue loading. *Bone* 2007; 40: 1172-7.
15. Rogers MJ. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int* 2004; 75: 451-61.
16. Wada T, Penninger JM. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. *Oncogene* 2004; 23: 2838-49.
17. Kogianni G, Mann V, Ebetino F, et al. Fas/CD95 is associated with glucocorticoid-induced osteocyte apoptosis. *Life Sci* 2004; 75: 2879-95.
18. Van Beek E, Lowik C, Que I, Papapoulos S. Dissociation of binding and antiresorptive properties of hydroxybisphosphonates by substitution of the hydroxyl with an amino group. *J Bone Min Res* 1996; 11: 1492-7.
19. Brown RJ, Van Beek E, Watts DJ, Lowik CW, Papapoulos SE. Differential effects of aminosubstituted analogs of hydroxy bisphosphonates on the growth of *Dictyostelium discoideum*. *J Bone Min Res* 1998; 13: 253-8.



20. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 235-42.
21. Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Dissociation of the pro-apoptotic effects of bisphosphonates on osteoclasts from their anti-apoptotic effects on osteoblasts/osteocytes with novel analogs. *Bone* 2006; 39: 443-52.
22. Doty SB. Morphological evidence of gap junctions between bone cells. *Calcif Tissue Int* 1981; 33: 509-12.
23. Evans WH, Martin PE. Gap junctions: structure and function. *Mol Membr Biol* 2002; 19: 121-36.
24. Goodenough DA, Paul DL. Beyond the gap: functions of unpaired connexon channels. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 285-94.
25. Schirrmacher K, Schmitz I, Winterhager E, et al. Characterization of gap junctions between osteoblast-like cells in culture. *Calcif Tissue Int* 1992; 51: 285-90.
26. Civitelli R, Beyer EC, Warlow PM, Robertson AJ, Geist ST, Steinberg TH. Connexin43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cell networks. *J Clin Invest* 1993; 91: 1888-96.
27. Kato Y, Windle JJ, Koop BA, Mundy GR, Bonewald LF. Establishment of an osteocyte-like cell line, MLO-Y4. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 2014-23.
28. Su M, Borke JL, Donahue HJ, et al. Expression of connexin 43 in rat mandibular bone and periodontal ligament (PDL) cells during experimental tooth movement. *J Dent Res* 1997; 76: 1357-66.
29. Ilvesaro J, Väänänen K, Tuukkanen J. Bone-resorbing osteoclasts contain gap-junctional connexin-43. *J Bone Min Res* 2000; 15: 919-26.
30. Yellowley CE, Li Z, Zhou Z, Jacobs CR, Donahue HJ. Functional gap junctions between osteocytic and osteoblastic cells. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 209-17.
31. Lecanda F, Towler DA, Ziambaras K, et al. Gap junctional communication modulates gene expression in osteoblastic cells. *Mol Biol Cell* 1998; 9: 2249-58.
32. Upham BL, Suzuki J, Chen G, et al. Reduced gap junctional intercellular communication and altered biological effects in mouse osteoblast and rat liver oval cell lines transfected with dominant-negative connexin 43. *Mol Carcinog* 2003; 37: 192-201.
33. Ilvesaro J, Tavi P, Tuukkanen J. Connexin-mimetic peptide Gap 27 decreases osteoclastic activity. *BMC. Musculoskelet Disord* 2001; 2:10 (Abstract).
34. Schilling AF, Filke S, Rueger JM, Amling M. Signaling via gap junctions is important for the fusion of human osteoclasts in vitro. *J Bone Miner Res* 2002; 17: S348 (Abstract).
35. Ransjo M, Sahli J, Lie A. Expression of connexin 43 mRNA in microisolated murine osteoclasts and regulation of bone resorption in vitro by gap junction inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 1179-85.
36. Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels. *J Biol Chem* 2002; 277: 8648-57.
37. Plotkin LI, Lezcano V, Thostenson J, Weinstein RS, Manolagas SC, Bellido T. Connexin 43 is required for the anti-apoptotic effect of bisphosphonates on osteocytes and osteoblasts in vivo. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 1712-21.
38. Loo LW, Kanemitsu MY, Lau AF. In vivo association of pp60v-src and the gap-junction protein connexin 43 in v-src-transformed fibroblasts. *Mol Carcinog* 1999; 25: 187-95.
39. Giepmans BN, Hengeveld T, Postma FR, Moolenaar WH. Interaction of c-Src with gap junction protein connexin-43: role in

- the regulation of cell-cell communication. *J Biol Chem* 2001; 276: 8544-9.
40. Kousteni S, Han L, Chen JR, *et al.* Kinase-mediated regulation of common transcription factors accounts for the bone-protective effects of sex steroids. *J Clin Invest* 2003; 111: 1651-64.
41. Plotkin LI, Aguirre JI, Kousteni S, Manolagas SC, Bellido T. Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of ERK activation. *J Biol Chem* 2005; 280: 7317-25.
42. Plotkin LI, Vyas K, Gortazar AR, Manolagas SC, Bellido T.  $\beta$ -Arrestin complexes with connexin (Cx) 43 and anchors ERKs outside the nucleus: a requirement for the Cx43/ERK-mediated anti-apoptotic effect of bisphosphonates in osteocytes. *J Bone Miner Res* 2006; 21: S65 (Abstract).
43. Hughes DE, Wright KR, Uy HL, *et al.* Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts *in vitro* and *in vivo*. *J Bone Min Res* 1995; 10: 1478-87.
44. Plotkin LI, Goellner J, Vyas K, *et al.* A bisphosphonate analog that lacks anti-remodeling activity prevents osteocyte and osteoblast apoptosis *in vivo*. *J Bone Miner Res* 2007; 22:S4 (Abstract).



## TARSO

Palabra proveniente del griego τάρσος, “cañizo”, probablemente por la similitud de los metatarsianos con cañas.



## ACTUALIZACIONES / *Reviews*

# MECANISMO DE ACCIÓN DE PTH EN CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA DE COLON HUMANO

Claudia Gentili, Natalia Calvo, Ana Russo de Boland \*

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

### Resumen

El concepto sobre el rol de la hormona paratiroidea (PTH) actuando sobre los tejidos blanco clásicos (hueso y riñón) se ha expandido a tejidos no clásicos como el intestino donde ejerce importantes funciones regulatorias. En células intestinales, PTH luego de unirse a su receptor (PTHr1) en la membrana plasmática, activa las vías de señalización de AMP $\gamma$ /PKA, DAG/IP $_3$ /PKC, las cascadas de las MAP quinasas y regula la concentración de Ca $^{2+}$  intracelular. En la línea celular intestinal Caco-2, derivada de adenocarcinoma de colon humano, el tratamiento con PTH en ausencia de suero disminuye el número de células viables e induce cambios morfológicos consistentes con la apoptosis: alteración de los filamentos de actina y consecuentemente de la forma celular, pérdida de las uniones intercelulares, externalización de la fosfatidilserina de membrana, distribución perinuclear de las mitocondrias, condensación nuclear y fragmentación del ADN. Además la hormona induce la desfosforilación de la proteína pro-apoptótica Bad, su disociación de la proteína 14-3-3 y su translocación a las mitocondrias con la consecuente liberación de citocromo c y Smac/Diablo al citosol, lo que resulta en la activación de caspasa-3 y el clivaje de su sustrato PARP. En estas células, PTH además de activar la vía mitocondrial de la apoptosis, inhibe la vía de supervivencia de

AKT mediante la acción concertada de la serina-treonina fosfatasa PP2A y la vía del AMPc. El conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la apoptosis de células intestinales podría ser utilizado para generar fármacos pro-apoptóticos en el tratamiento del cáncer de colon humano.

**Palabras clave:** PTH, apoptosis, células intestinales, adenocarcinoma de colon

### Summary

#### **MECHANISM OF ACTION OF PTH ON CELLS OF HUMAN COLONIC ADENOCARCINOMA**

*Parathyroid hormone (PTH) besides acting on the classical target tissues, bone and kidney, regulates important physiological functions in the intestine. In intestinal cells, PTH, after binding to its receptor (PTHr1) at the plasma membrane, activates  $\gamma$ AMP/PKA, DAG/IP $_3$ /PKC signal transduction pathways, MAP kinases cascades and regulates intracellular Ca $^{2+}$  concentration. In the intestinal cell line Caco-2, derived from human colorectal adenocarcinoma, PTH treatment in serum free medium diminished the number of viable cells. Moreover, the hormone induced disruption of actin filaments with changes to cellular shape, alteration of cell-to-cell*

\* Correo electrónico: [aboland@criba.edu.ar](mailto:aboland@criba.edu.ar)

*junctions, externalization of membrane phosphatidylserine, mitochondrial cellular distribution to the perinuclear region, chromatin condensation and DNA fragmentation of the nucleus, which are morphological features consistent with apoptosis. In addition, the hormone induces the dephosphorylation of pro-apoptotic protein Bad, its dissociation of 14-3-3 protein and its translocation to the mitochondria with the subsequent release of cytochrome c and Smac/Diablo to the cytosol which resulted in activation of downstream caspase-3 and degradation of its substrate PARP. In these cells, PTH, besides activating the mitochondrial pathway of apoptosis, inhibits AKT survival pathway via the serine/threonine phosphatase PP2A and cAMP. Knowledge of the molecular mechanisms involved in apoptosis of intestinal cells could be used to generate pro-apoptotic drugs in the treatment of human colon cancer.*

**Key words:** PTH, apoptosis, intestinal cells, colon adenocarcinoma

### **PTH: generalidades, mecanismo de acción en tejidos blanco**

La hormona paratiroidea (PTH) es un polipéptido de 84 aminoácidos secretado por las glándulas paratiroideas. Regula la homeostasis del calcio, siendo el hueso y el riñón sus principales órganos blanco.<sup>1</sup> PTH, estimulando a la  $1\alpha$ -hidroxilasa renal, regula la síntesis de la forma hormonalmente activa de la vitamina D,  $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -Vitamina  $\text{D}_3$ , que a su vez funciona en el duodeno aumentando la absorción intestinal de calcio.<sup>2</sup> En la mayoría de las células, PTH inicia sus efectos interactuando con el receptor tipo 1 acoplado a proteínas G (PTHr1), que posee siete dominios transmembrana, con un dominio amino terminal extracelular donde se une la hormona y un largo dominio carboxilo terminal intracelular.<sup>3</sup> Hasta el presente,

se ha encontrado un solo receptor en osteoblastos<sup>4</sup> y en células duodenales,<sup>5</sup> pero se ha descrito un segundo receptor de PTH (PTHr2), en páncreas, cerebro, riñón y testículos<sup>6</sup> y se ha postulado la existencia de otros.<sup>7</sup> A pesar de ser un típico receptor de membrana, también se ha localizado al PTHr1 en el núcleo de células de riñón, hígado, intestino, útero y ovario de rata,<sup>8</sup> en células MC3T3-E1<sup>9</sup> y duodenales.<sup>5</sup> El significado de la presencia nuclear del receptor de PTH no ha sido aclarado aún; es posible que PTHr1 transloque al núcleo para participar directamente en la regulación génica. Luego de unirse a su receptor en la membrana plasmática de los tejidos blanco, PTH estimula a la adenilil ciclasa con producción de AMPc, y a la fosfolipasa C que provoca la hidrólisis de fosfatidil inositol 4,5 bifosfato generando inositol 1,4,5 trifosfato ( $\text{IP}_3$ ) y diacilglicerol (DAG).<sup>10,11</sup> Luego de formarse estos segundos mensajeros, el AMPc activa a la proteína quinasa A (PKA),<sup>12</sup> el  $\text{IP}_3$  libera calcio de depósitos intracelulares<sup>13</sup> y el DAG activa a la proteína quinasa C (PKC)<sup>14</sup> la cual una vez activada transloca a la membrana plasmática, donde activa, por fosforilación, canales de calcio.<sup>15,16</sup> PTH también estimula otras vías de señalización intracelular, como a la fosfolipasa A2 (PLA2) que cataliza la hidrólisis de fosfolípidos generando ácidos grasos libres y lisofosfolípidos<sup>17</sup> y a la fosfolipasa D (PLD) que cataliza la hidrólisis de fosfatidilcolina generando ácido fosfatídico.<sup>18</sup> La hormona también activa a las cascadas de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), una familia de enzimas que regulan la proliferación y diferenciación celular.<sup>19</sup> Se ha demostrado su participación en la proliferación de células osteoblásticas, renales e intestinales.<sup>20-22</sup> En células intestinales se demostró que la vía de la adenil ciclasa/AMPc/PKA, el calcio y la tirosina quinasa citosólica cSrc son parte del mecanismo por el cual PTH activa a las MAP quinasas ERK1 y ERK2 y vía incrementos en calcio intracelular a JNK1/2.<sup>22,23</sup>



### Vías de señalización y cáncer colorrectal

El intestino es uno de los tejidos que prolifera más rápidamente en el cuerpo. Un balance dinámico entre la proliferación celular en la cripta de las vellosidades y la pérdida de los enterocitos a través de la apoptosis o exfoliación mantiene la integridad del epitelio intestinal. La apoptosis es una forma de muerte celular genéticamente programada; puede ser activada o inhibida por una variedad de estímulos, tanto fisiológicos como patológicos y necesita de mecanismos de regulación de gran exactitud y seguridad. Una apoptosis defectuosa, que resulta en la falla de la muerte de una célula es responsable de un daño pre-maligno, permitiendo la progresión de enfermedades y la resistencia de células cancerosas a terapias citotóxicas, mostrando la importancia de la apoptosis en el tracto gastrointestinal.<sup>24</sup>

El cáncer colorrectal está ubicado entre las primeras causas más frecuentes de mortalidad por enfermedad maligna en el mundo occidental y la carcinogénesis de esta enfermedad es un proceso complejo que involucra una disfunción progresiva de la proliferación del epitelio intestinal, apoptosis, diferenciación y mecanismos de supervivencia.<sup>25</sup> En medicina, es creciente el interés por entender los mecanismos moleculares que conducen a la patogénesis, progresión y metástasis del cáncer colorrectal y por conocer nuevos agentes químicos que inhiban las vías de señalización involucradas en estos procesos con el fin de generar nuevas perspectivas en el tratamiento del cáncer de colon humano. En este tipo de cáncer, son numerosos los trabajos de investigación que estudian la desregulación de las vías de señalización de las MAP quinasas ERK1/2 y fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K)/AKT y los inhibidores específicos para ambas vías capaces de inducir apoptosis e inhibir el ciclo celular. Las isoformas de 42 y 44 KDa de ERK tienen un rol clave en una variedad de carcinomas humanos.<sup>26</sup> Normalmente, la activación de estas

quinasas es compleja, finamente regulada y requiere de una serie de eventos que involucra a la proteína Ras, que activa a Raf, que a su vez fosforila a la quinasa MEK activándola y ésta activa a las ERK1/2 fosforilándolas en residuos de tirosina y treonina. Sin embargo, hay evidencia que demuestra que esta vía de señalización está desregulada en el cáncer colorrectal humano y en tumores de colon de modelos animales.<sup>27</sup> La activación permanente de las ERKs puede deberse a una mutación y activación de Ras, de Raf o por la sobreexpresión y activación del receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

En los últimos años, se observó que las alteraciones de la vía de señalización PI3K-AKT son frecuentes en el cáncer humano. AKT es una serina treonina quinasa que participa en la regulación de diferentes procesos celulares tales como proliferación, ciclo celular, supervivencia e inhibición de la apoptosis y requiere ser fosforilada para su activación completa.<sup>28</sup> La fosforilación de AKT ocurre a través de segundos mensajeros generados por PI3K y está altamente regulada por un balance entre eventos activados por quinasas e inactivados por fosfatasas, tales como la serina/treonina fosfatasa 2A (PP2A), que está involucrada en diversas funciones celulares, incluyendo la apoptosis.<sup>29</sup> En el cáncer de colon, la activación constitutiva de la vía PI3K-AKT puede ser debida a mutaciones de la subunidad catalítica p110 de PI3K, mutaciones de la subunidad regulatoria p85 de PI3K, activación de AKT ya sea por amplificación génica o hiperfosforilación o como resultado de mutaciones en los componentes de la vía.<sup>30-33</sup>

### PTH y apoptosis en células de adenocarcinoma de colon humano

PTH puede inhibir o promover la apoptosis, dependiendo del tipo y contexto celular. En las células intestinales, la sobreexpresión del análogo tumoral de PTH (PTHrP) incrementa la apoptosis en ausencia de suero. No obs-



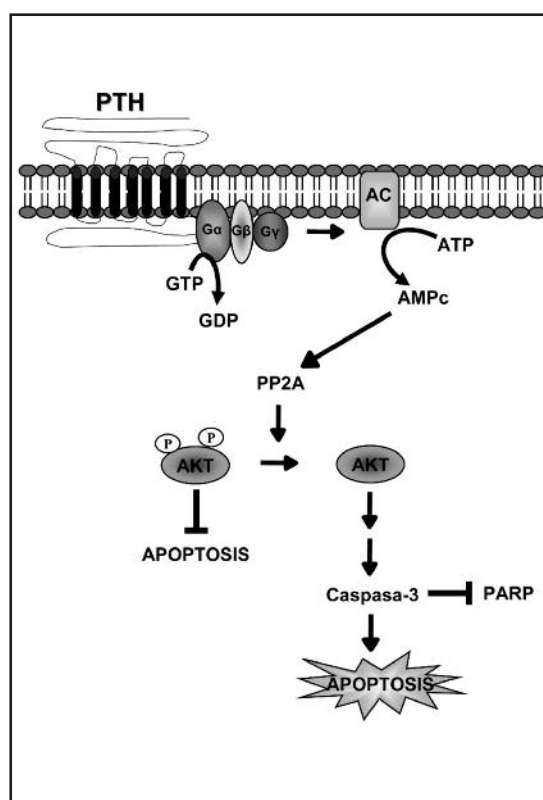
tante, en presencia de suero, PTHrP aumenta la proliferación de estas células a través de una vía intracrina.<sup>34,35</sup> Además, se ha visto recientemente que PTHrP incrementa el crecimiento xenográfico y la activación de AKT en la línea celular de cáncer de colon humano LoVo.<sup>36</sup> En las células Caco-2, derivadas de adenocarcinoma de colon humano se demostró que, en ausencia de suero, PTH disminuye el número de células viables e induce cambios morfológicos consistentes con la apoptosis tales como alteración de los filamentos de actina y consecuentemente de la forma celular, pérdida de las uniones intercelulares, externalización de la fosfatidilserina de membrana plasmática, distribución perinuclear de las mitocondrias, condensación nuclear y fragmentación del ADN.<sup>37</sup>

La apoptosis puede ser activada a partir de dos vías de señalización distintas. Una vía extrínseca que es iniciada por receptores de muerte (vía de los receptores de muerte), y otra vía intrínseca o mitocondrial que es regulada por miembros anti- y pro-apoptóticos de la familia Bcl-2 e involucra la liberación hacia el citosol de varios componentes mitocondriales tales como citocromo c y Smac-Diablo que una vez en el citosol, promueven la activación de las caspasas, que son enzimas que favorecen la apoptosis.<sup>38,39</sup> En las células Caco-2, PTH activa la vía de señalización mitocondrial provocando la desfosforilación de la proteína pro-apoptótica Bad, su disociación de la proteína 14-3-3 y su translocación a las mitocondrias que conduce a la liberación de los factores pro-apoptóticos citocromo c y Smac-Diablo desde las mitocondrias al citosol con la consecuente activación de la caspasa-3 y la degradación de su sustrato PARP.<sup>40</sup>

En varios tipos de cánceres la vía de PI3K-AKT está permanentemente activada y, de acuerdo con estas observaciones, AKT está basalmente hiperfosforilada y constitutivamente activada en las células Caco-2. El tratamiento de estas células intestinales con PTH provoca la desfosforilación e inactivación de AKT a través de la fosfatasa PP2A,

que a su vez es activada por la hormona vía el AMP<sub>c</sub>.<sup>41</sup>

La apoptosis y la proliferación celular están vinculados por ciertos reguladores del ciclo celular y un estímulo apoptótico puede afectar tanto la proliferación como la supervivencia. En las células Caco-2, PTH no afecta la expresión de p53, una proteína reguladora del ciclo celular, sugiriendo que, en estas células, la hormona es un estímulo apoptótico que induce la muerte celular por un mecanismo independiente de p53.<sup>41</sup> La Figura 1 resume los efectos pro-apoptóticos de PTH en células de adenocarcinoma de colon.



**Figura 1. Eventos pro-apoptóticos en las células de adenocarcinoma de colon Caco-2:** PTH induce la activación de la vía AMP<sub>c</sub>-PP2A y la consecuente desfosforilación e inactivación de AKT que conduce a la activación de caspasa-3 y la degradación de su sustrato PARP.



## Conclusiones

El concepto sobre el rol de PTH actuando sobre los tejidos blanco clásicos, hueso y riñón, se ha expandido al intestino donde ejerce importantes funciones regulatorias. Las células intestinales, incluyendo a las derivadas de adenocarcinoma de colon humano Caco-2, están dotadas de la maquinaria molecular que les permite responder a la hormona peptídica y constituyen un modelo apropiado para caracterizar la regulación por PTH de la proliferación, diferenciación y apoptosis.

En las células intestinales PTH desempeña un importante rol en los mecanismos celulares que regulan el calcio intracelular y las cascadas mitogénicas, y en las células Caco-2 desencadena –en ausencia de suero– efectos pro-apoptóticos a través de la vía mitocondrial de la apoptosis e inhibición de la vía de supervivencia de AKT mediante la acción concertada de la fosfatasa PP2A y la vía del AMPc.

El entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados en estos procesos en las células de adenocarcinoma de colon humano es importante para generar nuevas estrategias terapéuticas en el área biomédica.

(Recibido y aceptado: noviembre de 2009)

## Referencias

1. Strewler GJ. The physiology of parathyroid hormone-related protein. *N Engl J Med* 2000; 342:177-85.
2. Horiuchi N, Suda T, Sasaki S, Takahashi H, Shimazawa E, Ogata E. Absence of regulatory effects of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on 25-hydroxyvitamin D metabolism in rats constantly infused with parathyroid hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 73:869-75.
3. Abou-Samra AB, Juppner H, Force T, Freeman MW, Kong XF, Schipani E, Urena P, Richards J, Bonventre JV, Potts JT Jr, Kronenberg HM, Segre GV. Expression cloning of a common receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide from rat osteoblast-like cells: a single receptor stimulates intracellular accumulation of both cAMP and inositol trisphosphates and increases intracellular free calcium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 2732-6.
4. Juppner H. Receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide: exploration of their biological importance. *Bone* 1999; 25:87-90.
5. Gentili C, Morelli S, de Boland AR. Characterization of PTH/PTHrP receptor in rat duodenum: Effects of ageing. *J Cell Biochem* 2003; 88:1157-67.
6. Usdin TB, Bonner TI, Harta G, Mezey E. Distribution of parathyroid hormone-2 receptor messenger ribonucleic acid in rat. *Endocrinology* 1996;137:4285-97.
7. Orloff JJ, Stewart AF. The carboxy-terminus of parathyroid hormone-inert or invaluable? *Endocrinology* 1995; 136:4729-31.
8. Jans DA, Hassan G. Nuclear targeting by growth factors, cytokines, and their receptors: a role in signaling. *Bioessays* 1998; 20:400-11.
9. Watson PH, Fraher LJ, Watson PH, Fraher LJ, Natale BV, Kisiel M, Hendy GN, Hodsman AB. Nuclear localization of the type 1 parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor in MC3T3-E1 cells: association with serum-induced cell proliferation. *Bone* 2000; 26:221-5.
10. Chase LR, Aurbach GD. The effect of parathyroid hormone on the concentration of adenosine 3',5'-monophosphate in skeletal tissue in vitro. *J Biol Chem* 1970; 245:1520-6.
11. Hruska KA, Moskowitz D, Esbrit P, Civitelli R, Westbrook S, Huskey M. Stimulation of inositol trisphosphate and diacylglycerol production in renal tubular cells by parathyroid hormone. *J Clin Invest* 1987; 79:230-9.

12. Partridge NC, Kemp BE, Veroni MC, Martin TJ. Activation of adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase in normal and malignant bone cells by parathyroid hormone, prostaglandin E<sub>2</sub>, and prostacyclin. *Endocrinology* 1981; 108:220-5.
13. Reid IR, Civitelli R, Halstead LR, Avioli LV, Hruska KA. Parathyroid hormone acutely elevates intracellular calcium in osteoblast-like cells. *Am. J. Physiol.* 253:E45-51.
14. Civitelli R, Reid IR, Westbrook S, Avioli LV, Hruska KA. PTH elevates inositol polyphosphates and diacylglycerol in a rat osteoblast-like cell line. *Am J Physiol* 1988; 255:E660-7.
15. Abou-Samra AB, Jueppner H, Westerberg D, Potts JT Jr, Segre GV. Parathyroid hormone causes translocation of protein kinase-C from cytosol to membranes in rat osteosarcoma cells. *Endocrinology* 1989; 124:1107-13.
16. Yamaguchi DT, Kleeman CR, Muallen S. Protein kinase C-activated calcium channel in the osteoblast-like clonal osteosarcoma cell line UMR-106. *J Biol Chem* 1987; 262:14967-73.
17. Suarez F, Silve C. Effect of parathyroid hormone on arachidonic acid metabolism in mouse osteoblasts: permissive action of dexamethasone. *Endocrinology* 1992; 130:592-8.
18. Singh AT, Kunnel JG, Strielemann PJ, Stern PH. Parathyroid hormone (PTH)-(1-34), [Nle(8,18), Tyr34]PTH-(3-34) amide, PTH-(1-31) amide, and PTH-related peptide-(1-34) stimulate phosphatidylcholine hydrolysis in UMR-106 osteoblastic cells: Comparison with effects of phorbol 12,13-ibutyrate. *Endocrinology* 1999; 140:131-7.
19. Marshall CJ. Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. *Cell* 1995; 80:179-85.
20. Cole JA. Parathyroid hormone activates mitogen-activated protein kinase in opossum kidney cells. *Endocrinology* 1999; 140:5771-9.
21. Swarthout JT, Doggett TA, Lemker JL, Partridge NC. Stimulation of extracellular signal-regulated kinases and proliferation in rat osteoblastic cells by parathyroid hormone is protein kinase C-dependent. *J Biol Chem* 2001; 276:7586-92.
22. Gentili C, Morelli S, Boland R, de Boland AR. Parathyroid hormone activation of MAP kinase in rat duodenal cells in mediated by 3',5'-cyclic AMP and Ca<sup>2+</sup>. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1540:201-12.
23. Buzzi N, Boland R, de Boland AR. PTH regulation of c-JUN terminal kinase and p38 MAPK cascades in intestinal cells from young and aged rats. *Biogerontology* 2007; 8:189-99.
24. Butler LM, Hewett PJ, Fitridge RA, Cowled PA. Deregulation of apoptosis in colorectal carcinoma: theoretical and therapeutic implications. *Aust N Z J Surg* 1999; 69:88-94.
25. Calvert PM, Frucht H. The genetics of colorectal cancer. *Ann Intern Med* 2002; 137:603-12.
26. Liang B, Wang S, Zhu XG, Yu YX, Cui ZR, Yu YZ. Increased expression of mitogen-activated protein kinase and its upstream regulating signal in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11:623-8.
27. Fang JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2005; 6:322-7.
28. Brazil DP, Hemmings BA. Ten years of protein kinase B signaling: A hard Akt to follow. *Trends Biochem Sci* 2001; 26:657-64.
29. Vanhaesebroeck B, Leever SJ, Ahmadi K, et al. Synthesis and function of 3-phosphorylated inositol lipids. *Annu Rev Biochem* 2001; 70:535-602.
30. Samuels Y, Wang Z, Bardelli A, et al.. High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science* 2004; 304: 554
31. Philp AJ, Campbell IG, Leet C, et al. The phosphatidylinositol 3V-kinase p85a gene



- is an oncogene in human ovarian and colon tumors. *Cancer Res* 2001; 61:7426-9.
32. Roy HK, Olusola BF, Clemens DL, Karolski WJ, Ratashak A, Lynch HT, Smyrk TC. AKT proto-oncogene overexpression is an early event during sporadic colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2002; 23:201-5.
  33. Osaki M, Oshimura M, Ito H. PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis* 2004; 9:667-76.
  34. Ye Y, Wang C, Du P, Falzon M, Seitz PK, Cooper CW. Overexpression of Parathyroid Hormone-Related Protein Enhances Apoptosis in the Rat Intestinal Cell Line, IEC-6. *Endocrinology* 2001; 142:1906-14.
  35. Ye Y, Falzon M, Seitz PK, Cooper CW. Overexpression of parathyroid hormone-related protein promotes cell growth in the rat intestinal cell line IEC-6. *Regul Pept* 2001; 99:169-74.
  36. Shen X, Rychahou PG, Evers BM, Falzon M. PTHrP increases xenograft growth and promotes integrin alpha6beta4 expression and Akt activation in colon cancer. *Cancer Lett* 2007; 258:241-52.
  37. Calvo N, German O, Russo de Boland A, Gentili C. Pro-apoptotic effects of PTH in intestinal cells. *Biochem Cell Biol* 2009; 87:389-400.
  38. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell* 1997; 88:355-65.
  39. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000; 69:217-45.
  40. Calvo N, Gentili C, Russo de Boland A. The early phase of programmed cell death in Caco-2 intestinal cells exposed to PTH. *J Cell Biochem* 2008; 105: 989-97.
  41. Calvo N, Russo de Boland A, Gentili C. PTH inactivates the AKT survival pathway in the colonic cell line Caco-2. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 343-51.

## COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Adriana del Valle Pérez \*

### ***Increased circulating heat shock protein 60 induced by menopause, stimulates apoptosis of osteoblast-lineage cells via up-regulation of toll-like receptors*** **(Rol de las proteínas hsp60 y de los receptores TLRs en la menopausia)**

Kim YS, Koh JM, Lee YS, Kim BJ, Lee SH, Lee KU, Kim GS. *Bone* 2009, 45(1):68-76.

La osteoporosis es un desorden heterogéneo, caracterizado por aceleración de la pérdida ósea y aumento del riesgo de fractura después de la menopausia natural o quirúrgica. Durante la deficiencia estrogénica se produce una alteración del remodelado óseo con aumento de la resorción y disminución de la formación ósea. Los receptores de estrógenos regulan la función de los osteoblastos a través de mecanismos que promueven la proliferación y desarrollo celular. También actúan, indirectamente, a través de mediadores locales como citoquinas y factores de crecimiento. Sin embargo, poco se conoce sobre las vías e intermediarios que se ponen en juego en la actividad osteoblástica en condiciones de deficiencia de estrógenos.

Numerosos estudios han demostrado que las proteínas HSPs (proteínas de “choque térmico”), tradicionalmente vinculadas al proceso de síntesis proteica, actúan también en mecanismos de señales intracelulares. Algunos trabajos han señalado que el subtipo HSP60 es abundante en la circulación y estimula la resorción ósea y la formación de los osteo-

clastos.<sup>1</sup> Además, estudios llevados a cabo en otros tipos celulares, demostraron que el tratamiento con estrógenos modula la expresión de las HSPs.<sup>2</sup> En este trabajo, los autores encontraron que los niveles plasmáticos de HSP60 fueron significativamente más altos en las mujeres coreanas posmenopáusicas (mediana: 1152,4 ng/mL) que en la premenopáusicas (316,3 ng/mL), sugiriendo una posible vinculación entre HSP60 y el desarrollo de osteoporosis posmenopáusica.

En experimentos realizados en cultivos primarios de células de estroma de médula ósea humana (hBMSC) y en la línea celular HS-5 HBMSC, HSP60 redujo significativamente la viabilidad celular e incrementó la apoptosis dependiente de caspasas. Consistente con esas observaciones, HSP60 activó las caspasa 3 y caspasa 9, pero no la caspasa 8, en las células HS-5 e incrementó la liberación de citocromo C al citosol. También activó p38 MAPK y NFκB pero no ERK o JNK. Como dato importante, los inhibidores de p38 (SB203580) y NFκB (PDTC) abolieron la apoptosis inducida por HSP60.

---

\* Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D “Dr. Cañas”. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.



Por otro lado, estudios previos demostraron *in vitro*, que HSP60 exógeno se une a receptores de membrana, entre ellos los TLRs (receptores tipo “toll” vinculados con la inmunidad innata), causando cambios en diversos procesos celulares.<sup>3,4</sup> La expresión proteica de TLR-2 y TLR-4 fue incrementada por HSP60. El tratamiento previo con anticuerpos bloqueantes para TLR-2 y 4 eliminó completamente los efectos apoptóticos provocados por HSP60 tales como activación de caspasa 3, caspasa 9 y activación de NF $\kappa$ B y p38 MAPK. Otra observación importante fue que ratones *KO* para TLR-2 ovariectomizados, tenían una DMO más alta que los ratones ovariectomizados controles, sugiriendo que TLR-2 *KO* atenúa, al menos en parte, la pérdida ósea como consecuencia de la ausencia de estrógenos.

En conclusión, los resultados de este trabajo sugieren que la estimulación de los TLRs por HSP60 juega un rol central en el metabolismo óseo, pudiendo tener un papel importante en la pérdida ósea durante el estado de deficiencia estrogénica.

## Referencias

1. Meghji S, Lillicrap M, Maguire M, Tabona P, Gaston JS, Poole S, et al. Human chaperonin 60 (Hsp60) stimulates bone resorption: structure/function relationships. *Bone* 2003; 33:419-25.
2. Voss MR, Stallone JN, Li M, Cornelussen RN, Knuefermann P, Knowlton AA. Gender differences in the expression of heat shock proteins: the effect of estrogen. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol* 2003; 285:H687-92.
3. Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, da Costa C, Miethke T, Kirschning CJ, Hacker H, et al. Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. *J Biol Chem* 2001; 276:31332-9.
4. Chen W, Wang J, An H, Zhou J, Zhang L, Cao X. Heat shock up-regulates TLR9 expression in human B cells through activation of ERK and NF-kappaB signal pathways. *Immunol Lett* 2005; 98:153-9.

## COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Susana Morelli \*

### ***Prostaglandin D<sub>2</sub> Receptors control Osteoclastogenesis and the activity of Human Osteoclast***

### **(Receptores de Prostaglandinas D<sub>2</sub> controlan la osteoclastogénesis y la actividad de osteoclastos humanos)**

*Durand M, Gallant MA, de Brum-Fernandes AJ. J Bone Miner Res 2008; 23(7):1097-105.*

Las prostaglandinas D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) cumplen un rol importante en funciones fisiológicas como broncoconstricción, sueño y agregación plaquetaria y pueden influenciar el metabolismo óseo regulando las funciones del osteoblasto, colágeno, interleukina-6 y síntesis de la proteína de "choque térmico" 27. Se ha reportado que PGD<sub>2</sub> incrementa la BMD femoral en ratas ovariectomizadas.<sup>1</sup>

PGD<sub>2</sub> actúa a través de dos tipos de receptores conocidos, DP y CRTH2 los cuales se acoplan a las proteínas G<sub>s</sub> y G<sub>i/o</sub> respectivamente.

Se ha demostrado que los osteoblastos humanos sintetizan PGD<sub>2</sub> y expresan los receptores DP y CRTH2. La activación del receptor DP disminuye la producción de osteoprotegerina (OPG), mientras que la activación del receptor CRTH2 induce quimiotaxis de osteoblastos y disminución de la expresión de RANKL.<sup>2</sup>

Los objetivos del trabajo fueron determinar la expresión, distribución y acción de los receptores DP y CRTH2 en osteoclastos humano y en la osteoclastogénesis.

Se utilizaron cultivos de osteoclastos humano diferenciados *in vitro* y osteoclastos *in situ*. Por técnicas de inmunocitoquímica se demostró la presencia de los dos receptores. Similares resultados se obtuvieron con osteoclastos de tejido óseo humano adulto normal y de aquellos que padecían osteoporosis, enfermedad de Paget y osteoartritis. El tratamiento de los osteoclastos con PGD<sub>2</sub> indujo una fuerte reorganización del citoesqueleto con disminución del número de células con anillos de actina y un aumento de lamelipodia, estos efectos están mediados por los receptores DP y CRTH2, respectivamente. PGD<sub>2</sub> mostró un efecto inhibitorio sobre la actividad de resorción ósea actuando a través del receptor DP. La activación de los receptores DP o CRTH2 disminuyen la osteoclastogénesis *in vitro* de células mononucleares de sangre periférica estimuladas con RANKL y factor estimulante de macrófagos

En conclusión los resultados de este trabajo sugieren que los receptores de PGD<sub>2</sub> podrían ser objetivos útiles en el tratamiento de algunas enfermedades óseas debido a que su activación / inhibición específica conduce a

\* Laboratorio Química Biológica. Depto Biología, Bioquímica y Farmacia. UNS. Bahía Blanca.



una disminución en la osteoclastogénesis y a una inhibición de la resorción ósea por los osteoclastos.

#### Referencia

1. Takagi T, Yamamoto T, Asano S, Tamaki H. Effect of prostaglandin D<sub>2</sub> on the femoral bone mineral density in ovariectomized rats. *Calcif. Tissue Int* 1993; 52:442-446.
2. Gallant MA, Samadfam R, Hackett JA, Antoniou J, Parent JL, de Brum-Fernandes AJ. Production of prostaglandin D<sub>2</sub> by human osteoblast and modulation of osteoprotegerin, RANKL, and cellular migration by DP and CRTH2 receptors. *J Bone Miner* 2005; 20:672-681.



## INSTRUCCIONES PARA AUTORES ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

### **Presentación de manuscritos**

Los manuscritos serán enviados por correo electrónico a [editor@aaomm.org.ar](mailto:editor@aaomm.org.ar) y/o [actualizaciones@aaomm.org.ar](mailto:actualizaciones@aaomm.org.ar). En la primera página debe figurar: (a) el título, informativo aunque conciso; (b) los nombres completos de los autores (primero el nombre y luego el apellido) y de las instituciones en que se desempeñan; (c) un título abreviado para cabeza de página; (d) el nombre y dirección completa, con fax y dirección electrónica, del autor con quien se deba mantener correspondencia.

Para las **Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves Casuísticas, Imágenes en Osteología, Editoriales, Cartas al editor, Comentarios Bibliográficos** deberá usarse el castellano o el inglés.

Los trabajos se prepararán en un procesador de textos (preferiblemente en una versión reciente de Microsoft Word), en hoja medidas 212 x 297 mm (A4), con márgenes de al menos 25 mm, a doble espacio, en letra de tipo *Times New Roman* 12 o *Arial* 10. Las páginas deben numerarse en forma consecutiva comenzando con la del título.

**Abreviaturas, siglas y símbolos** Sólo se emplearán abreviaturas estandarizadas. Se evitará su uso en el título y en el resumen. La primera vez que se use una abreviatura o sigla irá precedida del término completo, salvo que se trate de una unidad de medida estándar.

**Unidades de medida.** Se emplea el sistema métrico decimal. Las medidas hematológicas y de química clínica se harán en los términos del Sistema Internacional de Unidades (SI), empleando puntos para los decimales.

Los **Trabajos Originales** estarán divididos en **Introducción, Materiales y métodos, Resultados y Discusión**, además de un **Resumen** en castellano y otro en inglés (**Abstract**), precedido por el correspondiente título.

Ambos **Resúmenes** se ubicarán a continuación de la primera página, y cada uno de ellos no deberá exceder las 250 palabras, evitando la mención de tablas y figuras. El Resumen es independiente del texto del artículo. Al final del mismo se precisarán 3 a 6 **palabras clave** en inglés y en castellano, recurriendo para su elección a los términos incluidos en la lista del Index Medicus (**Medical Subject Headings, MeSH**). Para cada sección o componente del trabajo se iniciará una nueva página.

Las **Comunicaciones Breves**, los **Artículos Especiales** y las **Casuísticas** incluirán resúmenes en castellano y en inglés (no más de 150 palabras) y lista de palabras clave.



La **Bibliografía** debe limitarse a aquellos artículos directamente relacionados con el trabajo mismo, evitándose las revisiones bibliográficas extensas, sólo aceptables en la sección **Actualizaciones**. Se numerarán las referencias consecutivamente, en el orden en que se las menciona en el trabajo. Se incluirán todos los autores cuando sean seis o menos; si fueran más, el tercero será seguido de la expresión *et al.* (et alia: y otros) Los títulos de las revistas serán abreviados según el estilo empleado en el *Index Medicus* (la lista puede obtenerse en <http://www.nlm.nih.gov>). Los nombres de las revistas deben ir en bastardilla.

En el texto las citas serán mencionadas por sus números en superíndices. En la lista de referencias, las revistas, los libros y los capítulos de libros, actas de reuniones científicas e información disponible en *World Wide Web* deben presentarse de acuerdo a los siguientes ejemplos:

1. Schroeder JS, Hunt SA. Chest pain in heart transplanted recipients. *N Engl J Med* 1991; 324: 1805-7.
2. Capowski JJ. Computer techniques in neuroanatomy. New York: Plenum Press, 1989.
3. Philips DJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM (eds). Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press, 1995, p 465-78.
4. DuPont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R. eds. *Proceedings of the third annual meeting of the International Society for Experimental Hematology*. Houston: International Society for Experimental Hematology; 1974: 44-6.
5. World Health Organization (WHO). The Stop TB Web Alert. (2000 December 6- 12, week 48) <http://www.stoptb.org/updates/index.html>

Las **Tablas**, presentadas en hojas individuales, y numeradas con números arábigos, deben ser indispensables y comprensibles por sí mismas, y poseer un título claramente explicativo de su contenido. Las notas aclaratorias deben ir al pie, y no en el título. No deben emplearse líneas verticales de separación entre columnas ni líneas horizontales, salvo, en general, tres: las que separan el título de la Tabla, los encabezamientos del resto, y la que indica la terminación de la Tabla.

Todas las **Figuras** (dibujos o fotografías en blanco y negro) han de permitir una reproducción adecuada y serán numeradas correlativamente con una inscripción al dorso que permita identificarlas, y una leyenda explicativa en hoja aparte. En las **microfotografías** se debe indicar la escala (marcador). Además, las flechas, símbolos o letras incluidas deben presentar buen contraste con el fondo. Emplee tamaños de letra y grosor de líneas que se reproduzcan con claridad en la publicación. Deben presentarse en formato de imágenes (.jpg o .tif) con una resolución no menor a 300 dpi.

Las **Comunicaciones Breves** corresponden a resultados que, si bien preliminares, por su interés justifiquen una temprana difusión. Como el manuscrito no podrá exceder las ocho páginas, se prescindirá de la división en secciones, aunque manteniendo la secuencia habitual, con hasta 15 referencias y no más de dos Tablas o Figuras. La publicación de Comunicaciones Breves se concretará en un lapso menor a los tres meses de su aceptación.

Las **Cartas al Comité de Redacción** estarán referidas a comentarios de naturaleza editorial, preferentemente con relación a artículos publicados en la revista. No deben exceder las tres páginas, pudiendo incluir hasta seis referencias y una Tabla o Figura.

Todos los artículos que publica "Actualizaciones en Osteología" son enviados a **revisión por pares (peer-review)**. La revisión está a cargo del Editor y por lo menos dos revisores con amplia experiencia y prestigio en el tema. La identidad de los autores y de los revisores se mantiene en forma confidencial. El Editor devolverá a los autores, sin pasar por el proceso de arbitraje, aquellos manuscritos que no se ajusten a las normas de preparación o que no coincidan con los propósitos y orientación de "Actualizaciones en Osteología". El tiempo de evaluación durará entre 30 y 90 días. Luego de que el Comité de Redacción haya completado el proceso de evaluación se notificará por correo electrónico al autor responsable sobre la aceptación (con o sin correcciones) o el rechazo del manuscrito. La decisión de éste será inapelable. El Comité de Redacción se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, todos los cambios editoriales exigidos por las normas gramaticales y las necesidades de compaginación. Los trabajos aceptados con modificaciones serán devueltos a sus autores para eventuales correcciones y se les otorgará para la devolución un plazo no mayor a 30 días.

Seguiremos los lineamientos expuestos por el *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE, <http://www.icmje.org>) sobre otros aspectos no mencionados aquí, y también en lo referente a **Conflicto de intereses** de revisores, autores y editores, a las relaciones con la industria, al apoyo financiero de ella recibido, a la confidencialidad de los manuscritos y a las relaciones entre revistas médicas y los medios populares de difusión.

La **versión final** de un trabajo, ya aceptado para publicación, con las modificaciones que hubiera sufrido en su proceso editorial, deberá ser enviada en un CD o DVD. La versión impresa debe ir adjunta a la versión electrónica. La versión electrónica no será devuelta a los autores.

Siga exactamente las instrucciones para autores al escribir cada sección del artículo. Tome como guía un número de la revista disponible en [www.aaomm.org.ar/Actualizaciones.htm](http://www.aaomm.org.ar/Actualizaciones.htm).

La revista **Actualizaciones en Osteología** apoya las políticas para registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE), reconociendo la importancia de esas iniciativas para el registro y divulgación internacional de información sobre estudios clínicos, en acceso abierto. En consecuencia, solamente se aceptarán para publicación, a partir de 2007, los artículos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los Registros de Ensayos Clínicos validados por los criterios establecidos por la OMS y el ICMJE, cuyas direcciones están disponibles en el sitio del ICMJE ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)). El número de identificación se deberá registrar al final del resumen.



### ***Transferencia de Derechos de Autor***

Una vez aceptado el manuscrito y previo a la publicación del mismo, se debe enviar al editor una carta de concesión de los derechos de autor y consentimiento de publicación, firmada por todos los autores.

Título del artículo:

Autor (es):

En el caso de que los autores certifiquen que el artículo arriba mencionado es trabajo original y no ha sido previamente publicado excepto en forma de resumen, y sea aceptado para publicación en Actualizaciones en Osteología, los derechos de autor serán transferidos a la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

Firma de todos los autores

Lugar y fecha:

### ***Para mayor información***

Consultar a [actualizaciones@aaomm.org.ar](mailto:actualizaciones@aaomm.org.ar)

# STEROXYL

Monodosis 100.000 UI



# STEROXYL 400

Una gota 400 UI

# STEROXYL BC

Una gota 67 UI

# VITAMINA

# D<sub>3</sub>

# Colecalciferol

*La ventaja de disponer de la vitamina D<sub>3</sub>  
para el tratamiento de sus pacientes*



Laboratorios SPEDROG CAILLON S.A.I.C.  
Alte. F.J. Seguí 2106 (C1416BXV) Ciudad de Buenos Aires Tel: 4644-5949/44/62 Fax: 4585-2929  
labspredrog@datamarkets.com.ar // www.spedrogcaillon.com

Costo de tratamiento  
más accesible



*Libertad de movimiento...*

# ADROMUX®

ACIDO IBANDRONICO 150 mg

- *Una toma mensual*
- *Beneficio a largo plazo*
- *Reduce el riesgo de fracturas osteoporóticas*



*La nueva marca de la Compañía Argentina con mayor experiencia en la Investigación y Desarrollo de bisfosfonatos.*

PRESENTACION:  
Envases conteniendo  
1 comprimido recubierto.



Gador   
Al Cuidado de la Vida

<http://www.gador.com.ar>