

Nueva presentación del LÍDER en calcio

Calcio Base Dupomar®

Efervescente Granulado en sobres
Carbonato de calcio

NUEVO

Indicaciones ⁽¹⁾

- 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

Calcio Base Dupomar®
Efervescente
Carbonato de calcio

Granulado Efervescente

30 Sobres

Venta solo en el
interior de Argentina

Calcio Base Dupomar®
Efervescente
Carbonato de Calcio

Granulado efervescente

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.

XXVII REUNIÓN ANUAL

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 2
mayo / agosto 2010
ISSN 1669-8975 (*Print*); ISSN 1669-8983 (*Online*)
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 2

mayo / agosto 2010

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

www.osteologia.org.ar

Rosario (Santa Fe), Argentina

Aparición: cuatrimestral

Director: Julio Ariel Sánchez

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).

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

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

www.aaomm.org.ar / 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 trasplante.

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 Musculoesqueléticas, 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.

**XXVII Reunión Anual
Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral**

**9-11 de Septiembre de 2010
Hotel "Dr. Cesar C. Carman". Automóvil Club Argentino.
Ciudad de Córdoba. Argentina**



COMISIÓN DIRECTIVA

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

Presidente

Dra. Nori Tolosa de Talamoni

Vicepresidente

Dra. Ana María Galich

Secretaria

Dra. Gabriela Picotto

Tesorera

Dra. Ana María Marchionatti

Vocales

Dr. Lucas Brun
Dra. Agata Carpentieri
Dra. Viviana Centeno
Dra. Gabriela Díaz de Barboza
Dra. Susana Morelli
Dra. Adriana Pérez
Dra. Josefina Pozzo
Dra. María Rosa Ulla

Comisiones Especiales

Revista AAOMM

Dr. Ariel Sánchez

Densitometría

Dra. Ana María Galich

Maestría en Osteología y homologación

Dra. Luisa Plantalech

Página web

Dr. Lucas Brun

Subsidios y Premios

Dr. Alfredo Rigalli



AAOMM es miembro de



*International
Osteoporosis
Foundation*



**Sociedad Iberoamericana
de Osteología y
Metabolismo Mineral**



*International
Bone and
Mineral Society*



*European
Calcified Tissue
Society*

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

XXVII REUNIÓN ANUAL

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	47
COMITÉ EVALUADOR	48
INVITADOS EXTRANJEROS	49
INVITADOS NACIONALES	49
SUBSIDIOS	50
AUSPICIOS	50
EDITORIAL / Editorial	
Palabras de bienvenida <i>Welcome message</i> Nori Tolosa de Talamoni	51
PROGRAMA CIENTÍFICO	53

**ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals**

Papel protector del 17 β -estradiol y de la testosterona en la apoptosis del músculo esquelético.*Protective paper of 17 β -estradiol and testosterone in apoptosis of skeletal muscle.***Lucía Pronsato, Ana Carolina Ronda, Lorena Milanese, Andrea Vasconsuelo, Ricardo Boland.**

65

ACTUALIZACIONES / Reviews

El caballero y la dama con osteoporosis.*The gentleman and the lady with osteoporosis.***Ariel Sánchez**

81

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments

*Krishnan AV, Swami S, Peng L, Wang J, Moreno J, Feldman D. Tissue-Selective Regulation of Aromatase Expression by Calcitriol: Implications for Breast Cancer Therapy. Endocrinology, 2010; 151(1):32-42.***Luciana Bohl**

91

*Francioni Lopes R, Medina Coeli C, Abisman M, Fleiuss L. Additional beneficial effects of recombinant growth hormone in alendronate-treated patients with idiopathic osteoporosis. Endocrine Journal, 2009; 56:851-8.***Ana María Marchionatti**

93

RESÚMENES DE CONFERENCIAS Y SIMPOSIOS

95

COMUNICACIONES LIBRES

118

ÍNDICE DE AUTORES

160

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a las empresas que colaboraron
con la realización de la XXVII Reunión Anual de AAOMM

BALIARDA S.A.

BETA S.A.

***CENTRO DE ENDOCRINOLOGÍA,
OSTEOLOGÍA Y METABOLISMO
DE CÓRDOBA (CEOM)***

DANONE S.A.

ELEA S.A.

FERRING S.A.

GADOR S.A.

SANDOZ

SERVIER

TRB-PHARMA



COMITÉ EVALUADOR

Marina Arriagada (Chile)
Alicia Bagur (Argentina)
Teresita Bellido (USA)
Ricardo Boland (Argentina)
Agata Carpentieri (Argentina)
Luis del Rio (España)
Gabriela Díaz de Barboza (Argentina)
Adriana Dusso (USA)
José Luis Ferretti (Argentina)
Nuria Guañabens (España)
Carlos Mautalen (Argentina)
Mirta Beatriz Miras (Argentina)
Beatriz Oliveri (Argentina)
Gabriela Picotto (Argentina)
Luisa Plantalech (Argentina)
Rodolfo Puche (Argentina)
Sergio Raggi Eis (Brasil)
Emilio Roldán (Argentina)
Ana Russo de Boland (Argentina)
Ariel Sánchez (Argentina)
Eduardo Slatopolsky (USA)
Nori Tolosa de Talamoni (Argentina)
José Weisinger (Venezuela)

COMITÉ EVALUADOR AD-HOC TRABAJOS SELECCIONADOS PARA PREMIO

Ricardo A. Battaglino (USA)
Darío Bruera (Argentina)
Beatriz Oliveri (Argentina)

INVITADOS EXTRANJEROS

Dr. Ricardo A. Battaglino (USA)

Dra. JoEllen Welsh (USA)

INVITADOS NACIONALES

Dr. Darío Bruera	Dra. Silvina Mastaglia
Dr. Lucas R. M. Brun	Dr. Carlos Mautalen
Dra. Claudia Buitrago	Dra. Susana Morelli
Dra. Mirena Buttazoni	Dr. Armando Negri
Dr. Marcelo Cachizumba	Dra. Beatriz Oliveri
Dra. Agata Carpentieri	Dra. Adriana Pérez
Dra. Viviana Centeno	Dra. Gabriela Picotto
Dra. Gabriela Díaz de Barboza	Dra. Luisa Plantalech
Dr. María Diehl	Dra. Josefina Pozzo
Dra. Virginia Fano	Dra. Magdalena Rey
Dr. Jose Luis Ferretti	Dr. Alfredo Rigalli
Dra. Ana María Galich	Dr. Emilio Roldán
Dra. Diana González	Dr. Daniel Salica
Dr. Rodolfo Guelman	Dra. Claudia Sedlinsky
Dra. Andrea Kozak	Dr. Luis Fernando Somma
Dra. Patricia Mandalunis	Dra. Nori Tolosa de Talamoni
Dra. Ana María Marchionatti	Dra. María Rosa Ulla
Srta. Marcela A. Martinez	Dra. María Belén Zanchetta



SUBSIDIOS

CONICET



Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

AGENCIA



Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica

AUSPICIAN

Asociación Argentina de Biología y Medicina Nuclear.

Asociación Argentina de Oncología Clínica (AAOC).

Asociación Argentina de Ortopedia y Traumatología.

Asociación Argentina para el Estudio del Climaterio (AAPEC).

Asociación Bioquímica Argentina (ABA).

Asociación Médica Argentina.

Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Católica de Córdoba.

Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología (FASEN).

Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE).

Sociedad Argentina de Gerontología y Geriatria (SAGG).

Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC).

Sociedad Argentina de Pediatría (SAP).

Sociedad de Endocrinología y Diabetes de San Juan (SEDIS).

Sociedad Uruguaya de Endocrinología y Metabolismo (SUEM).

Sociedad de Endocrinología y Metabolismo de Córdoba (SEMCO).

ADHIEREN

Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba.

Secretaria de Salud de la Municipalidad de Córdoba.

Sociedad Argentina de Investigaciones Odontológicas (SAIO).

EDITORIAL / Editorial

PALABRAS DE BIENVENIDA

Este año realizamos la XXVII Reunión Anual de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM). Como hacemos año tras año nuestro objetivo es profundizar, discutir y difundir los nuevos conocimientos que han surgido en el área del metabolismo mineral y óseo y en el campo del diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades asociadas. En esta ocasión la reunión se hace en la región central del país no sólo porque es el lugar de residencia de la mayoría de los miembros de la actual Comisión Directiva (CD), sino también para brindar oportunidad de asistencia y participación a los profesionales, investigadores y estudiantes del interior del país interesados en estas disciplinas.

Como es costumbre, la combinación de los conocimientos básicos y clínicos obtenidos por nuestros asociados se dan cita en las comunicaciones orales, encuentros enriquecedores de intercambios e intensas discusiones. En esta reunión tendremos 4 sesiones de comunicaciones orales, siendo una de ellas destinada exclusivamente para la exposición y discusión de los 4 mejores trabajos básicos y los 4 mejores trabajos clínicos seleccionados por un Comité de Expertos Nacionales e Internacionales; al final de esa sesión un Comité Ad-Hoc determinará cuáles serán los trabajos distinguidos con premios.

Se llevarán a cabo 4 Simposios, uno de los cuales tiene el objetivo de estimular y promover la difusión del trabajo de los investigadores jóvenes de la sociedad, quienes serán los futuros líderes del desarrollo del conocimiento del metabolismo fosfocálcico en nuestro país y futuros dirigentes de nuestra asociación. En otro Simposio, patrocinado por la industria farmacéutica, se expondrán los avances terapéuticos para el tratamiento de la osteoporosis en pacientes de nuestro medio. Los nuevos enfoques, contradicciones y enigmas acerca de la hormona paratiroidea, hormona calcitropa de relevancia primordial en la regulación de la homeostasis del calcio y del fósforo y con presente y futura aplicación terapéutica para el tratamiento de diferentes patologías óseas, serán objeto de un Simposio Clínico con abordaje desde el laboratorio y la clínica. Además, un Simposio sobre Enfermedades Raras cubrirá aspectos poco conocidos de patologías óseas de baja prevalencia.

El intercambio de ideas y tendencias generadas en otros confines se hará realidad a través de las conferencias que brindarán brillantes investigadores extranjeros. Tendremos con nosotros a la Dra. JoEllen Welsh (*State University of New York at Albany, Rensselaer, USA*) y al Dr. Roberto Battaglini (*The Forsyth Institute, Boston, USA*). La Dra. Welsh se referirá a sus investigaciones relacionadas con la vitamina D y la diferenciación celular, el metabolismo energético y el hueso y el Dr. Battaglini expondrá acerca de los nuevos métodos para el estudio de la función del osteoclasto. Otros profesionales e investigadores nacionales diser-



tarán sobre aspectos nuevos de la histología y remodelación del hueso maxilar, los efectos del déficit y los excesos de la hormona del crecimiento y las dificultades del monitoreo de la vitamina D.

El curso de densitometría ósea, que se ha transformado en una tradición en nuestras reuniones anuales, estará destinado a médicos y técnicos a quienes se les impartirán los nuevos conceptos y experiencias logradas por los distinguidos expositores.

Y, finalmente, como broche de nuestra reunión tendremos conferencistas de sociedades afines nacionales e internacionales (SAO, SIBOMM, IOF), que con esfuerzo y entusiasmo, envíen a sus representantes para que compartamos sus experiencias y conocimientos y con quienes estrecharemos lazos de cooperación y amistad presente y futura.

Todo esto es posible gracias al apoyo económico de entidades gubernamentales y de la industria, al trabajo desinteresado y tenaz de miembros de la CD y de Comisiones Especiales y a la participación de disertantes y asistentes. A todos, muchas gracias y comencemos nuestro encuentro!

DRA. NORI TOLOSA DE TALAMONI
Presidenta de AAOMM
Córdoba, septiembre de 2010

**XXVII Reunión Anual
Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral**

9-11 de Septiembre de 2010
Hotel "Dr. Cesar C. Carman". Automóvil Club Argentino.
Ciudad de Córdoba. Argentina



JUEVES 9 DE SEPTIEMBRE

08.00-08.45 hs	Acreditación
08.45-09.00 hs	Palabras de bienvenida. Dra. Nori Tolosa de Talamoni.
09.00-09.30 hs	Conferencia: Origen, histología y remodelación del hueso maxilar.
09.30-11.00 hs	Comunicaciones Libres
11.00-11.30 hs	Intervalo
11.30-12.00 hs	Conferencia: Hormona de crecimiento y hueso. Efecto de la deficiencia y los excesos.
12.00-13.00 hs	Conferencia: <i>Genomic effects of vitamin D in cell differentiation.</i>
13.00-14.30 hs	Almuerzo
14.30-16.30 hs	Simposio de Jóvenes Investigadores AAOMM
16.30-17.30 hs	Simposio de enfermedades raras
17.30-18.00 hs	Intervalo
18.00-19.30 hs	Comunicaciones Libres: Sesión especial de trabajos nominados a Premio.
19.30-21:00 hs	ASAMBLEA AAOMM
21:00 hs	Cocktail de apertura

VIERNES 10 DE SEPTIEMBRE

08.00-09.30 hs	Comunicaciones Libres.
09.30-11.00 hs	Simposio: Diferentes problemas y un denominador común: PTH.
11.00-11:30 hs	Intervalo.
11:30-13.00 hs	Simposio Servier: Nuevas tendencias en el tratamiento de la osteoporosis.
13.00-14:30 hs	Almuerzo.
14:30-16.30 hs	Comunicaciones Libres.
16.30-17.00 hs	Conferencia: Monitoreo de los niveles de vitamina D.
17.00-17.30 hs	Intervalo
17.30-18.30 hs	Conferencia: Nuevas herramientas para el estudio de la función osteoclástica.
18.30-19.30 hs	Conferencia: <i>Vitamin D signaling links bone and energy metabolism.</i>
19:30 hs	Entrega de Premios.



SÁBADO 11 DE SEPTIEMBRE Conferencias Satélites de Sociedades Científicas Afines	
09.00-09.45 hs	SIBOMM: Diabetes y hueso.
09.45-10.30 hs	SAO: Fracturas por osteoporosis en America Latina.
10.30-11.00 hs	Intervalo
11.00-11.45 hs	IOF: Evaluación de la micro-arquitectura ósea mediante tomografía computada periférica de alta resolución (HRpQCT).

SÁBADO 11 DE SEPTIEMBRE V Curso de Densitometría 2010	
08.00-08.45 hs	Acreditación
08.45-09.00 hs	Palabras de Apertura.
09.00-09.20 hs	Exploración densitométrica del raquis.
09.20-09.40 hs	Fémur proximal. Posibilidad de cálculo de FRAX.
09.40-10.10 hs	Control de calidad de los equipos.
10.10-10.30 hs	Presentación de casos clínicos de raquis y cadera.
10.30-11.00 hs	Intervalo
11.00-11.30 hs	Cuerpo entero y composición corporal. Su importancia.
11.30-11.50 hs	Radio proximal. Información clínica que aporta.
11.50-12.10 hs	Evaluación de las fracturas vertebrales (VFA).
12.10-12.30 hs	Cuerpo entero. Análisis sectorizado. Presentación de casos clínicos relacionados.
12.30-13.00 hs	Presentación de casos clínicos relacionados con los temas abordados y con participación de la audiencia.
13.00 hs	Cierre de la jornada. Conclusiones.

**XXVII Reunión Anual
Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral**

**9-11 de Septiembre de 2010
Hotel "Dr. Cesar C. Carman". Automóvil Club Argentino.
Ciudad de Córdoba. Argentina**



JUEVES 9 DE SEPTIEMBRE



08:00 a 08:45 hs

ACREDITACIÓN

08:45 a 09:00 hs

Palabras de bienvenida.

*Dra. Nori Tolosa de Talamoni
Presidenta de AAOMM*

09:00 a 09.30 hs

CONFERENCIA

Origen, histología y remodelación del hueso maxilar.

Dra. Patricia Mandalunis

Coordinador: Dra. Luisa Plantalech

09:30 a 11:00 hs

Comunicaciones Libres

*Coordinadores: Dr. Lucas Brun
Dra. Gabriela Díaz de Barboza*

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

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

CL2. Fracturas femorales por insuficiencia: Uso de teriparatida.

Plantalech L, Comba F, Morandi A.

CL3. Efecto del ejercicio moderado sobre el metabolismo óseo en ratas Wistar adultas.

Pietrelli A, Bryk G, Paglia N, Orzuza R, Zeni S, Basso N.

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

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

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

Fina BL, Rigalli A.



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

Pellegrini GG, Gonzales-Chaves MMS, Marotte C, Bryk G, Orzuza R, Somoza J, Friedman SM, Zeni SN.

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

Martín S, Muñoz L, Pérez A, Sobrero G, Picotto G, Ochetti M, Carpentieri A, Silvano L, Díaz de Barboza G, Signorino M, Rupérez C, Bertolotto P, Ulla MR, Tolosa de Talamoni N, Miras M.

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

Gonzales Chaves MMS, Marotte C, Pellegrini GG, Friedman SM, Zeni SN.

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

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

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

Pujadas Bigi MM, Kokubu S, Lewicki M, Nenda MM, Ubios AM, Mandalunis PM.

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

Fontana S, Carpentieri AR, Plavnik LM.

11:00 a 11:30 hs

INTERVALO

11:30 a 12:00 hs

CONFERENCIA

Hormona de crecimiento y hueso: efecto de la deficiencia y los excesos.

Dr. Darío Bruera

Coordinador: Dra. María Rosa Ulla

12:00 a 13:00 hs

CONFERENCIA

Genomic effects of vitamin D in cell differentiation.

Dra. JoEllen Welsh

Coordinador: Dra. Nori Tolosa de Talamoni

13:00 a 14:30 hs

ALMUERZO

14:30 a 16:30 hs

SIMPOSIO de Jóvenes Investigadores AAOMM.

Coordinadores: Dra. Gabriela Picotto

Dr. Alfredo Rigalli

Rol de la fosfatasa alcalina en la absorción intestinal de calcio.

Dr. Lucas R. M. Brun

Mecanismos de salida de calcio desde el enterocito hacia el intersticio.

Dra. Viviana Centeno

Fracturas atípicas en pacientes tratados con bifosfonatos.

Dra. María Diehl

Eventos tempranos en la señalización intracelular del calcitriol en el músculo esquelético: rol de Src.

Dra. Claudia Buitrago

Estudio metabólico de la litiasis renal en adultos: estado actual y experiencia en un hospital general.

Dra. Magdalena Rey

Efecto de altas dosis o monodosis de vitamina D en adultos mayores.

Dra. Silvina Mastaglia

16:30 a 17:30 hs

SIMPOSIO: Enfermedades raras.

*Coordinadores: Dra. Beatriz Oliveri
Dr. Emilio Roldán*

Manejo clínico de las Fibrodisplasias Óseas.

Dra. Virginia Fano

Procesos para la investigación y manejo clínico de las enfermedades óseas de baja prevalencia.

Dr. Emilio Roldán

Manejo clínico de las calcificaciones ectópicas.

Dra. María Rosa Ulla

17:30 a 18:00 hs

INTERVALO

18:00 a 19:30 hs

Comunicaciones Libres: Sesión Especial de trabajos nominados a Premio.

*Coordinadores: Dra. Ana María Marchionatti
Dra. Susana Morelli*

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

Alonso G, Plantalech L, Guelman R, Gonzalez S, Redal MA, Cassinelli H, Pasqualini T.



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

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

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

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

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

Castagneto J, Tau C, Scaiola E, Rodríguez M, De Roccis C, Pellisa Z.

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

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

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

Pronsato L, Boland R, Milanesi L.

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

Lezcano V, Boland R, Morelli S.

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

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

19:30 a 21:00 hs

ASAMBLEA AAOMM

21:00 hs

COCKTAIL DE APERTURA

VIERNES 10 DE SEPTIEMBRE



08:00 a 09:30 hs

Comunicaciones Libres

*Coordinadores: Dra. Adriana Pérez
Dra. Silvina Mastaglia*

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

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

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

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

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

Cointry GR, Feldman S, Reina P, Ferretti JL, Capozza R.

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

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

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

Guglielmi C, Brun LR, Rigalli A.

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

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

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

Jammal MV, Missana LM.

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

Jammal MV, Missana LM.

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

Marotte C, Weisstaub A, Gonzales Chaves MMS, Pellegrini GG, Olguin M, Lucero DM, Schreier L, Portela ML, Zeni SN.

CL29. Efecto modulador del monofluorofosfato sobre la acción del zoledronato en ratas ovariectomizadas.

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

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

Carpentieri AR, Marchionatti AM, Pérez A del V, Centeno VA, Areco VA, Tolosa de Talamoni NG.



09:30 a 11:00 hs

SIMPOSIO

Diferentes problemas y un denominador común: PTH.

Coordinadores: Dra. Ana María Galich

Dra. Josefina Pozzo

La PTH en el laboratorio.

Dra. Andrea Kozak

Hiperparatiroidismos secundarios y primarios normocalcémicos: un desafío diagnóstico.

Dr. Rodolfo Guelman

Dificultades en el manejo del hiperparatiroidismo secundario a insuficiencia renal crónica.

Dr. Armando Negri

11:00 a 11:30 hs

INTERVALO

11:30 a 13:00 hs

SIMPOSIO SERVIER

Nuevas tendencias en el tratamiento de la osteoporosis.

Coordinador: Dr. Carlos Mautalen

¿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

13:00 a 14:30 hs

ALMUERZO

14:30 a 16:30 hs

Comunicaciones Libres

Coordinadores: Dra. Agata Carpentieri

Dra. Viviana Centeno

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Claus-Hermberg H, Lozano MP, Pozzo MJ.

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

Lupo M, García B, Rigalli A.

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

Vicente D, Brun LR, Rigalli A.

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

Escudero ND, Mina NF, Mandalunis PM.

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

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

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

Gómez Acotto C, Antonelli C, Roldán EJA.

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

Brito GM, Mastaglia SR, Seijo M, Goedermann C, Somoza J, Oliveri B.



CL44. Estimación de la resorción ósea en ratas por medidas de deoxipiridinolina urinaria. Comparación de equipos comerciales.
Lupo M, Rigalli A.

16:30 a 17:00 hs

CONFERENCIA

Monitoreo de los niveles de vitamina D.

Dra. Claudia Sedlinsky

Coordinador: Dr. Jose Luis Ferretti

17:00 a 17:30 hs

INTERVALO

17:30 a 18:30 hs

CONFERENCIA

Nuevas herramientas para el estudio de la función osteoclástica.

Dr. Ricardo A. Battaglino

Coordinador: Dr. Emilio Roldán

18:30 a 19:30 hs

CONFERENCIA

Vitamin D signaling links bone and energy metabolism.

Dra. JoEllen Welsh

Coordinador: Dra. Nori Tolosa de Talamoni.

19:30 hs

Entrega de Premios

Premio Günther Fromm (Auspicia Laboratorio BETA S.A.)

Premio AAOMM (Auspicia Laboratorios ELEA S.A.)

SABADO 11 DE SEPTIEMBRE



CONFERENCIAS SATÉLITES DE SOCIEDADES CIENTÍFICAS AFINES

Coordinadores: Dr. Rodolfo Guelman

Dr. Eduardo Wyse

09.00 a 09.45 hs

SIBOMM: Diabetes y hueso.

Dr. Daniel Salica

09.45 a 10.30 hs

SAO: Fracturas por osteoporosis en America Latina.

Dr. Luis Fernando Somma

10.30 a 11.00 hs

INTERVALO

11.00 a 11.45 hs

IOF: Evaluación de la micro-arquitectura ósea mediante tomografía computada periférica de alta resolución (HRpQCT).

Dra. María Belén Zanchetta

V° CURSO DE DENSITOMETRÍA

Coordinadora: Dra. Ana María Galich

- 08:00 a 08:45 hs **ACREDITACIÓN**
- 08:45 a 09:00 hs **Palabras de bienvenida**
- 09:00 a 09:20 hs **Exploración densitométrica del raquis.**
1. ¿Por qué es importante realizar una buena adquisición y un buen análisis posterior?
2. ¿Pueden compararse estudios de diferentes equipos?
3. ¿Cuáles son los errores más frecuentes dependientes del técnico?
- Srta. Marcela A. Martinez*
- 09:20 a 09:40 hs **Fémur proximal. Posibilidad de cálculo de FRAX.**
1. Exploración uni o bilateral. ¿Qué información brinda el segundo fémur?
2. Análisis femoral y posibilidades actuales de calcular el FRAX a todos los pacientes.
- Srta. Marcela A. Martinez*
- 09:40 a 10:10 hs **Control de calidad de los equipos.**
1. ¿Cuál es su importancia?
2. ¿Cómo y cuándo realizarlo?
3. Diferencia entre los distintos fabricantes.
- Dr. Marcelo Cachizumba*
- 10.10 a 10.30 hs **Presentación de casos clínicos de raquis y cadera.**
- Dra. Ana María Galich*
- 10:30 a 11:00 hs **INTERVALO**
- 11:00 a 11:30 hs **Cuerpo entero y composición corporal. Su importancia.**
1. ¿Qué información nos brinda?
2. ¿Es comparable con otros métodos que estudian composición corporal?
3. ¿Cuáles son las indicaciones médicas para su estudio?
4. ¿Es útil a cualquier edad?
- Dra. Mirena Buttazzoni*
- 11:30 a 11:50 hs **Radio proximal. Información clínica que aporta.**
1. ¿Qué antebrazo estudiar?
2. ¿Puede medirse con cualquier tipo de equipo?
3. ¿Cuándo está indicado solicitarlo?



4. ¿Qué información nos brinda?
5. ¿Es útil para el seguimiento terapéutico?
6. Presentación de casos clínicos relacionados.

Dra. María Diehl

11:50 a 12:10 hs

Evaluación de las fracturas vertebrales (VFA). Su utilidad.

1. ¿Cómo se adquiere el estudio correctamente?
2. ¿Cómo es el análisis? ¿Influye la subjetividad técnica?
3. ¿Cuáles son los errores más frecuentes?
4. ¿Puede adquirirse con cualquier equipo DXA?

Srta. Marcela A Martinez

12:10 a 12:30 hs

Cuerpo entero. Análisis sectorizado. Presentación de casos clínicos relacionados.

1. ¿Cuáles son los usos clínicos más frecuentes en la práctica diaria?
2. ¿Son comparativos los análisis sectorizados?
3. ¿Cuál es la periodicidad del seguimiento?

Dra. Mirena Buttazzoni

12:30 a 13:00 hs

Presentación de casos clínicos relacionados con los temas abordados y con participación de la audiencia.

Dra. Ana María Galich

13:00 hs

Cierre de la jornada. Conclusiones.

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

PROTECTIVE ROLE OF 17 β -ESTRADIOL AND TESTOSTERONE IN APOPTOSIS OF SKELETAL MUSCLE

Pronsato L, Ronda AC, Milanesi L, Vasconsuelo A, Boland R *

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

Abstract

The loss of muscle mass and strength with aging, also referred to as sarcopenia, is a prevalent condition among the elderly and predicts adverse outcomes, including disability, institutionalization and mortality. Sarcopenia has been associated to a deficit of sex hormones since the levels of estrogens and/or testosterone decline upon ageing. Although the mechanisms underlying sarcopenia are far from being clarified, evidence suggests that an age-related acceleration of myocyte loss via apoptosis might represent a mechanism responsible for muscle loss performance. Furthermore, increased levels of apoptosis have also been reported in old rats undergoing muscle atrophy. We previously demonstrated that 17 β -estradiol (E2) inhibits apoptosis in C2C12 murine skeletal muscle cells through estrogen receptors (ERs) with non classical localization involving PI3K/Akt, MAPKs and HSP27. Here, using siRNAs to silence ER isoforms, we show that E2 activates ERK through ER α and p38 MAPK stimulation is independent of ERs. We confirmed that E2 is able to abrogate apoptosis through MAPKs in primary cultures of neonate mouse skeletal muscle. Also, we proved that testosterone blocks apoptosis as E2. Typical changes of apoptosis such as nuclear fragmentation, cytoskeleton disorganization, mitochondrial reorganiza-

tion/dysfunction and cytochrome c release induced by H₂O₂ were abolished when C2C12 cells were preincubated with testosterone. Further studies are required to establish whether there is a parallelism between the mechanisms triggered by both hormones which might be involved in muscle pathologies associated to apoptosis. The data presented deepen the knowledge on the molecular basis of sex hormone-dependent sarcopenia.

Key words: estradiol; testosterone; skeletal muscle; apoptosis; sarcopenia.

Resumen

PAPEL PROTECTOR DEL 17 β -ESTRADIOL Y DE LA TESTOSTERONA EN LA APOPTOSIS DEL MÚSCULO ESQUELÉTICO

La sarcopenia, pérdida de masa y fuerza del músculo esquelético, es una condición frecuente durante el envejecimiento. Conduce a incapacidad motora resultando en internación y mortalidad. Puesto que los niveles de estrógenos y/o testosterona disminuyen con la edad, la sarcopenia se ha asociado al déficit de estas hormonas. Aunque los mecanismos moleculares involucrados en esta patología no están totalmente dilucidados, exis-

* Dirección postal: San Juan 670, (8000) Bahía Blanca, Argentina. Correo electrónico: rboland@criba.edu.ar



ten evidencias indicando que la apoptosis es en parte responsable de la pérdida de miocitos en la adultez. Previamente demostramos que el 17 β -estradiol (E2) inhibe la apoptosis en la línea celular C2C12 de músculo esquelético a través de PI3K/Akt, MAPKs, HSP27 y receptores estrogénicos (ERs) con localización no clásica. Usando *siRNAs* específicos para silenciar las isoformas del ER, comprobamos que el E2 activa ERK involucrando a ER α , mientras que la activación de p38 MAPK es independiente de ERs. Confirmamos que el E2 puede inhibir la apoptosis a través de las MAPKs en cultivos primarios de músculo esquelético de ratón. Al igual que el E2, la testosterona bloquea la apoptosis. Las alteraciones morfológicas típicas de la apoptosis como fragmentación nuclear, desorganización del citoesqueleto, reorganización/disfunción mitocondrial y liberación de citocromo c, inducidos por H₂O₂ fueron suprimidas al preincubar las células con testosterona. Se requieren investigaciones adicionales para establecer un paralelismo entre los mecanismos de acción de ambas hormonas, que podrían estar implicados en patologías musculares asociadas a apoptosis. Los datos presentados en este estudio profundizan el conocimiento de las bases moleculares de la sarcopenia relacionada con estados de déficit de hormonas sexuales.

Palabras clave: estradiol; testosterona; músculo esquelético; apoptosis, sarcopenia.

Introduction

The protective role of estrogens and androgens on tissues is currently receiving increased attention. There is evidence showing that skeletal muscle is a target tissue for both steroid hormones. Muscle mass and strength diminish during the postmenopausal years leading to sarcopenia which is a risk factor for osteoporosis since it is associated with physical disability and immobility resulting in bone loss. Sarcopenia

depends, in part, on estrogen and testosterone levels. Thus, hormone replacement therapies prevent a decline in muscle performance.^{1,2} It has also been shown that estrogens promote proliferation and differentiation of skeletal myoblasts.³ On the other hand, testosterone through its effects on muscle and fat mass, is an important determinant of body composition in male mammals, including humans. Testosterone supplementation increases muscle mass in healthy young and old men, healthy hypogonadal men and in other pathological or physiological conditions with low levels of this steroid.⁴ Other studies have demonstrated that testosterone-induced increase in muscle size is associated with hypertrophy of muscle fibers and significant increases in myonuclear and satellite cell numbers.⁵⁻⁷ Available evidence further suggests that exogenous testosterone administration results in faster recovery from hind limb paralysis after sciatic nerve injury in the rat⁸, and completely prevents the castration induced apoptosis in muscle cells of the rat levator ani muscle.⁹

In agreement with these observations, it has been established that human skeletal muscle contains not only estrogen receptors (ERs) α and β ^{10,11} but also androgen receptor (AR).¹²⁻¹⁶ Although the exact mechanism by which estrogens and androgens prevent sarcopenia remains to be clarified, in previous work, we demonstrated that 17 β -estradiol (E2) inhibits apoptosis in C2C12 skeletal muscle cells through ERs with non-classical localization and involving the PI3K/Akt pathway.¹⁷

Programmed muscle cell death (apoptosis) has been implicated as a potential mechanism of muscle atrophy and wasting in aging, during injury, and in the pathogenesis of many diverse human diseases, as cardiomyopathy, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), muscular dystrophies or others neuromuscular disorders.¹⁸⁻²¹ Diverse stimuli trigger apoptosis by activating one or more

signal transduction pathways, which converge in the activation of a conserved family of cysteine proteases known as caspases.²² Caspase activation may be elicited through intrinsic or extrinsic apoptotic pathways. The hallmarks of the intrinsic apoptotic pathway involve mitochondrial proteins and apoptosome formation which results in activation of the caspase cascade. In contrast, the extrinsic pathway is initiated through stimulation of the transmembrane death receptors and generation of the death-inducing signal complex and in turn caspase activation^{23,24}. Studies with myoblasts have demonstrated that apoptosis plays an important role in muscle development, by controlling the size of the population of proliferating myoblasts which undergo differentiation into mature myotubes.²⁵⁻²⁷ Then, the effects of the steroid hormones on skeletal muscle development could also be regulated, in part, through their effects on apoptosis.

Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) comprise a family of serine/threonine kinases that function as critical mediators of a variety of extracellular signals.^{28,29} Members of the MAP kinase superfamily include, among others, the extracellular signal-regulated kinases (ERKs) and the p38 MAP kinases (p38 MAPKs). Available data from various cell systems suggest that ERK 1 and ERK 2 are activated in response to growth stimuli and promote cell growth whereas p38 MAPKs are activated in response to a variety of environmental stresses and inflammatory signals and promote apoptosis and growth inhibition.^{28,29} However, the regulation of apoptosis by MAPKs is more complex and varies depending on tissues, nature of the apoptotic stimulus, and duration of their activation.²⁸⁻

32

Recently, a correlation between the expression of heat shock proteins (HSPs) and increased cell survival was shown, pointing them as regulatory agents of components of apoptotic pathways.^{33,34} Heat shock proteins

are a family composed of ubiquitous and conserved proteins that according to their molecular weight include high molecular mass HSPs (≥ 100 kDa), HSP90 (81 to 99 kDa), HSP70 (65 to 80 kDa), HSP60 (55 to 64 kDa), HSP40 (35 to 54 kDa), and small HSPs (≤ 34 kDa³⁵). HSPs are known for controlling cell homeostasis, proper folding of proteins, and translocation through cell membranes acting as molecular chaperones.³⁶⁻³⁸ Moreover, this family of proteins supplies an intrinsic mechanism to defend the cell against external physiological stresses. As mentioned before, high expression levels of HSPs imply increased cell survival. Specifically, the HSP involved in cytoprotective actions is the small (24–28 kDa) HSP, referred to as HSP25 or HSP27. HSP27 is expressed constitutively in many mammalian tissues and cell lines.³⁹ Of relevance for our work, HSP27 also appears to be involved in the suppression of apoptosis.^{38,40,41} Interestingly, HSP27 is induced by estrogens in various cells such as platelets⁴² as well as breast and endometrial tumors.⁴³ Furthermore, related to its antiapoptotic role, high levels of HSP27 are a marker for increased malignancy in breast cancer.⁴⁴ Regarding skeletal muscle, it has been observed that the expression of HSP27 is induced by a variety of stimuli.³⁶ However, its functions in muscle cells in connection to the effects of estrogens on this tissue have not been studied yet.

In the present work, we obtained evidence that ERK, p38 and HSP27 are involved in the protective effects of E2 in muscle. We also confirmed that E2 is able to abrogate apoptosis in primary cultures of neonate mouse skeletal muscle. Besides, we demonstrated that testosterone can inhibit apoptosis as E2, preventing nuclear fragmentation, cytoskeleton disorganization and mitochondria outer membrane damage in the C2C12 muscle cell line. These studies deepen the knowledge of the molecular basis of sarcopenia related to deficit states of sexual hormones.



Materials and methods

Materials

Estrogen receptor α mouse monoclonal antibody clone TE111.5D11 (anti-ER ligand binding domain) was purchased from NeoMarkers (Fremont, CA, USA). Estrogen receptor β goat polyclonal antibody (Y-19) was purchased from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA). Cytochrome c Oxidase Assay Kit, anti-actin polyclonal antibody (A-5060), 17β -estradiol and testosterone (T-1500) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). ICI182780 was obtained from TOCRIS (Ellisville, MO, USA). The extracellular regulated kinase kinase (MEK1) inhibitor UO126 and the p38 MAPK inhibitor SB203580 were from Calbiochem-Novabiochem Corp. (La Jolla, Ca, USA). Anti-HSP27, anti-p-ERK 1/2 and anti-p-p38 antibodies were from Cell Signaling Technology Inc (Danvers, MA, USA). Anti-rabbit Alexa 488, DAPI and MitoTracker Red (MitoTracker Red CMXRos) dyes were from Molecular Probes (Eugene, OR, USA). Estrogen receptor β (ER β) ShortCut[®]siRNA Mix, Estrogen receptor α (ER α) ShortCut[®]siRNA Mix, Fluorescein-siRNA transfection Control and TransPass[™] R2 Transfection Reagent were purchased from New England BioLabs Inc. (Beverly, MA, USA). Other chemicals used were of analytical grade.

Cell culture and treatment

C2C12 murine skeletal muscle cells, kindly donated by Dr. Enrique Jaimovich (Universidad de Chile, Santiago, Chile), were cultured in growth medium (Dulbecco's modified Eagle's medium) supplemented with 10% heat-inactivated (30 min, 56°C) fetal bovine serum, 1% nistatine, and 2% streptomycin. Cells were incubated at 37°C in a humid atmosphere of 5% CO₂ in air. Cultures were passaged every 2 days with fresh medium. The treatments were performed with 70-80% confluent cultures in medium without serum by adding 10⁻⁸ M E2, testosterone or

vehicle (0.001% isopropanol, control), approx. 45 min before induction of apoptosis with hydrogen peroxide (H₂O₂) during 8 h. H₂O₂ was diluted in culture medium without serum at a final concentration of 1 mM in each assay. After treatments, cells were lysed using a buffer composed of 50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.2 mM Na₂VO₄, 2 mM EDTA, 25 mM NaF, 1 mM PMSF, 1% NP40, 20 g/ml leupeptin and 20 g/ml aprotinin. Lysates were collected by aspiration and centrifuged at 12.000xg during 15 min. Protein concentration from the supernatant was estimated by the method of Bradford (1976), using bovine serum albumin (BSA) as standard. Unless otherwise noted, cells were cultured in chamber slides for microscopy.

For primary cultures, neonate (4-5 days) CF-1 mice were used to isolate myoblasts according to previously described techniques.⁴⁵ The animals were anesthetized and skeletal muscle from limbs was dissected and enzymatically disrupted by shaking in saline solution with 0.15% trypsin at 37°C in a humid atmosphere of 5% CO₂ in air, during 30 min. Dissociated cells were collected by centrifugation and cultured in DMEM medium to 80-90% confluence.

Measurement of outer mitochondrial membrane integrity

The integrity of outer mitochondrial membranes was evaluated using a commercially available kit from Sigma (CYTOC-OX1) which measures cytochrome release by the determination of cytochrome c oxidase activity, according to manufacturer's instructions. Briefly, C2C12 confluent monolayers were scrapped and homogenized in ice-cold TES buffer (50 mM Tris/HCl pH 7.4, 1 mM EDTA, 250 mM sucrose, 1 mM dithiothreitol (DTT), 0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 20 mg/ml leupeptin, 20 mg/ml aprotinin, 20 mg/ml trypsin inhibitor) using a Teflon-glass hand homogenizer. Lysates were centrifuged at 10.000 x g for 20 min in order

to separate the cytosolic fraction. To these samples, 50 μ l of reduced cytochrome c (0.22 mM) were added and changes in absorbance at 550 nm were monitored for 1 min. An extinction coefficient of 21.84 was used. The results were expressed as percentage of mitochondria with damaged outer membrane.

Western blot analysis

Protein aliquots (25 μ g) were combined with sample buffer (400 mM Tris/HCl (pH 6.8), 10% SDS, 50% glycerol, 500 mM DTT and 2 mg/ml bromophenol blue), boiled for 5 min and resolved by 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Fractionated proteins were then electrophoretically transferred to polyvinylidene fluoride (PVDF) membranes (Immobilon-P, Millipore), using a semi-dry system. Non-specific sites were blocked with 5% non-fat dry milk in PBS containing 0.1% Tween-20 (PBS-T). Blots were incubated for 1 h with the appropriate dilution of the primary antibodies. The membranes were repeatedly washed with PBS-T prior incubation with horseradish peroxidase-conjugated secondary antibodies. The enhanced chemiluminescence blot detection kit (Amersham, Buckinghamshire, England) was used as described by the manufacturer to visualize reactive products. Relative migration of unknown proteins was determined by comparison with molecular weight colored markers (Amersham). For actin loading control, membranes were treated with stripping buffer (62.5 mM Tris-HCl (pH 6.7); 2% SDS; 50 mM β -mercaptoethanol) and then blocked for 1 h with 5% non-fat dry milk in PBS containing 0.1% Tween-20 (PBS-T). The blots were then incubated 1 h with a 1:20000 dilution of anti-actin polyclonal antibody (A-5060) as primary antibody. After several washings with PBS-T, membranes were incubated with anti-rabbit (1:10000) conjugated to horseradish peroxidase. The corresponding immunoreactive bands were developed by means of ECL.

Coimmunoprecipitation

Total homogenates from the C2C12 cell line containing 100 μ g of protein were immunoprecipitated with 10 μ l of a 50% suspension of protein A-agarose after incubating the extracts with the antibody indicated in each experiment. The immunoprecipitates were washed three times with buffer containing 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100, protease inhibitors: 2 mM PMSF, 20 μ g/ml leupeptin, 20 μ g/ml aprotinin, and 10 μ g/ml of trypsin inhibitor. The final pellets were obtained by centrifugation for 3 min at 10000 \times g, resuspended then in electrophoresis sample buffer without dithiothreitol, boiled for 5 min, and resolved by SDS-PAGE. Fractionated proteins were electrotransferred to PVDF membranes and then blocked for 1 h with 5% non-fat dry milk in PBS-T. The blots were incubated overnight at 4°C with primary monoclonal antibody against the protein of interest. After several washings with PBS-T, the membranes were incubated with the secondary antibody conjugated to horseradish peroxidase. Immunoreactive proteins were developed by means of enhanced chemiluminescence. The apparent molecular weight of reactive bands was estimated by reference to a wide size range of protein markers.

Immunocytochemistry

Semi-confluent (60-70%) monolayers were washed with serum-free phenol red-free DMEM, incubated 1 h in the same medium and then fixed and permeabilized during 20 min at -20 °C with methanol to allow intracellular antigen labeling. After fixation, cells were rinsed 3 times with PBS. Non-specific sites were blocked for 30 min in PBS that contained 5% bovine serum albumin. Cells were then incubated for 60 min in the presence or absence (negative control) of primary antibodies (anti-p-ERK 1/2, anti-p-p38, anti-HSP27 and anti β -ER Y19; 1:50 dilution).

MitoTracker® Red CMXRos was employed for selective stain of active mitochondria. Coverslips with adherent cells were stained with MitoTracker Red, which was prepared in



dimethyl sulfoxide (DMSO) and then added to the cell culture medium at a final concentration of 1 mol/l. After 15 to 30 min incubation at 37°C, the cells were washed with PBS and fixed with methanol at -20°C for 30 min. Finally, the coverslips were analyzed by confocal and conventional microscopy. Images were collected using a digital camera.

In order to evaluate the nuclear morphology, after treatments, the cells were fixed with methanol at -20°C for 30 min and then washed with PBS. Fixed cells were incubated for 30 min at room temperature in darkness with 1:500 of a stock solution of DAPI (5 mg/ml) and next washed with PBS. Cells were mounted on glass slides and examined using a fluorescence microscope (NIKON Eclipse E 600) equipped with standard filter sets to capture fluorescent signals. Images were collected using a digital camera. Apoptotic cells were identified by the condensation and/or fragmentation of their nuclei. The results were expressed as percentage of apoptotic cells. A minimum of 500 cells was counted for each treatment from at least three independent experiments.

Janus Green staining

After treatments, the cells were incubated with 0.1 % Janus Green in serum-free medium (1:2, v/v) during 30 min at 37°C. Cells were examined by bright field microscopy.

Confocal microscopy

Images were acquired on a Leica TCS SP2 AOBs confocal laser-scanning microscope in an epifluorescence mode. The 488 nm line of an argon ion laser and the 543 nm line of a helium-neon laser were used to excite the samples. A DD 488/543 filter was used to separate red/green fluorescence signals. A 50 mm pinhole was generally used. Cells were imaged through a 63X, 1.3 numerical aperture water immersion objective. Images were collected and saved using the software Meridian, and exported to Adobe PhotoShop for digital processing.

Transfection of short interfering RNA (siRNA)

Transfection was performed with a culture cellular density reaching 40–60% confluence with ER α or ER β ShortCut siRNA according to the manufacturer's instructions. Briefly, TransPass R2 Transfection Reagent was mixed with ER α or ER β siRNAs. The mix was incubated for 20 min at room temperature and diluted with complete culture medium. The culture medium of the cells was aspirated and replaced with the diluted transfection complex mixture. The cells transfected were used in the indicated assays. To estimate the transfection efficiency of siRNA, 10–30 pmol of fluorescein-siRNA were used according to the manufacturer's instructions. Cells were then visualized, 24 and 48 h post transfection, in a conventional fluorescence microscope. To evaluate the effective silencing of ER α or ER β , total proteins from transfected and non-transfected cells (controls) were extracted 24 and 48 h post transfection and ER α or ER β expression was tested by Western blot analysis as described above using TE111.5D11 specific monoclonal antibody and Y-19 specific polyclonal antibody respectively.

Statistical analysis

Statistical treatment of the data was performed using the Student's t-test (Snedecor & Cochran 1967). Data are means \pm SD of not less than three independent experiments. The data were considered statistical significant when $p < 0.05$.

Results

17 β -estradiol increases HSP27 levels in C2C12 cells

As a first approach to evaluate the role of HSP27 in the regulation of apoptosis by E2 in skeletal muscle cells, we investigated the chaperone expression levels in response to the hormone. C2C12 cell cultures were incu-

bated with the steroid hormone (10^{-8} M) during different times (5, 20, 40, and 60 min and 4 h) followed by measurement of HSP27 levels by immunoblot analysis. As observed in Fig. 1a, Western blots using an anti-HSP27 monoclonal antibody revealed a time-dependent increase in the expression of HSP27 in response to E2, the effects being very

marked after estrogen treatment for 20 min (+167%) and 40 min (+271%). In agreement with these results, immunocytochemistry studies using confocal microscopy and the same antibody showed that after 20-40 min of treatment with E2 (10^{-8} M), the fluorescence intensity was higher than control conditions (Fig. 1b).

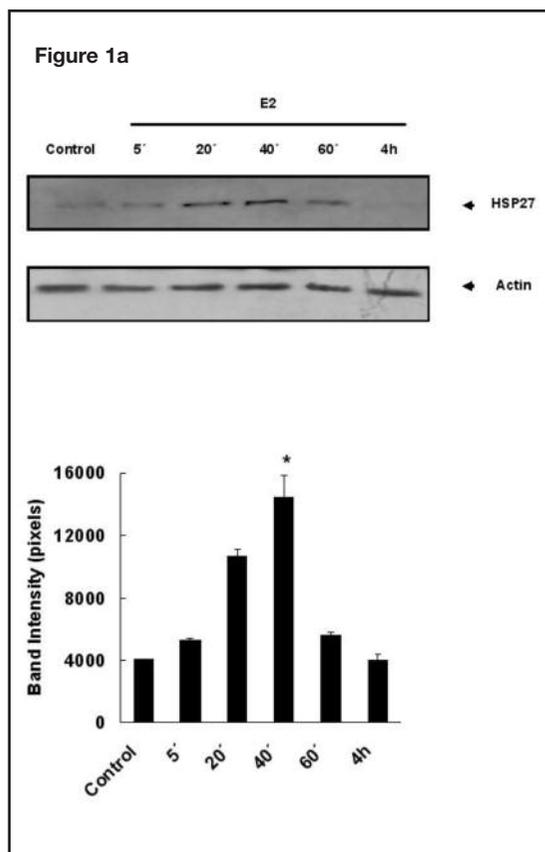
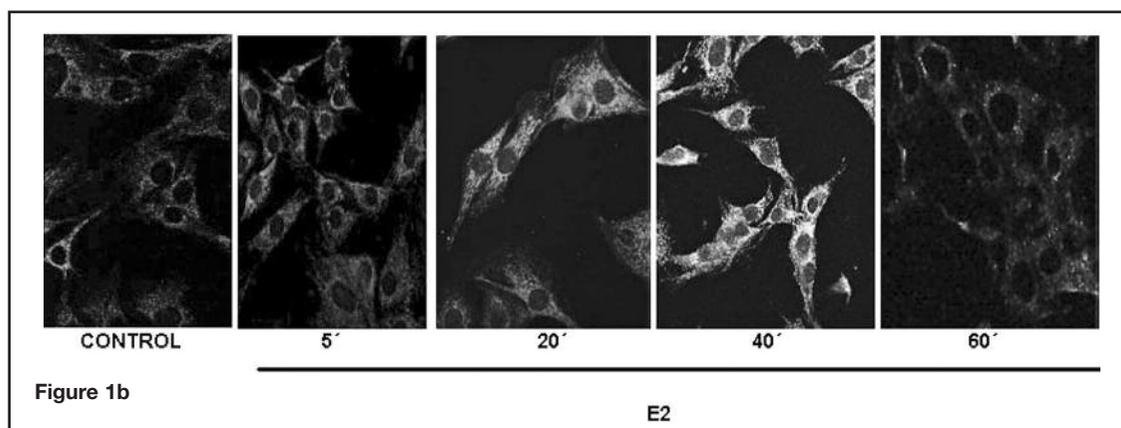


Figure 1. 17β -estradiol increases the expression of HSP27 in C2C12 skeletal muscle cells. C2C12 cells were treated with 10^{-8} M E2 for the times indicated. Controls were exposed to vehicle isopropanol (0.001%). The cells were harvested and lysed as described in Materials and Methods. The lysates were then subjected to SDS-PAGE and blotted with anti-HSP27 antibody. Actin levels were measured as protein loading controls. **a.** Representative immunoblot (upper panel) of three independent experiments with comparable results and the corresponding densitometric analysis (bottom panel) showing the increase of total HSP27 during E2 treatment. Bars are means \pm SD; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ with respect to the control. **b.** Confocal microscopy of HSP27 expression. HSP27 was stained using anti-HSP27 primary antibody and Alexa 488-conjugated secondary antibody. Control cells were treated with vehicle and E2 cells incubated with 10^{-8} M 17β -estradiol for the times indicated. Magnification 63X. Images are representative of at least three independent experiments.





HSP27 interacts with ER β in C2C12 muscle cells

In order to study whether HSP27 interacts with the ERs, confocal microscopy was first performed to detect colocalization of these proteins. In a previous work, we demonstrated that in C2C12 muscle cells, ER α localizes in the cytosol and perinuclear region⁴⁶, whereas ER β is mainly associated to mitochondria⁴⁷. C2C12 cells were treated with 10⁻⁸ M E2 during 40 min. The ERs and HSP27 were recognized by immunofluorescence using specific antibodies for each ER isoform and a highly selective monoclonal antibody for HSP27. Immunocytochemistry assays demonstrated colocalization of HSP27 with ER β in the mitochondria, shown in the merged images as yellow fluorescence due to combination of each antibody fluorescence (red for ER β and green for HSP27), which was more intense in cells exposed to E2 (Fig. 2a shows the colocalization of both proteins as brighter fluorescence). To assess whether this colocalization may imply physical interaction between ERs and HSP27, coimmunoprecipitation assays using both anti-ER β and anti-ER α antibodies with lysates from control and estrogen-treated (10⁻⁸ M, 40 min) C2C12 cells were performed. The precipitates were then analyzed by Western blot with the anti-HSP27 antibody. As shown in Fig. 2b, the anti-ER β antibody immunoprecipitated ER β associated to HSP27, indicating the association between both proteins. This interaction was also observed when the coimmunoprecipitation assay was performed using the same antibodies in reverse order (data not shown). On the other hand, the association of the chaperone with ER α was not significant (Fig. 2b).

Activation of ERK and p38 MAPK by E2 and role of ER in the antiapoptotic effects of 17 β -estradiol in muscle cells

The ability of E2 to activate ERK and p38 MAPK in muscle cells was evaluated. These anti-apoptotic proteins become activated by

phosphorylation and play an important role in cell proliferation and survival, and in the nuclear genomic response to mitogens and cellular stresses. C2C12 cell cultures were incubated with the steroid hormone (10⁻⁸ M) followed by measurement of phospho-ERK and phospho-p38 MAPK levels. As shown in Fig. 3, Western blot analysis using anti-phospho-ERK and anti-phospho-p38 polyclonal antibodies revealed ERK and p38 activation (phosphorylation) in response to E2. Of relevance, activation of ERK by the hormone was blocked when the cells were preincubated with the ER specific antagonist ICI182780 (1 μ M). However, no appreciable changes in phosphorylation of p38 were observed. Therefore, the estrogen receptor participates in ERK but not in p38 MAPK phosphorylation.

ERK and p38 MAPK mediate the antiapoptotic effects of 17 β -estradiol in muscle cells

The protective action of E2 involving ERK and p38 MAPK was evaluated in primary cultures of mouse skeletal muscle, to validate the use of C2C12 cells. Morphological changes of the cytoskeleton, mitochondria and nucleus typical of apoptosis were studied.

Alterations in the cytoskeleton after treatments were evaluated by immunocytochemistry assays using an anti-actin antibody. The images of Fig. 4 show a usual actin filament organization in the control condition (panel a) and in cells treated with the hormone (panel b) whereas in cultures exposed to H₂O₂, disorganization of the cytoskeleton was observed (panel c). Incubation with E2 prior to induction of apoptosis revealed actin arrangement as in controls (panel d). Disruption of actin filaments was not reversed to normal by the estrogen in cells preincubated 30 min with inhibitors of ERK (U0126) or p38MAPK (SB203580) and then treated with E2 and H₂O₂ (panels e and f).

During apoptosis, mitochondria also undergo structural and localization changes. The abnormalities frequently observed include

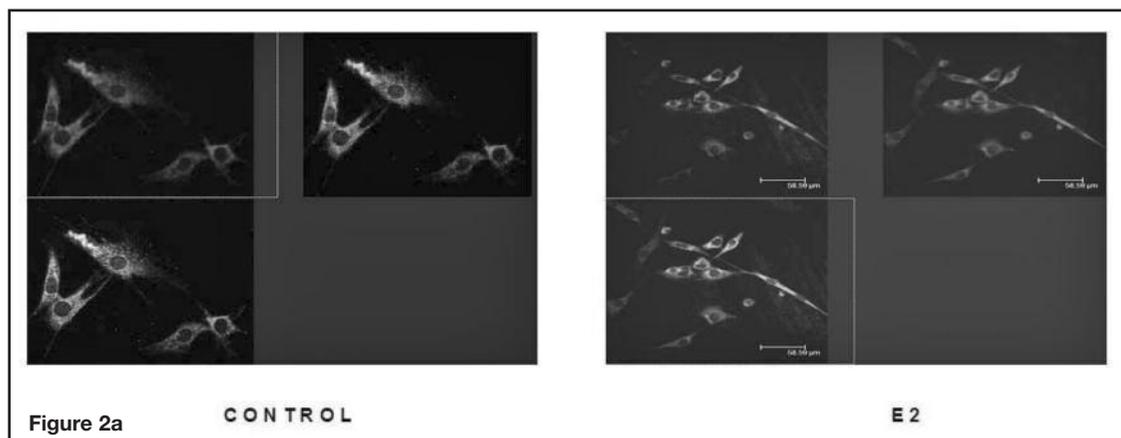


Figure 2a

CONTROL

E2

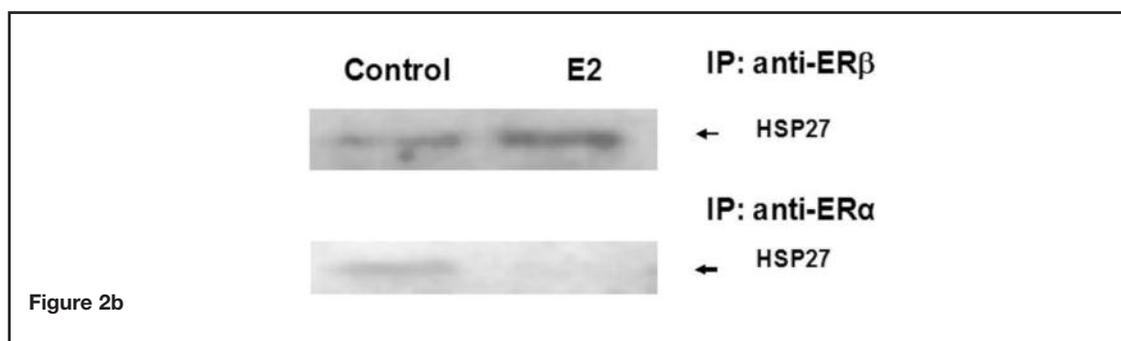


Figure 2b

Figure 2. HSP27 interacts with ER β in C2C12 skeletal muscle cells.

a. Immunocytochemistry. C2C12 cells treated with 0.001% isopropanol (Control) or 10^{-8} M E2 during 40 min were double labeled using polyclonal antibodies anti-ER β Y19 and anti-HSP27 as described in Materials and Methods. Laser confocal microscopy shows merge of staining with the two antibodies as brighter fluorescence. The photograph is representative of at least three independent experiments. Magnification 63X. **b. Coimmunoprecipitation.** Lysates from C2C12 cells treated as indicated above were immunoprecipitated using anti-ER β or anti-ER α antibody and immunoblotted with anti-HSP27 antibody. Control: cells treated with vehicle, E2: cells treated with 10^{-8} M E2 during 40 min. The blot is representative of three independent experiments.

reduction in size, “mitochondrial picnosis”, and grouping of these organelles in the perinuclear zone^{16,48}. Fig. 4 shows that mitochondria of mouse skeletal muscle cells exposed to H₂O₂ were clustered around the nucleus (panel c) having lost its characteristic cytoplasmic distribution observed in control or in cells treated with the hormone (panel a and b, respectively). These modifications were reversed when the muscle cells were incubat-

ed with E2 (10^{-8} M - 45 min) (panel d), in accord with results previously reported¹⁶. When cultures were exposed to U0126 or SB203580 and then treated with E2 and H₂O₂, mitochondria showed similar characteristics to those of apoptotic skeletal muscle cells (panel e and f).

In addition, variations in the morphology of nuclei in response to treatments of muscle cells were studied using the nuclear dye DAPI.

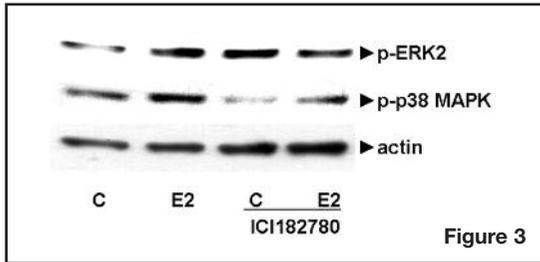


Figure 3. Estrogen receptor participates in ERK but not in p38 MAPK phosphorylation.

C2C12 cells were treated with 0.001% isopropanol (C) or 10^{-8} M E2 during 15 min (E2) in absence or presence of 1 μ M of ER antagonist ICI182780. Western blot analysis were performed using anti-phospho-ERK1/2 and anti-phospho-p38 MAPK antibodies. Actin levels are shown as loading control.

Apoptotic cells were identified by the condensation and/or fragmentation of their nuclei. Fig. 4 shows intact/normal nuclei of cells under the control condition (panel a) and treated with 10^{-8} M E2 (panel b). The cultures exposed to 1 mM H_2O_2 exhibited morphological changes typical of apoptosis (panel c). This effect was observed to a lesser extent in cells incubated with the hormone during 45 min prior to exposure to H_2O_2 which mainly presented normal nuclear morphology (panel d). On the other hand, muscle cell cultures treated with the MAPK inhibitors U0126 or SB203580 as before, clearly showed nuclear fragmentation or condensation (panel e and f).

Activation of ERK by 17β -estradiol through ER α

In order to elucidate which isoform of ER mediates activation of ERK, C2C12 cells were transfected with specific siRNAs to induce silencing of ER α and ER β . Optimum transfection conditions were established using fluorescein-siRNA. The silencing efficiency and specificity of siRNA effects on ER α and ER β levels were verified by Western blot analysis after transfection with the isoform selective

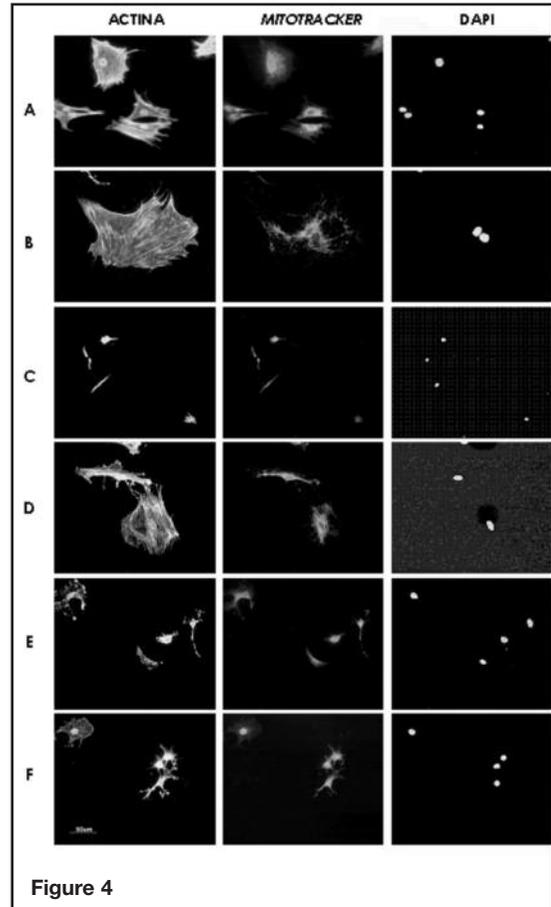


Figure 4. Protective action of 17β -estradiol involving ERK and p38 MAPK in primary cultures of mouse skeletal muscle. **A:** 0.001% isopropanol; **B:** 10^{-8} M E2 for 40 min; **C:** 0.5 mM H_2O_2 for 2 h; **D:** 10^{-8} M E2 for 40 min and then exposed to 0.5 mM H_2O_2 for 2 h, **E:** 20 μ M SB203580 (specific p38 MAPK inhibitor) for 30 min and then with 10^{-8} M E2 + 0.5 mM H_2O_2 as before; **F:** 10 μ M U0126 (specific ERK1/2 inhibitor) for 30 min and then with 10^{-8} M E2 + 0.5 mM H_2O_2 as before. Cells were stained with anti-actin antibody, mitotracker and DAPI dyes. Magnification 20X.

siRNAs (data not shown). Under these conditions, ER α silencing caused a significant blockade of ERK phosphorylation whereas ER β silencing did not reduce ERK activation (Fig. 5). Thus, these results reveal that ER α is involved in the stimulation of ERK by E2.

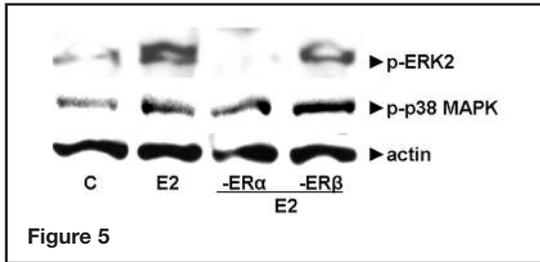


Figure 5. 17β-estradiol activates ERK through ERα. C2C12 cells were transfected with siRNA-ERα (-ERα) and siRNA-ERβ (-ERβ). Then, cells were treated with 0.001% isopropanol (C) or 10⁻⁸ M E2 (E2) during 15 min. Western blot analysis was performed using anti-phospho-ERK1/2 and anti-phospho-p38 MAPK antibodies. Actin levels are shown as loading control.

Testosterone prevents apoptosis in C2C12 cells

As a first approach to investigate the protective role of testosterone, functional changes of mitochondria were evaluated using supravital Janus Green staining. The images of Fig. 6 show that cells exposed to 1 mM H₂O₂ during 2 h (panel c) exhibited a darker cytoplasmic region near mitochondria than the control with isopropanol (panel a) or the cells treated with 10⁻⁸ M testosterone (panel b). These

results indicate that rupture of the outer mitochondrial membrane due to H₂O₂ caused liberation of its content to the cytoplasm, inducing the oxidation of the colorant (blue-greenish coloration shown in the corresponding figure panel as the dark cytoplasmic region near mitochondria, described above)⁴⁹. This effect was not observed when the cells were preincubated with the hormone (10⁻⁸ M - 40 min) prior to H₂O₂ (1 mM, 2 h) treatment (panel d). Additionally, morphological changes of the cytoskeleton, mitochondria and nucleus characteristic of apoptosis were studied by immunocytochemistry assays and immunofluorescence conventional microscopy using anti-actin antibody, Mitotracker and DAPI dyes respectively, which were performed after treatments. Images of Fig. 7 show intact/normal nuclei of muscle cells in the control condition (isopropanol) and treated with 10⁻⁸ M testosterone. C2C12 cultures exposed to 1 mM H₂O₂ exhibited morphological changes typical of apoptosis such as nuclear fragmentation or condensation, i.e. pyknotic nuclei (~40%). These effects were markedly reduced in cells incubated with the hormone during 40 min prior to the addition H₂O₂ (≥ 85% normal nuclear morphology). It was also observed that mitochondria of a great proportion (~70%) of the C2C12 cells exposed to H₂O₂

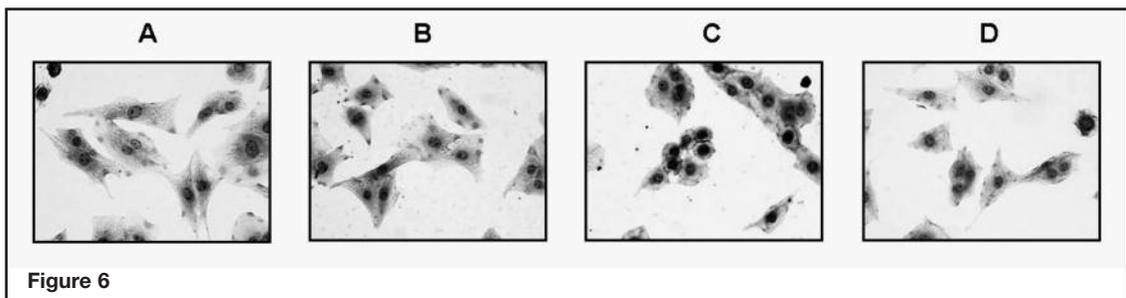


Figure 6. Protective role of testosterone in C2C12 skeletal muscle cells shown by Janus Green staining. A. 10⁻⁸ M isopropanol. B: 10⁻⁸ M testosterone for 40 min; C: 1 mM H₂O₂ for 2 h; D: 10⁻⁸ M testosterone for 40 min followed by exposure to 1 mM H₂O₂ for 2 h. Cells were stained with Janus Green dye. Magnification 40X.



were clustered around the nucleus losing its characteristic “spider web” or uniform cytoplasmic distribution present in control or in cells treated with the hormone. These alterations could be prevented when the muscle cells were preincubated with testosterone (10^{-8} M, 40 min). In addition, the image of Fig. 7 shows a typical organization of actin filaments in control (+ isopropanol) and in hormone-treated cells. When the cultures were exposed to H_2O_2 , disorganization of the cytoskeleton was seen as described before. Incubation with testosterone previous to induction of apoptosis, maintained the arrangement of actin filaments observed in control conditions. The data obtained demonstrate an antiapoptotic action

of testosterone in C2C12 skeletal muscle cells exposed to oxidative stress (H_2O_2).

The effects of testosterone on the release of cytochrome c (Table 1) due to loss of the outer mitochondrial membrane integrity induced by H_2O_2 were evaluated by means of CYTOC-OX1 assays (see Methods). We observed that 55% of the cells presented mitochondria damaged after H_2O_2 treatment whereas in cultures preincubated with testosterone before addition of H_2O_2 only 9% of the mitochondria were affected.

Discussion

17β -estradiol (E2) and testosterone exert antiapoptotic actions in skeletal muscle. In earlier

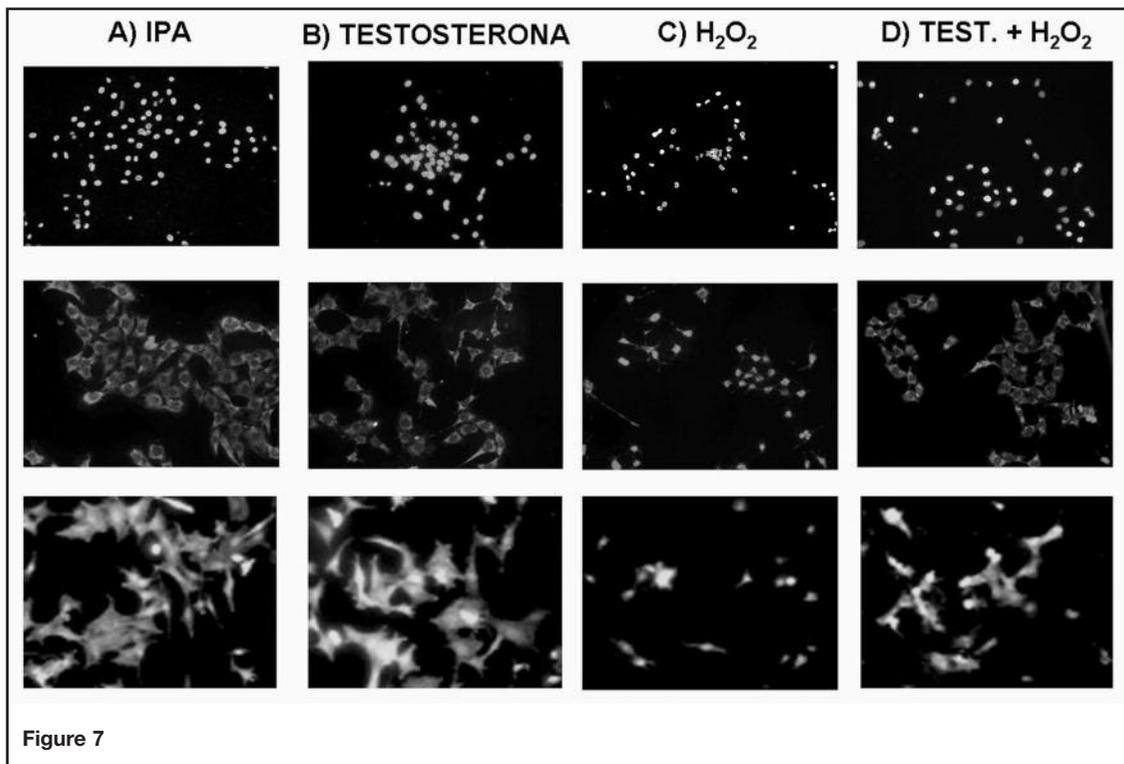


Figure 7. Testosterone prevents morphological alterations of cytoskeleton, mitochondria and nucleus induced by H_2O_2 in C2C12 skeletal muscle cells. A: 10^{-8} M isopropanol; **B:** 10^{-8} M testosterone for 40 min; **C:** 1 mM H_2O_2 for 2 h; **D:** 10^{-8} M testosterone for 40 min followed by exposure to 1 mM H_2O_2 for 2 h. Cells were stained with DAPI dye, Mitotracker dye and anti-actin antibody. Magnification 20X.

experiments we demonstrated that E2, at physiological concentrations, abrogates H₂O₂ induced-apoptosis in C2C12 skeletal muscle cells involving both ER α and ER β and acting at least at two different levels. One of them relates to PI3K/Akt activation and hence BAD phosphorylation, a process in which both ER isoforms participate. The other consists in a protective effect on mitochondria integrity and mainly involves ER β .¹⁶

In this study we found that HSP27 and the ERK and p38 MAPKs are other mediators in the protective action of E2.

E2, at physiological concentrations, increased HSP27 protein levels and induced the interaction of this chaperone with ER β in the C2C12 cell line. The association detected between the chaperone and ER β in mitochondria might confer greater stability to this receptor isoform and thus higher efficiency in stress conditions and/or regulation of the estrogen signal. According to this interpretation, it has been reported that the relationship between HSP27 and ER β leads to estrogen signaling in human coronary arteries⁵⁰. In the present work, the interaction shown in C2C12 muscle cells appears to be specific for ER β and HSP27, since it was not observed for the

chaperone and the α isoform of the estrogen receptor. This may explain the fact that the protective action of E2 is primarily mediated by ER β .⁶

In parallel we demonstrated rapid non-genomic events regulated by E2 in the inhibition of apoptosis. These protective actions involved stimulation of ERK and p38 MAPK and were detected not only in the C2C12 cell line but also in primary cultures of mouse skeletal muscle. Fluorescence microscopy studies of morphological changes of cytoskeleton, mitochondria and nucleus, characteristic of apoptosis, employing MAPK specific inhibitors supported these observations, as the images showed high percentage of cultured cells with actin and mitochondria disorganization and nuclear fragmentation when they were incubated with ERK or p38 MAPK inhibitors before adding the hormone, as in H₂O₂ treatment.

In addition, experiments with the ER specific antagonist IC1182780 indicated that the ER mediated ERK but not MAPK p38 phosphorylation. Furthermore, using specific siRNAs to induce silencing of each ER isoform, evidence was obtained that ERK was selectively activated through ER α .

Table 1. Evaluation of cytochrome C release

Condition	Mitochondria with damaged outer membrane (%)
IPA	15 \pm 6.8
Testosterone	15 \pm 3.6
H ₂ O ₂	55 \pm 3.1
Test. + H ₂ O ₂	9 \pm 2.6

Cytochrome c release was evaluated as described under Methods. IPA: cells treated with hormone vehicle (isopropanol); Testosterone: cells treated with 10⁻⁸ M testosterone; H₂O₂: cells treated with 1 mM H₂O₂; Test. + H₂O₂: cells preincubated with 10⁻⁸ M testosterone and then treated with 1 mM H₂O₂.



Likewise, testosterone participation in antiapoptotic events was also observed in the C2C12 cell line. Microscopic analysis with Janus Green, DAPI, Mitotracker and actin staining revealed a protective effect of the steroid hormone by which it reverts the damage caused by oxidative stress (H_2O_2). Testosterone could also reduce cytochrome c release from mitochondria. This protective effect on mitochondrial membrane damage due to stress conditions might be associated with involvement of the androgen in inhibition of the apoptotic intrinsic pathway as observed with E2. However, further studies are necessary to determine whether testosterone acts in addition on the extrinsic apoptotic pathway.

The data presented in this work unravels in part the antiapoptotic molecular mechanism activated by E2 and testosterone, underlying the survival action of both hormones against the oxidative stress damage caused by H_2O_2 in the C2C12 skeletal muscle cell line. These studies also sustain an essential concept regarding the integration of rapid signaling and genomic actions involved in the protective action of these steroids. Additional investigations are necessary to elucidate in depth the mechanism by which testosterone and E2 exert an antiapoptotic effect in skeletal muscle cells and its relationship with myopathies associated to hormonal dysregulation.

Acknowledgments

This work was supported by grants from the Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) and Universidad Nacional del Sur, Argentina.

(Recibido: mayo de 2010. Aceptado:
julio de 2010)

References

1. Dionne IJ, Kinaman KA, Poehlman ET. Sarcopenia and muscle function during menopause and hormone-replacement therapy. *J Nutr Health Aging* 2000; 4:156-61.
2. Solomon AM, Bouloux PMG. Modifying muscle mass – the endocrine perspective. *J Endocrinol* 2006; 191: 349-60.
3. Kahlert S, Grohe C, Karas RH, Lobbert K, Neyses L, Vetter H. Effects of estrogen on skeletal myoblast growth. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232:373-8.
4. Bhasin S, Calof OM, Storer TW et al. Drug insight: testosterone and selective androgen receptor modulators as anabolic therapies for chronic illness and aging. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2:146-59.
5. Sinha-Hikim I, Artaza J, Woodhouse L, et al. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is with muscle fiber hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: E154-64.
6. Sinha-Hikim I, Roth SM, Lee MI, Bhasin S. Testosterone induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: E197-205.
7. Sinha-Hikim I, Cornford M, Gaytan H, Lee ML, Bhasin S. Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community dwelling, older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:3024-33.
8. Brown TJ, Khan T, Jones KJ. Androgen induced acceleration of functional recovery after rat sciatic nerve injury. *Restor Neurol Neurosci* 1999; 15:289-95.
9. Boissonneault G. Evidence of apoptosis in the castration-induced atrophy of the rat levator ani muscle. *Endocr Res* 2001; 27:317-28.
10. Lemoine S, Granier P, Tiffocche C, Rannou-Bekono F, Thieuland ML, Delamarche P. Estrogen receptor alpha mRNA in human skeletal muscles. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35:439-43.
11. Wiik B, Glenmark M, Ekman M, et al.

- Oestrogen receptor beta is expressed in adult human skeletal muscle both at the mRNA and protein level. *Acta Physiol Scand* 2003; 179:381-7.
12. Bamman MM, Shipp JR, Jiang BA et al. Mechanical load increases muscle IGF-1 and androgen receptor mRNA concentrations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:E383-90.
 13. Doumit ME, Cook DR, Merkel RA. Testosterone up-regulates androgen receptors and decreases differentiation of porcine myogenic satellite cells *in vitro*. *Endocrinology* 1996; 137:1385-94.
 14. Kadi F, Bonnerud P, Eriksson A, Thornell LE. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic-anabolic steroids. *Histochem Cell Biol* 2000; 113:25-9.
 15. Kadi F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. *Acta Physiol Scand Suppl* 2000; 646:1-52.
 16. Carson JA, Lee WJ, McClung J, Hand GA. Steroid receptor concentration in aged rat hind limb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol* 2002; 93:242-50.
 17. Vasconsuelo A, Milanesi LM, Boland RL. 17 β -estradiol abrogates apoptosis in murine skeletal muscle cells through estrogen receptors: role of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J Endocrinol* 2008; 196:385-97.
 18. Primeau AJ, Adhietty PJ, Hood DA. Apoptosis in heart and skeletal muscle. *Can J Appl Physiol* 2002; 27:349-95.
 19. Dupont-Versteegden EE. Apoptosis in muscle atrophy: relevance to sarcopenia. *Exp Gerontol* 2005; 40:473-81.
 20. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005; 309:481-4.
 21. Tews DS. Muscle fiber apoptosis in neuromuscular diseases. *Muscle Nerve* 2005; 32:443-58.
 22. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 1995; 267:1445-9.
 23. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I et al. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J* 1995; 14:5579-88.
 24. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998; 281:1305-8.
 25. Walsh K. Coordinate regulation of cell cycle and apoptosis during myogenesis. *Prog Cell Cycle Res* 1997; 3:53-8.
 26. Sandri M, Carraro U. Apoptosis of skeletal muscles during development and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31:1373-90.
 27. Huppertz B, Tews DS, Kaufmann P. Apoptosis and syncytial fusion in human placental trophoblast and skeletal muscle. *Int Rev Cytol* 2001; 205:215-53.
 28. Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* 2002; 298:1911-2.
 29. Wada T, Penninger JM. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. *Oncogene* 2004; 23:2838-49.
 30. Lin A, Dibling B. The true face of JNK activation in apoptosis. *Aging Cell* 2002; 1:112-6.
 31. Tamagno E, Robino G, Obbili A, Bardini P, Aragno M, Parola M, Danni O. H₂O₂ and 4-hydroxynonenal mediate amyloid induced neuronal apoptosis by activation JNKs and p38 MAPK. *Exp Neurol* 2003; 180:144-55.
 32. Caughlan A, Newhouse K, Namgung U, Xia Z. Chlorpyrifos induces apoptosis in rat cortical neurons that is regulated by a balance between p38 and ERK/JNK MAP kinases. *Toxicol Sci* 2004; 78:125-34.
 33. Mehlen P, Schulze-Osthoff K, Arrigo AP. Small stress proteins as novel regulators of apoptosis. Heat shock protein 27 blocks Fas/APO-1- and staurosporine-induced cell death. *J Biol Chem* 1996; 271:16510-4.



34. Samali A, Cotter TG. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Exp Cell Res* 1996; 223:163-70.
35. Hartl F. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381:571-9.
36. Welch WJ. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev* 1992; 72:1063-81.
37. Muchowski PJ, Bassuk JA, Lubsen NH, Clark JI. Human alphaB-crystallin. Small heat shock protein and molecular chaperone. *J Biol Chem* 1997; 272:2578-82.
38. Arrigo AP. Small stress proteins: chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. *Biol Chem* 1998; 379:19-26
39. Arrigo AP, Landry J. Expression and function of the low-molecular-weight heat shock proteins. In: Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C (eds) *The biology of heat shock proteins and molecular chaperones*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1994, pp 335-73.
40. Bruey JM, Ducasse C, Bonniaud P et al. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat Cell Biol* 2000; 2:645-52.
41. Pandey P, Farber R, Nakazawa A. Hsp27 functions as a negative regulator of cytochrome c-dependent activation of procaspase-3. *Oncogene* 2000; 19:1975-81.
42. Mendelsohn ME, Zhu Y, O'Neill S. The 29-kDa proteins phosphorylated in thrombin-activated human platelets are forms of the estrogen receptor-related 27-kDa heat shock protein. *PNAS* 1991; 88:11212-6.
43. Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fuqua SAW. Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27): a review. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:1558-69.
44. Hansen RK, Parra I, Lemieux P, Oesterreich S, Hilsenbeck SG, Fuqua SAW. Hsp27 overexpression inhibits doxorubicin-induced apoptosis in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 56:187-96.
45. Vazquez G, de Boland AR. Involvement of protein kinase C in the modulation of 1alpha, 25-dihydroxy-vitamin D3-induced $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in rat and chick cultured myoblasts. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1310:157-62.
46. Milanesi L, De Boland AR, Boland R. Expression and localization of estrogen receptor α in the C2C12 murine skeletal muscle cell line. *J Cell Biochem* 2008; 104:1254-73.
47. Milanesi L, Vasconsuelo A, R. de Boland A, Boland R. Expression and subcellular distribution of native receptor beta in murine C2C12 cells and skeletal muscle tissue. *Steroids* 2009; 74:489-97.
48. Desagher S, Martinou JC. Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol* 2000; 1:369-77.
49. Ernster L, Schatz G. Mitochondria: a historical review. *J Cell Biol* 1981; 91:227s-255s.
50. Miller H, Poon S, Hibbert B, Rayner K, Chen YX, O'Brien ER. Modulation of estrogen signaling by the novel interaction of HSP27, a biomarker for atherosclerosis, and estrogen receptor. *Vasc Biol* 2005; 25:10-4.

ACTUALIZACIONES / *Reviews*

EL CABALLERO Y LA DAMA CON OSTEOPOROSIS

Ariel Sánchez*

Centro de Endocrinología, Rosario.

Resumen

El propósito de este artículo es pasar revista a algunas diferencias en la epidemiología, la fisiopatología y la clínica de la osteoporosis en uno y otro sexo. La prevalencia de osteoporosis en varones de raza blanca se estima en 7%. La osteoporosis todavía es un problema poco reconocido en los hombres, y la mayoría de los varones fracturados no reciben tratamiento. La tasa de fracturas de muñeca aumenta dramáticamente en mujeres que transitan los primeros años de la postmenopausia, mientras que se mantiene siempre baja en varones de toda edad. Las fracturas vertebrales también aumentan rápidamente en mujeres de más de 50 años, y son más frecuentes en ellas que en los hombres, al igual que las fracturas de cadera. Las fracturas vertebrales también son comunes en varones ancianos; sin embargo, las tasas de incidencia caen con la mayor edad (al revés que en mujeres), quizá por el factor trauma; las tasas en varones mayores de 65 años son apenas la mitad que las tasas en mujeres. En el estudio LAVOS la prevalencia global de este tipo de fractura en mujeres argentinas mayores de 50 años fue de 17%; no hay estudios comparables en varones. Un tercio de todas las fracturas de cadera ocurre en hombres, y más hombres que mujeres mueren en el año post-fractura. Aunque los muy ancianos tienen el

mayor riesgo, casi la mitad de las fracturas de cadera en hombres se dan antes de los 80 años. En 7 estudios de incidencia de fracturas de cadera realizados en la Argentina, la tasa promedio fue de 298/100.000 mujeres y 118/100.000 varones de 50 ó más años, con un cociente M/V de 2,5. La diferencia podría estar en factores biomecánicos (diferente geometría en la sección de los huesos largos), y en la calidad del material (mejor mineralización del hueso cortical en hombres). Se han encontrado diferencias en los cambios del hueso trabecular con la edad, según el sexo: en mujeres, predomina la fenestración de las trabéculas; en los varones, predomina el adelgazamiento de las mismas. La disminución de hueso trabecular en el varón parece deberse más a un defecto en la formación que a un exceso de resorción. En general, el número de trabéculas está mejor preservado que en la mujer, lo que explicaría el menor riesgo de fracturas a lo largo de la vida. Es conocido el impacto de la cesación de la función ovárica sobre el hueso en la mujer. En hombres, tanto la testosterona como el estradiol biodisponibles declinan con el envejecimiento normal, y la pérdida ósea se correlaciona mejor con el estradiol biodisponible; el riesgo de fracturas en varones añosos aumenta cuanto más bajas son estas hormonas en suero. El estradiol es, pues, un determinante de la masa

* Dirección postal: San Lorenzo 876, 1er. piso, (2000) Rosario, SF, Argentina.
Correo electrónico: asanchez@cimero.org.ar



ósea en ambos sexos. Los factores de riesgo de osteoporosis (incluida la hipovitaminosis D) afectan igualmente a individuos de ambos sexos. Se analizan los criterios actuales para el diagnóstico y el tratamiento de la osteoporosis en hombres.

Palabras clave: osteoporosis; mujeres; varones; epidemiología; fisiopatología; diagnóstico; tratamiento

Summary

THE GENTLEMAN AND THE LADY WITH OSTEOPOROSIS

The purpose of this review is to analyze some differences in epidemiology, pathophysiology, and clinical features of osteoporosis in men and women. The prevalence of osteoporosis in white men is estimated around 7%. However, osteoporosis is not seen as a problem in men, and most fractured men do not receive proper treatment. The rate of wrist fractures increases dramatically in women during the early postmenopausal years, while it remains low among men of all ages. Also, vertebral fractures increase rapidly after the menopause, and they are more frequent in women than in men, as are hip fractures. Vertebral fractures are common among elderly men; however, incidence rates fall with age, while the contrary occurs in women: rates in males older than 65 years are half the rates in women of the same age range. The LAVOS study showed a 17% global prevalence of vertebral fractures among Argentinean women older than 50 years; there are no comparable studies in men. In 7 studies of hip fracture incidence in Argentina, the mean annual rate was 298/100,000 women and 188/100,000 men aged 50 years or more, with a 2.5 F/M ratio. The difference could be explained by biomechanical factors, and by different quality of bone in both sexes. With aging, trabecular bone shows more fenestration in women, and more thinning in

men, who tend to have an decrease in bone formation rather than an increase in bone resorption. Men appear to have a better preservation of trabecular number, which could help explain the lower fracture incidence they present throughout life. The impact of the cessation of ovarian function on bone is well known. In men, both bioavailable testosterone and estradiol decline with normal aging, and bone loss correlates better with falls in free estradiol. Among elderly males, the rate of fracture increases as serum gonadal steroid levels fall. Thus, estradiol seems to be a main determinant of bone mass in both sexes. Risk factors for osteoporosis (including vitamin D deficiency) are similar in men and women. Present-day diagnostic criteria and treatment strategies are briefly presented.

Key words: osteoporosis; men; women; epidemiology, pathophysiology; diagnosis; treatment

Algunos datos epidemiológicos

La prevalencia de osteoporosis en varones de raza blanca se estima en 7%. La osteoporosis todavía es un problema poco reconocido en los hombres, y la mayoría de los varones fracturados no reciben tratamiento.¹ Los estudios epidemiológicos ya clásicos de Cooper y Melton mostraron las diferencias en la distribución de fracturas en ambos sexos: la tasa de fracturas de muñeca aumenta dramáticamente en mujeres que transitan los primeros años de la postmenopausia, mientras que se mantiene siempre baja en varones de toda edad. Las fracturas vertebrales también aumentan rápidamente en mujeres de más de 50 años, y son más frecuentes en ellas que en los hombres, al igual que las fracturas de cadera.²

Las fracturas vertebrales también son comunes en varones ancianos; sin embargo, las tasas de incidencia caen con la mayor edad (al revés que en mujeres), quizá por el factor trauma. Las tasas en varones mayo-

res de 65 años son apenas la mitad que las tasas en mujeres.³

En un estudio hecho durante la década del 90 en el condado de Saunders (Nebraska, EUA), la prevalencia de fracturas vertebrales en hombres de 50 años de edad triplicaba a la de mujeres de la misma edad. No deben sorprender estos resultados, ya que el estudio se hizo en habitantes rurales.⁴ Recientemente se publicó el estudio LAVOS que analizó la prevalencia de fracturas vertebrales en mujeres latinoamericanas.⁵ El tamizaje radiológico mostró que a los 50-59 años 6,9% de las mujeres tienen fracturas vertebrales; la tasa sube al 10,2% en las que tienen 60-69 años, a 18% en las que tienen 70-79 años, y a 27,8% en las de más de 80 años de edad. La prevalencia global de este tipo de fractura en mujeres mayores de 50 años fue de 14,7% (17% en la Argentina), y no hubo diferencias significativas entre los diferentes países ni entre las distintas franjas etarias consideradas. No hay estudios epidemiológicos comparables en varones de esta región del mundo.

Un tercio de todas las fracturas de cadera, a nivel mundial, ocurre en hombres, y más hombres que mujeres mueren en el año postfractura. Aunque los muy ancianos tienen el mayor riesgo, casi la mitad de las fracturas de cadera en hombres se dan antes de los 80 años.⁶

Más de un tercio de las fracturas de cadera en hombres ocurre en geriátricos, y 20% de los fracturados tienen una segunda fractura de cadera.³

En 7 estudios de incidencia de fracturas de cadera realizados en la Argentina, el cociente mujeres/varones fue de 2,5 en promedio.⁷

En ambos sexos, debemos considerar que hay factores distintos de la DMO que condicionan las fracturas: en varones con fractura vertebral reciente, p. ej., 41% tienen DMO normal, y 46% tienen osteopenia; sólo 13% tienen osteoporosis densitométrica.^{8,9} En 38 varones argentinos con fractura vertebral (edad promedio 64 años, rango 47-

83) cuya densidad mineral ósea (DMO) fue estudiada con DXA, se la encontró disminuida en todas las áreas, pero sobre todo en la columna lumbar (28% por debajo del valor promedio en sujetos testigo; Z-score: -2,9). Otro hallazgo de ese estudio fue el menor tamaño vertebral en los hombres fracturados que en controles.¹⁰

Datos epidemiológicos recientes sugieren que a una determinada DMO, el riesgo de fractura es similar para hombres y mujeres de similar edad.¹⁰ Sin embargo, los varones con fractura de cadera tienen DMO más alta que las mujeres con igual tipo de fractura: en varones con fractura el percentilo 90 de DMO femoral fue de 0,788 g/cm², 7% más alta que el hallado en mujeres fracturadas.¹² Ambos sexos presentan el mismo umbral de inestabilidad: un estudio hecho en una cohorte de hombres y mujeres con evaluación biomecánica a partir de densitometría femoral (HSA-DXA) y seguidos prospectivamente mostró que aunque los hombres se fracturan a mayor DMO, el cociente de deformabilidad o arrugamiento (*buckling ratio*) es el mismo en varones y mujeres.¹³

Se acepta que por cada desvío estándar en que desciende la DMO en cadera total, el riesgo relativo de fractura de cadera aumenta 2 veces en varones y 3 veces en mujeres.

¿Por qué los hombres se fracturan menos que las mujeres?

Una de las explicaciones posibles es la diferente geometría de los huesos largos: los varones tienen huesos más anchos, y el material cortical está más periferizado: a igual área seccional (o DMO), la resistencia es mayor. También puede influir la diferencia en la calidad del material: un estudio micro-radiográfico reciente muestra que en el fémur proximal la mineralización de los osteones y de la zona interosteonal es mayor en mujeres jóvenes que en varones jóvenes, pero que después de los 65 años la relación se invierte.¹⁴



Factores de riesgo de fractura

Los factores de riesgo a considerar en ambos sexos son bajo peso, fractura previa, padres con fractura de cadera, tabaquismo actual, tratamiento previo o actual con glucocorticoides, artritis reumatoide u otras enfermedades capaces de causar osteoporosis secundaria, consumo excesivo de alcohol (3 ó más dosis por día), y baja DMO.¹⁵

Un estudio argentino identificó los siguientes factores de riesgo en hombres con fractura de cadera: enfermedad de Parkinson, síndrome depresivo, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, medicación ansiolítica, antecedente de fracturas previas.¹⁵

Un estudio caso-control realizado en Rosario, Argentina en pacientes ancianos identificó los siguientes factores de riesgo de fractura de cadera: deterioro cognitivo y antecedentes de caídas en el año previo; en mujeres, el ocuparse de tareas domésticas también aumentó el riesgo. Fueron factores protectores la buena ingesta de calcio en la juventud y en la actualidad, y el uso de ayuda mecánica para deambular.¹⁷ En cambio, en los estudios de Amsterdam y Rotterdam la ayuda mecánica resultó un factor de riesgo.¹⁸ El espesor de los tejidos blandos peri-trocantéricos parece ser un factor protector contra la fractura de cadera en mujeres que sufren caídas.¹⁸ Sin embargo, esto no se pudo comprobar en hombres.²⁰

Las calcificaciones aórticas son un fuerte factor de riesgo de fractura en varones mayores, según el estudio MINOS; este nuevo factor es independiente de la edad, de la DMO, del índice de masa corporal, caídas, comorbilidades y medicamentos.²¹ En tanto, en mujeres añosas la hipertensión arterial, el antecedente de ACV y la insuficiencia cardíaca duplican el riesgo de sufrir fractura de cadera.²²

Fracturas y mortalidad

La tasa de mortalidad en varones con fractura de cadera trepa casi al 40%. El 40% de las fracturas de cadera en hombres ocurre en

geriátricos, y 20% de los fracturados tienen una segunda fractura de cadera.³

En mujeres con cifosis, la tasa de mortalidad está aumentada: en 610 mujeres, con edad entre 67 y 93 años, seguidas por 14 años (promedio) en 4 centros de los EUA, por cada desvío estándar de aumento de la cifosis dorsal aumentó en 14% el riesgo de muerte (aunque sólo en las mujeres con fracturas vertebrales prevalentes).²³

En un estudio reciente, después de una primera fractura de cadera 2,5% de los pacientes sufrieron una segunda fractura de cadera dentro del siguiente año, y 8,2% la tuvieron en los siguientes 5 años; la tasa de refractura fue mucho más alta en hombres. La mortalidad en el año después de la primera fractura fue del 15,9% comparada con una tasa de mortalidad anual del 24,1% después de una segunda fractura. El riesgo de una segunda fractura de cadera aumenta con la edad y con un peor estado funcional.²⁴ Se puede concluir, entonces, que entre quienes sobreviven a una primera fractura de cadera la incidencia de una segunda fractura es sustancial. Además, la mortalidad después de la segunda fractura es 60% superior a la que sigue a la primera. Otros datos epidemiológicos recientes confirman que la mortalidad está aumentada en ambos sexos durante 5-10 años después de una fractura por fragilidad: la tasa es de 7,8 por 100 personas-año en mujeres, y de 11,3 por 100 personas-año en varones.²⁵

Cambios en la estructura del hueso en varones con la edad

Se han encontrado diferencias en los cambios del hueso trabecular con la edad, según el sexo: en mujeres, predomina la fenestración de las trabéculas; en los varones, predomina el adelgazamiento de las mismas.²⁵

Estudios en el radio ultradistal con pQCT de alta resolución muestran muy buena conservación de la estructura trabecular hasta los 50-60 años. La disminución de hueso trabecular en el varón parece deberse más a un defecto en la formación que a un exceso de

resorción. En general, el número de trabéculas está mejor preservado que en la mujer, lo que explicaría el menor riesgo de fracturas a lo largo de la vida.²⁷

La disminución de hueso cortical en el varón es más tardía que en la mujer: 85% ocurre después de los 50 años, en asociación con menores concentraciones séricas de testosterona y estradiol biodisponibles, y mayor tasa de remodelación.³ Sin embargo, según un reciente estudio la pérdida de hueso en fémur proximal comienza en varones ya desde los 20 años, al igual que lo que ocurre en mujeres.²⁸

¿Qué ocurre con las causas de osteoporosis?

En ambos sexos debemos considerar siempre las formas secundarias de osteoporosis. Aproximadamente la mitad de los varones tienen osteoporosis secundarias, y las causas más frecuentes son los corticoides, el alcoholismo y el hipogonadismo.^{3, 29}

Las hormonas sexuales y la osteoporosis

Se sabe que en mujeres ancianas un estradiol sérico inferior a 10 pg/ml conlleva una mayor tasa de pérdida de DMO en cuello femoral.^{30,31} En la mujer, se necesita una dosis 4 veces mayor de estrógenos para preservar el hueso trabecular que la necesaria para preservar el cortical.³²

En el hombre, y como se expresó más arriba, el hipogonadismo es causa frecuente de osteoporosis. Y al referirnos a esto, aludimos a los bajos niveles de testosterona biodisponible, pero también a los bajos niveles de estradiol que son su consecuencia: 17% de hombres mayores de 60 años tienen testosterona sérica inferior a 300 ng/dl,³³ y 64% tienen estradiol sérico por debajo de 11 pg/ml.²⁹

Los estrógenos tienen un rol más importante que los andrógenos para el inicio del estirón puberal, la fusión epifisaria al final de la pubertad, el crecimiento longitudinal, la obtención del pico de masa ósea, y la remodelación normal en varones jóvenes. Por su parte, los

andrógenos son importantes para la expansión perióstica y la adquisición del tamaño óseo adulto. También determinan una mayor masa muscular, la que indirectamente contribuye a una mayor masa ósea.²⁹

Los efectos del estrógeno sobre el metabolismo óseo se resumen así: inhibe la activación del remodelado y la iniciación de nuevas unidades multicelulares básicas (BMUs), inhibe la diferenciación de los osteoclastos y promueve su apoptosis; promueve la diferenciación de progenitores hacia osteoblastos y previene la apoptosis de éstos.³⁴

Queda claro, entonces, que en hombres tanto la testosterona como el estradiol biodisponibles declinan con el envejecimiento normal, que la pérdida ósea se correlaciona mejor con el estradiol biodisponible, y que el riesgo de fracturas en varones añosos aumenta cuanto más bajas son estas hormonas en suero.³⁵

El estradiol es, pues, un determinante de la masa ósea en ambos sexos.³⁵

¿Hay un umbral para el efecto óseo del estrógeno en varones adultos normales? La respuesta es afirmativa: la tasa de pérdida ósea y el riesgo de fractura tienden a ser mayores en hombres con estradiol inferior a 20-25 pg/ml.³⁷ Ha llegado, pues, el momento de aceptar que lo que es bueno para el esqueleto de la gansa, también lo es para el esqueleto del ganso, como dijo con humor un editorialista.³⁸

Hipovitaminosis D en el varón

La deficiencia de vitamina D es común en hombres mayores (entendiendo deficiencia como la presencia de niveles séricos de 25OHD inferiores a 20 ng/ml); en el estudio *MrOs* la prevalencia fue de 26%. Es especialmente prevalente en varones obesos y sedentarios, y en los que habitan en latitudes altas.³⁸ En los hombres deficientes la tasa de pérdida ósea fue más acentuada.⁴⁰

Diagnóstico de osteoporosis en hombres

El criterio del Comité de Expertos de la OMS para calificar los resultados de la densitometría ósea es aplicable a los hombres.⁴¹



Sin embargo, se han propuesto fórmulas para “feminizar” el T-score obtenido en varones.⁴² Esta es una cuestión abierta que no carece de importancia práctica en lo epidemiológico y en lo individual: en la *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III* en población norteamericana de más de 50 años, se halló que 6% de los hombres tenían osteoporosis y 47% tenían osteopenia; John Kanis aclara que si se hubieran tomado los rangos habituales para mujeres, la prevalencia de osteoporosis y osteopenia en varones habría resultado un 66% inferior.⁴³

Los marcadores del recambio óseo PINP y β -CTX (no TRACP5b) indican mayor tasa de pérdida de DMO femoral, pero no se asocian independientemente con el riesgo de fractura de cadera o de huesos largos, según el estudio MrOS.⁴⁴

¿A qué varones estudiar?

Se recomienda estudiar a varones de más de 60 años, sobre todo con ciertos factores de riesgo: edad avanzada (> 70 años), delgadez (IMC < 20 kg/m²), pérdida de peso (10% con respecto al juvenil), sedentarismo, terapia de supresión androgénica, tratamiento con corticoides, o antecedentes de fractura por fragilidad.¹

Osteoporosis y cáncer

En el estudio de Rotterdam se observó una relación inversa entre la DMO de columna lumbar y trocánter (no de cuello femoral) y el riesgo de cáncer de mama en mujeres.⁴⁵ Tanto en hombres como en mujeres con cánceres hormonodependiente (próstata, mama) el uso de potentes inhibidores de la liberación de gonadotrofinas o de inhibidores de la aromataasa produce castraciones químicas que llevan a rápidas y profundas pérdidas de DMO. Así, en mujeres premenopáusicas con cáncer de mama en estadio temprano trata-

das con agonistas de la GnRH la tasa anual de pérdida llega a ser del 8%; y la falla ovárica inducida por la quimioterapia produce una tasa de pérdida levemente inferior, pero comparable.⁴⁶

En varones con cáncer de próstata no metastático sometidos a terapia de deprivación androgénica (TDA) la pérdida de DMO promedio el 5% anual. Según estudios retrospectivos en pacientes no protegidos por antirresortivos, el riesgo de fractura aumenta (21-37%). En pacientes que inician la TDA y que tienen baja DMO conviene iniciar prevención de OP con raloxifeno o bifosfonatos.⁴⁶

Tratamiento de la osteoporosis

Mientras aproximadamente 30% de mujeres con osteoporosis reciben tratamiento, sólo lo reciben 5-10% de los hombres. Es verdad que los estudios demostrando la eficacia terapéutica antifractura de diversos fármacos en varones son escasos.⁴⁷

Si hay hipogonadismo, la THR es una opción válida, en ausencia de contraindicaciones. Los SERMS han demostrado su eficacia también en hombres. Los bifosfonatos son ampliamente usados. La teriparatida es útil en la osteoporosis del varón.⁴⁸ Hay pocos datos sobre ranelato de estroncio en hombres, aunque está en marcha un estudio clínico de fase III. Luego de completar el tratamiento con teriparatida en varones, resulta menos urgente que en mujeres indicar un antirresortivo (raloxifeno, bifosfonato), porque la tasa de pérdida ósea ulterior es menor que en mujeres.⁴⁹

Cuando la naturaleza hace distinciones, es nuestro deber identificarlas y aprovecharlas.

(Recibido: diciembre de 2009.

Aceptado: febrero de 2010)

Referencias

1. Qaseem A, Snow V, Shekelle P, Hopkins R Jr, Forciea MA, Owens DK; Clinical Efficacy Assessment Subcommittee of the American College of Physicians. Screening for osteoporosis in men: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2008; 148: 680-4.
2. Cooper C, Melton LJ 3rd. Epidemiology of osteoporosis. *Trends Endocrinol Metab* 1992; 3: 224-9.
3. Ebeling PR. Osteoporosis in men. *N Engl J Med* 2008; 358: 1474-82.
4. Davies KM, Stegman MR, Heaney RP, Recker RR. Prevalence and severity of vertebral fracture: the Saunders County Bone Quality Study. *Osteoporos Int* 1996; 6: 160-5.
5. Clark P, Cons-Molina F, Delezé M, et al. The prevalence of radiographic vertebral fractures in Latin American countries: the Latin American Vertebral Osteoporosis Study (LAVOS). *Osteoporos Int* 2009; 20: 275-82.
6. Morosano M, Masoni A, Sánchez A. Incidence of hip fractures in the city of Rosario, Argentina. *Osteoporos Int* 2005; 16: 1339-44.
7. Spivacow R, Sánchez A. Epidemiology, costs, and burden of osteoporosis in Argentina, 2009. *Arch Osteoporos* 2010; DOI 10.1007/s11657-010-0038-4
8. Wainwright SA, Marshall LM, Ensrud KE, y col., for the Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Hip fracture in women without osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2787-93.
9. Freitas SS, Barrett-Connor E, Ensrud KE, Fink HA, Bauer DC, Cawthon PM, Lambert LC, Orwoll ES; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Research Group. Rate and circumstances of clinical vertebral fractures in older men. *Osteoporos Int* 2008; 19: 615-23.
10. Vega E, Ghiringhelli G, Mautalen C, Rey Valzacchi G, Scaglia H, Zylberstein C. Bone mineral density and bone size in men with primary osteoporosis and vertebral fractures. *Calcif Tissue Int* 1998; 62: 465-9.
11. Anónimo: Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res* 2002; 17: 716-24.
12. Vega E, Mautalen C, Merlo C, Poitevin L. Bone mineral density in men who have sustained a hip fracture is higher than in women (Abstract). *Bone* 2001; 29: 302.
13. Rivadeneira F, Zillikens MC, De Laet CE, y col. Femoral neck BMD is a strong predictor of hip fracture susceptibility in elderly men and women because it detects cortical bone instability: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 1781-90.
14. Bergot C, Wu Y, Jolivet E, Zhou LQ, Laredo JD, Bousson V. The degree and distribution of cortical bone mineralization in the human femoral shaft change with age and sex in a microradiographic study. *Bone* 2009; 45: 435-42.
15. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, y col. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int* 2005; 16: 581-9.
16. Vega EM, Mautalen CA, Carrilero P, Wittich A, Otaño Sahores A, Silberman FS. Fracturas del fémur proximal: factores de riesgo, densidad mineral ósea, composición corporal y alteraciones bioquímicas en pacientes y controles de similar edad. *Medicina (B Aires)* 1996; 56: 353-62.
17. Masoni A, Morosano M, Tomat MF, Pezzotto SM, Sánchez A. Asociación entre fracturas de cadera y factores de riesgo de osteoporosis. Análisis multivariado. *Medicina (B Aires)* 2007; 67: 423-8.
18. Pluijm SM, Koes B, de Laet C, y col. A simple risk score for the assessment of absolute fracture risk in general practice based on two longitudinal studies. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 768-74.
19. Bouxsein ML, Szulc P, Munoz F, Thrall E, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Contribution of trochanteric soft tissues to fall



- force estimates, the factor of risk, and prediction of hip fracture risk. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 825-31.
20. Nielson CM, Bouxsein ML, Freitas SS, Ensrud KE, Orwoll ES; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Research Group. Trochanteric soft tissue thickness and hip fracture in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 491-6.
 21. Szulc P, Kiel DP, Delmas PD. Calcifications in the abdominal aorta predict fractures in men: MINOS study. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 95-102.
 22. Sennerby U, Farahmand B, Ahlbom A, Ljunghall S, Michaëlsson K. Cardiovascular diseases and future risk of hip fracture in women. *Osteoporos Int* 2007; 18: 1355-62.
 23. Kado DM, Lui LY, Ensrud KE, Fink HA, Karlamangla AS, Cummings SR; Study of Osteoporotic Fractures. Hyperkyphosis predicts mortality independent of vertebral osteoporosis in older women. *Ann Intern Med* 2009; 150: 681-7.
 24. Berry SD, Samelson EJ, Hannan MT, y col. Second hip fracture in older men and women: the Framingham Study. *Arch Intern Med* 2007; 167: 1971-6.
 25. Bliuc D, Nguyen ND, Milch VE, Nguyen TV, Eisman JA, Center JR. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA* 2009; 301: 513-21.
 26. Szulc P. Pathophysiology and diagnosis of osteoporosis in aging men. *BoneKEY* 2008; 5: 370-80.
 27. Khosla S, Riggs BL, Atkinson EJ, y col. Effects of sex and age on bone microstructure at the ultradistal radius: a population-based noninvasive in vivo assessment. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 124-31.
 28. Nordström P, Neovius M, Nordström A. Early and rapid bone mineral density loss of the proximal femur in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1902-8.
 29. Gennari L, Bilezikian JP. Osteoporosis in men. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36: 399-419.
 30. Stone K, Bauer DC, Black DM, Sklarin P, Ensrud KE, Cummings SR. Hormonal predictors of bone loss in elderly women: a prospective study. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1167-74.
 31. Mastaglia SR, Bagur A, Royer M, Yankelevich D, Sayegh F, Oliveri B. Effect of endogenous estradiol levels on bone resorption and bone mineral density in healthy postmenopausal women: a prospective study. *Climacteric* 2009; 12: 49-58.
 32. Ettinger B, Genant HK, Cann CE. Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low-dosage estrogen with calcium. *Ann Intern Med* 1987; 106: 40-5.
 33. Orwoll E, Lambert LC, Marshall LM, y col. Testosterone and estradiol among older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1336-44.
 34. Khosla S. Estrogen and bone: insights from estrogen-resistant, aromatase-deficient, and normal men. *Bone* 2008; 43: 414-7.
 35. LeBlanc ES, Nielson CM, Marshall LM, y col.; the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Group. The effects of serum testosterone, estradiol, and sex hormone binding globulin levels on fracture risk in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3337-46.
 36. Khosla S, Melton LJ 3rd, Achenbach SJ, Oberg AL, Riggs BL. Hormonal and biochemical determinants of trabecular microstructure at the ultradistal radius in women and men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 885-91.
 37. Gennari L, Merlotti D, Martini G, y col. Longitudinal association between sex hormone levels, bone loss, and bone turnover in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5327-33.
 38. Bilezikian JP. What's good for the goose's skeleton is good for the gander's skeleton

- (Editorial). *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1223-5.
39. Orwoll E, Nielson CM, Marshall LM, y col.; Osteoporotic fractures in men (MrOS) Study Group. Vitamin D deficiency in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 1214-22.
40. Ensrud KE, Taylor BC, Paudel ML, y col.; Osteoporotic Fractures in Men Study Group. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and rate of hip bone loss in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2773-80.
41. Lewiecki EM, Gordon CM, Baim S, y col. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. *Bone* 2008; 43: 1115-21.
42. Ott SM. Osteoporosis in men (letter). *N Engl J Med* 2008; 359: 868.
43. Kanis JA, Johnell O, Oden A, De Laet C, Mellstrom D. Diagnosis of osteoporosis and fracture threshold in men. *Calcif Tissue Int* 2001; 69: 218-21.
44. Bauer DC, Garnero P, Harrison S, y col.; For the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Research Group. Biochemical markers of bone turnover, hip bone loss and fracture in older men: the MrOS study. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 2032-8.
45. van der Klift M, de Laet CE, Coebergh JW, Hofman A, Pols HA; Rotterdam Study. Bone mineral density and the risk of breast cancer: the Rotterdam Study. *Bone* 2003; 32: 211-6.
46. Higano CS. Androgen-deprivation-therapy-induced fractures in men with non-metastatic prostate cancer: what do we really know? *Nat Clin Pract Urol* 2008; 5: 24-34.
47. Eisman JA. Osteoporosis prevention and treatment in elderly men-a cost-effective strategy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 198-9.
48. Orwoll ES, Scheele WH, Paul S, y col. The effect of teriparatide [human parathyroid hormone (1-34)] therapy on bone density in men with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 9-17.
49. Leder BZ, Neer RM, Wyland JJ, y col. Effects of teriparatide treatment and discontinuation in postmenopausal women and eugonadal men with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2915-21.



FE DE ERRATAS

En el artículo “Incidencia de fracturas de cadera en Corrientes, Bariloche y Comodoro Rivadavia” de A. Bagur y col., publicado en el vol. 5, N° 2 (2009) había tres errores numéricos en el resumen. El texto correcto del mismo va a continuación:

“Resumen: La epidemiología de las fracturas de cadera fue estudiada durante 1 año en las ciudades de Corrientes, Bariloche y Comodoro Rivadavia, ubicadas en el nordeste y sur de la Argentina. Los resultados fueron comparados con estudios realizados previamente en el norte y centro del país. Sesenta y siete pacientes (43 mujeres, 24 hombres) de Corrientes, 36 pacientes (23 mujeres, 13 hombres) de Bariloche y 34 pacientes (26 mujeres, 8 hombres) de Comodoro Rivadavia de 50 años o más sufrieron una fractura traumática de cadera. La incidencia de fracturas de cadera en las mujeres y los hombres fue la siguiente: Corrientes, 144 y 105; Bariloche, 268 y 181; y Comodoro Rivadavia, 262 y 78 fracturas de cadera /100.000 habitantes.año, respectivamente. La incidencia de fracturas de cadera en las mujeres del sur del país (Bariloche y Comodoro Rivadavia) fue similar entre sí pero inferior a los estudios realizados previamente. Los hombres de Comodoro Rivadavia tuvieron una incidencia inferior a la de Bariloche. La incidencia de fracturas de cadera en las mujeres de la ciudad de Corrientes fue la más baja. Los hombres de esta ciudad tuvieron una incidencia similar a la registrada previamente en otros estudios realizados en la región central. Los nuevos datos aportan información enriquecedora para completar la ya existente en el norte y centro de nuestro extenso territorio. Futuros estudios sobre factores de riesgo, realizados con similar metodología, serían de utilidad para poder comprender mejor las diferencias encontradas.”

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Biol. Luciana Bohl *

Tissue-Selective Regulation of Aromatase Expression by Calcitriol: Implications for Breast Cancer Therapy.

(Regulación tejido-selectiva de la expresión de la aromatasa por el Calcitriol: implicancias para la terapia del cáncer de mama).

Krishnan AV, Swami S, Peng L, Wang J, Moreno J, Feldman D. Endocrinology; 2010 151(1):32-42.

Se ha visto que las mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama tienen mayores niveles de estrógenos en el tejido tumoral que en el suero, lo cual indica que una acumulación o la síntesis local de estrógenos podrían estar dirigiendo el crecimiento tumoral. Esto llevó al uso de inhibidores de la aromatasa (AIs), enzima que cataliza la síntesis de estrógenos a partir de precursores androgénicos, como agentes terapéuticos para prevenir la progresión o recurrencia del cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas luego de la terapia primaria. El problema es que los AIs bloquean la síntesis global de estrógenos provocando un efecto negativo sobre otros tejidos, como el óseo, donde éstos son necesarios para el mantenimiento de la mineralización. Así, se han desarrollado los moduladores selectivos de aromatasa (SAMs) para contrarrestar el efecto de los AIs, los MsSA inhiben la expresión de esta enzima en el tejido mamario pero no en otros sitios, como por ejemplo el hueso.

Por otro lado, los moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERMs) son compuestos estructuralmente diferentes que actúan como agonistas o antagonistas de los

receptores de estrógenos en los órganos blancos. Los SERMs, al igual que los SAMs, también han sido intensamente estudiados durante esta última década para el tratamiento de diferentes situaciones asociadas con el envejecimiento, como el cáncer hormono-dependiente y la osteoporosis. El tamoxifeno y el toremifeno son SERMs que tienen efectos beneficiosos sobre la densidad mineral ósea y los lípidos del suero y son utilizados actualmente para tratar el cáncer de mama avanzado en mujeres posmenopáusicas. El raloxifeno es el único SERMs aprobado en el mundo entero para la prevención y el tratamiento de la osteoporosis y las fracturas vertebrales en ese grupo de mujeres. Sin embargo, tamoxifeno y toremifeno, pueden ser responsables de algunos efectos adversos potencialmente serios como trastornos tromboembólicos y cáncer de útero, en el caso del tamoxifeno. Por ello, actualmente se está buscando el SERMs "ideal" que posea efectos estrógenicos sobre el hueso y los lípidos del suero, efectos neutrales en el útero, efectos antiestrogénicos sobre el tejido mamario y sin consecuencias adversas.¹

Los autores de este trabajo demostraron pre-

* 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.



viamente que el calcitriol (metabolito activo de la vitamina D) disminuye la expresión de la aromatasa en líneas celulares de cáncer de mama y reduce los niveles de prostaglandinas, las cuales son las mayores estimuladoras de la producción de estrógenos. En esos estudios, ellos notaron que la regulación de la expresión de la aromatasa por el calcitriol es específica de tejido, con una supresión significativa en células de cáncer de mama y adipocitos que rodean los tumores de mama, y un incremento substancial en células de osteosarcoma (modelo de células óseas).

El objetivo del trabajo fue demostrar que combinaciones de calcitriol e AIs causan una inhibición cooperativa del crecimiento en algunas líneas celulares de cáncer de mama, lo que podría convertirlos en una estrategia terapéutica útil en este tipo de cáncer. Además, se destacan otros beneficios del uso del calcitriol, como por ejemplo, que actúa como un modulador selectivo de la aromatasa para disminuir selectivamente la transcripción de esta enzima en células de cáncer de mama, que además reduce los niveles de receptores de estrógenos suprimiendo la señalización estrogénica y que inhibe varias vías señalizadoras de crecimiento.

Los investigadores estudiaron el efecto del calcitriol sobre diversas líneas celulares de cáncer de mama humano (MCF-7, MDA-MB-231, T47D y ZR-75-1), de osteosarcoma humano (MG-63 y Saos-2), de cáncer de ovario humano (OVCAR-3 y SKOV-3) y en fibroblastos de ratón (3T3-L1), los cuales pueden ser inducidos a diferenciarse en

adipocitos maduros cambiando las condiciones de cultivo. Además, utilizaron un modelo de tumor mamario en ratones "nude".

Los autores concluyen que el calcitriol regula la expresión de la aromatasa en una manera tejido-selectiva, ya que disminuye la expresión de la enzima en células de cáncer de mama y en el tejido adiposo que rodea el tumor e incrementa la expresión de la misma en células derivadas del hueso, actuando así como un modulador selectivo de aromatasa. El mecanismo a través del cual el calcitriol disminuye la expresión de la aromatasa en las células de cáncer de mama implica una represión directa de la transcripción a través de elementos de respuesta al receptor de vitamina D vía promotor II y un efecto indirecto, mediante la reducción de los niveles de prostaglandina sintetasa 2 (estimula de la transcripción de la aromatasa en células de cáncer de mama). Además, los autores proponen que el uso del calcitriol como modulador selectivo de aromatasa podría incrementar la síntesis local de estrógenos en el hueso disminuyendo el efecto osteoporótico de los AIs. Así, la administración de calcitriol en combinación con AIs podría ser un enfoque terapéutico beneficioso en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama.

Referencias

1. Gennari L, Merlotti D, Valleggi F, Martini G, Nuti R. Selective estrogen receptor modulators for postmenopausal osteoporosis: current state of development. *Drugs Aging*, 2007; 5:361-79.

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Dra. Ana María Marchionatti *

Additional beneficial effects of recombinant growth hormone in alendronate-treated patients with idiopathic osteoporosis.
(Efectos benéficos de la adición de hormona de crecimiento recombinante en pacientes con osteoporosis idiopática tratados con alendronato).

Francioni Lopes R, Medina Coeli C, Abisman M, Fleiuss L. Endocrine Journal, 2009; 56: 851-8.

La osteoporosis es una enfermedad en la cual la pérdida de masa ósea se origina por un desbalance entre la resorción y formación ósea. La osteoporosis idiopática (OI) es una rara condición que afecta a ambos sexos, mujeres antes de la menopausia y hombres menores de 65 años de edad. El diagnóstico excluye todas las posibles causas de osteoporosis secundaria. La presentación clínica es variable, desde pacientes asintomáticos con baja densidad ósea, a pacientes osteoporóticos sintomáticos con múltiples fracturas. La patogénesis que caracteriza a esta enfermedad es un inadecuado pico de masa ósea y alta pérdida de hueso.¹ Ambos fenómenos se relacionan con baja concentración del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) en suero y hueso y disfunción osteoblástica, conduciendo esto último a una limitada formación ósea. Es probable que IGF-1 sea uno de los diversos factores que actúan en el proceso de remodelado óseo y que el polimorfismo del promotor del gen se correlacione a alto riesgo de fractura en edad temprana.² Las razones de los bajos niveles hallados de IGF-1 en la circulación de pacientes con OI permanece no claro aún. El tratamiento con drogas antirresortivas

como los bifosfonatos inducen un limitado incremento en la densidad ósea y reducen el riesgo de fractura pero nunca conducen a una recuperación total de la arquitectura del hueso; mientras que drogas anabólicas que estimulan directamente la formación de osteoblastos en el hueso parecen ser más promisorias para revertir la osteoporosis.

La hormona de crecimiento (HC) ha sido usada como un buen agente anabólico en pacientes deficientes en HC y en algunas situaciones donde el principal factor que causa la osteoporosis fue la disminución de la función osteoblástica, como por ejemplo en la anorexia nerviosa, en la edad avanzada o la OI. Esta hormona regula fisiológicamente la producción de IGF-1 en hígado. Niños deficientes en HC presentan valores bajos de IGF-1 en suero y nunca alcanzan el pico de masa ósea en la adultez, salvo luego de recibir tratamiento con HC.

Los principales estudios del efecto terapéutico de la HC sobre el hueso se realizaron en adultos deficientes en esta hormona, donde al comienzo se vio un claro incremento de los marcadores bioquímicos pero la neta ganancia de hueso se dio posterior al año de tratamiento.

* 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.



En este trabajo llevado a cabo en pacientes con OI, se estudió el efecto de la adición de HC recombinante humana (HCrh) durante un año a pacientes que estaban recibiendo un tratamiento prolongado con alendronato. El protocolo de administración de drogas que recibían los pacientes era el siguiente: 70 mg/semana de alendronato más 1000 mg/día de carbonato de calcio y 400 U/día de vitamina D. Al incorporarse al nuevo protocolo comenzaron a recibir diariamente 2 UI (0,65 mg) de HCrh durante 12 meses.

El tratamiento con alendronato se mantuvo durante los 12 meses de la terapia con HCrh debido a la hipótesis de que los bifosfonatos pueden prevenir el efecto inicial, deletéreo y transitorio del recambio óseo inducido cuando se comienza un tratamiento con HCrh. El efecto anabólico de esta hormona se evidencia recién después del primer año de administración.

Se recolectaron durante el estudio muestras para analizar el N-telopéptido del colágeno tipo 1 (NT1C), fosfatasa alcalina ósea (FAO) e IGF-1. La densidad mineral ósea (DMO) fue determinada al inicio del tratamiento y al año del comienzo del mismo. Los marcadores bioquímicos se hallaron en el rango normal-bajo como es de esperar en pacientes que reciben tratamientos crónicos con alendronato. El IGF-1 en suero aumentó en todos los pacientes pero las variaciones no fueron significativas. FAO tampoco mostró cambios significativos, mientras que sí se observó un incremento significativo en orina del NT1C a los 45 días post-tratamiento con HCrh y tendió a retornar al valor basal a los 12 meses. Además se vio que el alendronato no previno la inducción inicial del recambio óseo producida por HCrh, como lo demuestra el elevado incremento en orina de la relación N-telopéptido/creatinina a los 45 días del comienzo del tratamiento, pero quizás contribuye a la normalización de la resorción ósea después de 1 año de tratamiento combinado. Comparando el porcentaje de cambios en las DMO durante el último año de tratamiento con alendro-

nato y las obtenidas luego de adicionar HCrh, se observó un efecto positivo sobre columna lumbar en 2/3 de los pacientes, con un porcentaje de incremento de más de 1,5%. Estos resultados están en concordancia con otros realizados en hombres que padecían OI, en los cuales se halló un incremento en la DMO solamente de columna lumbar luego del tratamiento con HCrh.³ Todos los pacientes hombres pero sólo una de cada tres mujeres respondieron al tratamiento de la terapia combinada con una ganancia neta de hueso en espina lumbar. Quizás esto se deba a la diferencia de géneros con respecto a la respuesta del esqueleto a la terapia con HC. Aunque el mecanismo de acción no está claro aún, probablemente sea debido a un efecto diferente de acción sobre el esqueleto de las hormonas sexuales esteroideas.⁴

En conclusión la importancia de este estudio radica en que es la primera investigación que se realiza para evaluar el efecto de la administración conjunta de HCrh y alendronato sobre el recambio óseo. Si bien como demuestran los resultados, no hay una ganancia neta de hueso en cuello femoral, es esperanzador para pacientes que padecen OI ya que pueden incrementar la densidad ósea de espina lumbar y disminuir el riesgo de fractura. Más estudios usando este régimen de tratamiento por períodos prolongados serán necesarios para definir el real efecto de la HCrh y alendronato sobre la densidad ósea.

Referencias

1. Pietschmann P, Kudlacek S, Grisar J, et al. *Eur J Clin Invest*, 2001; 31:444-51.
2. Rivadeneira F, Houwing-Duistermaat J, Pols H, Van Duijn C, Uitterlinden A. *J Bone Miner Res* 2002; 17S:177.
3. Gilberg P, Mallmin H, Petren-Mallmin M, Ljunghall S, Nilsson A. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87:4900-6.
4. Johannsson A, Eden Engstrom B, Ljunghall S, Karrlsson F, Burman P. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999; 84: 2002-7.

RESUMENES DE CONFERENCIAS Y SIMPOSIOS

JUEVES 9 DE SEPTIEMBRE



CONFERENCIA: Origen, histología y remodelación del hueso maxilar.

Dra. Patricia Mandalunis

Prof. Titular de la Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, UBA.
Investigadora de la UBA: Área Biología Ósea.

El hueso de los maxilares contiene al hueso alveolar que sostiene a la pieza dentaria dentro del alvéolo mediante el ligamento periodontal que se inserta en el hueso alveolar y en el cemento dentario. El hueso de los maxilares tiene un origen diferente al resto de los huesos del esqueleto. El origen de este hueso es ectomesenquimático (deriva de las crestas neurales que se forman cuando se cierra el tubo neural), mientras que el origen del resto de los huesos es exclusivamente mesodérmico. El hueso alveolar está compuesto por tejido óseo compacto y trabecular y su modelación y remodelación es controlada por factores mecánicos y metabólicos. En los últimos años diferentes estudios experimentales han observado que el comportamiento del hueso alveolar a diferentes patologías sistémicas tales como desnutrición, diabetes, y osteoporosis es diferente al de otros huesos. En general dichos trabajos muestran que el hueso alveolar es más resistente a la pérdida ósea frente a las patologías mencionadas. La causa del comportamiento diferencial probablemente este relacionado no sólo a su diferente origen embriológico y a ciertas diferencias morfológicas de los osteoclastos, sino también al constante estímulo que recibe mediante los movimientos masticatorios.

CONFERENCIA: Hormona de crecimiento y hueso: efecto de la deficiencia y los excesos.

Dr. Darío Bruera

Presidente de la Sociedad de Endocrinología de Córdoba (SEMCO).

El eje GH/IGF1 constituye un importante estímulo para el crecimiento óseo, mediante la activación de la diferenciación osteoblástica, estimulando la proliferación de condrocitos y modulando la reabsorción tubular de fosfato y 25-hidroxi vitamina D₃. En osteoblastos humanos, anomalías en la acción y señalización de IGF1 pueden contribuir a condiciones de pérdida ósea neta. Individuos con deficiencia de insulina son susceptibles a desarrollar osteoporosis. Los pacientes con síndrome de Laron, causada por deficiencia de IGF1, son también propensos. La disminución de IGF1 está implicada como un factor importante en la etiología de la osteoporosis, especialmente de la pérdida ósea relacionada con la edad.

Deficiencia de GH y hueso: GH tiene un conocido efecto anabolizante en general, y los pacientes con Deficiencia de GH (GHD) se caracterizan por reducida densidad mineral ósea (DMO) y contenido mineral óseo (CMO). Con pocas excepciones, la mayoría de los estudios controla-



dos muestran que la DMO y CMO aumentaron de manera significativa en comparación con la línea de base durante el tratamiento de reemplazo con GH en pacientes adultos con GHD. Sin embargo, estos cambios no fueron distribuidos uniformemente en diferentes regiones del cuerpo. Los más consistentes aumentos en la densidad ósea se produjeron en la columna lumbar y, en menor medida, en el cuello femoral, mientras que los aumentos importantes en CMO fueron principalmente en columna lumbar y cuerpo total, y en menor medida, en cuello femoral.

Acromegalia y hueso: La acromegalia sirve como un modelo de hipersomatotropismo, donde los efectos de GH e IGF1 crónicamente elevados permiten el estudio sobre el metabolismo óseo. En la acromegalia se incrementa el *turnover* óseo, sugiriendo la activación de osteoblastos y osteoclastos. Los marcadores bioquímicos de formación y de resorción ósea correlacionan con los niveles circulantes de GH e IGF1, sugiriendo que tienen efecto sobre ambos tipos celulares. Mientras que muchos estudios describen mayor masa de hueso cortical en acromegalia, los datos sobre hueso trabecular son conflictivos. Tradicionalmente la acromegalia está asociada con osteoporosis. Estudios más recientes mostraron un efecto diferencial de GH sobre el esqueleto axial y apendicular, con DMO reducida o sin cambios en columna y aumentada en antebrazo, mientras que algunos estudios no muestran diferencias en la comparación de pacientes acromegálico con controles normales. Sólo pocos estudios han informado mayor frecuencia de fracturas en pacientes acromegálicos, posiblemente debido a los efectos protectores del mayor tamaño óseo y masa cortical.

CONFERENCIA: Genomic effects of vitamin D in cell differentiation.

Dra. JoEllen Welsh

Empire Innovations Professor. Department of Environmental Health Sciences. University at Albany. Albany, NY.

The active form of vitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25D) interacts with the nuclear vitamin D receptor (VDR) to trigger differentiation in diverse cell types, including those of mesenchymal, myeloid and epithelial origin. Maintenance of the differentiated phenotype by vitamin D likely contributes to tumor suppression, however, the specific pathways involved have yet to be clarified. To explore networks regulated by vitamin D that contribute to prevention or suppression of breast cancer, we conducted genomic profiling in vitro and in vivo in complementary model systems. In mouse experiments, we categorized differentially expressed genes in normal mammary gland tissue and in transgenic mammary tumors from mice chronically fed adequate (250 IU/kg) or high (5,000 IU/kg) vitamin D₃. Genomic profiles were also obtained in VDR positive and negative mammary cells that were cultured in vitro with 100nM 1,25D. Ten candidate genes were identified that were commonly regulated in murine cells treated with 1,25D in vitro and in mammary gland of mice fed high dietary vitamin D. In complementary studies, the vitamin D pathway was evaluated in human mammary epithelial cells as a function of transformation. Genes regulated by 1,25D in human mammary epithelial cells included those involved in innate immunity (CD14), differentiation (Bmp6), extracellular matrix remodeling (Plau) and cell survival (Birc3). Transformation reduced VDR content and blunted the induction of some, but not all, target genes by 1,25D in human mammary cells. Collectively, our in vivo and in vitro data indicate that, despite similar anti-proliferative effects of 1,25D in human and mouse mammary cells, the specific target genes regulated vary considerably in different model systems, even within the same tissue type. Despite these differences, the genomic effects of 1,25D/VDR lead to changes in common pathways that drive differentiation, alter metabolism, remodel the extracellular matrix and trigger innate immunity, thereby contributing to cancer prevention.

SIMPOSIO de Jóvenes Investigadores AAOMM.**Rol de la fosfatasa alcalina en la absorción intestinal de calcio.**

Dr. Lucas R. M. Brun

Becario postdoctoral CONICET. Laboratorio Biología Ósea. Fac. Cs. Médicas, UNRosario.

La fosfatasa alcalina intestinal (FAi) no tiene aún un rol definido. Se estudió su interacción con el calcio (Ca^{2+}) y el efecto de dicha interacción sobre la absorción de Ca^{2+} . Con FAi purificada a partir del duodeno de ratas adultas se halló que el Ca^{2+} se une a la FAi siguiendo un modelo de "n" sitios independientes e igual afinidad. El efecto del Ca^{2+} sobre la actividad de FAi se investigó espectrofotométricamente y mostró un efecto bifásico dependiendo de la concentración de Ca^{2+} . A concentraciones de Ca^{2+} menores a 10 mM la actividad se incrementó linealmente, mientras que con concentraciones de Ca^{2+} mayores a 20 mM la relación fue inversa [$r=0,946$; $r=-0,703$]. También se hallaron cambios estructurales de la FAi producidos por incubación con Ca^{2+} 50 mM por cromatografía de exclusión molecular y Western blot. Se detectaron dos fracciones 168 ± 6 kDa (con actividad) y 425 ± 45 kDa (sin actividad). El punto isoeléctrico de la enzima resultó más alto en presencia de Ca^{2+} (0 mM= $4,35\pm 0,02$; 50 mM= $4,85\pm 0,06$), siendo igual para las dos fracciones mencionadas. El tratamiento con EGTA después de la adición de Ca^{2+} no restauró la actividad enzimática, pero produjo desagregación de la enzima y aparición de sus monómeros, indicando que el Ca^{2+} podría ser requerido para la actividad de la FAi o estar involucrado en la estabilidad de la estructura dimérica. Empleando intestino aislado *in situ* se determinó el efecto de diferentes concentraciones de Ca^{2+} *in vivo* hallándose que la actividad enzimática fue mayor a medida que se incrementó la concentración de Ca^{2+} . La FAi hidroliza éster monofosfóricos generando fosfato y protones y existe evidencia de que la disminución del pH luminal modificaría la actividad de los canales de Ca^{2+} TRPV6. Por ello se realizaron experimentos de sacos duodenales evertidos con diferentes concentraciones de Ca^{2+} luminal (1, 10, 50 y 100 mM). Se observó un descenso significativo del pH en solución mucosa de los grupos con Ca^{2+} 10, 50 y 100 mM. La fracción de absorción disminuyó a medida que se incrementó la concentración de Ca^{2+} , paralelamente al descenso de pH. Cuando estos experimentos fueron llevados a cabo en presencia de L-fenilalanina (inhibidor de la FAi) se observó un descenso de pH significativamente menor con incremento en la fracción de absorción en todos los grupos. Estos resultados fortalecerían la hipótesis de que el pH regularía la entrada de Ca^{2+} y la FAi sería sensora de las concentraciones de Ca^{2+} luminal e impediría el ingreso de cantidades tóxicas del catión al enterocito.

Mecanismos de salida de calcio desde el enterocito hacia el intersticio.

Dra. Viviana Centeno

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

El pasaje transcelular de calcio (Ca^{2+}) a nivel intestinal comprende tres etapas: la entrada del catión por el borde apical, la difusión intracelular y la salida a través de la membrana basolateral (MBL). Este proceso es modulado principalmente por el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o calcitriol. El polo basolateral del enterocito es considerado como uno de los sitios de regulación más importante del transporte transcelular del Ca^{2+} ya que constituye el lugar de salida del catión hacia el intersticio. Dos proteínas transportadoras están implicadas en el paso del Ca^{2+} a través de la MBL: la bomba de Ca^{2+} de membrana plasmática (PMCA) y el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX). Aunque PMCA



posee mayor afinidad por el Ca^{2+} que NCX, éste posee mayor capacidad de transporte pudiendo generar un verdadero flujo de Ca^{2+} hacia uno u otro lado de la membrana dependiendo del gradiente de concentración de Na^+ . En nuestro laboratorio, mostramos el incremento de la actividad y expresión de PMCA y NCX en enterocitos de animales con deficiencia de Ca^{2+} en la dieta, un modelo de inducción de la síntesis endógena de calcitriol. También observamos que la deficiencia de vitamina D disminuye la actividad y expresión de PMCA de intestino de pollo, lo cual es parcialmente revertido por una dosis única de colecalciferol. Posteriormente, comenzamos a dilucidar los mecanismos moleculares por los que la hormona regula la actividad del intercambiador a nivel intestinal. La administración intraperitoneal de calcitriol aumentó los niveles de expresión del gen NCX1 y la expresión de la proteína, efecto que se acompañó con aumento en la expresión de VDR. Por otro lado, el esteroide también produjo inducción rápida de la actividad de NCX mediante la activación de las vías de señalización de PKA y PKC. En resumen, el calcitriol estimula la actividad del NCX de intestino a través de mecanismos de tipo genómico mediante incremento en la expresión génica y no genómico rápido vía activación de PKA y PKC. Estudios preliminares realizados en la línea celular de adenocarcinoma de colon humano Caco-2 demuestran que el tratamiento con calcitriol incrementa los niveles de ARNm de NCX1 en concordancia con los hallazgos obtenidos en modelos experimentales animales.

Fracturas atípicas en pacientes tratados con bifosfonatos.

Dra. María Diehl

Médica especialista en endocrinología. Sector Osteopatías Metabólicas del Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear del Hospital Italiano de Buenos Aires.

Los bifosfonatos (BF) son los fármacos más frecuentemente utilizados para el tratamiento de la osteoporosis. Se han descrito fracturas atípicas (FA) como potencial complicación y se ha planteado la posibilidad de un exceso de supresión del remodelado óseo con acumulación de microdaño. En el año 2005 Odvina y col. publicaron un trabajo con 9 pacientes con FA. Posteriormente otros casos fueron comunicados. Las características de las FA en pacientes con BF son: espontáneas o por trauma de bajo impacto, generalmente femorales subtrocantéricas o diafisarias, uni o bilaterales, patrón radiológico característico (transversas u oblicuas $\leq 30^\circ$, cortical engrosada y pico unicortical), el dolor prodrómico es frecuente, el alendronato fue el BF utilizado con mayor frecuencia, la duración del tratamiento fue variable. Se ha descrito el uso concomitante con otros antirresortivos, corticoides e inhibidores de la bomba de protones, los marcadores de remodelado óseo fueron normales en la mayoría (pero generalmente evaluados post FA). La biopsia ósea mostró supresión severa del remodelado óseo en algunos casos. Lenart y col. encontraron una mayor proporción de FA con patrón radiológico característico en pacientes tratados con BF. Sin embargo otros estudios no hallaron asociación entre BF y fracturas subtrocantéricas o diafisarias. Black y col. evaluaron 3 ensayos clínicos con BF concluyendo que la incidencia de estas fracturas era baja y sin asociación aparente con el uso de BF. Nieves y col. mostraron que son infrecuentes (20/100.000 mujeres/año) y que no aumentó su incidencia a partir de la introducción de los BF. Una limitación de estos trabajos fue la imposibilidad de evaluar las características radiológicas. Se ha propuesto como conducta terapéutica considerar la posibilidad de tratamiento anabólico y/o de enclavado endomedular profiláctico en fracturas parciales. Se plantea que el beneficio del tratamiento con BF en la prevención de fracturas en pacientes con osteoporosis es mayor que el riesgo de FA. Sin embargo es importante evaluar el riesgo beneficio en pacientes con tratamiento prolongado y/o marcadores de remodelado óseo bajos.

Son necesarios nuevos estudios para evaluar la verdadera incidencia, el posible rol etiopatogénico de los bifosfonatos y definir el tratamiento apropiado. Nuestra experiencia en base a los casos que se han presentado en el Hospital Italiano de Buenos Aires concuerda con lo descripto en la literatura.

Eventos tempranos en la señalización intracelular del calcitriol en el músculo esquelético: rol de Src.

Dra. Claudia Buitrago

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

En células de músculo esquelético hemos investigado las vías de transducción de señales de las MAPKs que son moduladas por el calcitriol [$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$]. Sin embargo, el comienzo de la señalización de esta hormona que desencadena acciones rápidas no genómicas no ha sido establecido para ningún tipo celular. La tirosina quinasa Src es una molécula clave “upstream” en la regulación de las vías MAPKs por el $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. En células C2C12, determinamos que PKC participa en la activación de Src y que PKC α es activada por la hormona. Queda pendiente implicar a esta isoforma en la regulación de Src dependiente del $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. PKC modularía la actividad de Src a través de PTP α , como en otros tipos celulares (Harper and Sage, 2006), ya que el $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimula la fosforilación en tirosina (Y789) y en serinas de PTP α , al mismo tiempo que promueve el aumento de la actividad catalítica de PTP α en forma dependiente de PKC. De relevancia, reportamos que la hormona induce la co-localización y co-inmunoprecipitación temporal entre PTP α y Src. Análisis computacionales realizados revelaron que la interacción electrostática entre Src y PTP es favorecida cuando PTP está fosforilada en Y789. Por otro lado, nuestros resultados muestran que en células C2C12 las caveolas son de importancia en las respuestas rápidas al $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La disrupción de caveolas con MbCD y el silenciamiento de caveolina-1 (cav-1) suprimieron la estimulación de ERK1/2 y p38 MAPK y disminuyeron significativamente la activación de Src por la hormona. Se demostró que en condiciones basales existe una co-localización entre cav-1 y Src en la zona periplasmática de la membrana celular. El pretratamiento de las células con MbCD provoca que ambas proteínas co-localicen en el citosol. La exposición de las células al $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ disrumpe la co-localización de cav-1 con Src y redistribuye estas proteínas en el citoplasma y núcleo celular. La preincubación con MbCD antes de la estimulación hormonal mantiene la co-localización de Src y cav-1 en el núcleo. Estos resultados se corroboraron por ensayos de co-inmunoprecipitación. Hipotetizamos la existencia de un complejo multimolecular dinámico participando en el inicio de la señal de esta hormona.

Estudio metabólico de la litiasis renal en adultos: estado actual y experiencia en un hospital general.

Dra. Magdalena Rey

Médica de planta del Hospital Alemán.

La nefrolitiasis es un desorden clínico frecuente, afecta entre un 4 a 6% de la población general. Habitualmente se presenta entre los 30 a 60 años de edad. Se ha reportado que aproximadamente 12% de los hombres y 7% de las mujeres sufrirán por lo menos un episodio de litiasis renal en su vida. La repetición de episodios puede llevar a la pérdida progresiva de la función renal. La utilidad del estudio metabólico se basa en que el riesgo de recurrencia es



alto, 50% a los 5 años y 75% en seguimiento a largo plazo. Por otra parte las anomalías bioquímicas que predisponen a la formación de cálculos se diagnostican en un porcentaje elevado de pacientes estudiados y su corrección disminuye significativamente la tasa de recurrencia. Si bien la litiasis puede ser tratada con litotricia y maniobras quirúrgicas poco invasivas dichos tratamientos no modifican la historia natural de la enfermedad. El objetivo del estudio metabólico es determinar si existen factores de riesgo para la formación de nuevos cálculos y evitar el crecimiento de los ya existentes. Existe discordancia en la literatura en cuanto a las determinaciones a realizar y a la cantidad de muestras necesarias para el estudio de éstos pacientes. La utilidad de la orina de 2hs para identificar hipercalciuria de ayuno también es discutida por algunos autores. El estudio metabólico está claramente indicado en: pacientes con cálculos de ácido úrico y cistina, niños, pacientes monorrenos, aquellos con litiasis cálcica y nefrocalcinosis o enfermedad metabólica ósea, pacientes con litiasis asociada a enfermedad intestinal, litiasis cálcica de difícil tratamiento y sujetos con historia familiar o con episodios previos. Presentamos nuestra experiencia en el estudio de pacientes con litiasis renal entre los años 2008 y 2010. Se estudiaron todos los pacientes que consultaron al Servicio de Endocrinología del Hospital Alemán. Se realizaron análisis de sangre, orina de 24 hs (una muestra) y orina de 2 hs.

Efecto de altas dosis o monodosis de vitamina D en adultos mayores.

Dra. Silvina Mastaglia

Investigador asistente Consejo Nacional de Investigación Científica y Técnica (CONICET).

Médica de Planta Honoraria de la Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

Estudios previos realizados en nuestro país mostraron una alta prevalencia de hipovitaminosis D en adultos mayores (≥ 65 años). Oliveri y *col.*¹ evaluaron el estado nutricional de vitamina D en 339 sujetos clínicamente sanos correspondientes a siete ciudades de diferentes regiones de la Argentina (26° - 55° S). Los autores observaron que 90% de los sujetos añosos ambulatorios argentinos presentaban niveles de 25OHD < 30 ng/ml. La hipovitaminosis D está asociada a un incremento del riesgo para desarrollar osteoporosis y otras enfermedades como hipertensión, cáncer y diabetes. Aún no están establecidos las dosis y el esquema de suplementación adecuado para alcanzar niveles óptimos de vitamina D. En los últimos años nuestro grupo trabajó intensamente en esta área. La administración de altas dosis de vitamina D₂ permitió alcanzar rápidamente niveles adecuados de 25OHD. El 75% de las mujeres posmenopáusicas que recibieron 5.000 UI/día y el 55% de aquellas que recibieron 10.000 UI/día alcanzaron niveles de 25OHD ≥ 34 ng/ml a los 3 meses del estudio.² Posteriormente se evaluó la eficacia y seguridad de la administración intermitente de vitamina D₃ en dos esquemas diferentes: una monodosis de 100.000 UI vs. una dosis adicional similar al día 45. El 9% de las mujeres que recibieron una única dosis de 100.000 UI de vitamina D alcanzaron niveles adecuados de vitamina D mientras que el 40% de aquellas que recibieron dos dosis de 100.000 UI llegaron a dichos niveles. Por lo tanto una única dosis de 100.000 UI de vitamina D₃ es segura pero insuficiente para alcanzar niveles adecuados de 25OHD.³ El efecto del estado nutricional de vitamina D sobre la función y fuerza muscular en adultos mayores también fue estudiado. Se observó que niveles de 25OHD < 20 ng/ml se asociaron a una menor función y fuerza muscular en miembros inferiores.⁴ La administración de altas dosis de vitamina D₂ administrada durante 6 meses permitió mejorar la capacidad

para realizar la prueba de velocidad de marcha.⁵ Las dosis de suplementación requeridas para corregir la insuficiencia de vitamina D y mejorar la función muscular serían mayores a las recomendadas en la actualidad. Ref: 1- Oliveri B, y col. Eur. J. Clin. Nutr. 2004. 2- Mastaglia SR y col. Eur. J. Clin. Nutr. 2006. 3- Mastaglia SR y col. J. Bone Miner Research. 2008. 4- Mastaglia SR y col. The Journal of Nutrition, Health & Aging (en prensa). 5- Mastaglia SR y col. Medicina 2008.

VIERNES 10 DE SEPTIEMBRE



SIMPOSIO: Enfermedades raras.

Procesos para la investigación y manejo clínico de las enfermedades óseas de baja prevalencia.

Dr. Emilio Roldán

SLADIMER y Dpto. Metab. Fosfo-cálcico, Univ. Maimónides, Buenos Aires.

Las enfermedades óseas raras son aquellas que por su baja prevalencia y falta de prioridad académica y sanitaria, no han podido ser estudiadas completamente. Varias carecen de diagnósticos y tratamientos específicos por la escasa demanda comercial por lo que también se las denominan “huérfanas”. El pronóstico y calidad de vida de los afectados suele estar más condicionado por la desatención que por aspectos tecnológicos. Comprenden una serie de condiciones primarias o secundarias, la mayoría de causa genética, que afectan diferentes propiedades del esqueleto y que convencionalmente en Europa se las ha definido por su prevalencia $<1/2000$. Por ejemplo, las osteogénesis imperfecta, la fibrodiasplasias, las calcificaciones heterotópicas, la fragilidad ósea secundaria a las condiciones neuromusculares, los tumores óseos, etc. Este lugar relegado en la medicina debe revertirse con acciones como: 1- *educación*: inserción de la temática en el grado y postgrado; 2- *investigación*: proyectos en planes integrales, o traslacionales, preferentemente en circuitos internacionales, otorgamiento de estímulos para tesis y premios, subsidios y publicaciones; 3- *atención*: formación de profesionales en la complejidad integral de estas condiciones; formación de redes calificadas de profesionales, interacción con grupos de trabajo y foros internacionales; creación de equipos multidisciplinarios y acuerdos de pares sobre criterios de calidad de vida, protocolizaciones etc.; 4- *industria*: conexión con academia y gobiernos, estímulos para el desarrollo; 5- *legislación*: para la integración de los sectores involucrados, financiación de proyectos, inserción en programas sanitarios, disponibilidad y accesibilidad, atención de la calidad de vida y del impacto en el grupo familiar. La política sanitaria debería además contemplar su vinculación regional, incluyendo tratativas de propiedad intelectual y comercialización regional. Cada institución sanitaria debería al menos organizar un servicio de orientación para pacientes que no encuentren una rápida satisfacción de sus necesidades médicas, y de acceso a las redes especializadas. Las enfermedades raras ciertamente requieren una iniciativa inteligente para comenzar a revertir el proceso de orfandad que las caracteriza. Esta generalmente supera el marco de esfuerzo individual y requiere pensar en la cooperación organizada.



Manejo clínico de las calcificaciones ectópicas.

Dra. María Rosa Ulla

Centro de Endocrinología, Osteología y Metabolismo de Córdoba.

El espectro clínico de las osificaciones heterotópicas (OH) varía desde hallazgos incidentales en las imágenes radiológicas a severas limitaciones en la movilidad o anquilosis completa en las articulaciones periféricas, siendo la más comprometida, la cadera. Otros pueden comprometer: rodillas, codos, hombros, manos y columna, hay reportes de ocurrencia posterior a una cirugía de tejidos blandos. Es común que se desarrolle entre 1 a 6 meses post injuria, los síntomas clínicos aparecen generalmente a las tres semanas, el edema periarticular puede acompañarse de fiebre y traer como consecuencia inmovilidad moderada. Suelen asociarse con compresiones estructurales y nerviosas. Se destacan tres factores fisopatogénicos 1) presencia de células precursoras osteogénicas 2) un agente inductor 3) un ambiente permisivo más factores humorales, neurales y locales. *Diagnósticos diferenciales:* Artritis, tromboflebitis, celulitis, hematomas de tejido blando, tumores, trombosis venosa profunda, etc. *Metódos de diagnóstico:* Laboratorio de metabolismo fosfocálcico; Imagenológicos: Ecografía, Centellografía Ósea con Tc 99, TAC Multislide, RNM. *Tratamiento:* Se utilizan los bisfosfonatos en OH con doble propósito: 1) Prevenir formación de cristales de hidroxapatita; 2) Contribuir, junto con la dieta, a equilibrar la oferta de calcio en los sitios predispuestos (reduce el compartimento de resorción ósea). El etidronato disódico o EHDP es el único de estos compuestos que presenta el efecto bloqueante a las dosis clínicas. El etidronato sódico es un bisfosfonato no aminado, cuyo uso clínico sistémico fue perdiendo vigencia al encontrarse en el mercado, derivados aminados que presentan menor riesgo de disolver cristales de hidroxapatita en el esqueleto (osteomalacia farmacológica), precisamente, el efecto deseado en OH. La dosis aprobada (FDA) en el adulto, se ha visto limitada por reportes de osteomalacia ósea cuando se utiliza en forma continua por más de 6 meses. El EDPH puede administrarse en forma oral o endovenosa (EV). No debe aplicarse la infusión EV en pacientes con antecedentes de hipersensibilidad, hipocalcemia, hipovitaminosis D o con creatinina sérica inferior a 50 mg/dl (insuficiencia renal). El EHDP no se fija en tejidos blandos sino que, produce un "pulso" de distribución transitoria y el circulante es eliminado por simple filtración renal, sin metabolismo interno. Puede producir hiperfosfatemia por reabsorción tubular de fosfato, que se normaliza en 2 a 4 semanas. Las drogas anti-inflamatorias no esteroideas (AINEs) reducen el proceso inflamatorio inhibiendo las prostaglandinas suprimiendo la proliferación de células mesenquimáticas, siendo la indometacina uno de los más usados. Resección quirúrgica: Debe considerarse riesgo / beneficio, teniendo en cuenta complicaciones y recidivas.

SIMPOSIO

Diferentes problemas y un denominador común: PTH.

La PTH en el laboratorio.

Dra. Andrea Kozak

Laboratorio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear "in vitro". Hospital Italiano de Buenos Aires.

Hay en circulación diversos péptidos paratiroideos: *PTH I (1-84)*, fragmentos carboxi-terminales y amino PTH y diferentes métodos a tener en cuenta al evaluar los valores de refe-

rencia (VR) de PTH. También debemos considerar variables preanalíticas. El aumento de expectativa de vida plantea revisar los VR para pacientes mayores. En el Dep. de Bioquímica de SAEM (Kozak A. y col. *Influencia de la edad en los niveles de PTH. ¿Son aplicables los mismos VR de PTH en adultos mayores? XVI Congreso SAEM, Bs. As. 4-6 Nov. 2009*) consideramos la importancia de confirmarlos. Realizamos una revisión bibliográfica y analizamos datos de pacientes. La bibliografía aportó las siguientes consideraciones: PTH con la edad en ambos sexos; debemos tener en cuenta status de vitamina D al definir VR de PTH; la disminución de vitamina D con la edad sería antes en mujeres; adultos mayores requerirían más vitamina D para mantener iguales valores de PTH que jóvenes; la deficiencia estrogénica de la mujer posmenopáusica añosa contribuye al aumento de PTH y revierte con terapia estrogénica a largo plazo; altas PTH en mayores se asocian con aumento de la TA sistólica y diastólica. Analizamos retrospectivamente datos de 750 pacientes con dosajes de *PTH plasmática*: QL-IMM Siemens, VR fabricante: ≤ 87 pg/ml; CV intra $\leq 6,3\%$ e inter $\leq 8,6\%$ y *vitamina D sérica*: RIA DiaSorin, VR fabricante: 9-37,6 ng/ml, CV intra $\leq 8\%$ e inter $\leq 12\%$. Seleccionamos 145 pacientes: GA (n=54) 50-60 años; GB (n=39) 61-70 años y GC (n=52) ≥ 71 a. *Criterios de inclusión*: Ca normal (N): (9,0-10,0 mg/dl), calciuria N, vitamina D ≥ 30 ng/ml, función renal N, eutiroidismo y TA N. *Criterios de exclusión*: hipertiroidismo, IR, diabetes, corticoterapia, tratamiento con anti-resortivos y sust. estrogénica. También se seleccionaron 210 pacientes con iguales criterios de inclusión y exclusión, *excepto* el tratamiento con anti-resortivos GAres (n=34), GBres (n=62) y GCres (n=111). Tenían dosado en suero: Ca, P, Mg, creatinina e ionograma y en orina/24 hs.: Ca, P y creatinina. Los *resultados* PTH para los GA, GB y GC fueron (mediana:pg/ml y rango): 48,5(17,2-110,0), 57,4(14,3-102) y 56,6(19,6-117,0) y de vitamina D (ng/ml): 39,8 (30,2-89,0), 43,7(30,3-70,7) y 42,5 (30,1-86,4) respectivamente. PTH y vitamina D no mostraron diferencias significativas entre los GA, GB y GC ($p=0,5338$, Kruskal Wallis test) y ($p=0,8965$, Kruskal Wallis test) respectivamente. Ocurrió lo mismo para PTH en pacientes con anti-resortivos ($p=NS$). Concluimos que: 1- en el grupo analizado PTH no se diferencia entre los distintos grupos etarios; 2- nuestros resultados reflejan la importancia del status de vitamina D en concentraciones suficientes para jerarquizar PTH; 3- observamos que en pacientes tratados con bisfosfonatos, los buenos tenores de Ca y vitamina D, mantienen PTH en rango normal y 4.- si bien nuestro análisis no ha sido en un grupo control, como clásicamente se establece, consideramos que la selección de estos pacientes con criterios de inclusión y exclusión estrictos nos permite sugerir que no deben ser modificados los VR informados por el fabricante cuando se evalúen muestras de adultos mayores.

Hiperparatiroidismos secundarios y primarios normocalcémicos: un desafío diagnóstico.

Dr. Rodolfo Guelman

Endocrinólogo. Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear. Hospital Italiano de Buenos Aires.

El hiperparatiroidismo primario (HPTP) normocalcémico se caracteriza por el hallazgo de valores elevados de PTH en presencia de calcemias que aún permanecen dentro del rango normal. Esta expresión suele aparecer en pacientes que son evaluados por el hallazgo de valores bajos de densidad mineral ósea o en quienes realizan una evaluación extensa para investigar sobre su salud esquelética. Esta condición está siendo identificada en forma creciente desde la disponibilidad y uso más amplio y diseminado de los métodos de PTH. Se la considera como una



parte del espectro del hiperparatiroidismo primario. Para hacer este diagnóstico es crítico excluir otras causas de PTH elevada asociadas a calcemia normal, las cuales determinan los denominados hiperparatiroidismos secundarios (HPTS). Entre éstas, es muy importante descartar el déficit de vitamina D que, en contrapartida, puede disminuir la calcemia de un hiperparatiroidismo primario al rango normal. Además, la prevalencia de niveles inadecuados de vitamina D es relativamente alta, acercándose a proporciones epidémicas, tanto en la población general como en los pacientes con HPTP. La medición de 25-(OH)-vitamina D sérica es actualmente el mejor test disponible para evaluar el estado de los depósitos corporales de vitamina D y debería ser medida en todos los pacientes con HPTP. Así, la diferenciación diagnóstica entre un HPTP normocalcémico y un HPTS puede ser a veces muy difícil. Una cuestión tan crucial como básica es determinar cuándo podemos establecer que existe un verdadero hiperparatiroidismo, ya que los datos sobre intervalos de referencia óptimos para valores de PTH basados en niveles coexistentes de 25-(OH)-vitamina D sérica son escasos. Se requieren más estudios para determinar con mayor precisión los valores normales de referencia para los métodos de PTH de 2ª y 3ª generación, basados en grandes cohortes de sujetos con repleción de vitamina D, aporte normal de calcio y estratificados de acuerdo a sexo, raza, clearance de creatinina y también posiblemente, al índice de masa corporal. Se han descrito distintos test farmacológicos para diferenciar el HPTP normocalcémico del HPTS, así como estudios de imágenes paratiroides, aunque no están aún adecuadamente validados.

Dificultades en el manejo del hiperparatiroidismo secundario a insuficiencia renal crónica.

Dr. Armando Negri

Prof. de Fisiología y Medicina Universidad del Salvador. Médico de Staff Senior, Instituto de Investigaciones Metabólicas.

La biopsia ósea es un procedimiento invasivo y costoso por ello que usamos un marcador bioquímico de *turnover* óseo, como la PTH intacta, para definir la osteodistrofia renal. Existe gran superposición en los niveles de PTH intacta entre pacientes con lesiones de alto recambio (HPT2) y de bajo recambio, por lo que en el paciente individual es difícil distinguir entre ambas lesiones. Se han propuesto niveles de *cut-off* de PTHi que optimizan la especificidad: >500 pg/ml para HPT2 y <120 pg/ml bajo *turnover*. Recientemente se ha demostrado que los ensayos que miden PTH intacta miden un fragmento largo de PTH probablemente PTH 7-84, además de la PTH 1-84 que es reconocido en forma diferente por los distintos ensayos de PTH intacta. La *National Kidney Foundation/Kidney-Dialysis Outcome Quality Initiative* (NKF/K-DOQI) en 2003 sugirió mantener los niveles séricos de PTHi en pacientes en estadio 5 de IRC entre 150-300 ng/l. Estas recomendaciones están basadas en el ensayo Nichols Allegro IRMA que hoy en día no se usa clínicamente. No existe en la actualidad un método de referencia para la medición de PTH como tampoco hay un estándar de PTH recombinante para el ensayo de PTH. Un estudio encontró que los límites recomendados por las NKF/K-DOQI no eran aplicables en forma independiente del conocimiento del ensayo de PTH usado. Las implicancias prácticas de esto es que en pacientes con IRC estadio 5, la decisión de iniciar, o mantener, o de parar un tratamiento de descenso de la PTH como un análogo activo de vitamina D o un calcimimético depende fuertemente del ensayo de PTH usado. En 2009 han aparecido las guías KDIGO que han intentado balancear los problemas metodológicos de la determinación de PTH con los conocidos riesgos de tener un exceso de PTH y las estrategias terapéuticas para su descenso. Este grupo de trabajo ha sugerido que en

pacientes con ERC estadio 5D, los niveles de PTH se deben mantener en un rango de aproximadamente 2 a 9 veces el límite superior normal para el ensayo y sugieren que marcados cambios en los niveles de PTH en cualquier dirección dentro de ese rango promueva la iniciación o cambio en la terapéutica para evitar progresión de los niveles por fuera de este rango.

SIMPOSIO SERVIER

Nuevas tendencias en el tratamiento de la osteoporosis.

¿Cuál es el tamaño real de la enfermedad en la Argentina?

Dra. Diana González

Directora Médica del Centro de Osteopatías Médicas.

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea de mayor prevalencia en occidente. Datos epidemiológicos de Estados Unidos indican que el 40% de las mujeres y el 13% de los hombres mayores de 50 años tendrán una fractura por fragilidad ósea en algún momento de su vida. En Europa se ha estimado que más del 30% de las mujeres mayores de 50 años tienen osteoporosis, de acuerdo a los criterios de definición de la OMS. El riesgo que tiene una mujer de tener una fractura de cadera a lo largo de su vida sería mayor que el riesgo combinado de tener cáncer de mama, endometrio y ovario. Aunque en nuestro país no existe un registro centralizado de fracturas, estudios realizados en las ciudades de La Plata, Mar del Plata, Luján, Rosario, Tucumán y más recientemente en Corrientes, Comodoro Rivadavia y Bariloche aportan datos epidemiológicos sobre la principal complicación de la osteoporosis: la fractura de cadera. La tasa anual de fractura de cadera de acuerdo a estos estudios es de 488/100.000 habitantes mayores de 50 años siendo la relación mujer a hombre de 2,6:1. Son más de 34.000 las fracturas de cadera que ocurren por año entre la población añosa lo que significa un promedio de 90 fracturas por día. El 83% de esas fracturas se produce en mayores de 70 años. Si bien se consideran fracturas osteoporóticas tanto a las fracturas de cadera por traumatismos leves como a las de vértebras, muñeca y húmero, es la de cadera la que requiere mayor internación hospitalaria, y es entonces por su fácil identificación la que se estudia para evaluar incidencia de osteoporosis en un área determinada. Más del 40% de los pacientes con fractura de cadera tienen antecedente de haber sufrido una fractura previa. Si se considera que en el caso de las fracturas vertebrales sólo 1 de cada 3 son diagnosticadas clínicamente, es probable que la prevalencia de osteoporosis en la población esté subvalorada. El Estudio Latinoamericano de Osteoporosis Vertebral (LAVOS) llevado a cabo por iniciativa de IOF, es un estudio basado en exámenes radiológicos de la columna en mujeres latinoamericanas de 50 años en adelante. Según este estudio la prevalencia general de fracturas vertebrales en Argentina fue del 16,2%. La osteoporosis posmenopáusica será más común en las próximas décadas simplemente porque crece la expectativa de vida de la población en general. El cálculo de proyección a futuro indica que hacia el año 2050 el número de fracturas de cadera será superior a 63.000 por año en las mujeres y más de 13.000 en los hombres. La fractura de cadera es la complicación más grave de la osteoporosis a causa de su morbimortalidad. Resulta relevante, entonces implementar las medidas de prevención necesarias para disminuir el impacto tanto en la salud de la población como también en el costo económico que de esto resulta para la sociedad.

**La acción osteoformadora como factor clave de éxito en el tratamiento de la osteoporosis: ranelato de estroncio.**

Dra. Ana María Galich

Médica de Planta del Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear del Hospital Italiano de Buenos Aires.

Ranelato de estroncio (RE) tiene una molécula de ácido ranélico y dos de estroncio estable. Tiene afinidad por el hueso y capacidad para incrementar la formación y reducir la resorción ósea, rebalanceando el remodelado a favor de la formación. *In vitro* estimula la replicación de células osteoprogenitoras e incrementa la síntesis de colágeno y proteínas no colágenas, la función de los osteoblastos (OB) y la mineralización. Inhibe la diferenciación de osteoclastos (OC) y la resorción ósea. Activaría el receptor sensor de calcio promoviendo la replicación, diferenciación y supervivencia de OB y apoptosis de OC. La modificación de RANKL:osteoprotegerina inhibe la diferenciación de OC. En mujeres con osteoporosis, mejoró la microarquitectura, la competencia biomecánica y demostró eficacia antifractura. Por microtomografía aumenta el espesor cortical (+18%), el número de trabéculas (+14%), menor separación trabecular (-16%) e incrementa la fracción de hueso trabecular (BV/TV). Comparado con teriparatide, no hubo diferencias significativas en parámetros histomorfométricos, pero disminuyó la porosidad cortical. Tratamientos con bifosfonatos previos bloquean el efecto de RE por varios meses. RE reduce el riesgo de fractura vertebral (41% y 39% en SOTI y TROPOS respectivamente) y persiste con tratamientos prolongados. Disminuye fracturas vertebrales clínicas (38% en 3 años y 52% en el primer año). TROPOS demostró reducción de fractura de cadera en mujeres añosas (>74^a) y se mantuvo estable durante 8 años. Considerando que las fracturas aumentan con el envejecimiento, mantener similar incidencia sería evidencia indirecta de la eficacia antifractura. Es efectivo para osteoporosis de mujeres jóvenes (50-65^a) y añosas (>80^a). Es bien tolerado. Debe administrarse separado de la ingesta, mínimo 2 hs. No se metaboliza. La concentración máxima se alcanza a las 3 horas. Se deposita en mínimas cantidades en hueso de formación reciente. Se excreta por riñón. No necesita ajuste de dosis con clearance de creatinina >30 ml/min. Resumen: efectivo para reducir fracturas vertebrales, no vertebrales y de cadera en población de alto riesgo. Mejora la DMO en varios sitios en correlación directa con la disminución del riesgo de fracturas. Ref: 1. Deeks ED and Dhillon S. Strontium Ranelate. A review of its use in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Drugs* 2010; 70(6): 733-759. 2. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, et al. The effects of Strontium Ranelate on the Risk of Vertebral Fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004; 350:459-468. 3. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, et al. Strontium Ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: treatment of peripheral osteoporosis (TROPOS) Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2816-2822.

CONFERENCIA: Monitoreo de los niveles de vitamina D.

Dra. Claudia Sedlinsky

Miembro del Grupo de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (GIOMM). Miembro del Grupo Arkhën. Grupo de Asistencia Docencia e Investigación en Medicina. Co-Directora del Curso de Médico Endocrinólogo de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo (SAEM). Secretaria de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología (FASEN)

Es cada vez más conocida la importancia de las acciones hormonales de la vitamina D en el control homeostático del metabolismo del calcio, así como los efectos de la vitamina D como

modulador de los procesos de proliferación y diferenciación celular, de la inmunidad innata así como de los fenómenos de autoinmunidad. Dado que se conoce actualmente que estos procesos dependen de la presencia de concentraciones óptimas de vitamina D circulante, es importante conocer con precisión cuáles son los niveles circulantes de la misma en individuos así como en la población para desarrollar estrategias individuales y poblacionales de prevención de diversas patologías. La vitamina D presenta dos formas moleculares dependiendo de su origen, la vitamina D₂ de 28 átomos de carbono derivada del ergosterol vegetal y la vitamina D₃ de origen animal, de 27 átomos de carbono que deriva del colesterol. Su principal fuente es la conversión por acción de la radiación UVB de precursores cutáneos a colecalciferol. Sin embargo, su adquisición se ve modificada por factores ambientales o individuales como la latitud, estación del año, pigmentación de la piel, vestimenta, composición corporal, uso de protectores solares o el envejecimiento. Otra fuente es la ingesta de alimentos ricos en vitamina D como ciertos pescados grasos, alimentos fortificados o bien suplementos vitamínicos. Diferentes grupos obtuvieron similares resultados, tales como disminución del riesgo de fractura, de caídas o de los niveles de PTH, con diferentes esquemas terapéuticos, a intervalos diferentes, con dosis diferentes y aún con las diferentes formas disponibles de la vitamina D, D₂ o D₃. Por otro lado, otros trabajos muestran una gran diferencia inter-individuos para lograr niveles deseables de vitamina D, con dosis similares a intervalos similares y usando la misma vitamina D. El metabolito considerado indicador de las reservas de vitamina D, es la 25OHD, dada su larga vida media y la escasa regulación de la 25 hidroxilación hepática que responde a la disponibilidad de sustrato, colecalciferol o ergocalciferol. El dosaje de esta vitamina presenta varios problemas, el bajo nivel circulante en el rango nanomolar, el ser una molécula altamente hidrofóbica y la presencia de dos formas moleculares a ser medidas para informar con precisión el estado nutricional de vitamina D. Se desarrollaron diferentes métodos para cuantificar los niveles circulantes de vitamina D. Se encuentran disponibles dos tipos principales de ensayos: la separación cromatográfica seguida de detección directa no inmunológica y los inmunoensayos manuales o automatizados. Si bien todos los métodos disponibles son comparables en su precisión, cada uno de ellos tiene ventajas y limitaciones que deben ser analizadas a la luz de la necesidad y disponibilidad del arsenal terapéutico como de los métodos analíticos.

CONFERENCIA: Nuevas herramientas para el estudio de la función osteoclástica.

Dr. Ricardo A. Battaglino

Instructor, Department of Oral Medicine Infection and Immunity. Harvard School of Dental Medicine. Assistant Member of Staff, The Forsyth Institute. Boston, MA. USA.

La resorción ósea por osteoclastos es esencial para la remodelación normal del hueso. La fisiopatología de varias enfermedades esqueléticas está asociada con un aumento (osteoporosis, enfermedad ósea metastásica y enfermedad de Paget) o una disminución (varios tipos de osteopetrosis) en la resorción ósea. Mi trabajo está centrado en el descubrimiento de genes que se expresan en osteoclastos y en investigar el rol que esos genes pueden jugar en la diferenciación y actividad osteoclástica y en la homeostasis del tejido óseo. Utilizando la técnica de hibridación en Microarray identifiqué y caracterizé varios genes inducidos por RANKL durante el proceso de osteoclastogénesis. En esta presentación voy a hablar sobre dos genes descubiertos en mi laboratorio: NHAoc/NHA2 y PAMM. NHAoc/NHA2 es un intercambiador de sodio por protones que se expresa casi exclusivamente en osteoclastos maduros. Estos intercambiadores son esenciales para la regulación apropiada de pH interno, transporte de sodio y volu-



men celular. Existen tres SNPs en la región codificante de NHAoc/NHA2 en humanos que dan lugar a tres sustituciones de aminoácidos: I159T, V161A y F357. Estos aminoácidos están conservados evolutivamente. La hipótesis es que aminoácidos evolutivamente conservados que son esenciales para la actividad de NHAa tendrán un papel similar en NHAoc/NHA2, y que mutaciones en estos aminoácidos afectarán la actividad de NHAoc, y debido a su expresión restringida también la diferenciación y función osteoclástica. Para probar esa hipótesis utilicé una cepa mutante de *S. cerevisiae*, BW31a, que es sensible a la sal, ya que carece de los sistemas principales de extrusión iónica, y por eso es muy útil en estudios de expresión heteróloga y complementación fenotípica. PAMM (Peroxiredoxina_tipo 2 activada en monocitos por M-CSF) es una proteína antioxidante que se expresa durante la diferenciación de los osteoclastos. La secuencia de PAMM tiene un tetrapéptido, CXXC, que es esencial para las funciones de reducción-oxidación. Además, el motivo CXXC es necesario para la capacidad de PAMM para inhibir la formación de osteoclastos *in vitro*. Finalmente, el estrógeno estimula la expresión PAMM en monocitos de la médula ósea y en hueso. En conjunto, estos resultados sugieren que PAMM regula la formación de osteoclastos y la actividad través de la modulación de la producción de radicales libres. Estos resultados son consistentes con un nuevo paradigma por el cual la deficiencia de estrógenos resulta en una expresión reducida de PAMM en los precursores de osteoclastos, lo que permite un aumento de radicales libres, que en última instancia conduce a la formación de osteoclastos y mayor resorción ósea. Por otro lado, el efecto osteoprotector del estrógeno, en parte, se explicaría por la capacidad de los estrógenos para mantener niveles altos de PAMM, inhibiendo la formación de osteoclastos.

CONFERENCIA: Vitamin D signaling links bone and energy metabolism.

Dra. JoEllen Welsh

Empire Innovations Professor. Department of Environmental Health Sciences. University at Albany. Albany, NY

Mesenchymal stem cells (MSCs) in bone marrow have the ability to differentiate into multiple lineages, including osteoblasts and adipocytes. It is well known that 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25D) triggers osteogenic differentiation, but its effects on adipogenic differentiation are less clear. In previous studies, we noted that 18 mo old vitamin D receptor knockout (VDRKO) mice exhibited adipose tissue atrophy, suggesting a role for VDR in adipogenesis. Assessment of energy metabolism as a function of age indicated that VDRKO mice had reduced serum leptin, increased food intake and enhanced energy expenditure relative to wild-type (WT) mice beginning at 3 mos of age. In addition, VDRKO mice were resistant to high fat diet induced obesity. Genomic screening identified candidate VDR regulated genes in white adipose tissue, including uncoupling protein-1 (ucp-1), which mediates dissociation of cellular respiration from energy production. Ucp-1 was >25fold elevated in white adipose tissue of VDRKO mice, sufficient to explain the enhanced whole body energy expenditure. Similar effects on adipose tissue, leptin and food intake were observed in mice lacking Cyp27b1, the 1 α -hydroxylase enzyme that generates 1,25D. To assess the effects of VDR ablation on adipogenesis at the cellular level, MSCs were isolated from WT and VDRKO mice at 6 mos of age. In cells from WT mice, 1,25D stimulated lipid accumulation, up-regulated adipogenic gene expression and down-regulated negative regulators of adipogenesis. 1,25D also enhanced differentiation triggered by PPAR ligands in WT mice. In contrast, cells from VDRKO mice failed to undergo adipogenic differentiation in the presence of adipogenic triggers, including PPAR ligands. VDRKO cells from 6 mo old mice

were also deficient in osteoblastic differentiation. The defects in adipogenesis and osteogenesis only become apparent in mice >6mos old, suggesting that VDR is required for maintenance of differentiation potential in bone marrow MSC populations with age. In summary, these studies indicate that VDR is required for adipose tissue integrity and mesenchymal cell differentiation. Overall, these studies suggest that 1,25D and the VDR function in a complex network that coordinately regulates bone formation, adipose stores and energy metabolism in response to physiological and nutritional cues.

SÁBADO 11 DE SEPTIEMBRE



CONFERENCIAS SATÉLITES DE SOCIEDADES CIENTÍFICAS AFINES

SIBOMM: Diabetes y hueso.

Dr. Daniel Salica

Profesor Adj de Medicina. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.
Director de Healing Argentina Instituto de Medicina Interna, Osteología y Metabolismo Mineral Priv.

Past Presidente de SIBOMM Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral.

La importante relación entre diabetes y hueso, así como diabetes y fracturas óseas, representa una instancia no siempre tenida en cuenta como ocurre con otras situaciones o complicaciones de la diabetes, tales como la enfermedad cardiovascular, nefropatía o neuropatía. No obstante los progresivos reportes de fracturas óseas consecutivas al tratamiento con glitazonas en pacientes con diabetes tipo 2, han proporcionado recientemente un mayor interés en el tema. Los efectos de la diabetes sobre el hueso y su metabolismo han sido estudiados y demostrados en animales y en humanos. En ratas BB diabéticas de larga data tratadas con insulina, se detectan entre otros hallazgos: hipercalciuria (x10); menor volumen trabecular en metáfisis tibial (44%), menor superficie de osteoblastos y osteoide (10%), osteoporosis de bajo turnover con menor reclutamiento y función osteoblástica y menor resistencia ósea a la deformación. Estudios histomorfométricos en pacientes humanos diabéticos, demuestran que a mayores concentraciones de glucemias y HgbA1C se encuentra menor crecimiento y formación ósea con menor número de osteoblastos y menor formación ósea. Una de las mayores evidencias que soslayan el impacto que la diabetes tiene sobre el hueso, lo constituye el incremento del riesgo fracturario. La diabetes tipo 1, en la que la masa ósea suele encontrarse generalmente baja, incrementa el riesgo de fractura, especialmente la de cadera, 9 a 12 veces más que en la población general. En la diabetes tipo II, el incremento del riesgo de fractura ocurre de modo independiente de los valores de densitometría ósea. Crecientes publicaciones dan cuenta que las glitazonas aumentan, por diversas acciones negativas sobre el hueso, la incidencia de fracturas (especialmente en miembros y vértebras). Las evidencias actuales permiten considerar que la relación diabetes, hueso y fractura constituye un verdadero problema de salud. Por ese motivo el Consenso Iberoamericano de Osteoporosis SIBOMM 2009, recomienda monitorización ósteo-metabólica en pacientes con diabetes. Referencias: Verhaeghe J. Diabetes 1990. Seino Y. Diabetes M R 1995. Consenso Osteoporosis SIBOMM 2009. RAO 2010.



SAO: Fracturas por osteoporosis en América Latina.

Dr. Luis Fernando Somma

Reumatólogo. Osteólogo. Presidente de la Sociedad Argentina de Osteoporosis.

La fractura es el evento clínico que le da entidad a la osteoporosis. Su incidencia y prevalencia son diferentes en mujeres y en hombres, ocurren en personas adultas y se incrementan con la edad. Se estima que el riesgo de sufrir una o más fracturas por osteoporosis en mujeres de más de 50 años es del 40%, mientras que en hombres de igual edad es del 13%. Más del 70% de las fracturas vertebrales y de cadera que ocurren en personas de más de 45 años se deben a osteoporosis. Existen determinantes genéticos que contribuyen al riesgo de fractura, como la geometría del hueso y el turnover óseo. En el mundo ocurren 2,5 millones de fracturas por osteoporosis por año, que se asocian a una considerable morbilidad, aumento de la mortalidad y costos económicos elevados. Múltiples factores de riesgo se asocian a las fracturas por fragilidad en osteoporosis. La fractura vertebral es la más frecuente, ocurre en forma temprana en la historia natural de la enfermedad y es una de las más importantes manifestaciones clínicas. Muchas son asintomáticas o el dolor es atribuido a otras patologías. Las Rx laterales de columna y la morfometría vertebral por DXA son utilizados para la identificación de este tipo de fracturas. En América Latina la prevalencia de fracturas vertebrales es del 14,8% (Estudio LAVOS) con variaciones de acuerdo al país. La fractura de cadera es la de mayor impacto social por su morbi-mortalidad, incapacidad resultante y costos económicos. Su incidencia aumenta en forma exponencial con la edad. Se distinguen dos tipos de fractura: cervical y trocántérica, que presentan características diferenciales en cuanto a epidemiología y pronóstico. El costo económico directo de cada fractura de cadera es de U\$S 4500 a 6000. En la producción de la fractura de cadera debemos considerar los factores de riesgo, la DMO, la calidad ósea, la función neuromuscular, los peligros ambientales, el riesgo y tipo de caídas. Para la identificación del paciente en riesgo evaluaremos factores de riesgo en forma individual como edad, DMO, antecedentes de fracturas previas, antecedentes de fracturas en padres, IMC, tendencia a las caídas, ingesta de corticoides, presencia de artritis reumatoidea, deficiencia de vitamina D, enfermedades neuromusculares y condición de vivir solo o en geriátrico. El riesgo relativo de sufrir fractura de cadera aumenta 2,6 veces por cada DE de disminución en la DMO de cuello femoral. Su incidencia es variable en los países de la región. En Argentina podemos estimar un promedio para población mayor a 50 años y cada 100.000 habitantes de 298 en mujeres y de 118 en hombres, con un cociente M/V de 2,52. El FRAX™ es una herramienta que evalúa el riesgo absoluto de fractura de cadera a 10 años, se encuentra disponible para poblaciones de Argentina, Colombia y México y permitiría establecer un umbral de intervención terapéutica.

IOF: Evaluación de la micro-arquitectura ósea mediante tomografía computada periférica de alta resolución (HRpQCT).

Dra. María Belén Zanchetta

Especialista en Endocrinología, UBA. Magister en Osteología y Metabolismo Mineral, USAL. Médica de planta, División Endocrinología Hospital de Clínicas José de San Martín. Coordinadora médica asistencial, Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM). Buenos Aires, Argentina.

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura con una consecuente disminución de la resistencia ósea.

La densitometría (DXA) es el método de elección para realizar el diagnóstico de osteoporosis, evaluar la eficacia del tratamiento y estimar el riesgo de fracturas osteoporóticas. Sin embargo, muchas fracturas ocurren en mujeres con masa ósea densitométrica normal. Además, las mejoras densitométricas explican sólo una parte de la eficacia antifractura de los tratamientos osteoactivos. Parte de las limitaciones de la técnica pueden adjudicarse a la medición planar y no volumétrica y a su imposibilidad de diferenciar entre el compartimento cortical y trabecular. El concepto actual que se busca entender y llegar a medir es el de *calidad ósea*. Un hueso de buena calidad va a ser resistente a las fracturas. Este nuevo concepto incluye la microarquitectura ósea, las propiedades de los materiales y también la masa ósea. *La microarquitectura ósea es la distribución del volumen óseo en el espacio tridimensional*. A su vez, la microarquitectura está determinada por las variaciones y estímulos mecánicos. Esta adaptabilidad de la microarquitectura ósea permite un considerable ahorro del material óseo necesario para soportar el peso de un individuo. En la última década se ha evolucionado mucho en nuevas técnicas de imagen que pueden evaluar de manera segura y precisa la microarquitectura ósea, las más avanzadas utilizan la resonancia magnética o la tomografía computada con altas resoluciones. La tomografía computada periférica de alta resolución es un nuevo método de imagen que permite evaluar *in vivo* la microarquitectura de los sectores trabecular y cortical del radio y de la tibia. Una de las principales limitaciones es que la utilidad biológica de la HR-pQCT en relación al esqueleto central en el paciente individual o para la aplicación clínica a gran escala todavía no está determinada y será mejor definida a medida de que esta herramienta continúe siendo estudiada como predictor de riesgo de fractura.

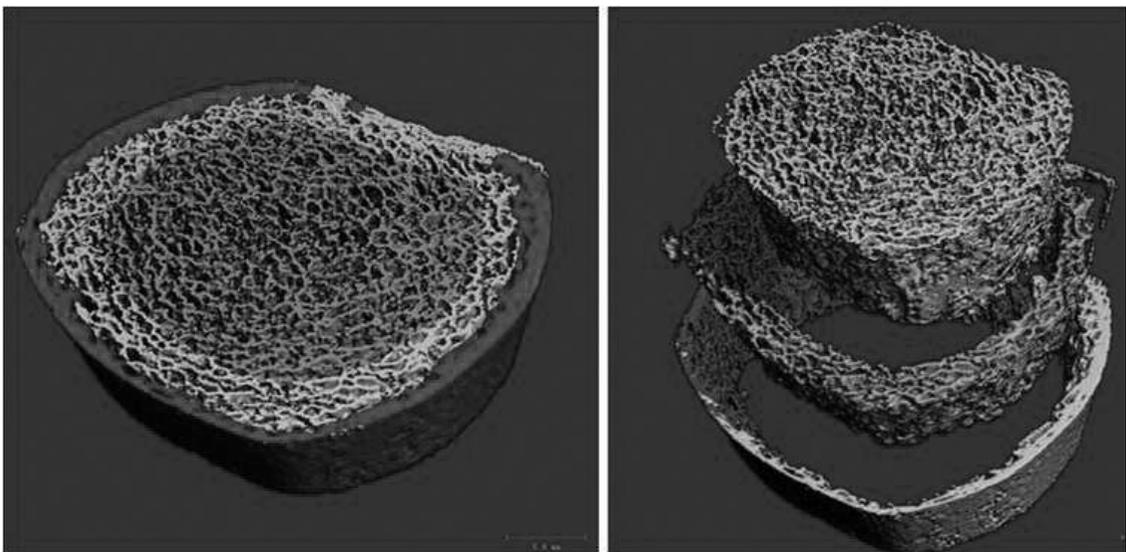


Imagen de microarquitectura ósea obtenida luego de reconstrucción tridimensional de una tibia normal, separando la región cortical de la trabecular.



Vº CURSO DE DENSITOMETRÍA

Exploración densitométrica del raquis.

Srta. Marcela A. Martinez

Técnica superior en radiología. Certificada por ISCD. Hospital Italiano de Bs As.
Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear.

En la vértebra pueden considerarse 2 componentes: cuerpo y elementos posteriores. Estos últimos son los pedículos, la lámina, las apófisis espinosas y transversas y las carillas articulares superiores e inferiores. La apariencia de las vértebras en las imágenes densitométricas antero-posteriores depende de la sumatoria de esos elementos y específicamente los posteriores constituyen la base para las imágenes del raquis en DXA. En general las apófisis transversas no se ven y los cuerpos vertebrales son poco definidos porque tienen una densidad igual o menor que los procesos posteriores. En ellos se concentra el 47% del contenido mineral de la vértebra entera. La apófisis transversa mayor corresponde a L3 y a veces puede identificarse claramente. La forma característica de los elementos posteriores puede ayudar a la identificación de las vértebras lumbares. Es así que a nivel de L1, L2 y L3 adoptan la forma de “U” y en L4 según los autores puede ser “H”, “Y” ó “X”. L5 aparenta una “I” invertida. En general L1 es la vértebra de menor DMO y CMO. El CMO incrementa de L1 a L4 siendo la mayor proporción entre L1-L2, en tanto la DMO aumenta entre L1 y L3 pero no entre L3 a L4. Esta discrepancia depende del incremento progresivo del área desde L1 a L4. La mayoría de los individuos (83,5%) tienen 5 vértebras lumbares con la última costilla a nivel de D12. Un 7,2% de individuos tienen 5 vértebras lumbares con la última costilla naciendo en D11. Sólo 1,1% de mujeres tienen 6 vértebras lumbares con la costilla en D12 y 0,8% presentan 6 lumbares con inserción de la última costilla en L1. Por lo tanto el raquis lumbar puede estar afectado por variaciones morfológicas relacionadas con el desarrollo y por otros procesos determinados por enfermedades (espondiloartrosis, hipertrofia facetaria, fracturas, etc) o intervenciones terapéuticas (laminectomía, vertebroplastia, etc) que afectarán la exactitud y precisión del estudio. En estas últimas alteraciones llamará la atención el incremento desproporcionado de la DMO respecto de las vértebras adyacentes. Se completará con el estudio radiológico de la región. Los osteofitos están presentes en una elevada proporción de pacientes (75% de varones y 60% de mujeres) entre 60-99 años. Ellos determinan incrementos de 9,5% a 13,9% en la DMO y por lo tanto pueden encubrir diagnósticos. La calcificación de aorta incrementa poco la DMO. Su presencia es muy baja antes de los 60 años pero incrementa marcadamente luego de los 80ª. En un estudio con cadáveres antes y luego de remover la aorta calcificada, el porcentaje de incremento de DMO era de 4,64%. La esclerosis facetaria, en cambio, tiene marcado efecto sobre la DMO. Las recomendaciones de ISCD (2007) recomiendan:

1. Evaluar 4 vértebras lumbares.
2. Excluir de la evaluación la vértebra que está afectada por cambios locales o artefactos y evaluar 3 en ese caso.
3. Sólo evaluar 2 cuando no se puedan usar 3.
4. No efectuar el diagnóstico sobre una sola vértebra. En este caso se recurrirá a otra posición.
5. Las vértebras anatómicamente anormales se excluirán si ellas tienen >1 T-score de diferencia con las adyacentes y si la anomalía impide la evaluación anatómica.

Por lo tanto el conocimiento anatómico, la posición correcta del paciente y el adecuado análisis posterior son necesarios para un buen estudio. Referencias: 1. Bonnicksen SL. Bone Densitometry in Clinical Practice. Second Edition. 2004. Humana Press. Totowa, New Jersey. 2. <http://www.iscd.org/Visitors/pdfs/ISCD2007OfficialPositions-Combined-AdultandPediatric.pdf>

Fémur proximal. Posibilidad de cálculo de FRAX.*Srta. Marcela A. Martinez*

Técnica superior en radiología. Certificada por ISCD. Hospital Italiano de Bs As.
Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear.

Para la evaluación, el fémur proximal ha sido dividido en varias regiones de interés: cuello, trocánter, área de Ward, diáfisis y fémur total; esta última comprende todas las regiones individuales. Cada región se caracteriza por tener diferente composición ósea. En el cuello femoral el 25% del tejido es trabecular, en tanto en trocánter corresponde al 50%. El posicionamiento adecuado del fémur durante la adquisición es de fundamental importancia para una obtener un estudio de buena precisión. El trocánter menor es la estructura ósea que permite identificar el posicionamiento apropiado. Cuando se ha rotado correctamente el miembro inferior (25-30° de acuerdo a los equipos) el trocánter menor es poco visible y de aspecto redondeado. Ello indica que el cuello femoral está ubicado paralelo a la mesa. Esta posición se mantiene mediante los dispositivos de posicionamiento aportados por cada fabricante. Las modificaciones en la misma se traducen en variaciones de la DMO. Puede medirse cualquiera de ambos fémures. No existen diferencias importantes entre los mismos en contraste a la dominancia en miembros superiores. Los artefactos y cambios estructurales que pueden afectar la medición del cuello femoral son menos frecuentes que en raquis. La osteoartritis de cadera puede engrosar la cortical media e hipertrofiar las trabéculas del cuello femoral incrementando la DMO. No se afectan el trocánter ni fémur total, por lo tanto son los sitios recomendados para evaluar en dichos pacientes. La osteoartrosis es una causa de dificultad en la rotación femoral por lo cual se recomendará la medición de fémur contralateral. También los pacientes muy doloridos tienen dificultad con el posicionamiento. Otras situaciones como la escoliosis pueden modificar la DMO. Se describen menores valores en el fémur correspondiente a la convexidad. La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) recomienda:

1. Considerar cuello femoral o fémur total para diagnóstico. Se tomará el más bajo.
2. Medir DMO en cualquier fémur.
3. Se puede usar la DMO promedio para seguimiento pero es preferible fémur total.

En la actualidad existe una herramienta para el cálculo del riesgo de fractura (FRAX) en pacientes con osteopenia. En ella se evalúan varios factores de riesgo en presencia o no de DMO de cuello femoral. Los programas actualizados de algunos equipos en haz de abanico lo han incorporado. De esta manera con un interrogatorio muy sencillo se puede obtener el riesgo FRAX. Las variables que se consideran son: edad, peso, talla (incorporadas previamente en la biografía del paciente), fracturas previas, antecedentes familiares (madre o padre) de fractura de cadera, consumo de corticoides, tabaquismo, consumo de más de 3 medidas diarias de alcohol, presencia de artritis reumatoidea y existencia de otras enfermedades secundarias. Luego de haber ingresado los datos en forma dicotómica por si o no, se obtiene, impreso, el riesgo de fracturas mayores y de cadera. De esta manera el clínico contará con una herramienta más a la hora de evaluar a su paciente.

Control de calidad de los equipos.*Dr. Marcelo Cachizumba*

Especialista en Clínica Médica, Master en Osteología y Metabolismo Mineral. Médico certificado en Densitometría por ISCD (Sociedad Internacional de Densitometría Clínica).

La densitometría ósea es una técnica radiológica de medición de la Densidad Mineral Ósea (DMO) de una o varias regiones del esqueleto. Como toda técnica de medición es susceptible



de tener errores por lo que todo centro de densitometría debe asegurar la confiabilidad, consistencia y calidad de los resultados ya que es de absoluta importancia médica (diagnóstica y terapéutica), económica (costos para los sistemas de salud y para los pacientes) y de salud y calidad de vida para el paciente. A tal fin es necesario utilizar e implementar procesos de control de calidad (QC) que aseguren la calidad y disminuyan la incertidumbre de los resultados de las mediciones. Los procesos de QC deben brindar, principalmente, las evidencias suficientes de la competencia técnica de los instrumentos de medición (densitómetros) y de los operadores de tales instrumentos (técnicos radiólogos). Además el programa de QC debe incluir entre otros un plan de capacitación y entrenamiento del personal técnico, un plan de controles preventivos y correctivos de los densitómetros cuando sean necesarios y adherencia y cumplimiento de las normas y leyes regulatorias vigentes. Cumplir con los lineamientos de control establecidos por los diferentes fabricantes de DXA scanner es lo primero en lo que respecta a competencia de los instrumentos. La evaluación de la competencia de los técnicos radiólogos u operadores de los instrumentos de medición debe surgir de estudios de precisión como los sugeridos por la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD). Conclusión: La correcta determinación de la DMO como uno de los pilares más importante para el diagnóstico de osteopenia u osteoporosis, riesgo de fractura o monitoreo de la masa ósea debe ser respaldada con un Programa de Aseguramiento y Control de Calidad. Todo centro de densitometría debe establecer un programa de control de calidad que permita evaluar la competencia de los equipos de medición y de los operadores de esos equipos.

Cuerpo entero y composición corporal. Su importancia.

Dra. Mirena Buttazzoni

Médica del Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear.
Hospital Italiano de Buenos Aires.

El estudio de cuerpo entero por DXA es muy sencillo. El paciente permanece acostado en la camilla por un corto período de tiempo que varía de acuerdo al equipo utilizado. Si se usa un densitómetro de haz de abanico demanda 5 minutos, en tanto con haz de lápiz el tiempo de estudio es de 15-20 minutos. Puede realizarse a niños y adultos con muy buena precisión y exactitud. Presenta limitaciones relacionadas con la talla y el peso. No puede realizarse correctamente en individuos muy altos (más de 1,90 m) por la longitud de la camilla y en los muy obesos (mayores de 160 kg) por la imposibilidad de los rayos para atravesar la totalidad del abdomen. En la actualidad es considerado el patrón de oro para el estudio de la composición corporal. Existen otros métodos de medición como la antropometría, la activación neutrónica, la bioimpedancia, TAC y RNM. La correlación entre esta última y DXA es muy alta. DXA informa sobre la composición corporal basándose en 3 compartimientos: 1- Masa grasa. 2- Masa magra y 3- Contenido mineral El fundamento de la técnica es la atenuación de los rayos X de diferentes energías (40 y 70 Kev) al atravesar los distintos tejidos. Cada uno de los componentes estudiados puede ser evaluado en su totalidad o en forma segmentaria. Es así que el contenido de masa grasa puede ser expresado como porcentaje total para considerar obesidad o como porcentaje de distribución en regiones, como la región centroabdominal asociada a enfermedad metabólica. Se considerará obesidad cuando un varón presente más de 27% de tejido adiposo y en la mujer >36%. Al evaluar la distribución grasa se considerará la relación tronco/piernas o androide/ginoide (expresada automáticamente en algunos equipos). En varones esta relación es normal hasta 1,30, en tanto en mujeres, menor de 1,0. Si los valores son

superiores, el individuo tendrá predominio centroabdominal del tejido adiposo y riesgo de asociarse a enfermedades metabólicas: diabetes, HTA, dislipemia, etc. Para independizar de la talla a cada uno de estos componentes se establecieron índices. El índice de masa grasa normal es menor de 5 kg/m² en el varón y menor de 8 kg/m² en la mujer. De la misma manera, el índice de masa magra se obtiene del cociente entre tejido magro (valor absoluto en Kg) y el cuadrado de la talla (expresado en metros). Son valores normales: >15 kg/m² en la mujer y >19 kg/m² en el varón. Para evaluar el contenido de músculo esquelético, importante en el diagnóstico de sarcopenia, puede considerarse el índice que relaciona la sumatoria del contenido de tejido magro de miembros superiores e inferiores con la talla al cuadrado. Son valores normales >5,45 kg/m² en la mujer y >7,26 kg/m² en el varón. Se destaca que en tejido magro evaluado por DXA se incluyen las proteínas, el agua, el glucógeno, es decir piel, músculos, tendones y tejido conectivo. En la evaluación ósea el cuerpo entero representa fundamentalmente el tejido cortical (80% de volumen óseo). El contenido mineral también varía según el sexo, habitualmente es >3.000 g en el varón y >2.500 g en la mujer. La relación de este componente con la masa magra permite categorizar a las osteopenias. La evaluación corporal es muy útil en variadas patologías y estados nutricionales: obesidad, anorexia, enfermedad celíaca, trasplantes, acromegalia, EPOC, SIDA, etc. También puede usarse para la evaluación de segmentos corporales en patologías como Sudeck, displasia fibrosa, etc.

Radio proximal. Información clínica que aporta.

Dra. María Diehl

Médica del sector de Osteopatías Metabólicas del Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear del Hospital Italiano de Bs As.

En el estudio del radio su nomenclatura es muy confusa. Habitualmente se designa como radio 33% o tercio distal al sitio explorado con mayor frecuencia y cuya ubicación resulta de la medición de la longitud total del cúbito y no del radio. De la misma manera, radio ultradistal se refiere al sitio localizado a 4-5% de la distancia total del cúbito. La importancia de la denominación se relaciona con la composición variable en tejido cortical y trabecular de este hueso. En radio medio el 99% es tejido cortical y es de importancia en el diagnóstico de enfermedades que comprometen parathormona. Existe un radio dominante relacionado con la dominancia del antebrazo de cada individuo. Ello determina elevaciones de 6-9% en la DMO respecto del no dominante pero puede ser mayor si el individuo realiza actividades con impacto repetitivos como el tenis. La mayoría de los fabricantes cuentan con bases de datos realizadas sobre el radio no dominante. Por lo tanto la comparación de un antebrazo dominante con estas bases puede no evaluar correctamente el riesgo de fractura. En general al explorar radio no existen artefactos que alteren la medición, excepto el antecedente de fracturas o el movimiento de paciente durante el registro. Esto obligará al técnico a reiniciar el estudio cuando hay movimiento o en el caso de fracturas, evaluar el contralateral. Es un estudio fácil de realizar. En general el paciente está sentado al lado de la camilla del densitómetro con el antebrazo ubicado sobre un posicionador específico. Los programas actuales de algunos equipos cuentan con la posibilidad de realizarlo en decúbito. Se deberá tener en cuenta la longitud del antebrazo. Algunos fabricantes incorporaron la determinación automática basándose en la talla del paciente previamente registrada en los datos iniciales. La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) recomienda:

1. Usar radio 33% de antebrazo no dominante para diagnóstico de osteoporosis aplicando los criterios de OMS en aquellos individuos en quienes no se puede medir raquis o cadera.



2. Usar radio medio solo para evaluar riesgo de fractura.
3. No usar para el monitoreo terapéutico. (Se basa en la escasa respuesta densitométrica demostrada en todos los estudios usando equipos DXA).
4. Evaluar radio medio en pacientes con hiperparatiroidismos (además de raquis y cadera)
5. Evaluar radio medio no dominante en individuos muy obesos cuyo peso excede el límite de seguridad establecido por cada fabricante.

En resumen, es un estudio muy fácil de realizar y de importancia clínica en los casos de hiperparatiroidismos primarios o secundarios. Ref: 1. Bonnick SL. Bone Densitometry in Clinical Practice. Second Edition. 2004. Humana Press. Totowa, New Jersey. 2. Hans DB, Shepherd JA, Schwartz EN, Reid DM et al. Peripheral Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in the Management of Osteoporosis: The 2007 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom* 2008 (11): 188-206. 3. <http://www.iscd.org/Visitors/positions/OP-Index.cfm>

Evaluación de las fracturas vertebrales (VFA). Su utilidad.

Srta. Marcela A Martinez

Técnica superior en radiología. Certificada por ISCD. Hospital Italiano de Bs As.
Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear.

Las fracturas vertebrales pueden evaluarse por DXA de manera semicuantitativa empleando la escala de Genant que establece el grado de severidad de acuerdo a la magnitud de la deformación vertebral. Así el *grado 0* (normal) corresponde a la vértebra dorsal o lumbar, de perfil, con sus alturas conservadas. El *grado 1* (leve) se refiere a las vértebras con una de sus alturas (anterior, media o posterior) disminuida entre el 20-25%; el *grado 2* (moderada) corresponde al descenso del 25-40%, en tanto en el *grado 3* (severa) la disminución es superior al 40%. Si bien la evaluación convencional de las fracturas vertebrales se realiza por radiografías, el uso de DXA para esta determinación (VFA) tiene varias ventajas: poca radiación, más económico, más conveniente para el paciente porque puede combinarse con la DMO permitiendo el reconocimiento de fracturas vertebrales. Se destaca que sólo la tercera parte de las mismas son sintomáticas. La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) considera que se debe realizar VFA cuando:

1. Sus resultados influirán en el manejo clínico del paciente.
2. En mujeres postmenopáusicas con osteopenia por DMO y algunos de los siguientes criterios:
 - a. Edad >70^a.
 - b. Pérdida histórica superior a 4 cm de talla.
 - c. Pérdida prospectiva superior a 2 cm de talla.
 - d. Con 2 ó más de los siguientes criterios:
 1. Edad entre 60-69^a.
 2. Reporte de fracturas previas no vertebrales.
 3. Pérdida histórica de 2-4 cm de talla.
 4. Enfermedades crónicas asociadas a riesgo de fractura vertebral (enfermedad pulmonar crónica [EPOC], artritis reumatoidea seropositiva, enfermedad de Crohn, etc).
3. Hombres con osteopenia por DMO y con algunos de los siguientes criterios:
 - a. Edad > 80^a.
 - b. Pérdida histórica de talla superior a 6 cm.
 - c. Pérdida de talla prospectiva superior a 3 cm.

- d. Reporte de fractura vertebral no documentada previamente.
 - e. Dos o más de los siguientes criterios:
 - 1. Edad entre 70-79^a.
 - 2. Reporte de fracturas no vertebrales previas.
 - 3. Pérdida de talla de 3-6 cm.
 - 4. Tratamiento con deprivación androgénica u orquiectomía.
 - 5. Enfermedades sistémicas crónicas asociadas con riesgo de fractura vertebral (EPOC, artritis reumatoidea, Crohn, etc).
 - 4. Hombres o mujeres bajo corticoideoterapia crónica (5 mg/d de prednisona por más de 3 meses).
 - 5. Mujeres postmenopáusicas u hombres con osteoporosis por DMO en quienes la documentación de una ó más fracturas vertebrales podría alterar el manejo clínico.
- Por lo tanto VFA es una tecnología para diagnosticar fracturas vertebrales que pueden modificar la categoría diagnóstica del paciente e identificar a aquellos que, estando en riesgo, podrían beneficiarse con los tratamientos médicos.



COMUNICACIONES LIBRES (CL)



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

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

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

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

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

CL2. Fracturas femorales por insuficiencia: Uso de teriparatida.

Plantalech L¹, Comba F², Morandi A³

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

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



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

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

Fina BL, Rigalli A.

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

El fluoruro ingresa al organismo a través de alimentos, durante tratamientos contra pérdida de masa ósea o como prevención de la aparición de caries dentales. Tiene efecto osteoformador, pero se ha demostrado que puede afectar el estrés oxidativo, la cadena respiratoria y enzimas de la glucólisis. La información es contradictoria y no siempre las concentraciones utilizadas son comparables a las halladas *in vivo*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del fluoruro sobre el consumo de oxígeno en tejidos animales, cuando el fluoruro se encuentra en concentraciones semejantes a las halladas en plasma luego de una dosis para tratamiento de osteoporosis o luego del consumo de agua con concentración de flúor utilizada en la prevención de caries. Se midió el consumo de oxígeno de cortes de hígado, riñón y músculo con concentraciones de fluoruro 0-100 μM con un electrodo de Clark. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley que se dividieron en tres grupos experimentales: controles; tratadas con F^- : que recibieron agua de bebida con NaF 15 ppm durante 30 días y OVX+MFP: ratas ovariectomizadas que recibieron monofluorofosfato de sodio 80 $\mu\text{mol/día}$ durante 60 días. Los dos tratamientos aplicados son coincidentes con prácticas farmacológicas en la prevención de caries dentales y la osteoporosis postmenopáusica, respectivamente. Los animales no recibieron tratamiento las 12 hs previas a las determinaciones y se obtuvieron los tejidos mencionados luego de practicar la eutanasia de los animales. Se prepararon cortes de 1x1x1 mm y se incubaron sucesivamente con concentraciones de fluoruro 0, 10, 50 y 100 μM a 37 °C. Se observó que la presencia de fluoruro en el buffer de incubación disminuye el consumo de oxígeno en el tejido hepático y muscular de los tres grupos experimentales. Lo contrario sucedió con el tejido renal. La tabla muestra los valores de consumo de oxígeno (nmol/min mg proteínas) como media \pm SEM de los tres grupos experimentales. * indica diferencia significativa respecto de 0 μM . No se compararon consumos entre tejidos.

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

Algunos autores consideran que D_2 y D_3 , a igualdad de dosis diaria, presentan la misma efectividad para elevar y mantener los niveles séricos de 25OHD (Holick, 2008). Sin embargo otros autores sugieren que D_3 es más efectiva que D_2 (Romagnoli, 2008). Objetivo: Determinar en un modelo de insuficiencia de D y osteopenia establecida (Bone, 2006) si la efectividad de la D_2 y D_3 varía en función de la cantidad diaria administrada. Se estudiaron 128 ratas Wistar adultas (200 ± 50 g), 64 fueron ovariectomizadas (OVX) y 64 sufrieron una operación simulada (SHAM). Durante 15 días postcirugía todas recibieron una dieta comercial (Granave SA, Bs As) que aportaba los nutrientes necesarios según los estándares internacionales. Luego adicionalmente por 45 días recibieron una dieta semisintética según AIN97 sin D (0UI%), para desarrollar insuficiencia. A los 60 días se las dividió en 2 grandes grupos: A: 100IU% y B: 200IU% de D_2 ó D_3 , respectivamente. Inicialmente en 16 ratas al azar se determinó el nivel basal de 25OHD (ng/ml) (^{125}I RIA Kit, DiaSorin, Stillwater, MN, USA) y luego se evaluó este metabolito en todas las ratas a los 60, 85 y 105 días de experiencia. Los resultados longitudinales de los niveles de 25OHD (ng/ml) fueron los siguientes ($\bar{x}\pm\text{ES}$):

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

Letras diferentes indican un $p < 0,05$

Los niveles basales de 25OHD fueron: $19,2\pm 0,3$ ng/ml; a T=60 no existieron diferencias entre los grupos estudiados. El grupo B no presentó diferencias en los niveles de 25OHD desde el día 85 y hasta el final de la experiencia; en cambio, en el grupo A los niveles de 25OHD alcanzados por aquellos animales que recibieron D_3 fueron significativamente mayores que aquellos que recibieron D_2 . Conclusiones: Bajo nuestras condiciones experimentales, en condiciones de insuficiencia de D, la D_3 y D_2 tendría diferente efectividad según la cantidad diaria administrada. PIP 6483

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

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

Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina

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



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

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

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

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

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

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

Fontana S¹, Carpentieri AR², Plavnik LM¹.

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

Pronsato L, Boland R, Milanese L.

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

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

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

Lezcano V, Boland R, Morelli S.

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

Letras iguales y * indican diferencias significativas.

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

Guglielmi C, Brun LR, Rigalli A.

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Jammal MV¹, Missana LM^{1,2}

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

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



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

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

Jammal MV¹, Missana LM^{1,2}

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

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

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

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

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

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

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

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

Letras diferentes indican una p<0,05.



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

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

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

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

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

Variables histomorfométricas de hueso trabecular de tibia de grupos experimentales

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

p<0,05 respecto a sham

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

El cáncer colorrectal es considerado un proceso multifacético caracterizado por alteración de la proliferación celular, escape de la regulación del crecimiento por contacto, formación de estructuras adenomatosas y futuras transformaciones malignas. La incidencia y la prognosis de esta enfermedad, como así también del cáncer de mama, próstata y del melanoma, están en estrecha relación con los niveles plasmáticos de vitamina D₃. En los últimos años se han descrito varias acciones no clásicas del metabolito activo de la vitamina D, el 1,25(OH)₂D₃, también denominado calcitriol. Entre ellas se destacan la modulación del crecimiento y la adhesión celular de varios tipos celulares benignos y malignos. Por otra parte, en cánceres resistentes a los tratamientos convencionales con radioterapia y quimioterapia, la inclusión de drogas oxidantes tal como D,L-butionina-S,R-sulfoximina (BSO) aumenta la sensibilidad de las células neoplásicas a los tratamientos. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar el efecto del calcitriol y BSO sobre la proliferación de las células de cáncer de colon y evaluar los posibles mecanismos involucrados. Para ello, las células Caco-2, derivadas de adenocarcinoma humano, se trataron con calcitriol (1-200 nM), BSO (2-500 M), con ambas drogas o su vehículo a distintos tiempos de exposición. La proliferación celular se determinó por la técnica de cristal violeta. La actividad de las enzimas del sistema antioxidante superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), como así también de la enzima marcadora de diferenciación celular fosfatasa alcalina (FAL) y los niveles de glutatión (GSH) se midieron por espectrofotometría. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el test de ANOVA a una vía seguido del test de Bonferroni como post-hoc. Los resultados demuestran que tanto calcitriol como BSO inhibieron el crecimiento de las células Caco-2, efecto que resultó dependiente del tiempo y de la concentración de droga utilizada. El contenido total de GSH disminuyó a las 6 hs de tratamiento con BSO y con el tratamiento combinado. A las 96 hs se observó aumento en la activi-

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Claus-Hermberg H, Lozano MP, Pozzo MJ.

Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

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

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

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

Lupo M, García B, Rigalli A.

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

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

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

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

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

Vicente D, Brun LR, Rigalli A.

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

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

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

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



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

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

Escudero ND, Mina NF, Mandalunis PM.

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

Gómez Acotto C, Antonelli C, Roldán EJA.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lupo M, Rigalli A.

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

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

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



ÍNDICE DE AUTORES

Organizado por número de Comunicación Libre (CL)

Acosta F	32	Gonzales Chaves MMS	6,8,28
Alonso G	12	Gonzalez S	12
Alonso E	23	Grappiolo I	32
Antonelli C	42	Guelman R	12
Areco VA	30	Guglielmi C	23,24
Arias L	19,23	Honeker M	36
Ayarzabal V	1	Jammal MV	26,27
Azcona S	4	Kokubu S	10
Basso N	3	La Colla A	35
Bertolotto P	7	Lewicki M	10
Bogado C	20	Lezcano V	18
Bohl LP	33	Liaudat AC	33
Boland R	17,18,35	Lombarte M	29
Brance ML	19	Lozano MP	9,37
Brito GM	43	Lucero DM	28
Brun LR	19,23,24,39	Lupo M	19,38,44
Bryk G	3,6	Mandalunis PM	10,40
Buttazzoni M	20	Marchionatti AM	16,30
Capozza RF	13,14,21,22,31,32	Marotte C	6,8,28
Carpentieri AR	7,11,30	Martín S	7
Cassinelli H	12	Martínez MP	9
Castagneto J	1,15	Mascheroni C	32
Centeno V	16,30	Massari F	20
Claus-Hermberg H	9,37	Mastaglia SR	41,43
Cointry GR	13,14,21,22,31,32	Meheris H	34
Comba F	2	Milanesi L	17
De Roccis C	15	Mina NF	40
Di Loreto V	29	Miras M	7,36
Díaz de Barboza G	7,16	Missana LM	26,27
Escudero ND	40	Mitre P	34
Feldman S	13,14,21,22,31,32	Morandi A	2
Ferretti JL	13,14,21,22,31,32	Morelli S	18
Fina BL	5	Moreno H	29
Fontana S	11	Mortarino P	14,21,31
Friedman SM	6,8	Muñoz L	7,36
Garat J	34	Negri A	20
García B	38	Nenda MM	10
Giambartolomei L	4	Nicola G	32
Goedelmann C	43	Ochetti M	7
Gómez Acotto C	42	Olguin M	28

Oliveri B	41,43	Roma SM	29
Orzuza R	3,6	Ronda A	35
Páez Núñez A	36	Rupérez C	7
Paglia N	3	Sack Behar G	32
Pasqualini T	12	Salica D	4
Pellegrini GG	6,8,28	Scaiola E	15
Pellisa Z	15	Schreier L	28
Peralta López ME	16,25	Schvab G	36
Pérez A del V	30	Seijo M	41,43
Pérez A	7	Sesta M	20
Pescio J	4	Signorino M	7
Picotto G	7,33	Silvano L	7,36
Pietrelli A	3	Silveira F	20
Plantalech L	2,12	Sobrero G	7,36
Plavnik LM	11	Somoza J	6,41,43
Portela ML	28	Soria N	34
Pozzo MJ	9,37	Spivacow R	20
Pronsato L	17	Stockman G	35
Pujadas Bigi MM	10	Tau C	1,15
Ransdale P	32	Tolosa de Talamoni NG	7,16,25,30,33
Redal MA	12	Ubios AM	10
Reina P	13,14,21,22,31,32	Ulla MR	7
Rey M	9	Vasconsuelo A	35
Rigalli A	5,19,23,24,29,38,39,44	Vicente D	39
Rittweger J	21,31	Viterbo G	1
Rivoira MA	16,25	Weisstaub A	28
Rodríguez M	15	Zanchetta JR	20
Rodríguez VA	25	Zanchetta MB	20
Roldán EJA	42	Zeni SN	3,6,8,28



Oravil®

VITAMINA D3

Esencial en tu vida

Si su paciente:

- Es mayor de 60 años.
- Vive en zonas con escasos períodos soleados o evita deliberadamente el sol.
- Realiza escasa actividad al aire libre o con protector solar en todo el cuerpo.
- No toma suplementos de Vitamina D o su dieta es insuficiente en alimentos ricos en ella.
- Toma corticoides crónicamente.

es probable que tenga
sus niveles de **Vitamina D bajos.**

Requerimientos diarios de Vitamina D:

- menos de 50 años: 400- 800 UI
- a partir de los 50 años: 800-1000 UI

El tratamiento ideal para acompañar
todos los tratamientos de osteoporosis es
una toma de ORAVIL® cada 3 meses.

Cada frasco ampolla bebible
contiene 100.000 UI de Vitamina D3

Si la deficiencia es confirmada, se recomienda
por lo menos duplicar la dosis.



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.



Gadador 
Al Cuidado de la Vida

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