

## EDITORIAL

### Perspectivas y controversias en Osteología clínica y básica

---

Los avances biomédicos en osteología se suceden con un dinamismo difícil de seguir sin los recursos educativos elementales, tales como el que proveen las revistas científicas. Así lo demuestran todos los artículos incluidos en este número de **Actualizaciones en Osteología** que abordan aspectos novedosos y/o controversiales, ya sea en la interpretación de investigaciones y formulación de hipótesis de trabajo, como en la adopción de los criterios médicos que hacen a la actividad asistencial.

Un grupo de expertos publica aquí el Consenso de la FASEN (Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología) sobre hiperparatiroidismo primario, actualización obligada por el desarrollo de las investigaciones en el diagnóstico y tratamiento de esta condición que amerita la revisión de la práctica.

No menos elemental –y de enorme interés sanitario en esta especialidad– es el artículo de A. Sánchez sobre la adherencia de los pacientes al tratamiento de las osteoporosis. Conocido es que los beneficios sobre las propiedades del esqueleto se pueden lograr con la persistencia de los tratamientos, pero varios factores hacen que muy pocos pacientes cumplan realmente con un esquema terapéutico mínimo efectivo. Los perjuicios son para el propio paciente, pero también para los sistemas de salud que cubren tratamientos incompletos y luego deben afrontar el peso de las complicaciones y aumento de la morbilidad en estos casos. La industria farmacéutica propone varios tipos de soluciones para mejorar la adherencia, pero es la tarea educativa del médico en el consultorio la que mayor

provecho podrá conseguir a favor de los cumplimientos. Los prescriptores no sólo deben conocer la dimensión del problema sino también disponer de recursos para trabajar en la educación de sus pacientes.

Bocanera y Puche exploran la asociación entre *riesgo de fractura y fractura*, en momentos en que están próximos a publicarse los nuevos criterios de la OMS para definir a las osteoporosis como condición de fragilidad esquelética, por encima de cualquier otra variable clínica o de diagnóstico especializado. ¿Necesariamente se fractura primero o más el paciente que está en mayor riesgo? ¿Los pacientes que se fracturan son los que no responden a la medicación, o algunos que sí responden se fracturan y otros que no responden nunca se fracturan? ¿Por qué se considera a la fractura como un objetivo terapéutico en las investigaciones clínicas si no existen tratamientos multifactoriales? La confluencia de factores que terminan por promover una fractura de baja energía, puede tener tanto de casualidad como de causalidad. Difícilmente se produce una fractura que en toda su extensión sea de baja energía, o también es factible que en pequeños sitios frágiles se desencadene un trauma sobre sitios fuertes, en función de la dirección de la carga. En este terreno la controversia es todavía muy grande.

El artículo de A.M. Galich sobre los riesgos de los usos prolongados de los bifosfonatos resulta de sumo interés por la gran cantidad de pacientes expuestos. **La aparición en los últimos años de esquemas cada vez más intermitentes, que implican el uso de dosis metabólicamente muy depresoras o de productos de alta potencia farmacológica, preocupan por los riesgos posibles que pueden suceder en el tratamiento de la osteoporosis,**

**siendo ésta una condición crónica y sujeta a numerosas interacciones y co-morbilidades.**

Seguramente esta temática exigirá una vigilancia estrecha por parte de la comunidad médica, con el objetivo de empezar a distinguir entre los riesgos de clase (de todos los bifosfonatos), los de tipo (para determinado bifosfonato) y los de uso (para el esquema de tratamiento de un bifosfonato dado).

También con bifosfonatos, el artículo de Bellido y Plotkin revela los secretos del mecanismo con que los bifosfonatos impactan sobre la función y la vitalidad de las células óseas. Originariamente vistos como meros agentes anti-osteoclastos, anti-resortivos óseos, hoy las investigaciones muestran que no existe relación estrecha entre el grado de

inhibición de la resorción ósea y la eficacia anti-fractura en pacientes con osteoporosis. Ni siquiera este mecanismo anti-catabólico puede explicar por sí solo las mejoras en la calidad estructural del hueso que experimentan los pacientes tratados con algunos bifosfonatos. El grupo de la Universidad de Arkansas descubre el efecto positivo sobre las células osteoblastos/osteocitos, incluso aportan datos de bifosfonatos que presentan este efecto anabólico sin modificar la actividad sobre el osteoclasto. Son bifosfonatos osteocito-selectivos, productos nuevos de enorme potencial para el desarrollo clínico.

Se trata pues, estimado colega, de una edición sumamente didáctica y que satisface los propósitos de AAOMM como entidad que reúne a los interesados en la osteología.

EMILIO J. A. ROLDÁN  
*Ex-Presidente de AAOMM*  
eroldan@gador.com.ar

## ACUERDO ENTRE LA REVISTA ESPAÑOLA DE ENFERMEDADES METABÓLICAS ÓSEAS (REEMO) Y ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Las Comisiones Directivas de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral (SEIOMM) y de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM) han acordado un plan de colaboración entre las respectivas publicaciones científicas (**REEMO** y **Actualizaciones en Osteología**).

En la página de cada una de nuestras sociedades en Internet figurará un enlace con la página de la otra, y así será posible acceder a los contenidos de las revistas. Los artículos de **Actualizaciones en Osteología** están en formato PDF y pueden bajarse sin cargo.

Además, y a partir del año próximo, en cada reunión anual de AAOMM se seleccionará un trabajo para publicación –como artículo completo– en la **REEMO**; esta distinción tendrá además un premio en efectivo de 500 euros. Las bases y condiciones para optar a este premio serán difundidas con la suficiente anticipación en 2007. La AAOMM estudia la posibilidad de establecer un premio en reciprocidad, para un trabajo presentado en el congreso anual de la SEIOMM, el que será publicado en **Actualizaciones**.

# RESÚMENES PRESENTADOS EN LA XXII REUNIÓN ANUAL DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE OSTEOLÓGIA Y METABOLISMO MINERAL

Buenos Aires, 24 y 25 de noviembre de 2005.

## OSTEOGÉNESIS ANTE PARTÍCULAS DE VIDRIO BIOACTIVO 45S5 MODIFICADO POR BORO. ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO.

Gorustovich Alejandro A; Steimetz Tammy, Porto López José M; Guglielmotti María B; Cabrini Rómulo L. Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, UBA; Div. Cerámicos, INTEMA, Conicet-UNMdP; Laboratorio de Investigación, CNEA-UNSA.

En estudios previos hemos desarrollado y caracterizado un vidrio bioactivo base tipo 45S5 conteniendo 45% SiO<sub>2</sub>, 24.5% Na<sub>2</sub>O, 24.5% CaO, 6% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, al que se adicionó 2% de B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Gorustovich et al. Key Eng Mater 2005; 284-286: 913-916). El objetivo del presente trabajo fue evaluar histomorfométricamente la respuesta osteogénica de la médula hematopoyética ante la presencia de partículas de vidrio bioactivo 45S5 modificado por boro. Se utilizaron ratas Wistar macho (n:20) de 100 ± 20 g de peso corporal. Bajo anestesia, se implantaron en el canal medular de una tibia 15 mg de partículas (300-350 µm) de vidrio bioactivo 45S5 (control), y en la tibia contralateral partículas de vidrio 45S5 modificado por boro (experimental).

Los animales fueron sacrificados por sobredosis de éter, en grupos de 10, a los 15 y 30 días post-implantación. Se resecaron las tibias, fijaron en formol, radiografiaron y procesaron para su inclusión en metacrilato de metilo y obtención de cortes por desgaste. Los cortes fueron coloreados con azul de toluidina para su posterior estudio histológico e histomorfométrico. Los parámetros histomorfométricos evaluados fueron volumen óseo peri-partículas (cm<sup>2</sup> de proyección 1:75) y espesor del tejido óseo neoformado oseointegrado (µm).

El estudio histológico evidenció neoformación de tejido óseo laminar alrededor de ambos biomateriales. El análisis histomorfométrico reveló que, a los 15 días post-implantación, el volumen óseo peri-partículas fue significativamente mayor en el grupo experimental (4 ± 1 cm<sup>2</sup>) con respecto al grupo control (2.6 ± 0.55 cm<sup>2</sup>) (p<0.05), no observándose diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos a los 30 días post-implantación. El espesor de tejido óseo neoformado oseointegrado fue significativamente superior en el grupo experimental con respecto al grupo control en todos los tiempos evaluados (15 días: 35 ± 12 µm vs. 25 ± 13 µm; 30 días: 44 ± 17 µm vs. 30 ± 15 µm) (p<0.05).

Los resultados del presente estudio evidencian que la implantación de partículas de vidrio bioactivo 45S5 modificado por boro determina un incremento de la actividad osteogénica de la médula hematopoyética de tibia de rata.

## ESTIMULACIÓN DE CASCADAS MITOGENICAS EN CÉLULAS INTESTINALES POR PTH Y 1α,25(OH)<sub>2</sub> - VITAMINA D<sub>3</sub>

Natalia Buzzi, Verónica González Pardo, Ricardo Boland y Ana Russo de Boland. Depto. Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. 8000 Bahía Blanca.

Previamente demostramos que la hormona paratiroidea (PTH) y la hormona esteroidea 1α,25(OH)<sub>2</sub>-vitamina D<sub>3</sub> [1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] activan a la tirosina quinasa citosólica c-Src en células intestinales (enterocitos) de rata, la cual, a su vez participa en la fosforilación y activación de las MAP quinasa ERK1 y ERK2. En células de mamíferos

se han identificado tres familias de MAP quinasa: ERK1/2, JNK1/2 y las p38 MAPKs. Las tres familias de MAP quinasa son activadas por quinasa (MAP quinasa quinasa) de especificidad dual, que las fosforilan en residuos de tirosina y treonina. En este trabajo investigamos si estas hormonas son capaces de activar a otros miembros de la familia de MAP quinasa.

Nuestros resultados demuestran que el 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> induce la fosforilación y activación de p38 MAPK en enterocitos de rata. La respuesta depende del tiempo y de la dosis, con efectos máximos a 2 min (+ 300%) y a 1nM. Contrariamente a la hormona esteroidea, PTH disminuye, dentro de los 15-30 min, la fosforilación y actividad basal de p38 MAPK. La fosforilación de p38 MAPK-dependiente de 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> es suprimida por el inhibidor selectivo de esta quinasa, SB 203580. La quelación del Ca<sup>2+</sup> extracelular con EGTA, la inhibición de c-Src con PP1 o la inhibición de la proteína quinasa A (PKA) con Rp-cAMP, atenúan los efectos de la hormona. La estimulación de los enterocitos con 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (1 nM) o PTH (10 nM) también provoca la fosforilación y activación de JNK1/2. El efecto de ambas hormonas sobre JNK1/2 es transiente, siendo máxima la respuesta a 1 min (+200%) y 2 min (+300%) para 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y PTH, respectivamente.

El tratamiento con 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> resulta en una rápida inducción de la expresión de c-Fos (+100%, 5 min), la que es bloqueada por SB 203580 y parcialmente suprimida por el inhibidor de ERK1/2, PD 98059, mientras que el tratamiento con PTH no modifica los niveles de la oncoproteína. Los resultados de este trabajo sugieren que PTH y 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> regulan diferencialmente las cascadas de p38 MAPK y JNK1/2 en células intestinales y que p38 MAPK desempeña un rol central en la inducción de la oncoproteína c-Fos por el 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, demostrando que los efectos rápidos de esta hormona, que se manifiestan en segundos-minutos, inducen la regulación secundaria de genes que resultan en los efectos genómicos.

## EL AGENTE OSTEOTRÓPICO ATP MODULA LAS CASCADAS DE SEÑALIZACIÓN ERK1/2 Y P38 MAPK EN OSTEÓBLASTOS INVOLUCRANDO INFLUJO DE CALCIO ACTIVADO POR ESTRÉS MECÁNICO Y ACTIVACIÓN DE PKC Y SRC.

Katz Sebastián, Santillán Graciela E., Boland Ricardo L. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur, San Juan 670, 8000-Bahía Blanca, Argentina.

Los nucleótidos extracelulares participan en la regulación del metabolismo óseo activando cascadas de señalización intracelulares a través de múltiples receptores de la familia P2. Estudiamos la modulación de las vías de señalización de proteínas quinasa activadas por mitógenos (MAPK) y su relación con cambios en la concentración de calcio intracelular ([Ca<sup>2+</sup>]) inducidos por ATP en células osteoblásticas ROS 17/2.8. Mediante espectrofluorimetría determinamos que ATP y UTP (10µM) inducen un incremento en [Ca<sup>2+</sup>], debido a liberación del catión de depósitos intracelulares. Si a continuación las células son estimuladas por estrés mecánico, hallamos que se produce un influjo de calcio transitorio. Este influjo de calcio activado por estrés mecánico

co (SAC) no fue observado luego de estimular las células con ADP, sugiriendo que la activación de receptores del tipo P2Y<sub>2</sub> es requerida para el flujo SAC. Adicionalmente, los análisis de western blot revelaron que ERK 1/2 y p38 MAPK fueron activadas por ATP en forma dosis y tiempo dependiente. Esta activación fue bloqueada casi por completo con neomicina (2.5mM), inhibidor de PI-fosfolipasa C (PI-PLC), Ro 318220 (1 M), inhibidor de proteína quinasa C (PKC) y PPI (50 M), un inhibidor potente y selectivo de tirosina quinasas de la familia Src. El uso de gadolinio (2.5 µM), el cual suprimió el flujo SAC ó medio libre de Ca<sup>2+</sup> (conteniendo EGTA 0.5mM) previnieron la fosforilación de ERK 1/2 y p38 por ATP. Además, el quelante de calcio intracelular BAPTA, no inhibió la activación de ERK1/2 y p38 inducida por ATP. Adicionalmente, Ro 318220 inhibió la fosforilación de c-Src(tyr<sub>416</sub>) y MKK3/6. Estudios inmunocitoquímicos mostraron la translocación de c-Src desde citosol hacia la región nuclear y confirmaron la activación de p38 por ATP. En conjunto, estos resultados evidencian por primera vez que la estimulación de receptores del tipo P2Y<sub>2</sub> por ATP en osteoblastos sensibiliza canales de calcio activados por estrés mecánico, permitiendo el flujo de calcio y una activación rápida de las vías ERK 1/2 y p38 MAPK. Este efecto también involucra como intermediarios upstream a PI-PLC, PKC (y MKK3/6 en el caso de p38) y quinasas de la familia Src. El conocimiento sobre la modulación de las cascadas ERK 1/2 y p38 por el agente osteotrópico ATP en osteoblastos es relevante para comprender los mecanismos subyacentes a sus funciones fisiológicas en hueso.

### FORMACIÓN ESPONTÁNEA IN VITRO DE ESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES MINERALIZADAS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE MESEN-QUIMÁTICAS DE RATA.

Francelancia Verónica, Lewis Adrián, Chertcoff Agustín, Da Silva Minas M.A., Cole Alejandro, Di Lonardo Ana, Álvarez Cantoni Héctor, Sivak M.G., Guglielmotti María, Tous Mónica. Servicio Cultivo de Tejidos, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "C. G. Malbrán". Hospital Dr. C. G. Durand. I Cátedra de Anatomía Patológica y Clínica II de Operatoria y Prótesis, Facultad de Odontología, U.B.A.

Las células madre mesenquimáticas (MSCs) son células multipotenciales que pueden aislarse de la médula ósea adulta. Pueden diferenciarse in vitro e in vivo en distintos tejidos de origen mesodérmico. La proliferación y diferenciación in vitro a diferentes linajes celulares como osteoblastos, condrocitos y adipocitos, depende de las condiciones de cultivo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el comportamiento de las MSCs manteniendo las células en confluencia a largo plazo. Se obtuvieron MSCs a partir de médula ósea de fémures de rata Wistar de 10 semanas de edad, se subcultivaron semanalmente en subconfluencia utilizando Medio Mínimo Esencial adicionalmente con 20% suero fetal bovino, gentamicina, anfotericina B, dexametasona, ácido ascórbico y L-glutamina (MC). Estas células demostraron capacidad osteogénica en ensayos in vitro y se evidenció en un modelo experimental in vivo de reparación ósea una mayor actividad osteogénica. De cada pasaje se mantuvieron cultivos en frascos de 75 cm<sup>2</sup> en 100% de confluencia sin subcultivar y se observaron diariamente al microscopio. En estas condiciones se observó en todos los frascos desprendimiento, plegamiento y retracción de la monocapa formando una estructura tridimensional esférica de aproximadamente 8 mm<sup>3</sup> que se mantuvo en condiciones de cultivo estáticas. Se mantuvieron en MC y en MC adicionado con β-glicerofosfato de sodio. Estas formaciones al ser trasladadas a un nuevo soporte tuvieron la capacidad de explantar células regenerando una monocapa celular que repite el proceso. Durante 60 días se estudió la evolución de las estructuras por análisis histológico mediante las tinciones de hematoxilina-eosina, tricrómica de Gomori, reticular de Gomori, PAS, fosfatasa alcalina, von Kossa y calceína. El análisis de la estructura y composición se realizó por microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM) y por dispersión de rayos X (EDX). El análisis histológico demostró una estructura estratificada compuesta por una capa celular superficial no mineralizada y un plegamiento interno compuesto por matriz extracelular, células y depósitos de mineral de calcio. Se evidenció que la mineralización comienza a la semana de la adición del medio osteogénico, desde núcleos internos de la estructura progresan-

do hacia la periferia en las semanas siguientes, sin involucrar la capa celular superficial. Los resultados de ESEM se correlacionan con lo observado por microscopía óptica. El análisis EDX demostró la presencia de Ca y P. El ESEM mostró formaciones nodulares de diferentes tamaños, características de las etapas iniciales de la formación ósea. Los controles cultivados sin β-glicerofosfato de sodio exhibieron las mismas características histológicas salvo la mineralización. Estos resultados preliminares demuestran la capacidad in vitro de las MSCs no sólo de proliferar y diferenciarse sino también de formar estructuras complejas sin la adición de matrices exógenas o soportes tridimensionales. Futuros estudios permitirán confirmar la utilidad de este modelo experimental como sistema osteogénico in vitro y su potencial aplicación clínica en regeneración ósea.

### OSTEOGÉNESIS PERI-IMPLANTE EN RELACIÓN AL TIPO DE MÉDULA ÓSEA.

Olmedo Daniel G.<sup>(1)</sup>, Krieger María L.<sup>(2)</sup>, Basualdo Mabel<sup>(1)</sup>, Guglielmotti María B.<sup>(1)</sup>  
<sup>(1)</sup> Cátedras de Anatomía Patológica y <sup>(2)</sup> Patología y Clínica Bucodental I. Facultad de Odontología, U.B.A.

Se describen en la literatura varios factores locales y/o sistémicos que influyen en la reparación ósea peri-implantaria. Entre los factores locales la capacidad osteogénica de la médula ósea es un factor de interés. La expresión de leptina ha sido descrita en los adipocitos de la médula ósea, ejerciendo una función parácrina como factor modulador de la actividad de células osteogénicas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar histológica e histomorfométricamente la respuesta reparativa ósea peri-implante en médula ósea hematopoyética y en médula a predominio adiposo.

Se utilizaron 10 ratas Wistar macho de 3 meses de edad (aprox. 250g de peso corporal) y 10 ratas de 24 meses (aprox. 400g de peso corporal). Bajo anestesia intraperitoneal de Xylazina (Bayer Argentina S.A.) y Ketamina (Ketalar, Parke-Davis, Morris, Plains, NJ) se colocaron en ambas tibias implantes laminares de titanio (Implant -Vel Argentina), de acuerdo a la metodología descrita por Cabrini y colaboradores. Se siguieron los lineamientos del NIH para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Los animales se sacrificaron a los 30 días posteriores a la colocación del implante. Se resecaron las tibias, radiografiaron y procesaron para su inclusión en metacrilato de metilo, realizándose cortes por desgaste, y posterior coloración con azul de toluidina. Se evaluó histomorfométricamente el volumen de tejido óseo peri-implante. El análisis estadístico se realizó mediante el test T de Student (p (0.05). En ambos grupos se observó tejido óseo de tipo laminar (luz polarizada) peri-implante con características equivalentes. El volumen de tejido óseo en los animales con médula hematopoyética (3 meses) fue significativamente menor comparado al tejido óseo observado en los animales con médula ósea a predominio adiposo (24 meses) (8 ± 3 cm<sup>2</sup> y 13 ± 3 cm<sup>2</sup> de proyección, p = 0.002, respectivamente). En el modelo experimental utilizado, el mayor volumen óseo peri-implante con relación a la médula ósea a predominio adiposo, podría ser atribuido a la función endócrina de las leptinas secretadas localmente, actuando directa o indirectamente sobre células mesenquimáticas de la médula ósea (células madre) o sobre osteoblastos.

### LÍPIDOS DIETARIOS Y MADURACIÓN ÓSEA.

Suárez Cristina G., Ferreira Andrea G., Rodríguez Patricia N., Zeni Susana N., Friedman Silvia N. Cátedra de Bioquímica General y Bucal, Facultad de Odontología, U.B.A.

Los niveles plasmáticos de leptina se correlacionan positivamente con el contenido de grasa corporal y se acepta su rol como indicador de la ingesta energética. Por su parte la IGF I puede ser considerada como una señal integradora entre la disponibilidad de calorías, la grasa de depósito y las proteínas. Nuestro objetivo fue estudiar los niveles de estos factores a un tiempo de aumento de crecimiento cuando se consumen dietas con una restricción del 50% de las calorías provenientes de los lípidos.

28 ratas Wistar hembras, al destete se dividieron en dos grupos (14 animales cada uno) que recibieron una de dos dietas experimenta-

les: a) 1:1 y b) 3:1, cuya única variación fue el E% (kcal de lípidos/100 kcal totales) siendo de 36% para a) y 18% para b).

A los 35 días de edad se sacrificaron todos los animales (T=35). Se midió peso (P g) y longitud corporal (cm) y se determinó: composición corporal (% grasa por método químico según AOAC y contenido mineral óseo por DXA Lunar DPX, CMO g) y, en una subpoblación de 5 animales, IGF I y leptina séricas (ELISA ng/ml).

Los resultados fueron los siguientes ( $x \pm DS$ ):

Dieta	Longitud Corporal	% Grasa Corporal	IGF I	Leptina	CMO/P %
1:1	15.9 $\pm$ 0.7	10.0 $\pm$ 1.7	329.2 $\pm$ 45.4	1.1 $\pm$ 0.6	0.34 $\pm$ 0.05
3:1	15.5 $\pm$ 0.7	7.9 $\pm$ 1.5*	275.6 $\pm$ 36.3	0.5 $\pm$ 0.2*	0.27 $\pm$ 0.03**

T test \*P < 0.05; \*\*P < 0.01.

La restricción del 50% de las calorías aportadas por los lípidos provocó: disminución significativa del % de grasa corporal, del contenido mineral óseo y de la leptina sérica. La longitud corporal no mostró diferencias significativas mientras que los niveles séricos de IGF I reflejaron una clara tendencia a la disminución.

**Conclusión:** IGF I y leptina actuarían como marcadores del desarrollo correlacionándose con la maduración química del hueso.

### EVOLUCIÓN TEMPORAL DE PARÁMETROS BIOMÉTRICOS, HISTOMORFOMÉTRICOS Y BIOMECÁNICOS DE LA MANDÍBULA DE LA RATA HIPOFISOPRIVA.

Olivera María I. <sup>(1)</sup>, Bozzini Clarisa <sup>(1)</sup>, Mandalunis Patricia<sup>(2)</sup>, Bozzini Carlos E. <sup>(1)</sup>, Alippi Rosa M. <sup>(1)</sup>. Cátedras de Fisiología<sup>(1)</sup> y de Histología<sup>(2)</sup>, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

La resistencia biomecánica de la mandíbula (M) depende de la rigidez intrínseca del material óseo y de la distribución espacial del tejido mineralizado. Las propiedades biomecánicas cambian con la edad. En la M de la rata, ambos parámetros alcanzan sus valores máximos entre los 90 y 120 días de edad. El modelo de la rata hipofisectomizada (HX) ha sido extensamente usado para estudiar la regulación del crecimiento óseo por las hormonas adenohipofisarias. Hemos demostrado recientemente que la HX en la rata induce la transformación del fémur juvenil en un hueso adulto caracterizado por su elevada densidad y su inusual módulo de elasticidad, a pesar de la supresión del crecimiento longitudinal. El presente proyecto evalúa los efectos de la HX temprana (30 d) en ratas hembras Sprague-Dawley sobre parámetros biométricos, biomecánicos y de masa ósea determinados 5 meses más tarde (adultez). Los controles fueron ratas de la misma edad iniciales (BS) o adultas (CON). La biometría fue realizada mediante la medición de distancias entre puntos notables de M; las propiedades biomecánicas, mediante el test de flexión a 3 puntos en un equipo Instron 4442; la masa ósea, mediante el contenido total de calcio en las cenizas luego del calcinamiento a 600°C; el volumen de hueso interradicular, mediante histomorfometría.

Las ratas HX mostraron:

- 1) Supresión de la ganancia de peso y longitud corporales ( $p > 0.05$ );
- 2) Cese de crecimiento de M, evidenciado por disminución del "área mandibular" y de las medidas de longitud de base y altura de rama, con mantenimiento de proporciones infantiles entre sus porciones anterior y posterior ( $p > 0.05$ );
- 3) Aumento del peso de M (1.50x,  $p < 0.0001$ ), asociado con incremento de la masa ósea (2.10x,  $p < 0.0001$ ) y del volumen de hueso interradicular (1.7x,  $p < 0.0001$ );
- 4) Aumento de las propiedades extrínsecas: rigidez (2.61x,  $p < 0.001$ ), límite elástico (4.65x,  $p < 0.001$ ) y carga de fractura (4.01x,  $p < 0.001$ ) e intrínsecas: módulo de elasticidad (1.73x,  $p < 0.001$ ). Los resultados fueron analizados mediante el test de Student.

**Conclusión:** La mandíbula de la rata hipofisectomizada sufre modificaciones durante la ontogenia que se caracterizan por incremento de la rigidez extrínseca e intrínseca, del pico de masa ósea, y de la densidad ósea.

PROYECTO UBACYT O-011.

### MODELO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE TEJIDO ÓSEO ESPONJOSO DE MANDÍBULA DE RATA PARA SU ESTUDIO BIOMECÁNICO.

Sivak Matías G., Guglielmotti María B.  
Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología,  
Universidad de Buenos Aires.

El estudio de las propiedades biomecánicas del tejido óseo de los maxilares, resulta de suma importancia para poder estimar su respuesta frente a distintas terapéuticas ampliamente utilizadas. La reparación ósea post-exodoncia en ratas constituye un modelo experimental de activa osteogénesis y remodelado óseo. La utilización de dicho modelo nos permite evaluar histológica e histomorfométricamente la cronodinamia de la reparación y el remodelado óseo post-exodoncia, así como el efecto de factores locales y sistémicos que pueden influenciar sobre este proceso. Dentro de este marco, la bibliografía tanto clínica como experimental sobre las propiedades biomecánicas de los maxilares es escasa. Tampoco se describe una metodología estandarizada para la obtención y el análisis de las muestras, no existiendo trabajos que evalúen las características biomecánicas del tejido óseo esponjoso en el reborde desdentado.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una metodología estandarizada para obtener muestras de tejido óseo esponjoso formado de novo en el reborde desdentado, para su estudio biomecánico. Para esto en un trabajo previo desarrollamos en nuestro laboratorio una técnica quirúrgica atraumática, para la exodoncia completa de los molares inferiores de ratas Wistar (Guglielmotti et. al. J. Oral Maxillofac. Surg. 43:359, 1985). A los animales bajo anestesia general se les realizan las exodoncias de los tres molares inferiores utilizando instrumental diseñado ad-hoc. Luego de sacrificar los animales, siguiendo las directivas del National Institutes of Health (NIH Publication No 85-23, Rev. 1985); los maxilares se secan, se radiografían y se acondicionan según el estudio biomecánico a realizar. Para obtener las muestras, se debe tener en cuenta consideraciones anatómicas propias de estos animales de experimentación. Las ratas poseen incisivos de crecimiento continuo, que son desgastados por atrición durante la vida del animal. En el caso del maxilar inferior, este se ubica ocupando la porción inferior del cuerpo mandibular y por debajo de las raíces de los molares. En tal sentido, la porción superior del mismo en sentido longitudinal, ofrece un plano de clivaje para poder separar el reborde desdentado del cuerpo mandibular.

Utilizando este reparo anatómico como guía, es que separamos el reborde desdentado del cuerpo mandibular. El límite anterior se ubica en mesial del primer alveólo post-exodoncia. El límite posterior es por distal del alveólo correspondiente al tercer molar. Las muestras obtenidas de esta forma corresponden al reborde desdentado. Las mismas, están compuestas por una zona central de tejido óseo esponjoso formado de novo, y dos finas corticales correspondientes a las tablas vestibular y lingual. La metodología descrita permitiría la evaluación biomecánica de tejido óseo esponjoso neoformado y su correlación con el estudio histológico e histomorfométrico. En caso de que el ensayo sea destructivo, la correlación puede hacerse sobre el hemimaxilar contralateral. El presente modelo experimental permitiría aplicar diferentes metodologías para el estudio biomecánico de este tejido óseo esponjoso mandibular. Dentro de este contexto podrían utilizarse ensayos compresivos, modelos de elementos finitos, nanoindentación, entre otros.

Subsidios: UBA O 020, CONICET PIP 6042.



**EFFECTOS NOVEDOSOS SOBRE LAS PROPIEDADES MATERIALES Y EL COMPORTAMIENTO PLÁSTICO DE HUESOS DE RATA, INDEPENDIENTES DE LA MINERALIZACIÓN Y CON IMPACTO SOBRE EL MECANISMO DE FRACTURA.**

Cointry G., Capozza R., Feldman S., Chiappe M., Daniele S., Fracalossi D., Reina P., Ferretti J.  
 Centro de Estudios de Metabolismo P-Ca, U.N.R.

La resistencia ósea a la fractura depende de 3 factores independientes, que operan sucesivamente en el proceso fracturario: rigidez (resistencia a la deformación), resiliencia (resistencia a la generación de cracks), y tenacidad (resistencia al progreso de esos cracks). La rigidez depende del módulo elástico (E) y de la distribución espacial del tejido duro. La resiliencia determina el límite del comportamiento "elástico" de los huesos (deformación reversible), y la tenacidad refuerza el sucesivo comportamiento "plástico" (deformación irreversible) hasta la fractura. Las 2 últimas propiedades configuran la "resistencia" a la fractura. Su estudio es importante porque involucra factores de "calidad ósea" no siempre dependientes de la mineralización. Hemos identificado efectos inéditos sobre estas propiedades en fémures de ratas tratadas con hipofisectomía (Hx; 20 tratados, 9 controles), ovariectomía (Ox;6,5), olpadronato (OPD;24,16), alendronato (ALN;13,13) ó (OH)3Al (14,14), ó con diabetes genética tipo I (línea eSS; 9,10), analizados mediante pQCT y tests mecánicos (Tabla). Todas estas condiciones indujeron aumentos o reducciones significativas (p<0.01 siempre) del % de carga soportado en condiciones plásticas (tenacidad), cuya magnitud o cuyo sentido variaron independientemente de:

1. La mineralización (vDMO) de la compacta;
2. La rigidez o módulo E del tejido;
3. La rigidez diafisaria (relación carga/deformación), y/o
4. La carga límite soportada elásticamente (resiliencia).

En 2 casos particulares (Hx, eSS), el módulo E varió independientemente de la mineralización, hallazgo también singular. Exceptuando solamente el grupo tratado con (OH)3Al, nuestro Bone Strength Index (BSI), producto de la vDMO cortical (indicador de "calidad" material) y el momento de inercia seccional (indicador de "calidad" del diseño diafisario), falló en predecir la carga de fractura en los demás grupos tratados. La independencia entre efectos y la incapacidad predictiva del BSI (que no captura factores microestructurales de calidad material), sugiere la participación de fibras colágenas y cristales en esos efectos, asociados más con el progreso (tenacidad) que con la formación (resiliencia) de cracks, relevantes para el mecanismo de fractura durante la deformación plástica, proceso no necesariamente asociado a la mineralización.

Condición o Tratamiento	vDMO cort	Módulo E	Mom. de Inercia	Rigidez diafis.	Resistencia	Tenacidad	Carga Final	Predicc por BSI
Hx	↓ 17%	↑ 70%	↓ 74%	↓ 65%	↓ 42%	↓ 75%	↓ 53%	No
Ox	↓ 2%	↓ 20%	↑ 6%	↓ 15%	↓ 13%	↑ 34%	↓ 7%	No
OPD	■	■	↑ 31%	↑ 7%	↑ 8%	↑ 255%	↑ 29%	No
ALN	■	■	■	■	■	↑ 41%	↑ 15%	No
AI	↓ 2%	↓ 18%	↑ 10%	■	■	↓ 32%	↓ 6%	Sí
Diabetes	↑ 3%	↑ 85%	↓ 58%	↑ 45%	■	↓ 61%	↓ 18%	No

Tabla. Variación de las propiedades biomecánicas femorales en las distintas condiciones experimentales.

Estos hallazgos:

1. Explican algunos efectos asimétricos, aparentemente paradójicos, de tratamientos actuales (especialmente bisfosfonatos) sobre la mineralización y la incidencia de nuevas fracturas, y;
2. Cuestionan la creencia de que la masa ósea remanente es biológica y mecánicamente normal en las osteopenias metabólicas, en congruencia con estudios con otras metodologías.

La Biomecánica Osea tiene mucho por aportar a la Osteología Clínica, para evitar la peligrosa extrapolación de las determinaciones densitométricas usuales hacia el mal definido concepto de "calidad ósea".

**CARACTERIZACIÓN MICROQUÍMICA DEL TEJIDO ÓSEO NEOFORMADO ANTE MATERIALES CERÁMICOS BIOACTIVOS.**

Gorustovich Alejandro A., Steimetz Tammy, Porto López José M., Guglielmotti María B., Cabrini Rómulo L.  
 Cát. de Anatomía Patológica, Fac. de Odontología, U.B.A.; Div. Cerámicos, INTEMA, Conicet-UNMdP; Lab. de Investigación, CNEA-UNSa.

Estudios recientes indican que iones liberados a partir de biomateriales cerámicos bioactivos estimulan la neoformación de tejido óseo y participan en el proceso de mineralización del mismo. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar, mediante microanálisis químico por sonda de electrones (EDX), el tejido óseo neoformado alrededor de partículas de vidrios bioactivos del sistema SiO2-CaO-Na2O-P2O5 desarrollados en nuestro laboratorio: 45S5 y 45S52B. Este último se preparó a partir de un vidrio bioactivo base tipo 45S5 conteniendo 45% SiO2, 24.5% Na2O, 24.5% CaO, 6% P2O5, al que se adicionó 2% de B2O3.

Se utilizaron ratas Wistar macho (n:30) de 100 ± 20 g de peso corporal. Bajo anestesia, se implantó en el canal medular de una tibia 15 mg de partículas (300-350 µm) de vidrio bioactivo 45S5 (grupo control), y en la tibia contralateral partículas de 45S52B (grupo experimental). Los animales fueron sacrificados por sobredosis de éter, en grupos de 10, a los 15, 30 y 60 días post-implantación. Se resecaron las tibias, fijaron en formol, radiografiaron y procesaron para su inclusión en metacrilato de metilo y obtención de cortes por desgaste. Los cortes se metalizaron con plata (20 nm) para su estudio por microscopía electrónica de barrido y EDX. El procedimiento fue realizado en la Unidad de Actividad de Química, Centro Atómico Constituyentes, Comisión Nacional de Energía Atómica. En cada muestra se determinó el porcentaje atómico relativo (at %) de Ca y P en el tejido óseo peri-partículas, y se estimó la relación Ca:P de dicho tejido siguiendo la metodología previamente descrita (Gorustovich et al. Int J Oral Maxillofac Implants 2002; 17 (5): 644-650).

Se observó un incremento estadísticamente significativo (p<0.05) en la relación Ca:P en el tejido óseo neoformado alrededor de las partículas 45S52B a los 15 días post-implantación, no observándose diferencias entre ambos grupos en los otros tiempos experimentales evaluados. Estos resultados sugieren una mineralización ósea temprana con la utilización de partículas de vidrio bioactivo modificado por boro.

Subsidios: ANPCyT PICT 05-11870, UNSa 1309, CONICET PIP 6042.

**EFFECTO DEL OLPADRONATO EN LA REPARACIÓN ÓSEA PERI-IMPLANTE. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN RATAS.**

Sivak Matías G., Renou Sandra J., Mandalunis Patricia M., Guglielmotti María B.  
 Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires. Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

Los bifosfonatos inhiben la reabsorción ósea mediada por osteoclastos y son ampliamente utilizados para el tratamiento de pacientes con patologías óseas tales como la enfermedad de Paget, osteoporosis postmenopausia, pérdidas óseas relacionadas a inflamación (artritis reumatoidea), entre otros. El objetivo del presente trabajo fue evaluar histológica e histomorfométricamente el efecto del olpadronato en la reparación ósea peri-implante en tibia de rata. Se utilizaron 20 ratas Wistar macho de 60±10 g de peso corporal, a las que bajo anestesia general se les colocó en tibia implantes intramedulares de Ti (Cabrini et al. Implant Dent 1993; 2: 264-267). Los animales fueron asignados a dos grupos. El grupo experimental (GE)(n=10) recibió una dosis de Olpadronato (OPD) (Gador S.A. Argentina) de 0,3 mg por Kg de

peso corporal luego de la implantación (t0) y a los siete días (t7). La administración se hizo en forma intra-peritoneal utilizando como vehículo solución fisiológica inyectable. El grupo control (GC) (n=10) recibió un volumen equivalente del vehículo a t0 y t7. Los animales fueron sacrificados a los 14 días post-implantación. Se siguieron las directivas del National Institutes of Health (NIH) para el uso y cuidado de animales de laboratorio (NIH Publication No 85-23, Rev. 1985), y de la Comisión de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires. Las tibias fueron resecadas, fijadas en formol, radiografiadas, y procesadas para su inclusión en metacrilato de metilo. Se realizaron cortes por desgaste (50 µm) y se colorearon con azul de toluidina al 1%, para su posterior evaluación histológica e histomorfométrica del entorno peri-implante. Los datos fueron analizados con el test t de Student. Radiográficamente se observó, en el GE, un aumento evidente de la extensión en longitud del área ocupada por el tejido óseo metafisario. El estudio histológico reveló la presencia de tejido óseo laminar en relación a la superficie metálica del implante en ambos grupos. En el GE además se evidenció la presencia de tejido óseo ocupando zonas alejadas al implante, que corresponden a trabéculas de hueso metafisario. Histomorfométricamente se observó en el GE un aumento estadísticamente significativo del volumen óseo peri-implante ( $12.9 \pm 6.5 \text{ mm}^3$  vs.  $7.5 \pm 1.9 \text{ mm}^3$ ), p(0,05). En el modelo experimental utilizado, la administración de OPD durante el proceso reparativo peri-implante resultó en un aumento del volumen óseo peri-implante.

*Subsidios: UBA O 020, CONICET PIP 6042. El olpadronato fue gentilmente cedido por la firma Gador S.A. (Buenos Aires, Argentina).*

## EFFECTO ANTI-RESORTIVO DEL OLPADRONATO Y ALENDRONATO EN UN MODELO DE PERIODONTITIS EXPERIMENTAL: ESTUDIO COMPARATIVO.

Goya Juan A., Mandalunis Patricia M.  
Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, U.B.A.

La periodontitis se caracteriza por inflamación gingival con presencia de bolsas periodontales y formación de placa bacteriana que llevan a la destrucción del hueso alveolar. Es el resultado de un proceso inflamatorio que comienza en los tejidos gingivales y se extiende al periodonto de inserción. Los bisfosfonatos (BPs) son los agentes anti-resortivos más frecuentemente utilizados para el tratamiento de la osteoporosis y otras enfermedades óseas metabólicas. Los BPs actúan sobre el tejido óseo inhibiendo la reabsorción ósea por diversos mecanismos. Dada las propiedades de estas drogas, en los últimos años se está evaluando experimentalmente su utilización en diferentes disciplinas odontológicas tales como implantología, ortodoncia, periodoncia y cirugía.

En un estudio previo hemos comprobado que el olpadronato (OPD) (Gador SA) es una droga efectiva en la prevención de la pérdida ósea en la periodontitis experimental. El objetivo del presente estudio fue comparar histomorfométricamente el efecto preventivo de la aplicación tópica de dosis equivalentes de alendronato (ALE) (Gador SA) y olpadronato (OPD) (Gador SA) en nuestro modelo de periodontitis experimental (PE).

Para este estudio se utilizaron 30 ratas Wistar de 250 gr las cuales se dividieron en 3 grupos: Grupo I: PE, Grupo II: PE+ALE, Grupo III: PE+OPD. A los animales de todos los grupos se indujo periodontitis experimental (PE) mediante una ligadura de hilo de algodón a nivel cervical en el 1er molar inferior izquierdo durante 4 días. Los animales de los grupos II y III fueron topicados diariamente en el molar tratado con 100µl de solución de alendronato (Group II)/ olpadronato (Group III) 150 mM, durante los 4 días de experiencia. Los animales del Grupo I: PE fueron topicados con equivalente volumen de vehículo. La topicación se aplicó en el fondo del surco gingival. Los molares contralaterales de todos los grupos fueron utilizados como controles absolutos.

El día 5 del experimento los animales fueron sacrificados y se extrajeron los maxilares inferiores los cuales se fijaron en formol buffer y se descalcificaron en EDTA. El sector conteniendo los 3 molares inferiores de cada hemimaxilar descalcificado fue incluido en parafina y bajo lupa estereoscópica se obtuvieron cortes orientados en sentido

mesio distal del 1er molar inferior. Los cortes fueron coloreados con hematoxilina y eosina y sólo aquellos que estaban orientados correctamente fueron utilizados para el estudio histológico e histomorfométrico. La evaluación histomorfométrica de los cortes fue realizada sobre microfotografías digitalizadas y empleando el software Image Tool (UTHSCA).

Los siguientes parámetros histomorfométricos fueron evaluados en la mitad superior del hueso interradicular del 1er molar inferior (figura):

- Altura del ligamento periodontal (µm): Para medir la altura del ligamento periodontal se marcaron 4 puntos equidistantes en la cresta alveolar y se trazaron 4 líneas desde el hueso hasta la pieza dentaria, se midió la longitud de las líneas y se calculó la media para obtener el alto del ligamento periodontal en cada corte evaluado.
- BV/TV (%): Volumen óseo: Fracción del volumen total correspondiente a tejido óseo. Volumen total: Tejido óseo + medula ósea + ligamento periodontal.

Los resultados obtenidos en este estudio se muestran en la siguiente tabla:

	(1) Grupo I (PE)	(2) Grupo II (PE+ALE)	(3) Grupo III (PE+OPD)	(4) Controles Absolutos	p
Altura del lig. periodontal (µm)	482.5 ± 132.3	379.3 ± 128.0	288.8 ± 54.2	179.2 ± 42.8	4 vs 1,2,3 p< 0.05 3 vs 1 p< 0.05 3 vs 2 NS 2 vs 1 NS
Volumen óseo (%)	19.5 ± 8.5	24.6 ± 9.9	40.0 ± 6.9	44.5 ± 8.5	4 vs 1,2 p< 0.05 4 vs 3 NS 3 vs 1 p< 0.05 3 vs 2 NS 2 vs 1 NS

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante Kruskal-Wallis y Dunn test post-hoc.

Los resultados de este estudio muestran que en dosis equivalentes, el olpadronato (OPD) es más efectivo que el alendronato (ALE) en la prevención de la pérdida ósea de origen inflamatorio producida en este modelo de periodontitis experimental.

UBACYT 0013

## EFFECTO DEL OLPADRONATO SOBRE EL OSTEOCLASTO: ESTUDIO HISTOQUÍMICO.

Escudero Natalia D., Bozal Carola B., Tomasi Víctor H., Lacave Mariela, Ubios Angela M., Mandalunis Patricia M.  
Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires.

Los bifosfonatos (BPs) son un grupo de drogas ampliamente utilizado para el tratamiento de enfermedades asociadas con un aumento en la reabsorción ósea. Es sabido que la célula blanco por excelencia de estas drogas es el osteoclasto (OCL). Dependiendo del tipo de BP, los efectos sobre esta célula son variables. Los datos bibliográficos muestran que los efectos van desde la toxicidad celular, disminución en el reclutamiento, adhesión y actividad e incluso aumento de la apoptosis. El olpadronato monosódico (OPD) (Gador SA) pertenece al grupo de los aminobifosfonatos, los cuales se caracterizan por ejercer su efecto a través de la inhibición de la vía enzimática del mevalonato que lleva a la síntesis de la farnesil pirofosfato sintetasa y consiguiente apoptosis. En trabajos previos hemos observado que si bien el volumen óseo aumentaba con OPD, el número de OCLs no era significativamente menor.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad de la enzima fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) y la apoptosis en osteoclastos expuestos a OPD.

Para tal fin se utilizaron 26 ratas Wistar hembra de 170 gr divididas en dos grupos (GI y GII). Al GI se le administró durante 5 semanas 0.3 mg/kg/sem de OPD por vía intraperitoneal. El GII se utilizó como Sham y recibió vehículo. A las 6 semanas de comenzado el experimento los animales de ambos grupos fueron sacrificados y se extrajeron las tibias, las cuales se fijaron en formol buffer. En las tibias izquierdas se practicó un

corte transversal a la altura del hueso metafisiario y se realizaron improntas sobre portaobjetos de la zona del corte; sobre ellos se realizó la técnica para detección de apoptosis mediante TUNEL (TdT-mediated dUTP Nick End Labeling). Las tibias derechas se descalcificaron y fueron procesadas para su inclusión en parafina, se realizaron cortes longitudinales que se colorearon con H&E y determinación histoquímica de TRAP, marcador fenotípico de preosteoclastos y osteoclastos. En las tibias, en la zona de trabéculas subcondrales, se evaluó mediante TRAP: cantidad total de OCLs, número de OCLs positivos, levemente positivos y negativos para la reacción. En los cortes coloreados con H&E se evaluó la densidad de osteocitos en la cortical diafisiaria.

Los resultados de este estudio no mostraron cambios en la densidad osteocitaria entre el grupo sham vs grupo experimental (GI:  $15.7 \pm 2.3$  GII:  $16.4 \pm 3.7$   $p=0.75$ ). El número total de osteoclastos fue significativamente mayor en el grupo experimental (GI:  $98 \pm 24$ , GII:  $148 \pm 4.7$   $p=0.024$ ) y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje (%) de células TRAP+ (GI:  $84.6 \pm 6.2$ , GII:  $87.5 \pm 0.5$   $p=0.465$ ). No se observaron células apoptóticas en las improntas de esponjosa primaria en ninguno de los grupos estudiados.

Estos resultados sugieren que la inhibición de la reabsorción producida por el OPD no estaría relacionada con una inhibición en el reclutamiento osteoclastico, así como tampoco en la actividad de la TRAP, ni en la muerte celular por apoptosis en los osteoclastos de la esponjosa primaria.

UBACyT O 013 - Gador SA

### UNIÓN DEL CATION CALCIO A LA FOSFATASA ALCALINA INTESTINAL DE LA RATA. MODIFICACIÓN DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA Y SU ESTRUCTURA MOLECULAR.

Lucas R. M. Brun, María L. Brance, Alfredo Rigalli, Rodolfo C. Puche.

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

La fosfatasa alcalina intestinal (FAI) es una fosfomonoesterasa que actúa sobre una gran variedad de moléculas fosforiladas. Su rol en la absorción intestinal de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) es parcialmente conocido. Hemos demostrado que la FAI es inhibida en forma no competitiva por el  $\text{Ca}^{2+}$  y que cuando la concentración  $\text{Ca}^{2+}$  es menor a 10 mM la enzima liga  $7.8 \pm 4.4$  iones  $\text{Ca}^{2+}$ /mol de FAI con una constante de afinidad de  $19.1 \pm 8.4$   $\text{mM}^{-1}$ , siendo los sitios independientes y de igual afinidad. Si la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  es mayor a 20 mM el mencionado modelo no es aplicable y la enzima fija  $6300 \pm 1300$  iones/mol de proteína. La medida de actividad de FAI en solución muestra un efecto bifásico dependiendo de la concentración de calcio investigada. Cuando la  $[\text{Ca}^{2+}] < 10$  mM la actividad de FAI se incrementa en función de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $r = 0.95$   $p < 0.01$ ). Si  $[\text{Ca}^{2+}] > 20$  mM dicha relación se invierte ( $r = -0.70$   $p < 0.05$ ). Experimentos de polarización de fluorescencia de FAI en presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  sugieren que el catión produciría agregación molecular de la enzima.

El objetivo de este trabajo fue investigar cambios en la actividad y el peso molecular de la enzima en presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM.

En todos los experimentos se utilizó FAI purificada del intestino de ratas línea IIM/FcM sublínea "m" adultas. La enzima fue incubada con  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM durante 5 minutos en los casos requeridos. Se realizaron electroforesis en geles de poliacrilamida al 5% con SDS (SDS-PAGE) y cromatografía de exclusión molecular con la enzima en presencia y ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM. Para los Western blots y dot blots se utilizó un anticuerpo de cobayo anti-FAI de rata, anti-IgG de cobayo conjugado con peroxidasa y 3-amin-9-etilcarbazol (AEC) como sustrato. En solución, la actividad de FAI se determinó utilizando como sustrato p-nitrofenilfosfato. En membranas de nitrocelulosa la actividad de FAI se detectó utilizando 5-Br-4-Cl-3-indolil fosfato (BCIP).

Se realizaron los siguientes experimentos:

1. SDS-PAGE en presencia de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ : Se detectaron dos bandas con radioactividad. Una de bajo y otra de alto peso molecular. El tratamiento con  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM produjo un incremento de la radioactividad asociada a la banda de alto peso molecular.

2. Cromatografía de exclusión molecular en Sephadex G200 de FAI en presencia y ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM: En ambos casos se detectaron por Dot blot dos fracciones (F) de FAI con diferente masa molecular: F1= 161 17 kDa y F2= 472 25 kDa. F1 presenta mayor actividad específica que F2. El tratamiento con  $\text{Ca}^{2+}$  produce disminución de la cantidad de proteína de F1 y un proporcional incremento de F2.

3. Western Blot: Se detectaron dos fracciones de la enzima: F1 con actividad enzimática y F2 sin actividad. El peso molecular de las fracciones fue: F1=  $168 \pm 6$  kDa y F2=  $425 \pm 45$  kDa.

Se concluye que el tratamiento de la FAI con calcio 50 mM produce agregación molecular acompañada de disminución de la actividad específica de la enzima.

La importancia que la agregación molecular de la FAI simultánea con la fijación de calcio pueda tener sobre el mecanismo de absorción del catión a nivel intestinal es desconocido y requiere experimentos adicionales.

### EFFECTO DEL CALCIO SOBRE LA FOSFATASA ALCALINA INTESTINAL DEL BORDE EN CEPILLO DE LA RATA IN VIVO.

María L. Brance, Lucas R. M. Brun, Lucas De Candia, Alfredo Rigalli, Rodolfo C. Puche.

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

La fosfatasa alcalina intestinal (FAI) liga cationes calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), fenómeno que produce inhibición no competitiva de su actividad enzimática. Este efecto depende de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y ha sido demostrado in vitro, con enzima purificada. Dicha inhibición en presencia de  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM se acompaña de aumento del peso molecular de la enzima y unión de cationes a la enzima. El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto del  $\text{Ca}^{2+}$  in vivo sobre la actividad y la expresión de la FAI de la rata.

Se utilizaron ratas IIM/FcM sublínea "m" adultas de 200 g. Se aisló una porción del intestino mediante una ligadura a nivel del píloro y otra a 10 cm en sentido caudal en la que se colocó un catéter, para introducir la solución a investigar y extraer muestras del contenido duodenal. En cada animal del grupo tratado ( $n=4$ ) se colocaron 2 ml de una solución conteniendo glucosa 160 mM,  $\text{CaCl}_2$  50 mM, 4 Ci de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$ , Tris 25 mM, pH 7 y el grupo control ( $n=4$ ) recibió 2 ml de la misma solución en ausencia de  $\text{CaCl}_2$ .

Se extrajeron muestras de la solución de la luz intestinal cada 10 minutos durante 80 minutos y se determinó la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  a través de la medida de  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  en la luz intestinal utilizando un contador de centelleo líquido. En cada uno de los tiempos mencionados se extrajo una porción de 0,5 cm de intestino, se procesaron por técnicas histológicas convencionales y se realizaron mediciones histoquímica de actividad fosfatásica por incubación del preparado histológico con 5-Br-4-Cl-3-indolil fosfato e inmunohistoquímica para cuantificar la enzima presente en el borde en cepillo empleando un anticuerpo de cobayo anti-FAI de rata, anticuerpo anti-IgG de cobayo conjugado con peroxidasa y 3-amin-9-etilcarbazol como sustrato. La actividad y la cantidad de enzima del ribete en cepillo se determinó sobre imágenes digitales y se expresó como densidad óptica integrada. Con el fin de comprobar el efecto del calcio sobre la actividad enzimática, cortes histológicos de las ratas controles fueron incubados en  $\text{CaCl}_2$  50 mM y cortes de ratas tratadas con  $\text{Ca}^{2+}$  50 mM, fueron expuestos a EDTA 0,5 M. En ambos tratamientos se determinó la expresión de la enzima como se detalló anteriormente.

La actividad de la enzima en el borde en cepillo en ausencia de  $\text{Ca}^{2+}$  disminuye en función del tiempo, mientras que en presencia de calcio se mantiene por encima del grupo control durante el tiempo que la concentración de calcio luminal supera 25 mM. El tratamiento con calcio de cortes histológicos controles restaura el valor de actividad enzimática y la exposición al EDTA de los cortes del grupo tratado con calcio, disminuye la actividad a valores que no discrepan de cero. La expresión de la enzima en la membrana no difirió entre los grupos a los diferentes tiempos. La absorción del  $\text{Ca}^{2+}$  se ajustó significativamente a un modelo biexponen-



cial ( $r = 0.903$ ) y presentó una cinética rápida para  $[Ca^{2+}] > 25$  mM y lenta para  $[Ca^{2+}] < 25$  mM.

#### Conclusión:

1. La actividad de la enzima del borde en cepillo es dependiente de la concentración de calcio luminal.
2. La actividad enzimática de la enzima del ribete en cepillo se mantiene elevada mientras la concentración de calcio es mayor a 25 mM.
3. La disminución de la actividad enzimática observada en el grupo control no se debe a una disminución de la expresión de la enzima.

El cambio simultáneo de elevada actividad enzimática de FAI y cinética de absorción de calcio rápida a baja actividad y cinética de absorción de calcio lenta, cuando la concentración de  $Ca^{2+}$  desciende por debajo de 25 mM, sugieren que la FAI podría estar actuando en algún mecanismo de transporte de calcio, proveyendo simultáneamente fosfato y calcio al proceso de absorción.

#### PARÁMETROS SÉRICOS, DENSITOMETRÍAS Y PROPIEDADES BIOMECÁNICAS DEL FÉMUR, EN RATAS TRATADAS CON METILPREDNISOLONA Y MELATONINA.

Ladizesky Marta G., Boggio Verónica, Cutrera Rodolfo A., Mondelo Nélide, Mastaglia Silvina, Somoza Julia, Cardinali Daniel P. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; Gador S.A. Buenos Aires, Argentina; Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

En estudios previos hemos demostrado que la melatonina (MEL) es capaz de revertir la pérdida de masa ósea de ratas ovariectomizadas, efecto potenciado por la presencia de estrógenos circulantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración de melatonina sobre el metabolismo óseo de ratas tratadas con metilprednisolona (CORT). Para ello, la mitad de cada grupo, (ratas macho Wistar) fueron inyectadas con (CORT, 5 mg/kg; i.p.) o vehículo (VEH) durante 10 semanas. Al resto de cada grupo se le administró MEL disuelta en el agua de bebida (25  $\mu$ l/ml, aprox. 500  $\mu$ g/día),  $n = 10$ -13/grupo final, o VEH. Luego de 10 semanas, al finalizar el experimento, se extrajeron muestras de sangre, en las que se determinaron CTX, (parámetro de Resorción ósea), Fosfatasa Alcalina Ósea (FAO), (parámetro de formación ósea). Inmediatamente luego del sacrificio se realizaron densitometrías óseas midiéndose posteriormente las propiedades biomecánicas del fémur. El peso de los animales disminuyó a lo largo del experimento tanto por el tratamiento con CORT o con MEL. La mayor disminución se observó en los animales que recibieron ambos tratamientos ( $p < 0.001$ ). MEL aumentó el contenido mineral óseo (CMO), el área ósea (AO) y la densidad mineral ósea (DMO) del esqueleto total, del hueso cortical (zona media de la tibia) y del hueso trabecular (4 últimas vértebras lumbares). La combinación de los tratamientos resultó en los valores más altos de CMO y BA en el esqueleto total, de CMO en el hueso trabecular y de BA en el hueso cortical. CORT aumentó el peso femoral (PFEM,  $p = 0.002$ ), la carga máxima de fractura (CMAX,  $p = 0.039$ ) y la energía necesaria para producir la fractura ( $p = 0.02$ ), observándose que la combinación CORT-MEL producía el mayor aumento en PFEM ( $p < 0.05$ ). El estrés máximo y la pendiente de deformación elástica no mostraron cambios. Los resultados indican que MEL tiene efectos protectores principalmente disminuyendo la resorción ósea y que CORT empleados a bajas dosis no inducen osteopenia. Los niveles circulantes de CTX disminuyen después de CORT o MEL ( $p < 0.001$ ). Ambos tratamientos actúan en forma sinérgica. La Cas incrementa después de CORT, y la Ps disminuye después de tratamiento con MEL, mientras los niveles de FAs Ósea sérica no se modifican.

**Conclusión:** Estos resultados son compatibles con la perspectiva de que dosis mínimas de CORT o MEL disminuyan la resorción ósea y ejercen un efecto protector sobre el hueso.

#### MENADIONA ALTERA SISTEMAS MOLECULARES REDOX DE MITOCONDRIAS DE ENTEROCITO.

Marchionatti Ana M., Pérez Adriana, Díaz de Barboza, Gabriela E. y Tolosa de Talamoni, Nori G. Lab. "Dr. F. Cañas", Cát. Bioquímica y Biología Molecular, Fac. Cs. Médicas, U. N. de Córdoba.

Menadiona es un componente quinona con aplicaciones en terapia anti-tumoral y en el tratamiento de la osteoporosis. Altas dosis son citotóxicas, y esta toxicidad es atribuida a mecanismos tales como el estrés oxidativo y arilación de tioles celulares. En un trabajo previo, demostramos que una simple dosis alta de menadiona (MEN) disminuye significativamente la absorción intestinal de  $Ca^{2+}$  e incrementa en forma transitoria la actividad de enzimas citosólicas del sistema antioxidante tales como superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) (Marchionatti A.M. y Tolosa de Talamoni N., Free Radical Research Internacional 2004, Ed. Puntarulo S. y Boveris A., Medimond, Bologna, Italia, pág. 349-352).

El presente trabajo tiene por objeto dilucidar si los mecanismos oxidativos y los sistemas antioxidantes de mitocondrias de intestino de pollo son también susceptibles a alteraciones desencadenadas por una sola dosis alta de MEN.

Los animales experimentales utilizados fueron pollos normales de 4 semanas de edad alimentados con una dieta comercial, los cuales se dividieron en dos grupos: 1) controles y 2) tratados intraperitonealmente con 2.5  $\mu$ mol of MEN/kg. de peso corporal, 30 ó 60 minutos antes del sacrificio. Se aislaron mitocondrias de homogeneizado de mucosa intestinal y se realizaron las siguientes determinaciones: contenido de glutatión (GSH) mitocondrial por técnica enzimática, actividad de enzimas mitocondriales del sistema antioxidante (SOD, CAT y Glutatión peroxidasa (GPX)) y enzimas oxidoreductasas dependientes de NAD ( $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa ( $\alpha$ -CGDH) y malato deshidrogenasa (MDH)) mediante técnicas espectrofotométricas. En cortes histológicos de intestino se midió apoptosis vía fragmentación del ADN usando la técnica in situ de la deoxynucleotidil transferasa terminal (TUNEL).

Los datos revelaron que a los 30 minutos después del tratamiento con MEN, el contenido de GSH disminuyó significativamente (Control,  $n=9$ , 2,87 0,35 vs +MEN,  $n=10$ , 2,14 0,18\* nmoles/mg de prot., \* $p < 0,05$ ), efecto que se acompañó con disminución de la actividad de la enzima MDH (Control,  $n=3$ , 1,24 0,03 vs +MEN,  $n=4$ , 1,06 0,02\* moles de NAD<sup>+</sup>/min.mg de prot. \* $p < 0,05$ ), e incremento de SOD (Control,  $n=6$ , 0,54 0,08 vs +MEN,  $n=4$ , 0,90 0,07\* U/mg de prot. \* $p < 0,05$ ), y GPX (Control,  $n=6$ , 7,34 1,61 vs +MEN,  $n=4$ , 18,04 3,90 nmoles/mg de prot., \* $p < 0,05$ ). También se observó por microscopía óptica incremento en la fragmentación del ADN, índice de apoptosis celular, en cortes histológicos de intestino de pollos tratados con MEN en comparación con intestinos controles. A la hora post-tratamiento, el contenido de GSH retornó a valores normales, no así las actividades de MDH y de  $\alpha$ -CGDH que permanecieron inhibidas. Las actividades enzimáticas del sistema antioxidante permanecieron incrementadas a la hora post-tratamiento, mientras que la de CAT no se modificó en ninguno de los tiempos estudiados.

Los datos sugieren que una sola dosis de MEN produce estrés oxidativo en mitocondrias intestinales debido a la depleción de GSH mitocondrial, quizás como consecuencia de aparición de radicales libres hidroxilos, lo cual resulta en inhibición de las actividades de oxidoreductasas del ciclo de Krebs. Las enzimas del sistema antioxidante de dichas organelas, SOD y GPX, incrementan su actividad como respuesta compensatoria a la agresión química. El aumento de la fragmentación de las hebras del ADN desencadenado por MEN indica que la droga potencia la apoptosis celular, posiblemente por incapacidad de los enterocitos de efectuar reparación completa del estrés oxidativo, que no sólo afecta a los sistemas citosólicos sino también a las organelas intracelulares.

## TRATAMIENTO DEL HIPOPARATIROIDISMO POST-QUIRÚRGICO CON TERIPARATIDE.

Castellano Karina L., Plantalech Luisa C. Hospital Italiano de Buenos Aires. Sector Osteopatías Médicas. Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear.

El tratamiento convencional del hipoparatiroidismo con Calcio, vitamina D y análogos ha sido durante años la herramienta fundamental para mantener normocalcémicos a los pacientes afectados por esta enfermedad. Sin embargo, la hipercalciuria asociada, que puede conducir a una alteración de la función renal incluyendo la nefrocalcinosis, ha sido una dificultad en el manejo de estos pacientes. El uso del Teriparatide (TPT) como tratamiento de reemplazo en el hipoparatiroidismo primario es una experiencia reciente.

El objetivo de este trabajo es presentar el impacto del tratamiento con Teriparatide en una paciente con Hipoparatiroidismo post-quirúrgico.

**Caso Clínico:** Paciente de sexo femenino, 75 años, que desarrolla hiperparatiroidismo 1río (por hiperplasia paratiroidea) asociada a un nódulo tiroideo izquierdo. Se realiza tratamiento quirúrgico (hemitiroidectomía izquierda + paratiroidectomía de 3 y 1/2 gl.). En el post-operatorio inmediato presentó como complicación hematoma cervical de magnitud que no fue drenado. Horas después presenta hipocalcemia sintomática que se corrige con tratamiento habitual. Meses después persiste con hipocalcemia que se acompaña de hiperfosfatemia e hipercalciuria. (Tabla I). Se diagnostica hipoparatiroidismo post quirúrgico. Se le indica entonces tratamiento con calcio 3gr, calcitriol 0,75ug, calcio quelante y tiazidas (25mg de hidroclorotiazida). Evoluciona con mucha intolerancia digestiva, constipación pertinaz e hipocalcemia e hipercalciuria. Se decide entonces iniciar Teriparatide 20mcg c/12hs. Bajo este esquema se observa un aumento de los valores de calcemia, reducción de la fosfatemia y normalización de la calciuria. Se observó además movilización de los marcadores de turn over óseo tanto de formación como de resorción pero manteniéndose ambos en valores normales. (Tabla I). Se intentó reducir la dosis a 20mcg/d debido a la presencia de hipercalciuria. Nuevamente se verificó hipocalcemia aunque en forma asintomática. Se decide entonces mantener una dosis definitiva de 20 mcg c/12hs asociado a 25 mg de hidroclorotiazida. La paciente permanece asintomática y con parámetros estables tras 3 meses de seguimiento.

	Pre operat.	Post-operat. inmediato	Post-operat. alejado	TPT 20 mcg c/12hs 1º mes	TPT 20 mcg c/12hs 2º mes	TPT 20 mcg/d	TPT 20 mcg + TZ c/12hs 3º mes
Ca s mg%	10,8	7	7,5	9,5	9,8	7,3	9,8
P s mg%	2,6	5,3	5,5	3,7	3,2	5	4,0
Ca mg/24hs	435	700	375	103	432	195	258
Cau/Cru	0.15	0.35	0.28	0.15	0.38	0.25	0.21
FAL UI/ml	35	-	38	42	42	-	76
TRAP mUI/ml	2,4	-	2,4	4,1	4,1	-	4,1

Tabla I: parámetros bioquímicos de seguimiento.

**Conclusión:** El uso de Teriparatide en el hipoparatiroidismo resultó un tratamiento seguro y efectivo, que permitió normalizar los valores de calcemia, fosfatemia y calciuria a corto y mediano plazo. Este beneficio puede reducir el riesgo de complicaciones renales y en nuestro caso además mejorar la calidad de vida.

## EVALUACIÓN DE HUESO CORTICAL POR TOMOGRAFÍA COMPUTADA CUANTITATIVA PERIFÉRICA EN DIALISADOS PERITONEALES (DP).

Negri Armando L.,<sup>(1)</sup> Barone Roberto, Lombas Carola, Bogado César E., Zanchetta José R. Instituto de Investigaciones Metabólicas y <sup>(2)</sup>STR Hurlingham S.R.L., Bs. As. Argentina.

**Antecedentes:** Los estudios de sitios óseos ricos en hueso cortical han sugerido una alta prevalencia de osteopenia en pacientes con

insuficiencia renal crónica estadio 5 (IRC-5). La tomografía Computada Cuantitativa Periférica (pQCT) es una nueva técnica que permite la evaluación no invasiva en forma separada de hueso trabecular y cortical.

**Objetivos:** Nosotros evaluamos parámetros de hueso cortical por pQCT en un grupo estable de pacientes IRC-5 en diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) y los comparamos con aquellos obtenidos en sujetos sanos control. Correlacionamos los parámetros de hueso cortical con densitometría ósea del esqueleto axial y con el contenido mineral óseo total (CMOT) obtenido por densitometría areal.

**Métodos:** se evaluaron 22 pacientes en DPCA y 27 controles normales. Los parámetros de hueso cortical fueron obtenidos a nivel del radio distal usando un aparato de pQCT Stratec XCT 960. Se efectuaron correlaciones entre parámetros de hueso cortical, tiempo en diálisis, edad, y niveles séricos de PTH intacta. En los pacientes DP también se determinó la densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar, cuello femoral y cuerpo entero por densitometría areal.

**Resultados:** Los pacientes en DPCA mostraron un significativo incremento en el AreaTotal (AT) (p= 0.006), en la circunferencia endóstica (p < 0.0001) y en el buckling ratio (p < 0.0001) con una significativa reducción en la DMO volumétrica cortical (VcDMO) (p= 0.04) y en el espesor cortical (cThK) (p < 0.0001). El tiempo total en diálisis se correlacionó negativamente con BMD radial Total (p < 0.01) y la VcBMD (p < 0.01). La edad se correlacionó positivamente con AT (p < 0.01), las circunferencias endóstica (p < 0.01) y perióstica (p < 0.01) y negativamente con VcDMO (p < 0.01). Los niveles séricos de PTH intacta se correlacionaron positivamente con los perímetros endóstico (p= 0.04) y perióstico (p= 0.01). No se encontraron correlaciones entre área cortical, VcDMO y cThK con los niveles séricos de PTH intacta. El CMOT correlacionó significativamente con el contenido mineral cortical radial (p < 0.001) cA (p < 0.001) y cThK (p < 0.01) pero no con la DMO radial total, el VcDMO o el buckling ratio. No se encontraron correlaciones entre el contenido radial cortical, la densidad, el área, el espesor o el buckling ratio y la DMO medida a nivel de la columna lumbar o el cuello femoral.

**Conclusión:** Los pacientes DP muestran osteopenia cortical con un marcado afinamiento cortical. Estas alteraciones óseas son en parte mediadas la acción de PTH sobre el hueso cortical. Se encontraron buenas correlaciones entre el CMOT y varios parámetros corticales radiales (contenido, área y espesor) pero no con otros (DMO total, VcDMO o el buckling ratio). No se encontraron correlaciones entre parámetros de hueso cortical medidos a nivel del esqueleto periférico con la densidad ósea areal medida a nivel del esqueleto axial. Futuros estudios deben ser efectuados en pacientes IRC-5 en diálisis para evaluar si los parámetros de hueso cortical obtenidos por pQCT predicen mejor el riesgo de fractura en esta población que la DMO areal.

## COMPOSICIÓN CORPORAL Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN HOMBRES: CAMBIOS A TRAVÉS DE LAS DÉCADAS, VALORES DE REFERENCIA.

Deferrari Juan M., Mastaglia Silvina R., Parisi Muriel S., Seijo Mariana, Fernández María C., Bagur Alicia, Oliveri Beatriz. Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

La valoración de la composición corporal (CC) y de la densidad mineral ósea (DMO) por DXA es de gran utilidad en la práctica clínica. Los tres componentes de la composición corporal (CC): masa grasa (MG), masa magra (MM) y contenido mineral óseo (CMO), varían a través de las décadas y pueden mostrar diferentes cambios por regiones. Para analizar las modificaciones en las distintas patologías es necesario establecer valores de referencia en la población clínicamente sana local.

**Objetivos:**

- 1) Establecer los valores de referencia de CC (MM, MG y CMO) y DMO de esqueleto total y sub-áreas en hombres clínicamente sanos de 20 a 79 años.
- 2) Evaluar los cambios través de las décadas estudiadas.

**Población:** Se invitó a participar a 151 hombres caucásicos de 20 a 79 años(a) con un índice de masa corporal (IMC) de 20-30 kg/m<sup>2</sup>; 116 sujetos cumplieron con los criterios de inclusión y no presentaron los siguientes criterios de exclusión:

- 1) Tratamientos con fármacos o antecedentes de enfermedades que afecten el metabolismo mineral y óseo.
- 2) Antecedentes de fracturas osteoporóticas.
- 3) Antecedentes de alteraciones cardiovasculares. Se los dividió por décadas (D): D3: 20-29 a, D4: 30-39 a, D5: 40-49 a, D6: 50-59 a, D7: 60-69 a y D8: 70-79 a.

**Métodos:** Densitometría por DXA (Lunar DPX-L), se evaluó luego de la firma del consentimiento informado:

- 1) DMO (g/cm<sup>3</sup>) del esqueleto total y sub-áreas: brazos, piernas, tronco, pelvis, columna.
- 2) CC de cuerpo entero y sub-áreas: (brazos, piernas, tronco) en sus tres compartimentos CMO (Kg), MM (Kg) y MG (Kg).

**Resultados:** Se analizaron los cambios a través de las décadas de 20-29 a 70-79 por ANOVA. Se observó una disminución de la talla (-6 cm) (176±5.9 a 169±5.1; p < 0.03) sin cambios significativos en el peso y con un incremento progresivo del IMC (24±2.1 a 26.1±2.0 Kg/m<sup>2</sup>; p < 0.01). En la CC la MG total mostró un aumento de 6.7 Kg (de 14.3 ± 5.7 a 21.0 ± 4.1; p < 0.001) principalmente por la MG de tronco (+70%). La MM total disminuyó -5 Kg (56.0 ± 3.5 a 51.2 ± 4.7; p < 0.05) fundamentalmente por disminución de la MM periférica: -3 Kg en piernas (-16%; p < 0.0001) y 1.3 Kg en brazos (-9%; p < 0.002). El CMO total disminuyó -500 mg (3.3 ± 0.4 a 2.8 ± 0.2; p < 0.01), con disminución significativa en todas las áreas.

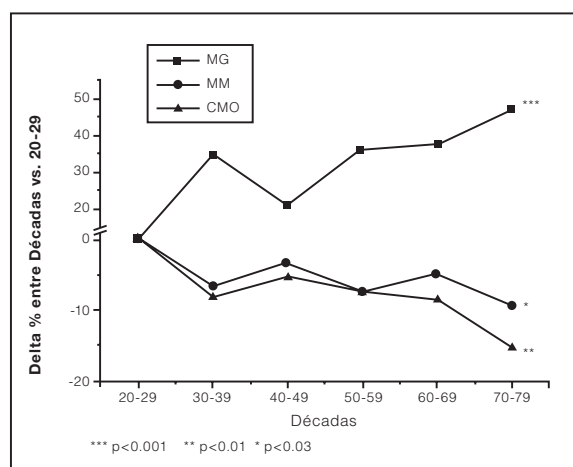


Figura: D(%) entre todas las décadas vs. 20-29 de MG, MM y CMO de cuerpo entero.

El CMO total se correlacionó: Negativamente (test de Spearman) con la edad (-0.35, p < 0.001). Positivamente con el peso (+0.54; p < 0.0001), la talla (+0.67; p < 0.0001), y la masa magra total (+0.73; p < 0.0001). No se correlacionó con la masa grasa total (+0.07, p < 0.41). De 20-29 a 70-79 años el área del ET disminuyó 9% y la DMO de ET disminuyó 6% (p < 0.05). La DMO disminuyó en todas las sub-áreas significativamente exceptuando el tronco (brazos 13% p < 0.05, piernas 9% p < 0.01, pelvis 11% p < 0.01, columna 6% p < 0.01) (Tabla 1).

D	ET		BRAZOS		PIERNAS		TRONCO		PELVIS		COLUMNA		
	N	X	DS	X	DS	X	DS	X	DS	X	DS		
3	25	1.253	0.091	1.013	0.112	1.391	0.129	1.045	0.092	1.283	0.130	1.234	0.148
4	15	1.236	0.080	0.945	0.058	1.403	0.100	0.994	0.080	1.210	0.112	1.093	0.114
5	22	1.238	0.048	0.955	0.055	1.399	0.098	1.016	0.062	1.218	0.089	1.145	0.078
6	16	1.223	0.087	0.945	0.072	1.353	0.145	1.000	0.089	1.185	0.140	1.138	0.117
7	22	1.222	0.077	0.950	0.075	1.351	0.120	1.006	0.084	1.169	0.109	1.178	0.116
8	16	1.174	0.056	0.880	0.062	1.260	0.095	0.979	0.071	1.135	0.104	1.148	0.094
ANOVA	P<0.04		<0.01		<0.004		<0.16		<0.002		<0.01		

Tabla 1: DMO (g/cm<sup>2</sup>) ET y sub-áreas.

**Conclusión:**

- A través de las décadas se observó:
  - 1) En ET una leve disminución de la DMO (-6%), con una mayor disminución del área (-9%) y del CMO (-15%).
  - 2) Un aumento progresivo de la masa grasa total a predominio del tronco que podría tener implicancias en el aumento del riesgo cardiovascular y/ o síndrome metabólico y una disminución de la masa magra total a predominio periférico que podría asociarse con disminución de la actividad física y cambios hormonales.
- Se obtuvieron los valores de referencia de la población de hombres de DMO y CC en cuerpo entero y sub-áreas para comparar con diferentes patologías.

### UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y GEOMETRÍA EN MUJERES CON FRACTURAS DE CADERA.

Seijo Mariana, Bagur Alicia, Solis Fabiana, Mautalen Carlos, Oliveri Beatriz.

Centro de Osteopatías Médicas y Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, U.B.A.

Tanto la densidad mineral ósea (DMO) como la geometría de la cadera han demostrado ser factores independientes relacionados con el riesgo de fractura de cadera. Los parámetros que involucran a la geometría de la cadera podrían ser diferentes de acuerdo a si el paciente presenta una fractura de cadera cervical o trocánterica.

**Objetivos:**

- 1) Evaluar las diferencias de la DMO y la geometría de cadera entre mujeres post menopáusicas normales (sin fracturas) y mujeres post menopáusicas osteoporóticas con fracturas de cadera (FC) recientes.
- 2) Evaluar si la medición de la longitud del eje de la cadera es un parámetro útil en la predicción de fracturas de cadera.
- 3) Comparar la DMO y la geometría de la cadera entre mujeres con FC trocánterica o cervicales.

**Población:** Se estudiaron 18 mujeres con FC recientes atraumáticas, en las cuales se estudió la cadera contralateral. La edad promedio fue de 70 ± 8 años (X ± DS) (rango 58 a 88 años). El grupo control (C) estaba formado por 71 mujeres normales post menopáusicas con igual rango de edad que las pacientes fracturadas.

**Métodos:** Se estudió DMO y geometría femoral por DXA (Lunar Prodigy). Se evaluaron los siguientes parámetros: DMO del cuello femoral (CF), triángulo de Ward (W), trocánter (T), fémur total (FT), cuello de fémur superior (CFS) y cuello de fémur inferior (CFI), y en la geometría: longitud del eje de la cadera (LEC), sección transversal del momento de inercia (SMI) y sección transversal de las áreas del cuello femoral (SACF).

**Resultados:** las pacientes con FC tuvieron una talla mayor que el grupo control (1.57 ± 0.07 vs 1.53 ± 0.06 m, p < 0.05) y un peso menor (62.6 ± 10.7 vs 68.3 ± 4.2 kg, p < 0.02). El índice de masa corporal (IMC) era menor en las pacientes con FC (25.4 ± 2.9 vs, 29.2 ± 4.2, p < 0.05).

La tabla muestra las diferencias entre la DMO y la geometría de las pacientes con FC y mujeres C (X ± DS).

Grupos	Control	FC	% Diferencia
DMO Cuello Fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0,813 ± 0,09	0,689 ± 0,10 **	- 15
DMO Cuello Superior del Fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0,659 ± 0,09	0,509 ± 0,07**	- 23
DMO Zona Inferior del Cuello (g/cm <sup>2</sup> )	0,971 ± 0,11	0,864 ± 0,14*	- 11
DMO Trocánter (g/cm <sup>2</sup> )	0,732 ± 0,10	0,548 ± 0,11**	- 25
DMO Total (g/cm <sup>2</sup> )	0,889 ± 0,11	0,693 ± 0,12**	- 22
SACF (mm <sup>4</sup> )	8,63 ± 2,28	8,71 ± 3,15	+ 0.9
SMI (mm <sup>2</sup> )	120,87 ± 16,04	107,63 ± 21,39*	- 11
LEC (mm)	102,01 ± 4,43	110,14 ± 6,96**	+ 8

\* p < 0.0003 \*\*p < 0.0001 FC vs C

Se destaca que dentro de las áreas del CF, el CFS es el área de mayor disminución de DMO (-23%). La DMO del trocánter presentó la mayor disminución con respecto a las otras áreas (-25%). El LEC fue mayor en las pacientes con FC (+ 8 mm).

Se compararon las pacientes con FC trocántéricas vs cervicales. Las únicas diferencias significativas que se obtuvieron fueron que las pacientes con FC trocántéricas tenían una mayor edad (82.4 ± 2.8 vs 70.3 ± 8.2 años, p < 0.0004) y menor peso (59.2 ± 10.6 vs 66.4 ± 9.2 kg). La talla aunque no fue significativa fue menor (-9 mm) en las pacientes con FC trocántéricas (1.51 ± 0.10 vs 1.60 ± 0.01 m, p NS). La DMO de las diferentes áreas del fémur, fueron menores en las pacientes con FC trocántérica (-5%) y el LEC levemente mayor en las pacientes con FC cervicales (+0.6 mm) aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

**Conclusión:** El CFS fue el área de mayor discriminación diagnóstica (-23%) en las pacientes con FC versus los C; sitio donde podría iniciarse la fractura. Con respecto a las otras áreas femorales el trocánter presentó la mayor disminución de DMO (-25%).

La LEC fue mayor en las pacientes con FC.

Un índice que combine DMO y geometría podría ser un buen predictor de fracturas de cadera.

### ENFERMEDAD DE PAGET ASOCIADA A TUMOR DE CÉLULAS GIGANTES.

Diehl María <sup>(1)</sup>, Morandi Ana <sup>(2)</sup>, González Salvia Mariela <sup>(3)</sup>, Specterman Sergio <sup>(4)</sup>, Gruenberg Marcelo <sup>(5)</sup>, Plantalech Luisa <sup>(1)</sup> Servicios de Endocrinología <sup>(1)</sup>, Anatomía Patológica <sup>(2)</sup>, Clínica Médica <sup>(3)</sup>, Oncología <sup>(4)</sup> y Traumatología <sup>(5)</sup>, Hospital Italiano de Buenos Aires.

La degeneración neoplásica en el hueso pagético es rara. El osteosarcoma se asocia con mayor frecuencia a la enfermedad de Paget, siendo el tumor de células gigantes (TCG) una complicación infrecuente. Este se observa generalmente en pacientes con Paget poliostótico de larga evolución y de mayor edad que los pacientes con TCG convencional. Es un tumor usualmente benigno pero puede ser localmente agresivo. Está constituido por células del estroma, células hematopoyéticas y células gigantes similares a osteoclastos. Su histogénesis aún no ha sido completamente aclarada. Se presenta a un paciente con TCG en región lumbar asociado a osteítis de Paget por su rareza y por las dificultades que plantea su tratamiento.

**Caso clínico:** Paciente varón de 65 años, oriundo de Avellino (Italia) quien consultó en el 2003 por enfermedad de Paget poliostótica diagnosticada hace 15 años con compromiso de cráneo, raquis dorsolumbar, pelvis, femoral bilateral, húmero izquierdo y tibia derecha. Recibió tratamiento con calcitonina 100 U/día por 7 años, luego pamidronato ev c/3 meses y desde hace 6 años bisfosfonatos orales, calcio y vitamina D en forma irregular por motivos económicos. Otros antecedentes: obesidad, hipertensión arterial, dislipemia y diabetes mellitus. El examen físico reveló deformación craneal, genu varo derecho y marcada limitación de la motilidad articular de ambas caderas. En el laboratorio presentó valores elevados de fosfatasa alcalina

(FAL) 140 UI/l (VN hasta 100) y fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) 5 UI/l (VN hasta 4,7). Los restantes estudios del metabolismo mineral, parathormona y 25OH vitamina D fueron normales. Se indicó tratamiento con pamidronato 60 mg trimestral con normalización de la FAL y de la TRAP. Durante su seguimiento en mayo del 2004 comenzó con lumbociatalgia progresiva. Se solicitó RNM lumbar que mostró una masa de partes blandas heterogénea con compromiso del tejido paravertebral y ocupación del espacio epidural. Se realizó una punción biopsia con guía tomográfica que evidenció abundantes células gigantes multinucleadas entremezcladas con células mononucleares con diagnóstico de TCG de aspecto benigno. Evolucionó con paraparesia y dolor invalidante. Se realizó cirugía por vía anterior y posterior con resección parcial. Se confirmó el diagnóstico de TCG de bajo grado de agresividad. Se indicó radioterapia 4500 rads. Recibió durante un año infusiones de pamidronato 90 mg ev cada dos meses como co-adyuvante terapéutico. Evolucionó asintomático y con reversión del compromiso neurológico aunque la RNM de control mostró la persistencia de una masa de partes blandas a nivel de L3 y L4. Al año presentó fractura espontánea del quinto metatarsiano bilateral. Se suspendió el tratamiento con pamidronato por fracturas por stress asociadas a bajo remodelado óseo.

**Conclusión:** La asociación entre enfermedad de Paget y TCG se ha observado en pacientes procedentes de la región de Avellino (aproximadamente 20 casos referidos en la literatura) y se ha postulado la influencia de factores ambientales y genéticos. Se ha propuesto que un aumento de la relación RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta)/OPG (osteoprotegerina) expresados por las células del estroma podría ser uno de los mecanismos que expliquen el desarrollo de las células gigantes y la osteólisis asociada al tumor. El tratamiento del TCG es controvertido. La cirugía es un tratamiento eficaz pero a nivel del raquis es difícil realizar una resección completa. También está descrito el tratamiento con radioterapia, la embolización arterial y el uso de corticoides. Se ha propuesto el tratamiento adyuvante con bisfosfonatos por su capacidad de inducir apoptosis en las células de este tumor.

### LOS NIVELES DE 25(OH)VITAMINA D ¿TIENEN IMPACTO SOBRE LA MASA MAGRA Y EL CONTENIDO MINERAL ÓSEO EN LOS PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN HEMODIÁLISIS?

Fassi J., Rosa Diez G., Crucelegui M.S., Trillini M., Rivera Nuñez H., Furci A., Algranati S., Plantalech L. Servicio de Endocrinología. Servicio de Nefrología. Hospital Italiano. Buenos Aires. Gascón 450 (C1181ACH) 4959-0200

Se ha observado que los niveles deficientes de 25(OH) Vitamina D (25OHD) y el hiperparatiroidismo son factores de riesgo de sarcopenia en pacientes ancianos, poco se conoce esta relación en pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) en hemodiálisis (HD).

**Objetivo:** Evaluar

- 1) la asociación entre 25OHD y masa magra en pacientes con IRC en HD.
- 2) la relación entre 25OHD y Contenido Mineral Oseo (CMO) de cuerpo entero.

**Población y Métodos:** Se evaluaron 52 pacientes (25 mujeres, 27 hombres) ambulatorios con IRC en HD en Buenos Aires, a fines de verano (marzo). Se dosó: 25OHD, PTH intacta, Calcemia (Ca), Fosfatemia (P), Fosfatasa Alcalina (FAL), Creatinina (Cr), Albúmina (Alb). Se realizó DEXA (Prodigy) para evaluar CMO, Tejido Graso (gramos), Masa Magra (Masa Muscular esquelética apendicular: masa magra piernas y brazos según Visser y col J Clin Endocr. Metab 88:5766,2003).- Se considero niveles deseables de 25OHD >30ng/ml.

**Resultados:** X+SEM

La edad promedio de la población fue 55.8±2.3 años (21 a 86), el tiempo de diálisis de 53.34±5.9 meses. Se verificó: Ca 9.28±0.11 mg/dl, P:



5.55 ± 0.23mg/dl, CaxP 51.71 ± 2.24 mg<sup>2</sup>/dl<sup>2</sup>, PTH: 298.66 ± 49.41pg/ml, 25OHD: 29.34 ± 1.49ng/ml (26.64 ± 2.29 ng/ml en las mujeres y 31.85 ± 1.56ng/ml en hombres) , Alb: 4 ± 0.32 g / dl , Cr: 9.042 ± 2.29 mg / dl. El peso fue de 60.5 ± 2.68 y 70.85 ± 2.55 kg y el BMI fue de 23.92 ± 0.96 y 24.85 ± 0.82 Kg / m<sup>2</sup> en mujeres y hombres respectivamente.

	HOMBRES	
25OHD	> 30ng/ml (n=17)	< 30ng/ml (n=10)
Masa Magra g	52039.05 ± 1682.65	44670.5 ± 2459.9*
Tejido adiposo g	22137.5 ± 2669.74	21169 ± 3097.9
CMO g	2535.11 ± 85.89	2197.3 ± 135.87**

	MUJERES	
25OHD	> 30ng/ml (n=10)	< 30ng/ml (n=15)
Masa Magra g	14537.5 ± 756.03	13808.06 ± 682.86
Tejido adiposo g	19407.1 ± 2335.6	26197.13 ± 2483.17***
CMO g	1796.3 ± 108.23	1967.7 ± 117.79

\*p<0.001 \*\*p=0.03 \*\*\*p=0.07

Los hombres con niveles deseables de 25OHD presentaron mayores valores de Masa Magra y de CMO que aquellos con Hipovitaminosis D. Se verificó una correlación inversa entre 25OHD y tejido adiposo en las mujeres (r= -0.43, p= 0.03), sin asociación con Masa Magra. Se realizó el estudio multivariado con variable dependiente, Masa magra, incluyendo sexo, edad, tiempo de diálisis, peso, 25OHD, Alb y Cr (F 21,611, p < 0.0001) las variables asociadas fueron sexo (p < 0.001), tiempo de diálisis (p = 0.03) peso (p < 0.001) y Alb (p = 0.01). Se observó correlación directa entre CMO y 25OHD (r= 0.30, p=0.03), Masa Magra (r = 0.63, p < 0.001) y asociación inversa con PTH (r=0.29, p < 0,05). En el estudio multivariado con variable dependiente, CMO, e independientes sexo, 25OHD, PTH y masa magra (F 9,34, p < 0.001) el principal determinante fue la masa magra (p = 0.007).

**Conclusión:** No se observó un efecto independiente de la Vitamina D sobre la masa magra ni CMO en pacientes con insuficiencia renal crónica en hemodiálisis. El aumento de tejido adiposo se asoció a los menores niveles de 25OHD en las mujeres, debido a su acumulación y disminución en la forma circulante. La masa magra en los pacientes en HD está determinada por el género, el grado y tiempo de la enfermedad renal. El principal determinante de el CMO fue la masa magra, relación ampliamente conocida en poblaciones de sujetos sanos de todas las edades y sexo.

## REGENERACIÓN ÓSEA POST TUMORECTOMÍA DE NEOPLASIAS ÓSEAS BENIGNAS.

Cole Alejandro G., Da Silva Minas María A., Guglielmotti María B. Hosp. Municipal Julio Méndez, Ortopedia y Traumatología. Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

Las neoplasias óseas benignas tratadas quirúrgicamente, que requieren de un sustituto óseo, frecuentemente son tratadas con hueso autólogo. Debido a la morbilidad asociada a la toma del injerto, que según refiere la bibliografía menciona hasta un 25%, existe un interés creciente por los sustitutos óseos para el tratamiento de las neoplasias óseas benignas. El objetivo de este trabajo es presentar una alternativa de relleno óseo post tumorectomía del encondroma de primera falange de segundo dedo de pie con gránulos de colágeno bovino. El colágeno como biomaterial ha sido utilizado en el área biomédica por su probada biocompatibilidad y capacidad de promover la reparación de los tejidos. Si bien existe en la bibliografía un estudio experimental en ratas donde se observó la promoción de la regeneración ósea con gránulos de colágeno bovino (Gorustovich et. al. Acta Odontol Latinoam. 2004; 17(1-2): 9-13), hasta el presente no se ha reportado su uso clínico. Paciente de sexo femenino de 24 años que presenta encondroma de primera falange de segundo dedo del pie derecho. El mismo abarca el tercio medio distal de dicha falange con corticales adelgazadas y sin solución de continuidad. Clínicamente presenta

dolor a la bipedestación. Se decide realizar tratamiento electivo para este tipo de tumor que consiste en realizar una ventana ósea respetando su vascularización, curetaje hasta hueso sangrante y posterior relleno. Debido al volumen de la lodge quirúrgica a reparar, se decide rellenar el defecto remanente con 1 g de gránulos colágeno bovino estéril de 80±10µm (Membracell, Lab. Celina, Bs. As, Arg.), previo consentimiento escrito por la paciente, vehiculizado con sangre y luego se procede a cierre por planos. El estudio radiológico post operatorio inmediato evidenció una imagen radiolúcida. La paciente pudo deambular a partir de los siete días luego de la cirugía. Al mes se observó una imagen radiopaca compatible con formación de trabéculas óseas. A los 90 días se observó restitución ad-integrum de la falange con engrosamiento de las corticales. Actualmente, luego de ocho meses del postoperatorio no se han observado complicaciones (fracturas, ni recidiva). El tratamiento de las neoplasias benignas con este relleno como sustituto óseo podría considerarse una alternativa al hueso autólogo.

## NIVELES DE VITAMINA D, DE PARATHORMONA (PTH) Y MARCADORES DEL REMODELAMIENTO ÓSEO EN MUJERES DE COMODORO RIVADAVIA AL FINAL DEL INVIERNO VERSUS AL FINAL DEL VERANO.

Gonzales Chaves Macarena <sup>(1)</sup>, Ponce Graciela <sup>(2)</sup>, Fajardo María A. <sup>(2)</sup>, Pellegrini Gretel <sup>(1)</sup>, Oliveri Beatriz <sup>(3)</sup>, Somoza Julia <sup>(3)</sup>, Leonhard Lorena <sup>(3)</sup> y Zeni Susana N. <sup>(1,3)</sup>.  
<sup>(1)</sup> Bioq. General y Bucal. Odontología. UBA, <sup>(2)</sup> Bromatología. UN Patagonia, <sup>(3)</sup> Sec. Osteopatías Médicas, Hosp. de Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

Es por todos conocido que mientras una severa y prolongada deficiencia de vitamina D produce osteomalacia, una menos severa deficiencia o insuficiencia causa un hiperparatiroidismo secundario con aumento en el remodelamiento óseo y pérdida de masa esquelética. El estado fisiológico respecto de la vitamina D depende de la latitud debido a la síntesis cutánea bajo la influencia de la radiación UV solar principalmente durante la primavera y verano. Si bien no existen dudas acerca de que la deficiencia de vitamina D es frecuente en las personas afeadas, debido a factores como latitud, nutrición, hábitos culturales y suplementación grupos poblacionales más jóvenes pueden presentar tal deficiencia. El presente estudio se realizó con el objeto de evaluar los niveles de vitamina D, PTH y marcadores del remodelamiento óseo en un grupo de mujeres de Comodoro Rivadavia (45°LS) en dos épocas del año: final del invierno y del verano. El objetivo fue determinar si entre ambos períodos existe variaciones en el status de vitamina D que podrían dar lugar a hiperparatiroidismo secundario y modificaciones en los niveles de los marcadores óseos. Se reclutaron voluntariamente 20 mujeres sanas que habitualmente residen en Chubut de las cuales 10 eran premenopáusicas (36.9 ± 7.5 años) y 10 posmenopáusicas (58 ± 5.3 años). Al final del verano (marzo) y al final del invierno (agosto) se les extrajo en ayunas una muestra de sangre en la cual se evaluaron: 25hidroxivitamina D (25HOD: ng/ml) por RIA (Diasorin), PTH medio molecular por RIA (pg/ml), fosfatasa alcalina ósea (FAO: UI/L) colorimétricamente luego de la precipitación diferencial de la isoenzima ósea con lectina de germen de trigo (Wiener), propéptido amino terminal del colágeno tipo I (P1NP) y telopéptido carboxilo terminal del colágeno tipo I (?-CTX: ng/L) ambos por electroquimioluminiscencia (Elecsys, Roche) y CTX urinario (ug/mmol de creatinina) por ELISA ( Crosslaps, Osteometer Bio Tech, Denmark) Los valores promedios ± DS fueron los siguientes:

	Premenopausicas Invierno	Premenopausicas Verano	Postmenopausicas Invierno	Postmenopausicas Verano
25HOD	14.7 ± 5.6	26.5 ± 10.6*	12.4 ± 4.0	25.4 ± 10.0*
PTHmm	46.0 ± 9.0	26.5 ± 7.0*	46.3 ± 10.6	35.2 ± 15.0
FAO	56 ± 11	63 ± 10	63 ± 17	78 ± 17#
P1NP	55.0 ± 12.1	46.2 ± 10.6	59.4 ± 16.6	63.6 ± 20.7#
?-CTX sérico	210.2 ± 49.9	213.2 ± 89.5	253.9 ± 94.7	356.6 ± 156.5#
CTX urinario	188.9 ± 65.6	146.1 ± 48.7	234.9 ± 110.7	232.4 ± 98.5#

(\*) p<0.05: entre verano e invierno para el mismo grupo de mujeres,

(#) p<0.05: entre pre y posmenopáusicas para la misma estación anual.



Los resultados muestran que ambos grupos de mujeres se encuentran en insuficiencia de vitamina D al final del invierno. Sin embargo, sólo en las premenopáusicas dicha disminución desencadenó un aumento significativo, aunque dentro de rangos normales, en los niveles de PTH y, si bien los marcadores óseos aumentaron, no se observaron diferencias significativas. En las mujeres posmenopáusicas también existió aumento en los niveles de PTH y en los marcadores sin alcanzar significancia. Si bien en ambos grupos los niveles de 25HOD aumentaron alrededor del 95% al final del verano, de acuerdo a lo sugerido recientemente (año 2005) aún permanecen en estado de deficiencia de vitamina D. Sólo se observaron diferencias significativas en los marcadores entre pre y posmenopáusicas al final del verano.

**Conclusión:** al final del invierno no sólo las post estudiadas sino también las premenopáusicas presentan insuficiencia de vitamina D. Este hecho induce un aumento en los niveles de PTH y consecuentemente en el remodelamiento óseo, que posiblemente por el tamaño de la muestra no llegue a ser significativo aunque alerta acerca de los disturbios negativos en el remodelamiento óseo por efecto de la insuficiencia de vitamina D.

*Parcialmente subsidiado por la UBA M099.*

### HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO: TRATAMIENTO MÉDICO.

Santangelo Liliana A. <sup>(1)</sup>, Guelman Rodolfo <sup>(1)</sup>, Galich Ana M. <sup>(1)</sup>, Figari Marcelo <sup>(2)</sup>, Plantalech Luisa C. <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Sección de Osteopatías Médicas, Servicios de Endocrinología y <sup>(2)</sup> Cirugía. Hospital Italiano de Buenos Aires.

El cambio del espectro clínico del hiperparatiroidismo 1° (HPT 1°) hacia un desorden asintomático ha promovido el uso del tratamiento médico.

**Objetivos:** Evaluar la respuesta al tratamiento médico (trat M) de pacientes con HPT 1°. Determinar características poblacionales entre pacientes respondedores (R) y no (No R) a trat. M.

**Población y Métodos:** Analizamos retrospectivamente 93 historias clínicas con diagnóstico de HPT del lustro 2000 - 2004. En 67 pacientes (pac) se diagnosticó HPT 1°, 62 mujeres y 5 hombres. 47 pac. se adscribieron a tratamiento médico (trat M), 4 de éstos con indicación Qx y 20 pac. a cirugía (Qx), según criterios del consenso 1990, Workshop 2002. El trat. M indicado fue: alendronato 70 - 140 mg/semana: 38.3%, risedronato 35 - 70 mg/semana: 8.5% y pamidronato endovenoso 560-240 mg/año: 40.4% de los pac. Se determinó calcemia (Ca), fosfatemia (P), calcio/creatinina (Ca /Creat) en orina 24 hs, clearance de creatinina (cl. creat), reabsorción tubular de fósforo (RTP), parathormona medio molecular (PTH mm), 25 OH vitamina D (25 OH D), fosfatasa alcalina (FAL) y fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP). Se realizó densitometría ósea (DMO) por DEXA en las regiones lumbar y femoral a tiempo: Basal, 12 y 24 meses. Los resultados se expresan como media ± SEM; se utilizaron los Test de t y ANOVA y se consideró significativo  $p \leq 0.05$ .

**Resultados:** Motivo de consulta: 1- Asintomáticos 55.4 % y 50 % , Litiasis renal: 6.31% y 25%, Trastornos óseos: 25.5% y 40 % en el grup trat M y Qx respectivamente.

Datos comparativos: grupos de tratamiento médico y quirúrgico.

#### Conclusión:

- 1) Los pacientes sometidos a Qx eran más jóvenes y más graves que los que recibieron trat M.
- 2) El trat M disminuyó la calcemia, los marcadores de la remodelación ósea e incrementó la RTP en el 76,6% de los casos.
- 3) El grupo No R (23.4%), correspondió a una población etaria menor con mayor actividad biológica del HPT 1°. Al seguimiento se verificó mayores valores de calcemia, calciuria e incremento de la resorción ósea.
- 4) No se observaron diferencias evolutivas en las DMO a 12 y 24 meses, tanto en el grupo de pacientes R y No R .
- 5) Estamos en presencia de una población más añosa que la descrita, dato que puede influenciar en la decisión de tratar médicamente a los pacientes y en la disminución de la DMO en forma independiente del HPT 1°. El tratamiento médico con bifosfonatos en el HPT 1°, es útil en población más añosa, con moderado grado de remodelado óseo.

Tabla I.

*	N°	Edad años	Ca mg/dl	P mg/dl	Ca/Creat	RTP	PTH mm pg/ml	TRAP mUI/ml	FAL UI/L	DMO C L T - score	DMO C F T - score
Trat. Médico	47	70.5 ± 1.2	10.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1	0.26 ± 0.02	79.7 ± 1.3	379 ± 50	3.1 ± 1.4	85.4 ± 0.2	-2.2 ± 0.2	-2.1 ± 0.1
Trat. Quirúrgico	20	64.6 ± 2.7	11.1 ± 0.2	2.6 ± 0.2	0.34 ± 0.04	74.7 ± 2	669 ± 89	3.4 ± 1.3	91 ± 0.3	-1.6 ± 0.3	-1.0 ± 0.3
p		0.022	0.007	0.004	0.085	0.04	0.004	0.5	0.6	0.2	0.4

\* p= NS para 25 OH D y cl. creat.

Tabla II. Evolución de pacientes en tratamiento médico

*	N°	Ca mg/dl	P mg/dl	Ca/Creat	PTH mm pg/ml	TRAP mUI/ml	FAL UI/L	DMO C L T - score	DMO C F T - score
Basal	47	10.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1	0.26 ± 0.02	379 ± 50	3.1 ± 0.2	85 ± 6.2	-2.2 ± 0.2	-2.1 ± 0.1
6 meses	47	10.3 ± 0.1	3.1 ± 0.07	0.22 ± 0.02	304 ± 47	2.3 ± 0.1	64 ± 3.4		
12 meses	15	10.1 ± 0.1	3 ± 0.1	0.24 ± 0.02	242 ± 32	2.2 ± 0.2	67 ± 5	-2.1 ± 0.1	-1.9 ± 0.1
24 meses	11	10.2 ± 0.2	2.7 ± 0.1	0.24 ± 0.02	496 ± 152	2.1 ± 0.3	63.4 ± 4	-2.6 ± 0.3	-2.1 ± 0.3
p		0.004	0.1	0.5	0.1	0.000	0.000	0.2	0.7

\* p= NS para RTP y cl. creat.

Tabla III. Evolución comparativa entre respondedores y no a trat. Médico

Basal *	N°	Edad años	Ca mg/dl	P mg/dl	Ca/Creat	RTP	PTH mm pg/ml	TRAP mUI/ml	FAL UI/L	DMO C L T - score	DMO C F T - score
Respondedores #	36	71.6 ± 1.5	10.8 ± 0.4	3.1 ± 0.1	0.26 ± 0.15	83.5 ± 1	257 ± 15	2.5 ± 0.1	75 ± 4	-2.1 ± 0.3	-2.2 ± 0.1
No Respondedores °	11	65.6 ± 5	10.7 ± 0.2	3 ± 0.2	0.26 ± 0.14	78 ± 3.7	351 ± 65	4.1 ± 0.8	78 ± 9	-2.2 ± 0.3	-1.8 ± 0.2
p		0.04	0.12	0.6	0.7	0.05	0.04	0.001	0.7	0.8	0.09
1 Año											
Respondedores	18		10.1 ± 0.1	2.9 ± 0.1	0.2 ± 0.02	76 ± 2.7	180 ± 14	2.5 ± 0.2	67 ± 5	-2.1 ± 0.2 <sup>A</sup>	-1.9 ± 0.1 <sup>C</sup>
No Respondedores	11		10.5 ± 0.2	3.3 ± 0.2	0.32 ± 0.05	73 ± 3.3	316 ± 49	3.7 ± 0.3	78 ± 24	-1.8 ± 0.4 <sup>B</sup>	-1.8 ± 0.2 <sup>D</sup>
p			0.032	0.036	0.005	0.5	0.002	0.003	0.3	0.5	0.7

# 50 % y ° 63.6 % de ecografías positivas para paratiroides. <sup>A, B, C, D</sup>: p= NS respecto a basales. \* p= NS para 25 OH D y cl. Creat. No se observaron diferencias en el tipo de tratamiento recibido entre ambos grupos.

## METABOLISMO ÓSEO Y MINERAL EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL.

Parisi Muriel S., Díaz Sergio P., Fernández María C., Deferrari Juan M., Seijo Mariana, Somoza Julia, Bagur Alicia, Michelli F., Oliveri Beatriz.

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

La enfermedad de Parkinson (EP) es un desorden del movimiento con temblor, rigidez, akinesia y pérdida de los reflejos posturales, provocando inmovilidad y frecuentes caídas. Se ha descrito aumento de la incidencia de fracturas de cadera relacionada con: densidad mineral ósea (DMO), calcemia, vitamina D, parathormona (PTH), PICP, índice de masa corporal (IMC), tiempo de evolución, menopausia, edad y estado Hoehn-Yahr. Se ha sugerido la presencia de obesidad sarcopénica en estos pacientes. Los estudios previos no son controlados.

**Objetivo:** Determinar la composición corporal (CC) en pacientes EP comparada con controles sanos, y estudiar su relación con la afectación esquelética y del metabolismo mineral.

**Materiales y métodos:** Pacientes: n=24(14M, 10H), diagnóstico de EP, edad(57-85a). Criterios de exclusión: enfermedades o medicación que afecten el metabolismo óseo y mineral, abuso de drogas u alcohol, enfermedad maligna. Controles sanos: n=108 (53M, 55H), 50-80a, IMC  $\geq 20$  y  $\leq 30$ . Se midió CC (DEXA) de cuerpo entero (DMO: densidad mineral ósea, CMO: contenido mineral óseo, MM: masa magra, MG: masa grasa) en pacientes y controles. Se calculó el Zscore respecto de la media por década en los controles. Se excluyeron, 4 pacientes > de 80a por no poseer controles. En los pacientes se realizaron RX de columna dorsolumbar y laboratorio: calcemia, calciuria, fosfatemia, 25OHD, PTHmm, fosfatasa alcalina total (FAL) y ósea (FAO).

**Resultados:** Se excluyeron 2 pacientes con hiperparatiroidismo primario. 3 pacientes tenían fractura vertebral, 9/22 (41%) antecedente de fractura, 6 del total de las fracturas (16) en 4 pacientes (18%) eran osteoporóticas. a calcemia, fosfatemia, FAL y FAO eran normales. 4 pacientes presentaron hipercalcemia, 1 hipocalciuria y otros 3 niveles de PTHmm levemente aumentados.

25OHD (ng/ml)	n	%	
< 10	3	13.6	Deficiencia
$\geq 10$ y <20	11	50.0	Insuficiencia
$\geq 20$ y < 30	4	18.2	
$\geq 30$ y < 40	4	18.2	
$\geq 40$	-	-	

Tabla 1: Pacientes divididos según niveles de vitamina D.

Los niveles de 25OHD correlacionaron positivamente con CMO, contenido de calcio total y niveles de FAL. Los niveles de PTHmm se correlacionaron negativamente con CMO, contenido de calcio total, MM, talla. El tiempo de evolución correlacionó negativamente con la MG y el % de grasa corporal. La DMO correlacionó positivamente con todas las variables de CC ( $p < 0.05$ , todas las correlaciones, Rho de Spearman).

**Conclusiones:** Los pacientes con EP presentaron: gran variabilidad de DMO y CC, alta incidencia de fracturas y elevada incidencia de insuficiencia-deficiencia de vitamina D. La afectación esquelética en la población estudiada se debe principalmente a los niveles inadecuados de vitamina D. Cuando existe alteración de la CC, la disminución de la masa grasa en función del tiempo de evolución de la enfermedad, se relaciona con una menor masa ósea.

Tabla 2: Variables de CC entre los pacientes y controles de la misma edad (57-79a)

	Parkinson (n=22)	Parkinson MG Zscore<-1 (n=10)	Parkinson 25OHD<20ng/ml (n14)	Controles (n=88)
EDAD (años)	67.3 $\pm$ 6.8	66.9 $\pm$ 8.1	68.8 $\pm$ 6.7	66.7 $\pm$ 6.2
PESO (kg)	64.2 $\pm$ 12.2	54.8 $\pm$ 9.4**	63.5 $\pm$ 12.5	68.6 $\pm$ 9.5
TALLA (m)	1.62 $\pm$ 0.09	1.61 $\pm$ 0.10	1.60 $\pm$ 0.09	1.63 $\pm$ 0.09
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24.5 $\pm$ 3.9	21.0 $\pm$ 1.9**	24.6 $\pm$ 4.2	25.9 $\pm$ 2.3
DMO (g/cm <sup>2</sup> )	1.057 $\pm$ 0.158	0.973 $\pm$ 0.164**	1.014 $\pm$ 0.145*	1.107 $\pm$ 0.113
Z DMO	-0.64 $\pm$ 1.65	-1.45 $\pm$ 1.59**	-0.93 $\pm$ 1.88*	0.09 $\pm$ 0.86
CMO (g)	2333 $\pm$ 640	2075 $\pm$ 711*	2159 $\pm$ 543	2452 $\pm$ 527
Z CMO	-0.45 $\pm$ 1.36	-0.98 $\pm$ 1.39**	-0.62 $\pm$ 1.52	0.08 $\pm$ 0.98
MM (g)	43373 $\pm$ 8664	40897 $\pm$ 7858	42165 $\pm$ 7698	44545 $\pm$ 8652
Z MM	-0.21 $\pm$ 0.98	-0.15 $\pm$ 0.94	-0.08 $\pm$ 0.91	0.05 $\pm$ 0.96
MG (g)	18281 $\pm$ 7707	11552 $\pm$ 3810**	18893 $\pm$ 8268	21829 $\pm$ 5491
Z MG	-0.85 $\pm$ 1.7*	-2.41 $\pm$ 1.11	-0.77 $\pm$ 1.86	0.03 $\pm$ 0.99

Mann-Whitney \*p=0.053; \*\*p=0.054, \*\*p<0.01 and \*p<0.05 vs controles.

Z-score	DMO	CMO	MM	MG
$\leq -1$	45%	27%	18%	45%
$\leq -2$	18%	14%	5%	27%

Tabla 3: Grado de afectación de DMO y de las variables de CC en función del Zscore.

## FINALIZACIÓN DEL PERÍODO DE APOSICIÓN DE MASA ÓSEA PICO Y MARCADORES DE REMODELAMIENTO ÓSEO.

Mastaglia Silvina R. <sup>(1)</sup>, Deferrari Juan M. <sup>(1)</sup>, Seijo Mariana <sup>(1)</sup>, Zeni Susana <sup>(1)</sup>, Casco Cristina<sup>(2)</sup>, Somoza Julia <sup>(1)</sup>, Oliveri Beatriz. <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas, U.B.A., <sup>(2)</sup>Centro de Osteopatías Médicas. Buenos Aires.

Estudios transversales sugieren que el tiempo en que se alcanzaría el pico de masa ósea presenta un rango de edad amplio (17 a 35 años) con diferencias cuantitativas entre hombre y mujeres y según las regiones estudiadas. La adecuada aposición ósea es indispensable para el óptimo crecimiento esquelético el cual puede evaluarse bioquímicamente a través de los marcadores de remodelamiento óseo. Para ello es indispensable tener valores de referencias adecuados para cada sexo y edad.

**Objetivo:** Determinar la finalización de la aposición ósea mediante marcadores bioquímicos y establecer valores de referencia en individuos sanos de ambos sexos divididos por década entre 20 y 49 años.

**Población:** 146 mujeres (con ciclos menstruales regulares) y hombres sin intervenciones que influyan en el metabolismo óseo y mineral. Se excluyeron aquellos sujetos con calcio (Ca<sub>2+</sub>), fósforo (P<sub>2+</sub>) o creatinina (Crea) fuera del rango normal (n=20).

**Métodos:** En suero obtenido en ayunas (8-10:30 am) se evaluó telopeptido carboxilo terminal del colágeno tipo I (CTX) y osteocalcina (BGP) por electroquimioluminiscencia [CTX: CV: 6.1 y 1.6% y BGP: CV: 6.9 y 2.9% inter e intraensayo, respectivamente] y fosfatasa alcalina ósea (FAO) por colorimetría previa precipitación de la isoforma ósea con lectina de germen de trigo [CV: 8.0 y 1.3% inter e intraensayo, respectivamente].

**Resultados:** Los parámetros bioquímicos (X  $\pm$  SD) de los 126 sujetos incluidos (61hombres-65 mujeres) en el estudio, clasificados por décadas (20-29; 30-39; 40-49) fueron:

		MUJERES		
		CTX (X ± DS)	BGP (X ± DS)	FAO (X ± DS)
Edad	20-29 <sup>f♣♣</sup> (n= 60)	447.6 ± 152.8	29.25 ± 10.2	69.3 ± 7.7
	30-39 (n= 35)	296.72 ± 114.58	20.44 ± 6.46	61.67 ± 13.05
	40-49 (n= 31)	272.07 ± 167.65	18.71 ± 8.46	62.14 ± 10.78

		HOMBRES		
		CTX (X ± DS)	BGP (X ± DS)	FAO (X ± DS)
Edad	20-29 <sup>f♣♣</sup> (n= 60)	538.33 ± 189.2	27.4 ± 9.80	69.3 ± 7.7
	30-39 (n= 35)	290.41 ± 132.29	20.47 ± 8.21	74.18 ± 12.19*
	40-49 (n= 31)	381.76 ± 149.27#	25.00 ± 7.97#	72.76 ± 13.23λ

\* p<0.001 hombres vs mujeres    f p<0.001 década 20-29 vs 30-39 BGP y CTX  
 # p<0.02 hombres vs mujeres    ♣ p< 0.001 década 20-29 vs 40-49 CTX  
 λ p<0.03 hombres vs mujeres    ♣ p< 0.01 década 20-29 vs 40-49 BGP

Los niveles de CTX y BGP fueron más elevados en la década de 20-29 años comparados con la de 30-39 y 40-49. Los hombres no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las mujeres entre 20-29. Entre 30-39 los hombres presentaron niveles más elevados de FAO comparados con las mujeres sin diferencia en CTX y BGP. Finalmente entre 40-49 los hombres tenían niveles mayores de CTX, FAO y BGP. Como se considera que entre 20-29 años se produce la finalización de la aposición ósea, esta década fue subdividida en dos grupos: 20-24 y 25-29 cuyos valores (X ± SD) fueron:

		MUJERES		
		CTX (X ± SD)	BGP (X ± SD)	FAO (X ± SD)
Edad	20-24 (n=17)	466.58 ± 133.87 #	30.2 ± 10.24	62.12 ± 9.53
	25-29 (n=16)	427.75 ± 172.97	28.12 ± 10.32	67.9 ± 10.39

		HOMBRES		
		CTX (X ± SD)	BGP (X ± SD)	FAO (X ± SD)
Edad	20-24 (n=12)	575.58 ± 191.39	32.2 ± 12.3 *	67.25 ± 7.3
	25-29 (n=15)	508.53 ± 188.53	23.53 ± 4.87	70.93 ± 7.98

# p <0.04 hombres vs mujeres  
 \* p <0.02 década 20-24 vs 25-29

Solo los niveles de CTX en hombres entre 20-24 fueron significativamente mayores que en mujeres sin diferencia en BGP ó FAO. Solo la BGP fue más elevada en los hombres entre 20-24 que entre 25-29. Sin embargo en CTX sólo mostró una tendencia hacia valores más elevados sin alcanzar significación, probablemente debido a la gran dispersión. En ambos sexos se observaron correlación positiva entre los niveles de CTX Y BGP ( r= 0.6, p<0.001), BGP y FAO ( r= 0.35,p<0.001), CTX y FAO ( r=0.3; p<0.02). Por otra parte CTX y FAO correlacionaron negativamente con la edad (r=-0.3,p<0.05).

**Conclusión:** En nuestro grupo estudiado, tanto mujeres como hombres, la velocidad de remodelamiento óseo disminuye en la tercera década sugiriendo la finalización de la aposición ósea pico. La diferencia que presentan en sus niveles BGP y FAO concuerdan con las distintas etapas del desarrollo osteoblástico (formación, maduración y mineralización del osteoide) que ambas representan.

### ¿PODRÍA LA MEDICIÓN EN SALIVA DE LOS NIVELES DEL TELOPÉPTIDO CARBOXILO TERMINAL DEL COLÁGENO TIPO I (CTX) REEMPLAZAR A LA REALIZADA EN SANGRE U ORINA?

Pellegrini Gretel <sup>(1)</sup>, Gonzales Chaves Macarena <sup>(1)</sup>, Ponce Graciela <sup>(2)</sup>, Fajardo María A. <sup>(2)</sup>, Somoza Julia <sup>(3)</sup>, Casco Cristina <sup>(3)</sup> y Zeni Susana N. <sup>(1,3)</sup>. <sup>(1)</sup> Bíoq. General y Bucal. Odontología. UBA, <sup>(2)</sup> Bromatología. UN Patagonia, <sup>(3)</sup> Sec. Osteopatías Médicas, Hosp. de Clínicas, U.B.A.

La pérdida de masa ósea en la deficiencia estrogénica es el resultado de un incremento en el remodelamiento óseo con una mayor actividad osteoblástica sobre la osteoblástica. Esto produce una pérdida irreversible de hueso e incremento en el riesgo de fractu-

ras. Las alteraciones metabólicas del remodelamiento óseo comprenden a todo el esqueleto y muchas veces se manifiestan en la cavidad oral. En este sentido, existen diversos estudios que determinan la asociación entre osteoporosis y enfermedad periodontal, tanto en humanos como en animales; y, si bien las causas por las cuales se producen son diferentes, ambas compartirían un mecanismo similar de pérdida de masa ósea. Los marcadores bioquímicos óseos son una herramienta útil tanto para identificar un aumento en el remodelamiento óseo como para controlar la terapia instituida. Actualmente se evalúan en muestras séricas y urinarias pero existe poca información acerca de su medición en saliva. Previamente observamos que era posible la medición del CTX en saliva total tanto humana como de ratas. Por lo cual el presente trabajo fue realizado con el objeto de determinar si existe correlación entre los niveles de un marcador de la resorción ósea tan sensible como el CTX en sangre y saliva, en condiciones normales y ante el aumento en el remodelamiento óseo como aquel que ocurre en deficiencia estrogénica. Para ello se estudiaron 20 mujeres sanas (10 pre y 10 postmenopausicas) reclutadas voluntariamente en Comodoro Rivadavia, Chubut. Asimismo se evaluaron 20 ratas Wistar adultas normales (300±20 g) (10 SHAM y 10 luego de 5 días de ovariectomía bilateral (OVX)). Se recolectó sangre en ayunas y saliva total no estimulada en mujeres, mientras que, en ratas, se recolectó saliva estimulada con pilocarpina. En ambos tipos de muestra se evaluó al CTX. La metodología utilizada fue la siguiente: en saliva y sangre de rata: ELISA (RatLabs, Osteometer Bio Tech, Denmark); en sangre humana: EQL (Elecsys Roche) y en saliva humana: ELISA (Crosslaps Osteometer Bio Tech, Denmark). Los resultados (ratas: ng/10ml y humanos: ng/L) (promedios±DS) fueron los siguientes:

	SALIVA	SANGRE		SALIVA	SANGRE
SHAM	35.7 ± 5.6	154.2 ± 43.5	Premenopausicas	348.1 ± 336.3	224.2 ± 87.5
OVX	0.0 ± 25.1**	208.8 ± 37.1*	Postmenopausicas	596.1 ± 552.5*	367.5 ± 163.6*

(\*) p<0.05 y (\*\*) p<0.01: entre SHAM y OVX, y entre pre y posmenopausicas.

Cuando se graficaron la concentración de CTX en saliva vs. los niveles sanguíneos se obtuvo correlaciones significativas en los siguientes casos:

- para toda la muestra poblacional: r=0.80;
- sólo mujeres: r=0.73; c) sólo animales: r=0.62;
- para la muestra poblacional en repleción estrogénica: r=0.72 y
- cuando existía insuficiencia estrogénica: r= 0.77 (p<0.05).

**Conclusión:** Los niveles de CTX en saliva correlacionan con la concentración en sangre tanto en condiciones normales como ante el aumento en el remodelamiento por acción de la deficiencia estrogénica. Por lo cual si bien se hace necesario investigaciones futuras, los resultados de este estudio son promisorios en el sentido de que se contaría con una muestra no invasiva para la medición del nivel del remodelamiento óseo.

*Este estudio fue parcialmente subsidiado por la UBA. Subsidio M033.*

### ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE 25(OH)VITAMINA D, EN MUJERES INSTITUCIONALIZADAS, MAYORES DE 65 AÑOS, DE LAS CIUDADES DE LLEIDA (España) y DE BUENOS AIRES.

Zeni Susana <sup>(1)</sup>, Mónico Amalia <sup>(2)</sup>, Barahona Antonieta <sup>(2)</sup>, Oliveri Beatriz <sup>(1)</sup> y de Portela ML <sup>(1)</sup>. <sup>(1)</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, U.B.A., Bs. As. <sup>(2)</sup> Dto de Tecnología de Alimentos, ETSEA, Universitat de Lleida, España.

El aumento promedio de vida del último siglo ha incrementado el número de personas > 65 años y la prevalencia de enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Entre los problemas, figura la hipovitaminosis D, ya que agrava la osteoporosis senil y aumenta el riesgo de fracturas. Por otra parte, los cambios sociales y de estilo de vida han contribuido a que una gran cantidad de personas

añosas residan en instituciones, donde se pueden agravar los problemas nutricionales. Entre ello, la adecuación en relación a la vitamina D, junto con ingesta adecuada de calcio y suficiente exposición al sol, son fundamentales para disminuir el riesgo de fracturas, mejorando la calidad de vida y reduciendo los costos en salud. Tradicionalmente, se ha considerado que la hipovitaminosis D no es frecuente en España, Sin embargo, tanto en España como en Argentina, en los últimos años, ha sido documentada en individuos de tercera edad elevada prevalencia de hipovitaminosis D. El objetivo de este trabajo fue estudiar comparativamente el estado nutricional con respecto a la vitamina D, en mujeres mayores de 65 años, residentes en lugares geográficos de similar índice de heliofanía, situados en la ciudad de Lleida (España) (Latitud Norte 43°) y en el gran Buenos Aires (Latitud Sur 34°). Se estudiaron, al finalizar el verano de cada Hemisferio (años 2003-2004), 50 mujeres residentes permanentes en una Residencia Geriátrica de la Ciudad de Lleida y 31 mujeres residentes permanentes en una institución de similar nivel del Gran Buenos Aires. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de los Centros y de todos los sujetos. Se registró la edad, sexo, peso, talla, historia clínica, dietética y farmacológica. Se realizó extracción de sangre en ayunas, realizando la rutina del laboratorio clínico: hemograma completo, glucosa, urea, ácido úrico, creatinina, colesterol, proteínas totales, albúmina y PCR. En suero se determinó 25-OH-D<sub>3</sub> (radioinmunoensayo, RIA). Se estimaron los tiempos de exposición al Sol de los residentes a través de una graduación semicuantitativa: nula (sin salida o postrados en cama), poca (con una o dos salidas a la semana), media (con mas de tres salidas semanales) y elevada (con salidas diarias). Se calculó la ingesta promedio diaria de calcio y vitamina D, en base a los consumos semanales de alimentos servidos en los respectivos centros. Los resultados de los indicadores bioquímicos fueron, para Lleida y Gran BA, respectivamente, (promedio  $\pm$  desvío estándar y rangos): Hb (g/dL): 12.6  $\pm$  2.4 (8.4-15.2); 13.1  $\pm$  1.4 (10-16.4); proteínas totales (g/dL): 6.8  $\pm$  0.3 (5.8- 8.2); 6.8  $\pm$  0.6 (5.2-7.8); albúmina (g/dL): 3.73  $\pm$  0.11 (2.9-4.5); 3.51  $\pm$  0.35 (2.7-4.1); Vitamina D (ng/mL): 11  $\pm$  6 (4-25); 12  $\pm$  6 (4-23). El porcentaje de individuos con valores inferiores a 10 ng/mL de 25-OH-D<sub>3</sub> fue: 50% en Lleida y 43% en Gran BA; las cifras se elevaron a 76 y 71% para un punto de corte 15 ng/mL. La exposición solar fue baja en ambos centros. La encuesta alimentaria reveló un mayor consumo promedio de pescado en Leida (70 g/d vs 22 g/d en Buenos Aires) y un mayor consumo de carnes rojas en Buenos Aires. El consumo de lácteos fue similar en los 2 países, con un aporte promedio de calcio de 800 mg/d. La ingesta de vitamina D fue de 1.7  $\mu$ g/d en Lleida, donde los lácteos consumidos no estaban fortificados con Vit. D, y de 4  $\mu$ g/d en Buenos Aires, debido al consumo de lácteos fortificados.

**Conclusión:** estos resultados evidencian que en ambos países es preocupante la deficiencia de vitamina D en mujeres institucionalizadas y autoválidas. Esta deficiencia deberá ser corregida urgentemente mediante intervenciones a corto y mediano plazo, para evitar los problemas clínicos que inciden en la calidad de vida y en los costos de los sistemas de Salud.

#### DISTINTOS ETAPAS DEL DESARROLLO OSTEOBLÁSTICO (FORMACIÓN, MADURACIÓN Y MINERALIZACIÓN) EVALUADA POR MARCADORES ÓSEOS.

Casco Cristina <sup>(1)</sup>, Leonhardt Lorena <sup>(1)</sup>, Mastaglia Silvina R. <sup>(2)</sup>, Seijo Mariana <sup>(2)</sup>, Deferrari Juan M <sup>(2)</sup>, Somoza Julia <sup>(2)</sup>, Bagur Alicia <sup>(2)</sup>, Oliveri Beatriz <sup>(1,2)</sup>, Zeni Susana N. <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Centro de Osteopatías Médicas; <sup>(2)</sup> Sec. Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, U.B.A.

Los osteoblastos son los encargados de la fase anabólica del remodelamiento óseo. Su diferenciación involucra a tres etapas: formación de la matriz orgánica mediante la síntesis de procolágeno, maduración de la misma por la incorporación de proteínas no colágenas como la osteocalcina (BGP) y finalmente mineralización de la matriz, etapa en la que participa activamente la fosfatasa alcalina de origen óseo (FAO). Estas etapas de la actividad osteoblástica

ca puede ser evaluada mediante los marcadores bioquímicos de formación como el propéptido del colágeno tipo 1 amino terminal (P1NP), BGP y FAO. Estos marcadores pueden ser medidos en suero en forma sencilla. En base a lo expuesto el objetivo del presente estudio fue evaluar los niveles de tres marcadores de formación que se encuentran disponibles en nuestro país para determinar si debido a que se expresan en distintas etapas del desarrollo osteoblástico sus niveles séricos tendrían alguna diferencia a través de las distintas etapas de la vida adulta en condiciones normales. Para ello se estudiaron a 117 sujetos sanos (60 hombres y 57 mujeres) con edades comprendidas entre 20 y 49 años los cuales no presentaban enfermedad ni recibían medicamentos que alteren el metabolismo óseo y mineral. A los mismos se les extrajo sangre en ayunas (8 a 10.30 am) donde se evaluó P1NP(ng/L) y BGP (ng/L) por electroquimioluminiscencia (Elecysys 1010, Roche Arg.) y FAO (UI/L) por colorimetría (Wiener) previa precipitación diferencial de la isoforma ósea con lectina de germen de trigo. Los resultados (X $\pm$ DS) se dividieron por género y por décadas (años): G 1: 20-29, G 2: 30-39 y G3: 40-49:

HOMBRES				
Edad	Grupo	P1NP	BGP	FAO
20-29	G1	72.3 $\pm$ 24.9 #	27.2 $\pm$ 10.0	69 $\pm$ 8
30-39	G2	56.4 $\pm$ 23.8**	20.2 $\pm$ 8.2**	72 $\pm$ 12*
40-49	G3	57.7 $\pm$ 21.6*	24.9 $\pm$ 8.3*	73 $\pm$ 14*

MUJERES				
Edad	Grupo	P1NP	BGP	FAO
20-29	G1	71.5 $\pm$ 24.8 #	28.8 $\pm$ 10.1 #	67 $\pm$ 10
30-39	G2	45.0 $\pm$ 16.2**	20.6 - 6.9**	61 $\pm$ 13
40-49	G3	42.8 $\pm$ 15.9	18.7 $\pm$ 8.5	62 $\pm$ 11

(\*) P < 0.05: respecto de las mujeres; (\*\*) p < 0.05 respecto de G1, (#) p < 0.05 respecto de G3

Cuando se compararon los hombres vs. mujeres: los niveles de P1NP y BGP presentaban diferencias significativa en G3 y FAO tanto en la década de 30 a 39 como en la de 40 a 49 años. Cuando se compararon los distintos grupos de igual género, presentaban las siguientes diferencias: en hombres: P1NP: G1 vs. G2 y G1 vs. G3; BGP: G1 vs. G2; en mujeres: P1NP G1vs. G2 y G1 vs. G3; BGP: G1 vs. G2 y G1 vs. G3. La FAO no presentó diferencias para ninguno de los grupos.

**Conclusión:** Estos resultados sugieren que los tres marcadores de formación medirían distintas etapas del proceso osteoblástico normal. La etapa de formación y mineralización presenta un comportamiento similar en hombres y mujeres mientras la etapa de maduración presentaría algunas diferencias. Entre hombres y mujeres se observan valores mayores en el hombre para el P1NP y BGP entre los 40 y 49 años, para FAO entre 30 y 49 años.

#### RELACIÓN ENTRE CALCIFICACIONES DE LA AORTA ABDOMINAL Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA TRABECULAR LUMBAR MEDIDA POR TOMOGRAFÍA COMPUTADA CUANTITATIVA (QCT).

Pozzo María J., Lozano María P., Ilera Verónica y Claus Herberg Haraldo. Servicio de Endocrinología, Hospital. Alemán. Buenos Aires.

El envejecimiento se asocia a un aumento de la prevalencia de osteoporosis y de calcificaciones aórticas, pero aún no se ha establecido en forma inequívoca si ambos procesos están interrelacionados. La disparidad de las observaciones reportadas depende en gran medida de la distinta sensibilidad de los métodos utilizados para visualizar las calcificaciones.

**Objetivo:** evaluar la relación entre la densidad mineral ósea trabecular de la columna lumbar y la presencia de calcificaciones, apro-



vechando la sensibilidad de la tomografía computada para poder visualizarlas.

**Material y Métodos:** se evaluaron 498 mujeres postmenopáusicas mayores de 50 años a las que se le realizó una densitometría ósea (DMO) por tomografía computada cuantitativa (QCT) de columna lumbar en forma consecutiva desde marzo de 2004 a agosto 2005. Las determinaciones de DMO se obtuvieron con tomógrafo Siemens Somatom Plus y un fantoma de referencia para calibración fue utilizado para cada corte (provisto por Dr. Christopher Cann, Universidad de California, San Francisco) Se obtuvieron cortes axiales a nivel de la mitad de los cuerpos vertebrales de L1 a L4. Los resultados de DMO fueron expresados en mg/cm<sup>3</sup>. Los mismos cortes fueron utilizados para el estudio de las calcificaciones aórticas, las que fueron evaluadas en forma semicuantitativa. En cada corte la calcificación se graduó asignando una puntuación de 0.5 por cada 1/4 de circunferencia calcificada. Ello determinó una puntuación entre 0 (ausencia de calcificación) y 2 (anillo completo) para cada corte y un SCORE entre 4 y 8 que resulta de la sumatoria de los 4 cortes.

Los datos referidos al hábito de fumar, medicaciones y comorbilidades fueron obtenidos mediante cuestionario. El mismo fue utilizado para excluir pacientes con enfermedades o medicaciones conocidas que afecten el metabolismo óseo. Se consideraron tabaquistas las mujeres que fumaban más de 5 cigarrillos/d, dislipídicas las que tomaban hipolipemiantes e hipertensas los que lo referían en el cuestionario o tomaban drogas antihipertensivas.

**Resultados:** La correlación de Spearman mostró r: -0.43 con p<0.01 que se pierde ajustando la DMO a la edad. Visto que el 71% de la población tenía un SCORE <= 1 se categorizó a la misma en dos grupos según el Score de calcificación. Grupo A: SCORE <= 1 y grupo B: SCORE >=1. La DMO de ambos grupos siguió una distribución normal con las siguientes medias y DS: Grupo A: 85 +/- 26 y Grupo B: 63 +/- 22. La diferencia entre medias fue significativa (p<0.001) Esta diferencia se mantuvo con significancia a nivel p=0.02 ajustado a edad, dislipidemia e hipertensión arterial. Cuando se agrega el tabaquismo al modelo de ajuste la significancia disminuye (p= 0.05)

**Conclusión:** en la población estudiada las calcificaciones aórticas y la DMO correlacionaron en forma inversa. El grupo de mujeres con mínimas calcificaciones o sin ellas tuvieron una media de densidad mineral ósea significativamente mayor. Esta diferencia se mantiene cuando se ajusta a los demás factores predictores de calcificaciones vasculares (edad, dislipidemia, hipertensión arterial y tabaquismo).

### **OSTEONECROSIS DE MAXILAR EN PACIENTE CON CÁNCER DE MAMA, METÁSTASIS OSEAS Y TRATAMIENTO CON ALTAS DOSIS DE PAMIDRONATO ENDOVENOSO.**

Lozano María P., Rezzo Eduardo, Ilera, Verónica, Pozzo María J., Claus Hermsberg Harald. Servicio de Endocrinología y Servicio de Cirugía Maxilofacial. Hospital Alemán. Buenos Aires.

**Caso clínico de interés:** En los últimos dos años se han reportado en forma creciente casos de posible asociación entre osteonecrosis mandibular y/o maxilar y el uso de bifosfonatos (especialmente nitrogenados).

Se trata en general de pacientes con enfermedades malignas avanzadas (principalmente mama y mieloma múltiple), que recibían además quimioterapia y corticoterapia. En todos los casos la anatomía patológica evidenció necrosis avascular, osteomielitis crónica y ausencia de metástasis. Se presenta una paciente con las características previamente mencionadas.

**Descripción:** Mujer de 75 años, operada en el año 1991 por carcinoma de mama, con invasión cutánea y axila positiva (7/12), que evoluciona con metástasis óseas y necrosis de maxilar superior, falleciendo en febrero de 2005.

A los 7 años del diagnóstico presentó metástasis óseas. Recibe tratamiento con quimioterapia y corticoterapia, con respuesta parcial. En el año 2000 comienza tratamiento con pamidronato endovenoso, 90 mg/mes, por 39 meses consecutivos. Ante la progresión de la enfermedad, se realiza radioterapia en columna dorsolumbar, sacroilíaca, y distintos ciclos de quimioterapia y corticoides. Desde el 2002 hasta deceso recibió tratamiento con metilprednisona, en dosis promedio de 8mg/día.

En 2001, la paciente es derivada, por indicación odontológica al servicio de cirugía maxilofacial. Se le practican extracciones de dos molares superiores, y debido a sus antecedente neoplásicos se le realiza biopsia incisional de encía (de aspecto hipertrófica) y hueso subyacente. La anatomía patológica informa osteomielitis de maxilar y proceso inflamatorio crónico supurado extendido a partes blandas de cavidad oral. Ausencia de malignidad histológica. En los meses y años siguientes, evoluciona con cuadros sépticos locales, con progresiva exposición del hueso del maxilar superior, con procesos necróticos, secuestros óseos y focos de inflamación e infección crónica, y piezas dentarias sépticas. En operaciones sucesivas, se le extraen las piezas dentarias afectadas, realizándose secuestrectomías, toilettes y biopsias, que informan osteomielitis crónica.

Al 2005, la paciente había perdido todas sus piezas dentarias superiores y grandes porciones de hueso maxilar con compromiso de los senos maxilares. El proceso previamente descrito fue determinante de la mala calidad de vida de la paciente en el período previo a su deceso.

**Conclusión:** La osteonecrosis del maxilar y/o mandíbula, es una complicación grave que debe considerarse en pacientes con enfermedad neoplásica avanzada y uso prolongado de bifosfonatos a altas dosis.

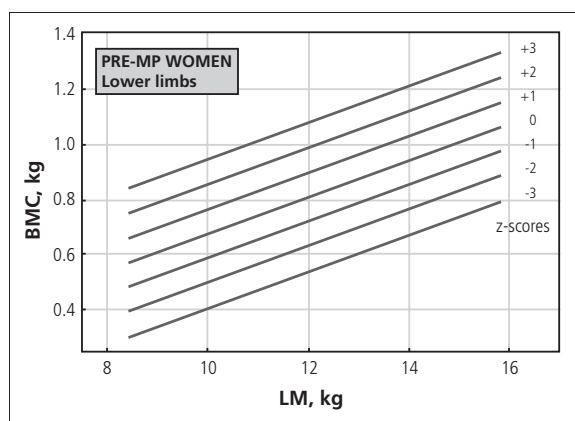
### **CURVAS DE REFERENCIA NORMALES PARA EL DIAGNÓSTICO DENSITOMÉTRICO DE LA PROPORCIONALIDAD OSTEOMUSCULAR PARA DISTINGUIR ENTRE OSTEOPENIAS MECÁNICAS Y SISTÉMICAS.**

Capozza Ricardo F., Cointy Gustavo R., Ferretti José L. Centro de Estudios de Metabolismo P-CA, U.N.R., Rosario.

Las relaciones hueso-músculo pueden estudiarse mediante DXA determinando las masas mineral (CMO) y magra (MM) del cuerpo. Habíamos demostrado que CMO y MM correlacionan linealmente en cuerpo entero y miembros superiores e inferiores (CE,MS,MI) de más de 4.000 individuos de 2 a 87 años, con ordenadas decrecientes en sentido: mujeres pre-MP > mujeres post-MP = hombres > niños/niñas [ Bone, 1998 y 2004]. El paralelismo entre estas curvas sugirió la regulación común de la masa ósea en función de la fuerza muscular (mecanostato óseo). Las diferencias en ordenadas indicaron la modulación hormonal (positiva, estrogénica) de esa regulación. Este trabajo analiza esas correlaciones (curvas BMC-LM), determinadas (equipo GE-Lunar DPX-Plus), y la evolución etaria del cociente BMC/LM (curvas BMC/LM-edad), en CE, MS y MI de 3.063 adultos normales (472 hombres, 1035 mujeres pre-MP y 1556 post-MP de 20-85a), para extender esa evidencia, y para confeccionar cartas Z-scorizadas de referencia de las mismas para diagnóstico comparativo. Las curvas BMC-LM, positivas y paralelas para los 3 grupos, confirmaron lo anterior (Tabla). Las gráficas de MI mostraron la menor dispersión y pasaron por el origen. En MS, las diferencias intersexuales se invirtieron, quedando los hombres en primer lugar. Regresiones múltiples mostraron escasa interacción independiente de peso, altura o edad con esas relaciones. La masa grasa interactuó significativamente sólo en mujeres post-MP. Las curvas BMC-edad, aplanadas en los hombres, mostraron la influencia de los estrógenos en las mujeres. Las ecuaciones de ajuste de cada curva se determinaron mediante software ad-hoc. Con esas referencias, se establecieron 6 bandas fiduciales, limitadas por los límites de  $\pm 1$ , 2 y 3 DS de los datos alrededor de las curvas (1, 2 ó 3 Z-scores; ejemplo en la Figura). En base a esos datos desarrollamos un software original, que calcula Z-scores individuales de las relaciones BMC-LM, y posiciona el caso en la correspondiente gráfica, específicamente para sexo, región y apa-



rato empleado, a partir del CMO y la MM de la región estudiada, el sexo, y el estado reproductivo si es femenino, para aparatos GE-Lunar. Proponemos estas referencias originales para evaluar en qué medida la masa ósea (CMO) respeta la proporcionalidad natural antropométrica con la masa muscular en individuos problema, con especificidad de sexo y estado reproductivo, dentro de las referidas edades, y para aparatos similares. Las referencias más confiables serían las cartas para MI. Las diferencias entre datos de MS y MI pueden evaluar una interacción del peso corporal con los resultados. Como diversos factores endocrino-metabólicos pueden alterar la proporcionalidad hueso-músculo por desviar el punto de referencia del mecanostato, las cartas permitirían diferenciar osteopenias de causa puramente mecánica, vectorial (desuso), con Z-scores tendiendo a cero, y de causa sistémica, no direccional (endocrino-metabólicas), con Z-scores bajos en proporción con la intensidad del trastorno causal. Se identificarían así osteopatías con tratamientos críticamente diferentes (fisioterápico en las primeras, farmacológico en las segundas), empleando únicamente DXA.



Grupo	Región	r (siempre p<0.001)	R <sup>2</sup>	Ordenada al origen (kg)	SD, (kg)	%CV
Hombres	CE	0.674	0.454	0.34 (b)	0.28	10.44
	MI	0.650	0.423	0.18 (b,c)	0.04	9.65
	MS	0.802	0.643	-0.01 (b)	0.10	8.94
PreMP	CE	0.515	0.265	0.77 (a,c)	0.27	11.60
	MI	0.560	0.313	0.12 (a,c)	0.04	15.68
	MS	0.710	0.504	0.01 (a,c)	0.09	9.87
PostMP	CE	0.535	0.286	0.55 (b)	0.26	11.89
	MI	0.532	0.283	0.11 (a,b)	0.04	16.97
	MS	0.656	0.430	-0.01 (b)	0.10	9.98

### EVALUACIÓN ORIGINAL DE LA FRAGILIDAD ÓSEA, DEL ESTADO DEL MECANOSTATO Y DE LAS INTERACCIONES MECÁNICO-SISTÉMICAS EN EL ESQUELETO HUMANO ADULTO.

Capozza R., Cointry G., Morosano M., Massoni A., Ferretti S., Feldman S., Fracalossi N., Ferretti M., Marchetti G., Tozzini R., Ferretti J. Centro de Estudios de Metabolismo P-Ca, U.N.R.

La resistencia de un hueso a la fractura depende únicamente de la rigidez intrínseca y de la distribución espacial de su material duro según la dirección de las cargas de fractura.

Sólo la modelación y la remodelación pueden afectar esas propiedades, en tanto se las module direccionalmente en sitios mecánicamente significativos. Las contracciones musculares aportan el principal estímulo direccional esquelético, en función del cual el mecanostato orienta la modelación / remodelación para optimizar la resistencia ósea.

El entorno endocrino-metabólico sólo ejerce efectos sistémicos, no direccionales, cuyo impacto mecánico dependerá del azar circunstancial; por eso se lo considera perturbador del control biomecánico óseo. En consecuencia, para evaluar y monitorear la resistencia ósea se deben evaluar en conjunto al menos 4 aspectos complementarios del accionar del mecanostato:

1. la calidad del material y del diseño óseos (eficiencia del sistema);
2. la intensidad de la estimulación mecánica (su input);
3. la direccionalidad de la modelación/remodelación (su estado funcional), y
4. las eventuales interferencias sistémicas sobre osteocitos / blastos / clastos (su setpoint).

Este trabajo define algunos indicadores osteomusculares de estos 4 aspectos determinados por pQCT en 4 sitios en piernas en 40 hombres, 60 mujeres pre-MP y 100 post-MP normales de 20-87a, en forma de cartas Z-scorizadas, suficientes para evaluar:

**1. La eficiencia del mecanostato:** El producto de la vDMO cortical (indicador de calidad material) por el momento de inercia tibial (MI, indicador de eficiencia del diseño óseo) origina un indicador de resistencia (Bone Strength Index, BSI). La Z-scorización de los valores normales de vDMO, MI y BSI obtenidos y de su evolución post-MP ofrece referencia para evaluar la resistencia ósea y sus 2 determinantes exclusivos.

**2. El input del mecanostato:** La correlación Z-scorizada entre el área seccional muscular de pantorrilla (y) y la talla (x) permite estimar la fuerza muscular.

**3. El estado funcional del mecanostato:** Correlaciones Z-scorizadas entre la distribución del tejido compacto tibial (MI, y) y su masa (área cortical, x<sub>1</sub>, Figura) o su calidad (vDMO cortical, x<sub>2</sub>) permiten evaluar la capacidad esquelética para redistribuir la compacta en función de su disponibilidad o de su rigidez, respectivamente.

#### 4. El setpoint del mecanostato:

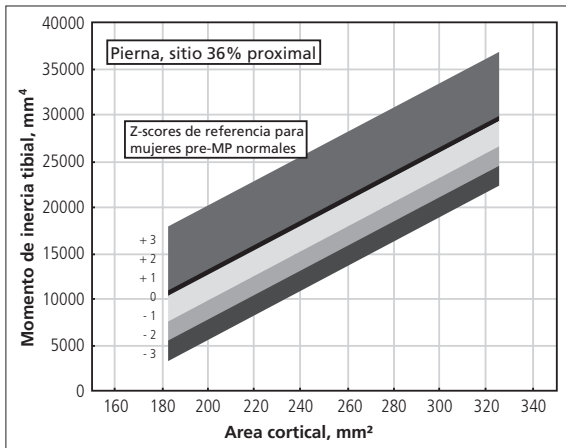
a) Correlaciones Z-scorizadas entre la masa (área, y<sub>1</sub>), el diseño (MI, y<sub>2</sub>) o la resistencia ósea (BSI, y<sub>3</sub>) y el área muscular (x) permiten evaluar la influencia muscular sobre esas propiedades, y su alteración por factores no mecánicos (sistémicos).

b) Correlaciones Z-scorizadas entre CMO total de regiones tibiales con proporcionalidad córtico-trabecular biomecánicamente previsible permiten evaluar déficit relativos de masa de tejidos con distinta sensibilidad a los entornos mecánico y sistémico.

Desarrollamos además un software original para calcular Z-scores individuales en base a estas referencias y mostrarlos como marcas en una planilla de perfil diagnóstico (Tabla\*), para definir y monitorear integralmente:

1. la fragilidad ósea;
2. su etiopatogenia directa;
3. el estado funcional del sistema que los regula, y
4. la naturaleza mecánica (desuso) o sistémica (metabólica) de la osteopenia causal. Estos desarrollos se presentan como un recurso diagnóstico original, sencillo y eficaz para el análisis biomecánico óseo no-invasivo.

\* (ver tablas página siguiente)



INFORME DE PERFIL DIAGNÓSTICO	Z-scores de pierna					
	-3	-2	-1	0	+1	+2
<b>INDICADORES DE MASA OSEA</b>						
vCMO total						
vCMO o vDMO trabecular						
vCMO o area osea cortical						
<b>INDICADOR DE DISEÑO</b>						
Momento de Inercia seccional (MI)						
<b>INDICADOR DE CALIDAD MATERIAL</b>						
vDMO cortical						
<b>INDICADOR DE RESISTENCIA</b>						
BSI						
<b>INDICADOR DE FUERZA MUSCULAR</b>						
Area seccional muscular						
<b>INTERACCIONES MUSCULO HUESO</b>						
Area cortical / area muscular						
Diseño diafisario (MI) / area muscular						
Resistencia osea (BSI) / area muscular						
<b>RELACIONES MECANOSTATICAS</b>						
Curva de distribución (MI) / masa (area cortical)						
Curva de distribución (MI) / calidad (vDMO cort.)						
Relación masas trabecular / cortical						

**CAMBIOS EN LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL DURANTE LA LACTANCIA EN ADOLESCENTES.**

Mansur Jose L., Malpeli Agustina, Etchegoyen Graciela, De Santiago Soledad, Kuzminzuk Marta, González Horacio. Centro de Endocrinología y Osteoporosis La Plata, Instituto de la Columna Vertebral, Inst de Invest Pediátricas (IDIP, Hospital de Niños Sor María Ludovica La Plata, y Departamento de Salud de la Universidad Iberoamericana, Mexico.

La Densidad Mineral Osea (DMO) de Columna (CL) disminuye un 4-6 % en los primeros 6 meses de lactancia, y pérdidas similares se reportaron en cadera y radio (atribuidas al estado hipoprogénico más la pérdida de calcio de la leche), con recuperación a los 6 meses de suspender la lactancia. Pocos estudios han valorado la Composición Corporal en este período, mostrando pérdida de la Masa Grasa (MG) acumulada durante el embarazo (J Nutr130:777-783, 2000). Los datos existentes son de mujeres adultas, pero no en adolescentes. El objetivo del estudio es evaluar estos cambios en jóvenes de 16 años o menos, a una edad en la que no se ha alcanzado el pico de masa ósea.

**Pacientes y métodos:** estudiamos prospectivamente 24 mujeres adolescentes que alimentaban a sus hijos exclusivamente con lactancia a los 15 días y 3, 6 Y 12 meses post parto. Edad: 15.2 +/-0.7. Evaluamos peso, talla, BMI, Composición Corporal por grosor de pliegues y por DEXA

con Masa Grasa (MG) y Masa Magra (MM), Densidad Mineral Osea (DMO) de Columna Lumbar (CL), Cuello Femoral (CL) y Cadera Total (CT), Contenido Mineral Oseo (CMO) del esqueleto, con un equipo Lunar IQ con software pediátrico. Las jóvenes que interrumpieron la lactancia o no tuvieron los 4 controles fueron excluidas.

**Resultados:**

Peso: 54.7 (+/-5.1),  
Talla: 155 (+/-5.1),IMC: 23.0 (+/-2.0).  
Ingesta de calcio: 662,73 (+/-248) mg./d.

En el estudio basal en CL 11 tuvieron Z-S inferior a -1 y 4 Z-S inferior a -2.

**Cambios:**

	DMO CL%	DMO CF%	DMO CT%	CMO esq%	%MG (Dexa)	%MG (Plieg)	MM (Kg)	Peso
Basal	100	100	100	100	35,45	29,94	32,60	54,83
3 m	98,19	# 94,45	# 95,54	# 97,31	32,67	28,47	32,52	52,72
6 m	101,05	# 94,69	# 94,97	# 96,90	# 29,62	27,10	33,34	51,54
12 m	# 106,42	97,74	98,08	98,34	# 27,72	# 23,31	34,03	51,03

# : p<0.001 vs basal °: p<0.01

En CL no hay pérdida y hay ganancia al año. En CF, CT y CMO hay pérdida con recuperación.

La diferencia entre regiones puede deberse a diferente proporción de hueso trabecular y cortical. La Masa Grasa disminuye (p<0.001) en brazos (2,75 Kg. basal vs 1,60 Kg. al año), piernas (6,18 vs. 4,92) y tronco (9,25 vs. 6,57) 0.001) mientras la Masa Magra es preservada. El tercio de jóvenes que a los 3 meses perdió más CMO (149 gr. vs. 25 gr. en el resto) perdió más peso (3 Kg. vs. 1,7 Kg.) y más DMO en CL (2,49 % vs 1,53 %) en esos 3 meses.

**Conclusión.** En adolescentes durante la lactancia la DMO de CL no disminuye y al año es mayor. EN CF, CT y CMO hay pérdida reversible. La MM no cambia. La MG disminuye en todas las regiones, pero esto no afecta la recuperación ósea. Perder más peso en los primeros 3 meses predispondría a mayor pérdida de CMO y DMO de CL. Estos datos son importantes ya que estas jóvenes no han alcanzado el pico de masa ósea, y muchas de ellas tendrán nuevos embarazos antes de ese momento.

**REGENERACIÓN ÓSEA POST TUMORECTOMÍA DE NEOPLASIAS ÓSEAS BENIGNAS.**

Da Silva Minas María A., Cole Alejandro G., Santini Araujo Eduardo, Guglielmotti María B., Hosp. Municipal Julio Méndez, Ortopedia y Traumatología. Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

Las neoplasias óseas benignas tratadas quirúrgicamente, que requieren de un sustituto óseo, frecuentemente son tratadas con hueso autólogo. Debido a la morbilidad asociada a la toma del injerto, que según refiere la bibliografía menciona hasta un 25%, existe un interés creciente por los sustitutos óseos para el tratamiento de las neoplasias óseas benignas.

El objetivo de este trabajo es presentar una alternativa de relleno óseo post tumorectomía del encondroma de primera falange de segundo dedo de pie con gránulos de colágeno bovino.

El colágeno como biomaterial ha sido utilizado en el área biomédica por su probada biocompatibilidad y capacidad de promover la reparación de los tejidos. Si bien existe en la bibliografía un estudio experimental en ratas donde se observó la promoción de la regeneración ósea con gránulos de colágeno bovino (Gorustovich et. al. Acta Odontol Latinoam. 2004; 17(1-2): 9-13), hasta el presente no se ha reportado su uso clínico.

Paciente de sexo femenino de 24 años que presenta encondroma de primera falange de segundo dedo del pie derecho. El mismo abarca el tercio medio distal de dicha falange con corticales adelgazadas y sin solución de continuidad. Clínicamente presenta dolor a la bipedestación. Se decide realizar tratamiento electivo para este tipo de tumor

que consiste en realizar una ventana ósea respetando su vascularización, curetaje hasta hueso sangrante y posterior relleno. Debido al volumen de la lodge quirúrgica a reparar, se decide rellenar el defecto remanente con 1 g de gránulos colágeno bovino estéril de  $80 \pm 10 \mu\text{m}$  (Membracell, Lab. Celina, Bs. As., Arg.), previo consentimiento escrito por la paciente, vehiculizado con sangre y luego se procede a cierre por planos. El estudio radiológico post operatorio inmediato evidenció una imagen radiolúcida. La paciente pudo deambular a partir de los siete días luego de la cirugía.

Al mes se observó una imagen radiopaca compatible con formación de trabéculas óseas. A los 90 días se observó restitución ad-integrum de la falange con engrosamiento de las corticales. Actualmente, luego de ocho meses del postoperatorio no se han observado complicaciones (fracturas, ni recidiva).

El tratamiento de las neoplasias benignas con este relleno como sustituto óseo podría considerarse una alternativa al hueso autólogo.

### APLICACIÓN DE INGENIERÍA DE TEJIDOS EN LA REPARACIÓN DE UN DEFECTO ÓSEO DE TAMAÑO CRÍTICO EN FALANGE.

Da Silva Minas María A., Cole Alejandro G., Guglielmotti María B. Hosp. Municipal Julio Méndez, Ortopedia y Traumatología. Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, U.B.A.

El tratamiento de las pérdidas óseas en la cirugía reconstructiva ha incorporado como aspecto fundamental, una nueva especialidad que se denomina Ingeniería de Tejidos. Uno de los elementos críticos de esta especialidad es la habilidad para imitar la matriz extracelular (ME) que normalmente sirve para organizar células en tejidos. La ME puede modular el crecimiento y la morfogénesis a través de su capacidad de sostén, almacenamiento y eventual liberación de factores de crecimiento y citoquinas. Las plaquetas son conocidas por su rol importante en la reparación y remodelación de tejidos. La posibilidad de utilizar propiedades en el sitio donde se requiere regenerar hueso para el aporte de material sintético o biológico optimizando la regeneración ósea, es a través de la utilización de factores de crecimiento autólogos (FCA). El colágeno como biomaterial ha sido utilizado en medicina y odontología por su probada biocompatibilidad y capacidad de promover la capacidad de curación de los tejidos. Las membranas de colágeno han sido utilizadas tanto en regeneración tisular y ósea, no así los gránulos de colágeno como sustituto óseo. Si bien existe en la bibliografía un estudio experimental en ratas donde se observó la promoción de la regeneración ósea (Gorustovich et. al. Acta Odont Latinoam. 2004;17(1-2):9-13).

El objetivo de este trabajo es presentar un caso clínico donde utilizamos como alternativa al tratamiento convencional en regeneración ósea, hueso autólogo medular asociado a gránulos de colágeno bovino estéril vehiculizado en FCA como sustituto óseo en un caso de pérdida ósea de articulación interfalángica proximal que no pudo ser resuelta por osteosíntesis debido a la multi-fragmentación de la misma.

Paciente, masculino de 40 años de edad, presentaba secuela de traumatismo grave de dedo índice de mano izquierda de dos meses de evolución. Presentando pérdida parcial de la articulación interfalángica proximal y fractura de cuello y diáfisis de falange uno, con esbozo de consolidación viciosa y acortamiento del dedo en aproximadamente 2,5 cm, estabilizados con una osteodesis.

Para la obtención de los factores de crecimiento autólogos se utilizó PRGF System, seguidamente lo mezclamos con 0.5 g de hueso autólogo medular obtenidos de la región olecraneana homolateral y 0.5 g de gránulos de colágeno estéril bovino de  $80 \pm 10 \mu\text{m}$  (Membracel G, Lab. Celina, Bs. As., Arg.), obteniendo un injerto compactado, de fácil manipulación, que se utilizó inmediatamente para rellenar el defecto óseo.

Quirúrgicamente se expuso el defecto, se estabilizó con una placa de acero quirúrgico, observándose un defecto crítico a rellenar de aproximadamente 2,5 cm. de longitud entre ambos cabos fracturarios. Se rellenó el defecto con la preparación descripta, y cierre del colgajo con surget nylon 4-0. En tiempo cero, una radioscopia muestra una imagen radiolúcida en el área del relleno. El seguimiento radiográfico a los 40 días del postoperatorio mostró una imagen radioopaca a nivel proximal y distal de los cabos óseos con trama y densidad compatible con tejido óseo y a los 120 días se observó tejido óseo ocupando práctica-

mente la totalidad de la brecha, detectándose llamativamente la reconstrucción de la superficie articular.

Hemos utilizado entonces, para el tratamiento de un defecto de tamaño crítico, la aplicación de Ingeniería de tejidos para optimizar la regeneración ósea con una combinación de hueso autólogo medular y gránulos de colágeno bovino, vehiculizado en PRGF, terapéutica no descripta hasta el presente para este tipo de pérdida ósea.

### NEUROFIBROMATOSIS TIPO 1 E HIPERPARATIROIDISMO, REPORTE DE 1 CASO.

Rovai de Ibáñez Gloria B.<sup>(1)</sup>, Méndez Gustavo A.<sup>(1)</sup>, Pozzo María J.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Clínica Médica, Hospital Ángela I. de Llano, Corrientes.

<sup>(2)</sup> Osteología, Hospital Alemán, Capital Federal.

**Objetivo:** Describir una asociación poco frecuente entre neurofibromatosis tipo 1 (NF 1) e hiperparatiroidismo primario (HPT 1). Reporte de un caso clínico de NF 1 e HPT 1 y breve revisión de la literatura. Paciente de mujer de 39 años ingresó a Clínica Médica por debilidad progresiva de miembros superiores e inferiores, junto con parestesias.

**Antecedentes:** 6 hijos con máculas hiperocrómicas café con leche.

**Examen físico:** Talla 153 cm. Peso 42kg. IMC 17.9

**Piel:** máculas hiperocrómicas, diferentes tamaños, distribución generalizada. Tumoraciones 1 a 6 centímetros de diámetro, no dolorosas, no adheridas a planos superficiales ni profundos.

**Sistema osteomioarticular:** cifoescoliosis dextroconvexa, hipotrofia muscular.

**Sistema nervioso:** motilidad, fuerza muscular y tono muscular disminuidos en cintura escapular y pelviana.

**Cuello:** tiroides aumentada de tamaño.

**Laboratorio:** anemia (22%), eosinofilia (17%), hipercalcemia (11.5 mg./dL), FAL elevada (1096, VR hasta 300), albúmina 2,96 gr./dL, dosaje PTHi 354 pg/mL (VR 12-72).

**Orina 24 horas:** Vol total 2000 mL Densidad 1010 pH 7 Proteinuria 0.18 gr. Creatinina 2 gr. Clearance de creatinina 231 mL/min Fosfatúria 0.78 gr. (VR 0.7-1.3 gr./d) Calciúria 334 mg. (100-300 mg./d) Natriuresis 213.8 mEq/L (VR 40-220 mEq/L) Calciuresis 44.1 (VR 2.5-120 mEq/L) Hemoglobina.

**Radiografía de tórax:** imagen aspecto nodular en región central del tórax.

**Biopsia de tumoración:** Patología. Lesión circunscrita con fibras onduladas con núcleos elongados en bandas laxas.

**Diagnóstico:** neurofibroma.

**Discusión y conclusiones:** La NF es un desorden genético frecuente que afecta a los seres humanos, se caracteriza por pigmentación cutánea y múltiples tumores que se originan de elementos del SNC y SNP. Dos tipos: **Periférico:** manchas café con leche, nódulos subcutáneos y escaso compromiso central. **Central:** múltiples tumores en el SNC con mínimo compromiso en SNP y piel. Diagnóstico se basa en criterios clínicos, se pueden presentar de manera gradual durante la infancia.

Esta paciente presentaba múltiples neurofibromas, manchas café con leche número mayor a seis y familiares de primer grado con cuadro clínico similar, características diagnósticas para NF 1.

**Criterios diagnósticos:** Seis o más manchas café con leche. Antes de la pubertad > 5 mm, posterior a la pubertad > 15 mm.

**Pecas en pliegues de la piel:** en axila, ingles o base de cuello.

**Neurofibromas:** dos o más neurofibromas o uno plexiforme.

**Displasia esquelética:** en órbita o tibia.

**Nódulos de Lisch:** dos a más hamartomas en iris.

**Glioma óptico:** detectado por RNM.

**Historia familiar:** De primer grado. Con dos de estos criterios se hace el diagnóstico de neurofibromatosis tipo 1. También presentaba hipercalcemia, hipercalciuria, hipofosfatemia y FAL elevada, compatible con hiperparatiroidismo primario.

Diagnóstico diferencial es con el cáncer, en enfermos con NF se ha descrito un aumento de 4 veces el riesgo de presentar cáncer, especialmente mujeres. En cuanto a la hipercalcemia asociada al cáncer es causada por hipersecreción de PTHrP. La PTH sérica en el cáncer se

encuentra por debajo 25 pg/mL, a menos que tengan un HPT coexistente, lo cual ocurre en un 5 a 10%. Hay reportes de casos clínicos de NF tipo 1 e HPT, en su mayoría secundario a adenoma de paratiroides. La similitud de las lesiones óseas que se pueden observar en la NF 1 e HPT sugieren una asociación genética. Se debe investigar HPT en todos los pacientes afectados con NF 1 ya que el manejo de la hipercalcemia puede revertir las anomalías óseas.

**POLIMORFISMO DEL RECEPTOR DE VITAMINA D Y FUNCIÓN PARATIROIDEA EN INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN HEMODIÁLISIS.**

Buttazzoni Mirena <sup>(1)</sup>, Rosa Diez Guillermo <sup>(2)</sup>, Fernández Nahuel <sup>(3)</sup>, Darquier Rosario <sup>(3)</sup>, Crucelegui Soledad <sup>(2)</sup>, Copelli Silvia <sup>(3)</sup>, Plantalech Luisa <sup>(1)</sup>.

<sup>(1)</sup> Servicios de Endocrinología y,

<sup>(2)</sup> Nefrología del Hospital Italiano de Bs As, <sup>(3)</sup> Depto. de Biología, Universidad C.A.E.C.E., Buenos Aires.

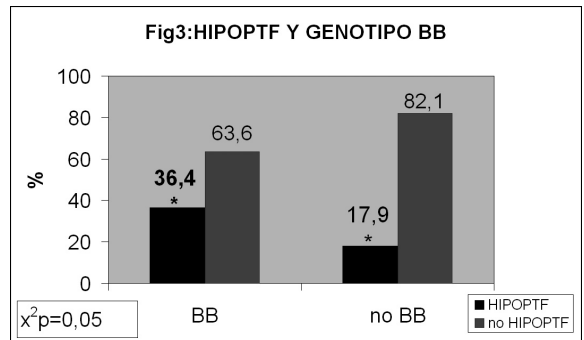
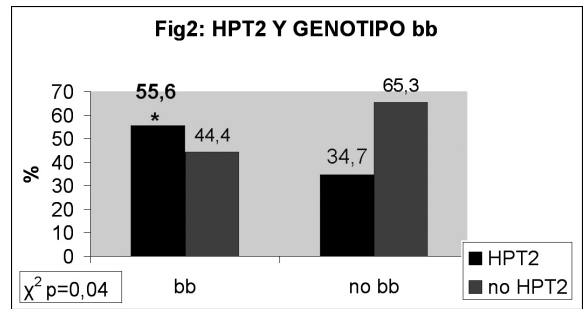
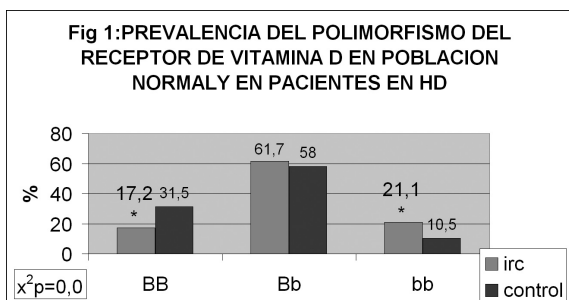
**Introducción:** Las variantes alélicas del receptor de Vitamina D (RVD) presentan diferente actividad biológica en la célula paratiroidea, modulando la síntesis de parathormona (PTH) según su afinidad por el calcitriol. Estos polimorfismos estarían implicados en la patogenia del hiperparatiroidismo secundario (HPT2). Existen evidencias que el polimorfismo del RVD condiciona el HPT2 en pacientes con Insuficiencia Renal Crónica Terminal (IRCT) en estadio pre-dialítico. Sin embargo poco se conoce sobre su influencia en el HPT2 de pacientes con IRCT en hemodiálisis (HD).

**Objetivo:** A. Evaluar la prevalencia del polimorfismo BsmI del RVD en pacientes con IRCT en HD. B. Determinar si existe predisposición genética para el desarrollo de HPT2 y/ o hipoparatiroidismo funcional - hueso adinámico - (HIPOPTF).

**Población y Métodos:** Se evaluó el polimorfismo BsmI del RVD en 128 pacientes con IRC en HD (72 varones y 52 mujeres de edad x: 55 ±16 años) y en 105 voluntarios sanos (59 varones y 46 mujeres). Los pacientes se dividieron según el valor de PTH: mayor de 300 (HPT2) y PTH menor de 100 (HIPOPTF) y se correlacionaron con el genotipo bb, Bb y BB.

- 1. Extracción y purificación de ADN:** Este se obtuvo de leucocitos de sangre periférica mediante una técnica modificada que incluye la lisis celular en presencia de proteinasa K y purificación por extracción con fenol-cloroformo-isoamílico.
- 2. Técnica de PCR /enzimas de restricción:** Se realizó la amplificación génica por PCR (reacción en cadena de la polimerasa), obteniéndose oligoprimers específicos para la presencia (bb) o ausencia (BB) del intrón 8 del VDR. Se realiza la digestión enzimática del producto de amplificación con la enzima de BsmI que permitirá analizar el polimorfismo (bb) en presencia del intrón.
- 3.** Para registrar el corte enzimático se complementó con electroforesis en geles de poliacrilamida al 8%.
- 4.** Se realizó dosaje de calcemia (Ca), fosfatemia (P), fosfatasa alcalina (FAL), parathormona intacta (PTHi).
- 5.** En el estudio estadístico se utilizó análisis de regresión lineal y  $\chi^2$ .

**Resultados:** En la población con IRCT se observó Ca 9.1 ± 0.8 mg/dl, P 5 ± 1.8 mg/dl, producto fosfocálcico 46.3 ± 17, FAL 199 ± 270 UI, PTHi 203 ± 343 pg/ml, tiempo medio de hemodiálisis 45 ± 40 meses.



La regresión lineal bivariada entre PTH, bb ajustado a tiempo de hemodiálisis es r: 0.40, F22.4, p<0.0001.

**Conclusión:** Observamos diferencias genotípicas entre los pacientes con IRCT y la población general. El genotipo bb es mas frecuente en IRCT y en el HPT2. La presencia del genotipo BB se asocia a HIPOPTF; este genotipo "protegería" del HPT2 en los primeros años del tratamiento dialítico. A mayor tiempo de diálisis el HPT2 es independiente del genotipo. El polimorfismo del RVD en pacientes con IRCT es de utilidad clínica pues identificaría a la población de riesgo y permitiría modificar los factores ambientales para evitar el desarrollo del HPT2.

**CASO CLÍNICO: EL TRATAMIENTO CON ALENDRONATO ORAL NORMALIZÓ LA COLUMNA EN UNA NIÑA CON DERMATOMIOSITIS JUVENIL Y APLASTAMIENTOS VERTEBRALES.**

Tau Cristina<sup>(1)</sup> y Russo Ricardo<sup>(2)</sup>.

Metabolismo Cálculo y Óseo, Endocrinología<sup>(1)</sup> y Reumatología<sup>(2)</sup>, Hospital de Pediatría J.P. Garrahan, Bs. As.

Osteoporosis severa y fracturas son efectos secundarios frecuentes al tratamiento prolongado con corticoides en niños y adultos. Presentamos un caso clínico de una niña con Dermatomiositis Juvenil (DMJ) diagnosticada a los 5 años de edad, momento que inició tratamiento con metilprednisona 2 mg./kg./día, metotrexate 20 mg./semana e hidroxiquina, tratamiento que fue descendiendo en forma paulatina. Consultó a los 11 años de edad por dolor espinal espontáneo, coincidiendo con la tercera recaída de su enfermedad. Al examen físico presentaba síndrome de Cushing, dolor a la palpación espinal dorsal y lumbar, y vasculitis cutánea. Su peso fue de 40.3 kg. (P: 75) y su talla 122.5 cm. (Z-Score -2.44). Por su recaída se indicó metotrexate, vitamina D 2000 UI/día y metilprednisona a altas dosis que fue disminuyendo y fue reemplazada después por deflazacort 30 mg/día. La dosis acumulada de corticoides fue de 24,7 gr. Radiológicamente presentaba osteoporosis severa con múltiples aplastamientos vertebrales: disminución de altura de los cuerpos vertebrales 3ª, 4ª y 5ª lumbares y acunamientos de las 11ª, 12ª dorsales, 1ª y 2ª lumbares. La densidad mineral ósea lumbar (L2-L4, Prodigy, Lunar) fue de 0.36 g./cm. (Z-Score: -5.7). Los datos de laboratorio mostraron niveles séricos de 25-hidroxivitamina D disminuidos (13 ng/ml) y calciuria elevada (4.4 mg/kg/día, v.n.: <4 mg./kg./día). Bajo consentimiento informado de los padres, inició tratamiento con alendronato oral (ALD) 10 mg/día (provisto gentilmente por Laboratorios Elea Argentina) y calcio 500 mg. A los 3 meses de tratamiento el dolor



espinal espontáneo desapareció persistiendo a la palpación. A los 6 meses (11 años y 9 meses de edad) manifestaba franca mejoría, la talla era de 126 cm (Z-Score -2.32), las radiografías de columna mostraban signos de remineralización persistiendo la osteopenia y los acúñamientos vertebrales. Al año de tratamiento (12 años y 3 meses), talla de 127 cm, (Z-Score -2.50), presentó la 4ª recaída de DMJ con aumento de enzimas (LDH 2.166 UI/L, CPK: 14.244 UI/L). Las radiografías mostraban vértebras en remineralización con aumento de alturas de todos los cuerpos vertebrales, persistiendo acúñamientos en 11ª, 12ª dorsales y 1ª lumbar. La DXA mostraba L2-L4: 0.64, Z-Score: -2.6, 78% de aumento de masa ósea lumbar. La 25OHD continuaba en el límite inferior (14 ng/ml) por lo que se aumentó vitamina D 25.000 UI iniciando ALD 70 mg./semana. Ante esta nueva recaída que mostraba signos de severidad (discapacidad funcional grado IV, postración), se suspendió el deflazacort y se recomendó con metilprednisolona 68 mg./día (2mg./kg./día), iniciando gammaglobulina ev a 2 mg./kg./dosis mensual y ciclofosfamida 2 mg./kg./día. La mejoría fue lenta pero sostenida. Por frecuentes episodios de hipercalcemia se debió agregar hidroclorotiazida 25 mg/día durante 4 meses. Durante el 2º año de ALD la talla fue de 135 cm, Z-Score -2.56, su masa ósea lumbar mejoró 8% (L2-L4: 0.69g/cm<sup>2</sup>, Z-Score -3.1), y durante el 3º año de ALD que coincidió con la menarca (14 años y 3 meses), la masa ósea lumbar tuvo un aumento de 25% (L2-L4 0.86 gr/cm<sup>2</sup>, Z-Score -1.9), pero la talla tuvo muy poco progreso: 136 cm (Z-Score -3.35). Las radiografías mostraban remineralización completa de todos los cuerpos vertebrales y la 25OHD se normalizó (27ng/ml). Los disfosfonatos deben usarse con cautela en pediatría, debiendo monitorearse parámetros bioquímicos en forma periódica durante su utilización. Nuestra paciente con Dermatomiositis Juvenil tratada con distintas drogas, que presentó osteoporosis severa y múltiples aplastamientos vertebrales dorsales y lumbares con intenso dolor óseo, estuvo muy beneficiada por la terapia de alendronato oral. Esta importante recuperación de masa ósea ha sido probablemente influida por los cambios hormonales de la pubertad. Aunque la vía endovenosa es considerada más efectiva en osteoporosis severa, este caso muestra que el uso de disfosfonatos orales es una alternativa en el contexto de una enfermedad reumática como la presentada en este trabajo.

### NIVELES DE IGF-1 EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO: ¿JUEGAN UN ROL EN SU DETE-RIORO ÓSEO?

Frigeri Adriana E., Sobrado Patricia G., Ruibal Gabriela F., Servidio Marisa G., Fideleff Hugo L.  
Unidad de Endocrinología, Hospital "Dr. T. Alvarez".  
Buenos Aires, Argentina.

En varias publicaciones, diversos factores han sido asociados con el deterioro esquelético del hiperparatiroidismo primario (HP), con resultados controvertidos; entre dichos factores, se cuenta la deficiencia subclínica de vitamina D. Por otra parte, en trabajos previos de nuestro grupo en pacientes con HP, hemos demostrado un significativo incremento de los niveles de IGF-1 acompañando al logro del euparatiroidismo. Por tales motivos, nos propusimos evaluar las posibles influencias de: niveles de PTH, vitamina D e IGF-1, como así también del tiempo de evolución de la enfermedad (T Ev) y del tiempo transcurrido desde la instalación de la menopausia sobre la densidad mineral ósea (DMO) en el HP. Evaluamos 45 pacientes (38 mujeres, 3 de ellas premenopáusicas) con diagnóstico de HP por incrementos de PTH persistentes e inapropiados para la calcemia en ausencia de causas secundarias, con edades comprendidas entre 20 y 75 años. Se dosaron en suero los parámetros básicos del metabolismo mineral con un autoanalizador, PTH molécula intacta (iPTH) por IQMA, 25 OH vitamina D (25 VD) por RIA e IGF-1 por IRMA (previa extracción alcohol-ácido) la que se expresó en score de desvío standard (IGF-1SDS). Se midió la DMO por DXA en columna lumbar (CL), cuello femoral (CF), triángulo de Wards (W), trocánter (Tro) y cadera (Cad), expresándola en Z score. La evaluación estadística entre la DMO y los parámetros que podrían afectarla se efectuó mediante el test de correlación de Spearman.

**Resultados:** Expresados en mediana (Md) y rango. En las pacientes postmenopáusicas, el tiempo transcurrido desde la instalación de la

menopausia fue de 1 a 32 años (Md: 12 a); los hallazgos en la población entera se muestran en la tabla:

T Ev (meses)	iPTH (pg/ml)	25VD (ng/ml)	IGF-1 SDS	CL Z	CF Z	W Z	Tro Z	Cad Z
14,5	193	17	0,96	-1,2	-0,8	-0,99	-0,7	-0,7
6 a 156	65,2 a 2198	6 a 45	-3,8 a 3,2	-2,93 a 1,3	-3,31 a 1,6	-2,2 a 0,90	-2,38 a 2,30	-2,70 a 1,50

Se halló una discreta correlación significativa sólo entre IGF-1SDS y Z score de: CL: r 0,34 (p < 0,05) y W: r 0,46 (p < 0,04) y se observó una tendencia similar también con Z score de CF: r 0,31 (p = 0,06), no significativa.

**Conclusión:** en nuestra población de pacientes con hiperparatiroidismo primario, la baja masa ósea de raquis lumbar y triángulo de Wards parecería relacionarse más con los niveles séricos de IGF-1 que con los otros parámetros analizados. Esto se vincularía con nuestros previos hallazgos en esta población, en los que observamos incrementos significativos de los niveles de IGF-1 a 6 meses de la cirugía, sugiriendo posibles implicancias de este factor en la remodelación ósea y recuperación densitométrica postquirúrgicas. Con mayor número de pacientes, estos resultados quizás también se observen en la densidad mineral de otras regiones, como el cuello femoral.

### EL DÉFICIT DE 25(OH)D AUMENTARÍA LA FRECUENCIA DE INSULINORRESISTENCIA (IR) EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO (HPP).

Rubin Zulema, Sarli Marcelo, Frigeri Adriana, Galich Ana, Ercolano Mónica, Drnowsek Mónica, Karlsbrum Silvia, Subies Fabiana, Bosoglonian Graciela, Echin Mónica, Maffei Laura y Arduini Gladys. Departamento Fosfocálcico de la S.A.E.M.

**Introducción:** Recientemente se han descrito en el HPP complicaciones no clásicas de enfermedad, entre ellas IR. Esta se acompaña de obesidad central, modificaciones aterogénicas del perfil lipídico, hiperuricemia, hipertensión arterial y disfunción endotelial. Es un predictor de diabetes tipo 2 y aún en individuos sin diabetes se asocia con un mayor riesgo de morbimortalidad de origen cardiovascular. El aumento del calcio citoplasmático, mediado por PTH, comprometería la activación del GLUT-4, indispensable para la captación y transporte intracelular de glucosa en tejidos insulino-dependientes. El déficit de vitamina D, también se asocia con IR y disfunción de la célula β tanto en sujetos normales como en diabéticos tipo 2. En el HPP puede haber asimismo déficit de Vitamina D.

#### Objetivos:

- 1) Evaluar la frecuencia de IR entre nuestros pacientes con HPP.
- 2) Correlacionar IR con niveles de fosfatemia, calcemia y 25(OH) D.
- 3) Correlacionar la severidad del HPP con la IR.

**Pacientes y Métodos:** Estudio prospectivo, abierto, controlado y multicéntrico. Se incluyeron 102 sujetos, 50 pacientes (1/2004 hasta 3/2005) y 52 controles.

**Criterios de inclusión:** Pacientes con HPP esporádico: Calcemias y PTHi elevadas sin causas secundarias.

**Criterios de exclusión:** Pacientes diabéticos o con medicación que modifique el metabolismo hidrocárbónico. Pacientes bajo T4, con TSH inhibida durante los últimos 6 meses.

**Grupo control:** población no diabética apareada por sexo, edad e IMC.

**Laboratorio:** En HPP: calcemia, fosfatemia, creatinemia, uricemia, glucemia, colesterol total y sus fracciones, triglicéridos, PTHi, 25(OH)D (RIA Dia Sorin) e insulínemia (RIA, Herbert y Bleicher modificado). En controles: glucemia, insulínemia, colesterol total y sus fracciones y triglicéridos.



Se definió IR cuando el Homeostasis model assesment (HOMA) fue mayor o igual a 2,5; este se calculó según la fórmula descrita por Matthews y col: glucosa basal mmol/l x insulina basal  $\mu$ UI/ml dividido por 22,5.

**Se registró además:** edad, sexo, peso, talla, IMC y perímetro de cintura (cm).

**Análisis estadístico:** Programa SPSS 10.0. Test de chi cuadrado para variables binarias y t-test para continuas. Para los modelos multivariados, regresión lineal o logística según correspondiera. Significancia:  $p < 0.05$ .

**Resultados:**

- Características antropométricas:

Variable X $\pm$ DS	HPP	Control	P
Sexo Femenino (%)	86	88	NS
Edad (años)	63.1 $\pm$ 12.5	63.0 $\pm$ 19.2	NS
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29.5 $\pm$ 5.7	29.9 $\pm$ 5.6	NS

Tabla 1

- Metabolismo lipídico e hidrogenocarbonato:

Variable X $\pm$ DS	HPP	Control	P
Colesterol total mg/dl	211 $\pm$ 32.8	217 $\pm$ 36.2	NS
HDL mg/dl	58,3 $\pm$ 20.2	48,4 $\pm$ 10.5	NS
LDL mg/dl	131.8 $\pm$ 34.3	143,2 $\pm$ 33.1	NS
Trigliceridemia mg/dl	130,4 $\pm$ 56.3	127,1 $\pm$ 68.9	NS
Glucemia mg/dl	96,3 $\pm$ 12.8	95,2 $\pm$ 9.5	NS
Insulinemia $\mu$ UI/ml	23,86 $\pm$ 21	18,14 $\pm$ 11.6	0,079
HOMA	5,84 $\pm$ 5.5	4,34 $\pm$ 3	0,077

Tabla 2

- Características de los pacientes con HPP :

Parámetro	Media $\pm$ DS
Cintura mujeres (cm)	97,3 $\pm$ 14,9
Cintura hombres (cm)	101,3 $\pm$ 10
Calcemia (mg/dl)	10.8 $\pm$ 1
Fosforemia (mg/dl)	2.8 $\pm$ 0.6
PTHi (pg/ml)	227.1 $\pm$ 321.5
Uricemia (mg/dl)	5.2 $\pm$ 1.7
Creatininemia (mg/dl)	0.9 $\pm$ 0.2
25 (OH) D (ng/ml)	18.7 $\pm$ 8.2

Tabla 3

- La frecuencia de IR entre los HPP fue de 80% mientras que la de los controles fue de 71.9% (chi cuadrado  $p=0,33$ ), no habiendo diferencias estadísticamente significativas. En el modelo multivariado de regresión logística , ajustando por sexo, edad e IMC, la IR se asoció significativamente sólo a IMC (tabla 4).

Variable	OR	IC 95%	p-valor
Hiperparatiroidismo	1,82	0,69-4,77	0,23
Sexo	1,17	0,30-4,46	0,81
Edad	0,97	0,92-1,01	0,15
IMC	1,16	1,04-1,29	0,007

Tabla 4

	Beta	P
25(OH) D	-0,023	0,04
Sexo Femenino	0,04	0,87
Edad	-0,01	0,038
IMC	0,07	< 0,0001

Tabla 5

- La correlación entre vitamina D y HOMA fue débilmente negativa  $R = -0,26$  pero no significativa. ( $p$ -valor 0,97). En el modelo multivariado, aplicando regresión lineal, la asociación fue negativa, y significativa( tabla 5).

- No se encontró asociación entre HOMA y niveles de PTHi, calcemia y fosfatemia.

**Conclusión:**

1) No hubo diferencias significativas de IR entre nuestros pacientes con HPP y los controles, pero la proporción de la misma en los pacientes con HPP fue un 10% mayor que en los controles, por lo que quizás debiera considerarse que en esta falta de significancia podría haber influido el tamaño de la muestra.

2) Se observó una correlación negativa y significativa entre HOMA y niveles de vitamina D.

3) No se constató correlación entre HOMA y otros parámetros del metabolismo fosfocálcico, por lo tanto no habría correlación entre la severidad de HPP y la IR.

**VITAMINA D 100.000 UI EN MARZO Y JUNIO ES SUFICIENTE PARA PREVENIR DEFICIENCIA DURANTE EL INVIERNO EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE USHUAIA, TIERRA DEL FUEGO.**

Tau Cristina C.<sup>(1)</sup>, Ciriani Viviana <sup>(1)</sup>, Scaiola Edith <sup>(2)</sup>  
 Acuña Martha <sup>(2)</sup> y Vázquez Marcela C. <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Metabolismo Cálcico y Óseo, Endocrinología, Hospital de Pediatría J.P. Garrahan, Buenos Aires.

<sup>(2)</sup> Servicio de Pediatría y Laboratorio, Hospital Regional de Ushuaia, Tierra del Fuego.

Con el fin de estudiar la dosis adecuada de doble suplementación en la población infantil en zonas de riesgo y así mejorar el estado nutricional de vitamina D en el sur del país, se midieron niveles séricos de 25 hidroxivitamina D (25OHD) antes, al mes y al final de doble suplementación con 100.000 UI de vitamina D. Bajo consentimiento firmado por los padres, se estudiaron 18 niños sanos de Ushuaia (Tierra del Fuego, Latitud 54°S), edad: 7.3  $\pm$  4.4 años (rango 1.2 a 14.6 años), 7 mujeres y 11 varones. Se realizó una encuesta a cada niño para evaluar talla, peso, color de piel, exposición al sol, ingesta de lácteos, medio socioeconómico y administración previa de vitamina D. Se excluyeron niños con peso y talla por encima de Z-Score 2 ó por debajo de Z-Score -2, ó con alteraciones renales, hepáticas, intestinales ó esqueléticas ó que estuvieran recibiendo anticonvulsivantes ó corticoides. Ocho niños habían recibido una suplementación de 144.000 UI un año antes del estudio y 3 bebés 500 UI/día 2, 5 y 8 meses previos del estudio. En Marzo y Junio 2004, los niños recibieron un suplemento de 100.000 UI de vitamina D (provista gentilmente por Laboratorio Spedrog-Caillon). Se midieron niveles de 25OHD antes de la primera suplementación (Marzo), al mes de la misma para descartar exceso de vitamina D (Abril), y a los 3 meses de la segunda suplementación (Septiembre). El peso (Z-Score, media  $\pm$  DS) de todos los niños fue de 0.25  $\pm$  1.79, y la talla de -0.04  $\pm$  0.77. El promedio de 25OHD de todos los niños antes de la primera suplementación (Marzo) fue de 29.3  $\pm$  5.9 ng/ml. La 25OHD aumentó significativamente un mes después del 1º suplemento (Abril): 35.3  $\pm$  4.4 ng/ml. ( $p < 0.001$ ) y disminuyó significativamente 3 meses después del 2º suplemento (Septiembre): 22.4  $\pm$  4.6 ng/ml. ( $p < 0.001$ ). Ningún niño presentó niveles de deficiencia (< 10 ng/ml) ni de insuficiencia (10-15 ng./ml.) de vitamina D en Marzo, Abril ni Septiembre. En el mes Abril, ningún niño tuvo valores compatibles con intoxicación por vitamina D (> 50 ng/ml.). No hubo diferencia de valores de 25OHD entre niños de piel trigueña ó blanca. La ingesta de Calcio fue menor a la recomendada por la FDA: 770  $\pm$  420 mg./día. Concluimos que la doble suplementación con 100.000 UI de vitamina D en Marzo y Junio, es adecuada y sin riesgo de intoxicación para prevenir deficiencia de vitamin D durante el invierno en zonas de riesgo de nuestro país.

## HIPERPARATIROIDISMO FAMILIAR PRIMARIO ASOCIADO A TUMORES EN MAXILAR.

Fernandez María C., Parisi Muriel S., Bagur Alicia, Oliveri Beatriz. Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, U.B.A.

**Introducción:** El hiperparatiroidismo primario (HPT) puede presentar tumores pardos y, más raramente, se asocia a fibromas osificantes cuando se trata del hiperparatiroidismo familiar asociado a tumor de mandíbula (HPT TM). Los tumores pardos generalmente regresan luego de la paratiroidectomía (PTX). Los casos de HPT TM tienen una presentación clínica muy aguda y agresiva debiendo descartarse un carcinoma de paratiroides. Este síndrome presenta una herencia dominante con predisposición al HPT y a fibromas osificantes en mandíbula o maxilar. Está causado por la mutación de un gen de supresión multitumoral, el HRPT2. Este gen codifica una proteína, la parafibromina, vinculada al desarrollo de tumores en paratiroides y maxilares. En la mayoría de los casos se encuentra un adenoma, pero 10-15% pueden ser carcinomas. Presenta hipercalcemias más severas que las del HPT aislado. Puede asociarse a tumores uterinos, quistes renales bilaterales y tumor de Wilms. El diagnóstico de certeza se realiza aislando la mutación del gen implicado. Los fibromas osificantes del HPT TM no suelen regresar luego de la PTX y si lo hacen, pueden recaer.

**Objetivo:** Presentar un caso de HPT con características clínicas de HPT TM.

**Caso clínico:** Mujer de 39 años consultó por pérdida de peso, dolores óseos generalizados, y tumoraciones en maxilares de 7 meses de evolución. Presentaba 2 tumores en maxilar superior y 2 en maxilar inferior con compromiso de partes blandas causando gran deformidad facial. El mayor de los tumores, ubicado en maxilar superior izquierdo, tenía diagnóstico histológico de granuloma gigantocelular.

El laboratorio reveló hipercalcemia severa (14 mg/dl, vr: 8.9-10.4 mg/dl); hipofosfatemia (1.8 mg/dl, vr: 2.6-4.4 mg/dl); hormona paratiroidea intacta (PTHi) aumentada (935 pg./ml., vr: 10-65 pg./ml.). El centellograma óseo mostró afectación múltiple con hipercaptación en calota, y en las áreas afectadas de maxilar inferior y superior. Las radiografías evidenciaron imágenes líticas en cadera, calota, maxilares y pelvis. Presentaba litiasis en ambos riñones y glándulas paratiroides de estructura alterada por ecografía. Tenía osteopenia severa en esqueleto total (DXA, 0.833 g/cm<sup>2</sup>, T-score: -3.65). La tomografía computada del macizo facial mostró una formación en el lado izquierdo afectando al maxilar superior, que se extendía hacia la línea media e invadía partes blandas del piso de la boca en su porción anterior, provocando grosera osteólisis y comprometiendo al tejido celular subcutáneo. Se interpretó el cuadro como HPT TM.

Se realizó PTX superior derecha cuya histología fue adenoma de células principales. La PTHi 13 días postparatiroidectomía fue normal (50 pg/ml). Clínicamente, a los 2 meses de la PTX, se evidenció regresión de la tumefacción de tejidos blandos y de 3 de los tumores maxilares (incluido el de mayor tamaño). El tumor ubicado en maxilar superior derecho no había variado.

La forma de presentación aguda y agresiva, con importante impacto óseo y metabólico, la falta de regresión de una de las tumoraciones y la referencia de una hermana con similar tumor en el piso de la boca que se negó al estudio, sugirió el diagnóstico de HPT TM como causante del HPT.

Al momento de la presentación de este resumen se encuentra pendiente el diagnóstico genético.

**Conclusión:** Los casos de HPT severo asociados a tumor maxilar deben estudiarse rigurosamente: descartar la presencia de un carcinoma de paratiroides, buscar tumores asociados al HPT TM (riñón, útero) e investigar lesiones o alteraciones del metabolismo mineral en la familia del paciente.

Finalmente, postPTX, es conveniente el seguimiento periódico del paciente para diagnosticar posibles recurrencias.

## DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y VARIABLES BIOQUÍMICAS DEL SISTEMA IGF EN NIÑOS PEQUEÑOS PARA LA EDAD GESTACIONAL.

Silvano Liliana <sup>(1)</sup>, Pérez Adriana <sup>(2)</sup>, Miras Mirta <sup>(1)</sup>, Muñoz Liliana <sup>(1)</sup>, Pretel Esteban <sup>(2)</sup>, Picotto Gabriela <sup>(2)</sup>, Martín Silvia <sup>(1)</sup>, Elías Vanina <sup>(2)</sup>, Sobrero Gabriela <sup>(1)</sup>, De Grandis Susana <sup>(3)</sup>, Armellini Pedro <sup>(3)</sup>, Tolosa de Talamoni Nori <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Hospital de Niños. <sup>(2)</sup> Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, F.C.M., U.N.C. <sup>(3)</sup> Univ. Católica; Córdoba, Argentina.

Los niños pequeños para la edad gestacional (PEG) son aquellos nacidos con un peso o talla inferior a la correspondiente a su edad gestacional. El tamaño corporal está asociado con la densidad mineral ósea (DMO), que a su vez está determinada por factores genéticos y ambientales. El objetivo del trabajo fue determinar la DMO y variables bioquímicas del metabolismo fosfocálcico en niños PEG y su relación con genotipos del receptor de vitamina D (VDR) y de estrógenos (ER). Se estudiaron 72 niños que incluyeron controles, PEG con recuperación postnatal (PEG-CR) y PEG sin recuperación (PEG-SR). Se evaluaron parámetros antropométricos y bioquímicos (calcemia, fosfatemia, PTH, osteocalcina y beta cross-laps por ECLIA, IGF-I y IGFBP3 por IRMA y la subunidad ácido lábil (SAL), por EIA).

A partir de ADN aislado de sangre entera, se determinaron los genotipos del VDR y de ER utilizando las enzimas de restricción Bsm-I y Fok-I (VDR) y Pvu-II y Xba-I (ER). La DMO (Z-score) se analizó en columna lumbar y cuello de fémur con un densitómetro de absorción de rayos X de energía dual (Norland). La DMO de niños PEG-SR fue estadísticamente menor a la de niños PEG-CR y controles ( $p < 0.01$ ). Los niños PEG-SR mostraron valores séricos de IGF-I, IGFBP3 y SAL más bajos con respecto a los controles y a los PEG-CR ( $p < 0.01$ ). La distribución genotípica de los sitios polimórficos de los genes de VDR y ER no mostró diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, en el grupo control se observó una mejor DMO femoral en aquellos niños con genotipo Ff con respecto a los niños FF (Z score: Ff: 0,10 FF: -1,28,  $p < 0,05$ ). En los demás grupos hubo una tendencia de mejor Z score de DMO de cuello femoral en heterocigotas y peor en FF.

**Conclusión:** Los niños PEG-SR presentan variables bioquímicas del sistema IGF que los diferencian de los controles y PEG-CR e inferior DMO tanto en cuello femoral como en columna lumbar. En cuanto a la asociación entre DMO y genotipos de VDR, el genotipo Ff correlaciona con una mejor DMO de fémur en niños controles, e igual tendencia se observó en los grupos PEG-CR y SR.

# BIFOSFONATOS: ¿POR CUÁNTO TIEMPO?

Ariel Sánchez\*

Centro de Endocrinología, Rosario.

## Resumen

Los bifosfonatos se consideran medicamentos seguros y efectivos para el tratamiento de la osteoporosis. Estas drogas se incorporan al hueso y allí permanecen por años. El tiempo de permanencia es mayor para zoledronato, intermedio para alendronato, y más corto para risedronato. En animales de experimentación sometidos a dosis muy altas de estas drogas durante largos períodos, se han detectado alteraciones del tejido óseo llamadas microfisuras, cuyo significado está en discusión; no se han detectado en hueso humano. Han aparecido recientemente informes de "hueso adinámico", con retardo en la consolidación de fracturas, y de osteonecrosis de mandíbula en algunos pacientes tratados crónicamente con bifosfonatos; en casi todos los casos se trataba de pacientes co-tratados con corticoides o citotóxicos por enfermedad maligna. De todas formas estos reportes han obligado a replantear la seguridad y conveniencia de mantener estas drogas por tiempo prolongado en pacientes con osteoporosis, si bien se tienen datos tranquilizadores de algunos estudios de seguimiento a largo plazo (hasta 10 años). Como, por otra parte, se sabe que después de suspender un bifosfonato luego de 5 años de tratamiento continuo los marcadores bioquímicos indican que el recambio óseo se reactiva, pero que la densidad mineral ósea permanece más elevada que al inicio del tratamiento, se está aceptando la idea de que es seguro y prudente interrumpir la administración de los bifosfonatos actualmente en uso para la osteoporosis luego de un lapso prolongado. Las posibilidades terapéuticas a seguir después podrían ser la administración intermitente del bifosfonato, o la indicación de un agente anabólico (teriparatida o estroncio). Estas modalidades deberán ser sometidas a ensayos clínicos para evaluar sus perfiles de seguridad/eficacia y de costo/beneficio.

**Palabras clave:** osteoporosis; tratamiento; bifosfonatos; efectos colaterales; duración.

## Introducción

Los bifosfonatos son drogas seguras y efectivas para el tratamiento de la osteoporosis.<sup>1</sup> Se incorporan al hueso y allí permanecen por largo tiempo: se calcula que la vida media del alendronato es de unos 10 años.<sup>2</sup> El tiempo de residencia ósea es mayor para zoledronato, intermedio para alendronato, y más corto para risedronato. Esa larga vida media hizo surgir el temor de que la acumulación ósea de bifosfonatos luego de tratamientos prolongados produjera una extrema inhibición de la tasa de remodelación -lo que aumentaría el riesgo de fractura- o cambios en las propiedades materiales del hueso, con la misma consecuencia. Además, algunos informes sobre aparición de microfracturas en huesos de animales de experimentación tratados con dosis altas de bifosfonatos, y casuística reciente referida a pacientes con retardo en consolidación de fracturas o con osteonecrosis de la mandíbula han obligado a replantear cuál es la duración prudente del tratamiento de la osteoporosis con estos fármacos.

## Eficacia y seguridad de los bifosfonatos a largo plazo

Recientemente han aparecido trabajos que evaluaron la eficacia y la seguridad de tratamientos crónicos (varios años) con bifosfonatos. La droga mejor estudiada en este sentido es el alendronato. Un número considerable de sujetos participantes en los estudios FIT (*Fracture Intervention Trial*) fueron divididos al azar en subgrupos que o bien continuaban tomando droga activa o seguían con placebo; todos continuaban con suplementación con calcio y vitamina D. El efecto sobre la densidad mineral ósea (DMO) fue el previsible: luego del aumento inicial en los 2-3 primeros años del tratamiento, observable tanto en columna como en

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

cadera, se observó una estabilización o escaso aumento del parámetro. Los marcadores del recambio óseo se mantuvieron inhibidos al mismo nivel que se había obtenido luego de los 2-3 primeros años. Un reporte interino luego de 7 años de seguimiento fue publicado en el 2000.<sup>3</sup> Al año siguiente el mismo grupo publicó un informe sobre la seguridad del alendronato.<sup>4</sup>

Otro estudio de seguimiento de 203 pacientes danesas que habían participado en el FIT, seguidas hasta 7 años luego de la interrupción del alendronato, comprobó que la tasa de pérdida ósea fue comparable a la observada en el grupo testigo -es decir que resultó similar a la pérdida postmenopáusica fisiológica-. Además se vio que si bien los marcadores del recambio tendían a volver a los niveles basales, seguían más bajos aun varios años después de cesar el tratamiento.<sup>5</sup> Un estudio similar fue hecho en los Estados Unidos sobre 1.099 mujeres que habían recibido alendronato durante 5 años en promedio; fueron randomizadas para continuar con placebo (40% del total), o con alendronato 5 mg/día (30%) o 10 mg/día (30%). A los 3 años de seguimiento, la DMO lumbar y femoral de las que continuaron con droga activa se mantuvo 2-3% por encima de la observada en el grupo placebo. Los marcadores aumentaron en las mujeres que abandonaron el alendronato, mientras que permanecieron estables en las que continuaron recibiendo. Una observación interesante es que la DMO de las mujeres que continuaron con placebo se mantuvo más elevada, y la reducción en el recambio óseo fue mayor en ellas que al comienzo del tratamiento (o sea con respecto a los valores basales registrados al comienzo del estudio FIT).<sup>6</sup>

Más recientemente, Bone y col. publicaron sus observaciones a 10 años.<sup>7</sup> Este trabajo se refiere a mujeres postmenopáusicas que, luego de 3 años de alendronato (5 ó 10 mg/día) o placebo, continuaron en una extensión que las randomizaba a:

- a) ningún tratamiento;
- b) igual tratamiento que el de la primera fase;
- c) 20 mg/día de alendronato por 2 años y luego 5 mg/día por otros 3 años, y después 5 años de placebo.

El número de mujeres que participaron en las 4 fases del estudio fue de 247. El efecto acumulativo sobre la DMO en las pacientes tratadas con 10 mg/día fue de 14% en la columna lumbar, 10% en trocánter, 5% en cuello femoral y 7% en fémur proximal total (valores promedio). Los incrementos observados con la dosis de 5 mg/día fueron algo menores. Al interrumpir el alendronato, hubo una pérdida gradual del efecto, a juzgar por los valores

de DMO y de los marcadores de la remodelación; es decir, se vieron efectos residuales claros hasta el 10º año, de modo consistente con la dosis acumulada. Por datos de talla y tasa de fracturas no vertebrales, el tratamiento prolongado no resultó en pérdida de beneficios; así, la proporción de pacientes tratados con 10 mg/día que tuvo fracturas no vertebrales en los años 6º-10º fue similar a la observada en pacientes tratados con cualquiera de las dosis en los 3 primeros años del estudio.

### **Efectos adversos de los bifosfonatos**

Algunos estudios en animales de experimentación han comprobado microfisuras (*microcracks*) en hueso cortical. Se han visto en perros y roedores tratados con dosis muy altas de distintos bifosfonatos (alendronato, risedronato o incadronato, en cantidades 3-6 veces mayores que las usuadas habitualmente en seres humanos). No hay acuerdo sobre el significado de estas lesiones microscópicas; los efectos de las mismas sobre la resistencia ósea en ensayos de fractura han sido variables.<sup>8-10</sup>

Mayor preocupación han causado algunos informes casuísticos de osteonecrosis de la mandíbula en pacientes tratados crónicamente con bifosfonatos. La mayoría de estos casos han sido pacientes oncológicos, que también han recibido otras drogas (incluso corticoides crónicos), y las lesiones se asocian a paraodontosis y procesos infecciosos en boca. Una serie reciente revisó a pacientes tratados durante 2 años o más con pamidronato o zoledronato endovenosos: la frecuencia de osteonecrosis maxilar fue de 5%.<sup>11</sup> Otro informe encontró una incidencia de 6,7%; el riesgo resultó mayor en pacientes que recibieron zoledronato que en los tratados con pamidronato. Los procedimientos odontológicos pueden ser un factor desencadenante.<sup>12</sup> Una reciente revisión aporta los siguientes datos: los pacientes en mayor riesgo son los afectados por mieloma múltiple o por carcinoma metastásico en el esqueleto y que reciben bifosfonatos nitrogenados endovenosos (94% de los casos publicados). La mandíbula resulta comprometida dos veces más frecuentemente que el maxilar superior. Más de la mitad de los casos están precedidos por un procedimiento quirúrgico dental.<sup>13</sup>

Otro informe que resulta un toque de atención sobre la excesiva inhibición del recambio óseo es el de Odvina y col.<sup>14</sup> En 9 pacientes tratados crónicamente -entre 3 y 8 años- con bifosfonatos a dosis usuales, se dieron retardos en la consolidación de fracturas, las que ocurrieron en sitios no habituales. Las biopsias mostraron un hueso hipocelular, adinámico. Esto ilustra prácticamente lo que se

discutía hace ya tiempo como posibilidad teórica: el riesgo de inducir de modo crónico un freno intenso de la remodelación.<sup>15</sup>

## Recomendaciones

Afortunadamente, y como se ha expuesto más arriba, el hueso que ha acumulado bifosfonatos luego de tratamientos crónicos es capaz de remodelarse - si bien a tasas más lentas que las previas al tratamiento- cuando estas drogas se interrumpen.<sup>3-7, 16</sup> Además, hay evidencia de que el hueso tratado con bifosfonatos responde a agentes anabólicos como la hormona paratiroidea, aunque la respuesta está amortiguada.<sup>17, 18</sup>

Un límite prudente al tratamiento crónico con bifosfonatos en mujeres postmenopáusicas, y quizá también en hombres con osteoporosis, sería el de 5 años. Luego estas drogas se pueden interrumpir, asegurando que los pacientes continúen con las

medidas generales indicadas (mantener una dieta equilibrada y ejercicio moderado, tomar suplementos de calcio y de vitamina D, abstenerse del tabaco). Un monitoreo periódico de los marcadores bioquímicos del recambio óseo y de la DMO reaseguraría al paciente y al médico de que los beneficios del tratamiento se mantienen. También existe la posibilidad de mantener el bifosfonato previamente usado, pero con un esquema de administración intermitente (1 mes intercalado con 2-3 meses de descanso, o 1 trimestre al año...)

Si la DMO es todavía muy baja y se considera que hay un alto riesgo de fractura, se pueden indicar otros tratamientos (metabolitos activos de la vitamina D -calcitriol o alfacalcidol-, teriparatida, estroncio, etc.).<sup>19</sup> Estas modalidades deberán ser sometidas a futuros ensayos clínicos para evaluar sus perfiles de seguridad/eficacia y de costo/beneficio.

(Recibido: diciembre de 2005. Aceptado: enero de 2006)

## Referencias

- 1) Rosen HN, Drezner MK. Overview of the management of osteoporosis in women. En: *UpToDate* (Rose BD, editor). Wellesley MA:UpToDate, 2002.
- 2) Khan SA, Kanis JA, Vasikaran S, et al. Elimination and biochemical responses to intravenous alendronate in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1700-7.
- 3) Tonino RP, Meunier PJ, Emkey R, et al. Skeletal benefits of alendronate: 7-year treatment of postmenopausal osteoporotic women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3109-15.
- 4) Tonino RP, Santora A, Ross PD. Safety of long-term alendronate. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1835-6.
- 5) Bagger YZ, Tankó LB, Alexandersen P, Ravn P, Christiansen C. Alendronate has a residual effect on bone mass in postmenopausal Danish women up to 7 years after treatment withdrawal. *Bone* 2003; 33:301-7.
- 6) Ensrud KE, Barrett-Connor AL, Schwartz AC, et al. Randomized trial of alendronate continuation versus discontinuation in women with low BMD: results from the Fracture Intervention Trial Long-Term Extension. *J Bone Miner Res* 2004; 19:1259-69.
- 7) Bone HG, Hosking D, Devogelaer J-P, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004; 350:1189-99.
- 8) Mashiba T, Hirasawa T, Turner CH, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increase microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib. *J Bone Miner Res* 2000; 15:613-20.
- 9) Mashiba T, Turner CH, Hirano T, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles. *Bone* 2001; 28:524-31.
- 10) Komatsubara S, Mori S, Mashiba T, et al. Long-term treatment of incadronate disodium accumulates microdamage but improves the trabecular bone microarchitecture in dog vertebra. *J Bone Miner Res* 2003; 18:512-20.
- 11) Guarneri V, Donati S, Nicolini M, Giovannelli S, D'Amico R, Conte PF. Renal safety and efficacy of i.v. bisphosphonates in patients with skeletal metastases treated for up to 10 years. *Oncologist* 2005; 10:842-8.
- 12) Bamias A, Kastritis E, Bamia C, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *J Clin Oncol* 2005; 23:8580-7.
- 13) Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Systematic review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med* 2006; 144:753-61.
- 14) Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, et al. Severely depressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1294-1301.
- 15) Ott SM. Long-term safety of bisphosphonates (Editorial). *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1897-9.
- 16) Ravn P, Christensen JO, Baumann M, Clemmesen B. Changes in biochemical markers and bone mass after withdrawal of ibandronate treatment: prediction of bone mass changes during treatment. *Bone* 1998; 22:559-64.
- 17) Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, et al. The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2003; 349:1207-15.
- 18) Cosman F, Nieves J, Zion M, et al. Daily and cyclic parathyroid hormone in women receiving alendronate. *N Engl J Med* 2005; 353:566-75.
- 19) Sánchez A. Osteoporosis. En: *Terapéutica Clínica* (Battagliotti C y Greca A, editores). Rosario: Corpus, 2005. Págs. 359-64.



# ELIMINACIÓN Y ACLARAMIENTO DEL PAMIDRONATO POR HEMODIÁLISIS\*

Mirena Buttazzoni, Guillermo J. Rosa Diez, Víctor Jäger, María S. Crucelegui, Salomón L. Algranati y Luisa Plantalech\*\*

Servicios de Endocrinología y Medicina Nuclear (MB, VJ, LP) y de Nefrología (GJRD, MSC, SA) del Hospital Italiano de Buenos Aires, y FME Argentina.

## Resumen

El pamidronato (APD), un bifosfonato de tercera generación, ha demostrado ser útil en pacientes bajo hemodiálisis (HD) con calcificaciones ectópicas e hipercalcemia. Poco se conoce del aclaramiento de los bifosfonatos en los pacientes que se encuentran bajo HD. El principal objetivo fue estudiar la remoción por HD y el aclaramiento del APD. Se admitieron en el estudio un total de 23 adultos (12 varones) anúricos con enfermedad renal en estadio final (EREF) que requerían HD, con una edad promedio de  $61,7 \pm 13$  años (promedio  $\pm$  DE). Se administró en total 1 mg de APD marcado en la fístula arteriovenosa antes del inicio de la HD. Luego se extrajeron muestras de sangre de la salida arterial (pre-dializador) y venosa (post-dializador) del circuito extracorpóreo 2 horas después del inicio de la HD. En un subgrupo de pacientes ( $n=15$ ), se recolectó y cuantificó el dializado durante las 3 horas iniciales de HD. Las concentraciones venosas de APD (post-dializador) fueron  $72 \pm 7\%$  de las concentraciones arteriales (pre-dializador). El aclaramiento promedio de APD fue de  $69,3 \pm 0,72$  mL/min, y la extracción promedio de APD durante la sesión de diálisis fue de  $31,6 \pm 0,67\%$ . En este estudio con pacientes anúricos con EREF que requerían HD, el APD se eliminó exitosamente por HD. Ninguno de los participantes reportó eventos adversos con la dosis administrada. Como el APD es una droga potencialmente útil para ser administrada a pacientes con EREF que requieran HD, el entendimiento de su remoción durante la HD así como también de su aclaramiento mediante diálisis permite un manejo más seguro de esta droga que generalmente se excreta por vía renal.

**Palabras clave:** bifosfonatos; aclaramiento; hemodiálisis; hipercalcemia; pamidronato; insuficiencia renal.

## Introducción

El pamidronato (APD), un bifosfonato (BP) de tercera generación, constituye una herramienta útil para el control de las osteopatías metabólicas que presentan un incremento de la remodelación. El APD inhibe la resorción ósea en enfermedades tales como la osteítis de Paget, el mieloma múltiple y la osteoporosis, y controla la hipercalcemia maligna y la asociada a hiperparatiroidismo.<sup>1,2</sup>

Los bifosfonatos se adhieren selectivamente a los huesos y son excretados por riñón sin ser metabolizados; por esta última razón no están indicados en los pacientes con insuficiencia renal debido al riesgo existente de toxicidad por acumulación.<sup>1</sup> El APD, sin embargo, ha demostrado ser útil en los pacientes bajo hemodiálisis (HD) con calcificaciones ectópicas e hipercalcemia,<sup>3,5</sup> la última asociada a hiperparatiroidismo urémico.<sup>6</sup>

Con excepción del clodronato y el ibandronato,<sup>7,9</sup> poco se conoce sobre el aclaramiento de los BP en los pacientes bajo HD, y en particular del APD (APD CL). El APD se considera una droga potencialmente útil en los pacientes con enfermedad renal de estadio final (EREF) que requieren HD; el principal objetivo de este estudio fue evaluar su remoción y aclaramiento por HD.

## Pacientes

En total, se admitieron en el presente estudio 23 individuos adultos anúricos con EREF que requerían HD (12 varones) con una edad de  $61,7 \pm 13,0$  años (promedio  $\pm$  DE). Los pacientes fueron tratados mediante HD por un período de  $22,7 \pm 47,0$  meses, a través de una fístula arteriovenosa nativa en condiciones óptimas de funcionamiento (recir-

\* Versión castellana del artículo publicado en *Nephrology* 2006; 11: 197-200.

\*\* Dirección postal: Gascón 450, (1814) Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Correo electrónico: luisa.plantalech@hospitalitaliano.org.ar

culación del acceso vascular < 10%). Se excluyeron los individuos con sangrado del tracto gastrointestinal superior, oftalmopatías, enfermedad hepática o insuficiencia cardíaca.

El protocolo fue aprobado por los Comités Institucional y de Ética, y los participantes firmaron el consentimiento antes de su admisión al estudio.

## Materiales y Métodos

**Marcación del APD.** Se realizó la marcación de pamidronato mediante Tecnecio<sup>99m</sup> (6 horas de vida media) utilizando la reducción del ion pertecnetato por cloruro estañoso, obteniendo así un compuesto estable con una eficiencia de marcación mayor a 99%. La dosis de radioactividad total (recuentos) a utilizar fue medida por un contador de pozo (*well-counter*).<sup>10, 11</sup>

**Técnica de Hemodiálisis.** Se utilizó un equipo Fresenius 4008B (Fresenius Medical Care AG, Bad Homburg, Germany) con un dializador Polysulfone F7 HPS Fresenius (Fresenius Medical Care AG) (1,6 m<sup>2</sup> de superficie) para el procedimiento de HD. La tasa efectiva de flujo sanguíneo se estimó en 300 mL/min durante toda la HD, mientras que la tasa de flujo del dializado fue de 500 mL/min. La composición del fluido final de la HD fue (en mmol/L) Ca: 0,75; Na: 139; K: 2,2; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 34; Mg: 0,5; y acetato: 300 μmol/L. La recirculación de acceso vascular se midió durante toda la sesión de diálisis utilizando una técnica de termodilución con un monitor Fresenius de temperatura de la sangre.<sup>12, 13</sup>

**Procedimiento.** En total se inyectó 1mg de APD marcado a través de la fístula arteriovenosa antes del inicio de la HD. Luego se extrajeron muestras de sangre de la salida arterial (pre-dializador) y venosa (post-dializador) del circuito extracorpóreo, 2 horas luego del inicio de la HD. En un subgrupo de pacientes (n: 15), se recolectó y cuantificó el dializado durante las 3 horas de la HD. Luego se midió la radioactividad en las muestras de sangre del pre y post-dializador, y del efluente dializado mediante el método de dilución.

Se utilizó la siguiente fórmula para estimar el aclaramiento del APD y de urea del dializado luego de 2 horas de iniciada la HD:<sup>7</sup>

$$APD\ CL = QS \times CA - (QS - QUF) \times CV/CA$$

Donde:

QS = QB (1-Hto)

QUF = índice de ultrafiltración

CA = droga (recuento) en la salida arterial (predializador)

CV = droga (recuento) en la salida venosa (postdializador)

QB = flujo sanguíneo en el dializador

Se estimó el porcentaje extraído del dializado total en términos de dosis inicial utilizando la siguiente fórmula:

$$(N \text{ recuentos en el dializado/recuentos inyectados}) \times 100$$

\*N = volumen estandarizado

El aclaramiento de pamidronato se comparó con el aclaramiento obtenido del clodronato e ibandronato según se hace referencia en la literatura.<sup>7-9</sup>

**Mediciones Adicionales.** Se extrajeron muestras de sangre a fin de medir los valores de calcio y fosfato total (valores normales en mmol/L 2,2-2,56 y 0,8-1,60, respectivamente; ambos iones medidos por autoanalizador) así como también el de fosfatasa alcalina (vn: 30-120 U/L) y bicarbonato (vn: 22-28 mmol/L). La hormona paratiroidea -molécula intacta- (PTH) se determinó por el método de Nicholson (valores de referencia: 0-65 pg/mL).

**Análisis Estadístico.** Los resultados se expresan en promedios ± EE. La correlación de Pearson se utilizó a fin de evaluar la relación entre variables. Un valor de p < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

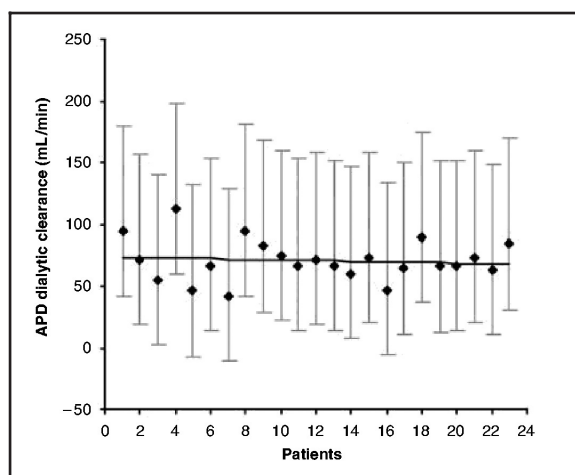
## Resultados

Todos los pacientes completaron el estudio. Los valores basales de calcemia, fosfatemia, PTH intacta, fosfatasa alcalina y bicarbonato fueron de 2,26 ± 0,02 mmol; 1,61 ± 0,02 mmol; 200 ± 16,33 pg/mL; 93 ± 5,82 U/L y 21,9 ± 0,04 mmol, respectivamente.

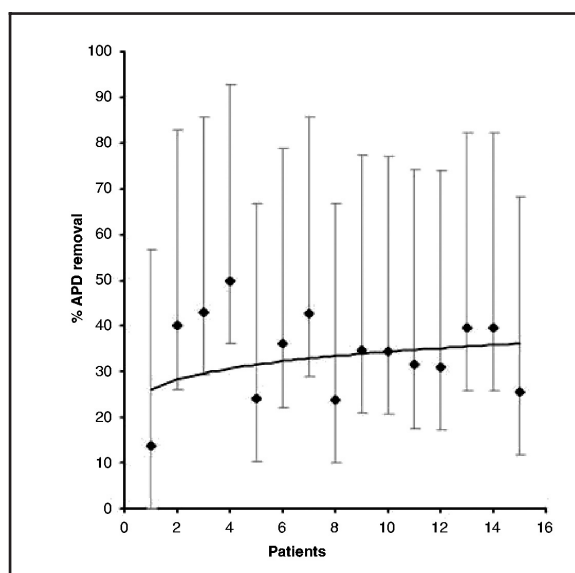
El aclaramiento de la urea fue de 167 ± 1,34 mL/min. La recirculación del acceso vascular fue de 7 ± 2%. Las concentraciones de APD venosa (post-dializador) fueron de 72 ± 7% de las concentraciones arteriales (pre-dializador).

El aclaramiento promedio de APD fue de 69,3 ± 0,72 mL/min (Fig. 1) y el promedio de extracción del APD durante la sesión de diálisis fue de 31,6 ± 0,67% (Fig. 2).

No se reportaron efectos adversos durante el estudio.



**Figura 1:** Aclaramiento del pamidronato (APD) por diálisis, según se determinó en 23 pacientes luego de 2 horas de iniciada la hemodiálisis.



**Figura 2:** Remoción del pamidronato (APD) expresada proporcionalmente (%) a la dosis infundida en 15 pacientes bajo hemodiálisis.

## Discusión

En el presente estudio, el APD fue eliminado exitosamente mediante HD en pacientes anúricos con EREF que requerían HD.

No se observaron eventos adversos en el procedimiento con la dosis de APD administrada. Los pacientes fueron dializados con idénticos parámetros dialíticos (tasa de flujo sanguíneo y de dializado, recirculación con fístula arteriovenosa y dializador) y se descartaron las variaciones individuales en las mediciones.

El pamidronato es un aminobifosfonato que puede ser administrado tanto por vía oral como intravenosa.<sup>1, 14</sup> La unión del APD a las proteínas trans-

portadoras (albúmina y transferrina) depende de la concentración de calcio en plasma y del pH de la sangre, siendo mayor en condiciones tales como la alcalosis y la hipercalcemia.<sup>15</sup> En individuos con función renal normal, el APD se aclara rápidamente del plasma dentro de las 2 horas luego de una única administración por vía intravenosa. El APD es captado por el hueso y eliminado por vía renal en ese período de tiempo.<sup>16-18</sup> Se ha descrito recientemente una distribución transitoria y dosis-dependiente de los bifosfonatos en los tejidos blandos -principalmente bazo e hígado- que es mínima, siendo la excreción renal la principal ruta de eliminación del APD y el hueso el tejido que lo retiene.<sup>16-18</sup> En pacientes con enfermedades óseas metabólicas pero función renal normal, la captación del APD por el esqueleto es del 47-82% y depende fuertemente del recambio óseo y la función renal.<sup>16-18</sup>

Los datos del APD CL obtenidos por diálisis en el presente estudio ( $69,3 \pm 0,72$  mL/min) fueron similares a los comunicados en estudios de pacientes con enfermedad ósea y función renal normal<sup>16-18</sup> pero menor que el aclaramiento de urea. El APD es una molécula de bajo peso molecular (290 D) similar a la urea. Una mayor unión del APD a las proteínas no explicaría el menor aclaramiento debido a la leve acidosis metabólica pre-diálisis que presentaron los participantes, la que induce una menor afinidad del APD a las proteínas transportadoras. Esta diferencia se adscribe a la captación esquelética del APD.

Los presentes resultados del aclaramiento de APD fueron menores que los informados para otros BPs, tales como el clodronato y el ibandronato, también estudiados en pacientes con EREF.<sup>7-9</sup> Estas diferencias se explican por la diferentes metodología utilizada en esos estudios (cromatografía líquida de alta resolución).

El APD infundido fue recuperado en el dializado en baja proporción (31,6%), siendo el restante (68,4%) capturado por los huesos. Estos datos son similares a los comunicados en los pacientes con enfermedades óseas y función renal normal. La población estudiada presenta un grado leve-moderado de hiperparatiroidismo secundario y moderada remodelación ósea que justifica el atrapamiento del APD en los huesos. No se observó correlación entre la tasa de recambio óseo y la captación calculada de APD en el esqueleto, que se adscribe a la baja sensibilidad de la fosfatasa alcalina como marcador de recambio óseo y/o al pequeño tamaño de la muestra.

Como ya se ha informado para otros bifosfonatos, la administración de APD inmediatamente antes

de la HD es segura.<sup>7,8</sup> Considerando que el aclaramiento dialítico es similar al aclaramiento renal normal y que la duración de la sesión de diálisis es equivalente al período de eliminación del APD en sujetos con suficiencia renal, el presente experimento simuló una situación fisiológica.

**En resumen:** El APD es una terapéutica útil en enfermedades óseas metabólicas y una herramienta en pacientes con EREF que requieren HD. El conocimiento de su aclaración dialítica y remoción permite un manejo más seguro de la droga que es eliminada por excreción renal. Se requieren estudios adicionales para confirmar los resultados obtenidos en el presente trabajo.

## Reconocimientos

Los autores desean agradecer al Dr. Emilio Roldán (Gador S.A., Argentina) por suministrar el BP APD para realizar este estudio, y a los Dres. Ricardo Heguilén (Hospital Fernández) y Jorge Ferraris (Hospital Italiano de Buenos Aires) por la lectura crítica del manuscrito.

(Recibido: junio de 2006. Aceptado: julio de 2006)

## Referencias

- 1) Fitton A, McTavish D. Pamidronate. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in resorptive bone disease. *Drugs* 1991; 41: 289-318.
- 2) Schmidli RS, Wilson I, Espiner EA, Richards AM, Donald RA. Aminopropylidene diphosphonate (APD) in mild primary hyperparathyroidism: Effect on clinical status. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990; 32: 293-300.
- 3) Christidou P, Bamichas G, Stangou M, Natse T, Kalpakidis V, Sombolos K. Tumoral calcinosis inducing systemic inflammatory response in a hemodialysis patient. *Nephron* 2002; 92: 497-8.
- 4) Phanish MK, Kallarackal G, Ravanan R, Lawson TM, Baboolal K. Tumoral calcinosis associated with pyrexia and systemic inflammatory response in a haemodialysis patient: Successful treatment using intravenous pamidronate. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1691-3.
- 5) Davenport A, Goel S, Mackenzie JC. Treatment of hypercalcaemia with pamidronate in patients with end stage renal failure. *Scand J Urol Nephrol* 1993; 27: 447-51.
- 6) Torregrosa JV, Moreno A, Mas M, Ybarra J, Fuster D. Usefulness of pamidronate in severe secondary hyperparathyroidism in patients undergoing hemodialysis. *Kidney Int* 2003; 85(Suppl): S88-90.
- 7) Ala-Houhala I, Saha H, Liukko-Sipi S, Ylitalo P, Pasternack A. Pharmacokinetics of clodronate in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 699-705.
- 8) Beigel AE, Rienhoff E, Olbricht CJ. Removal of clodronate by haemodialysis in end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2266-8.
- 9) Bergner R, Dill K, Boerner D, Uppenkamp M. Elimination of intravenously administered ibandronate in patients on haemodialysis: A monocentre open study. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1281-5.
- 10) Subramanian G, McAfee JG, Blair RJ, Kallfelz FA, Thomas FD. Technetium-99m-methylene diphosphonate - A superior agent for skeletal imaging: Comparison with other technetium complexes. *J Nucl Med* 1975; 16: 744-55.
- 11) Deutsch E, Libson K, Vanderheyden JV, Ketring AR, Maxon HR. The chemistry of rhenium and technetium as related to the use of isotopes of these elements in therapeutic and diagnostic nuclear medicine. *Int J Rad Appl Instrum B* 1986; 13: 465-77.
- 12) Schneditz D, Kaufman AM, Levin N. Surveillance of access function by the blood temperature monitor. *Semin Dial* 2003; 16: 483-7.
- 13) Wang E, Schneditz D, Kaufman AM, Levin NW. Sensitivity and specificity of the thermodilution technique in detection of access recirculation. *Nephron* 2000; 85: 134-41.
- 14) Twiss IM, Burggraaf J, Schoemaker RC, et al. The sugar absorption test in the evaluation of the gastrointestinal intolerance to bisphosphonates: Studies with oral pamidronate. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 431-7.
- 15) Daley-Yates PT, Cal JC, Cockshott A, Pongchaidecha M, Gilchrist K. Plasma protein binding of APD: Role of calcium and transferrin. *Chem Biol Interact* 1992; 81: 79-89.
- 16) Leyvraz S, Hess U, Flesch G, et al. Pharmacokinetics of pamidronate in patients with bone metastases. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 788-92.
- 17) Daley-Yates PT, Dodwell DJ, Pongchaidecha M, Coleman RE, Howell A. The clearance and bioavailability of pamidronate in patients with breast cancer and bone metastases. *Calcif Tissue Int* 1991; 49: 433-5.
- 18) Berenson JR, Rosen L, Vescio R, et al. Pharmacokinetics of pamidronate disodium in patients with cancer with normal or impaired renal function. *J Clin Pharmacol* 1997; 37: 285-90.



# EVALUACIÓN EXPERIMENTAL DE BIFOSFONATOS: ASPECTOS BÁSICOS Y REGULATORIOS

Nélida Mondelo\*

Investigación y Desarrollo, Gador S.A.

## Resumen

La evaluación experimental de los bifosfonatos ha sido -y sigue siéndolo- muy prolífica en modelos animales e *in vitro* para la generación de evidencias que sustenten el uso terapéutico de los mismos en distintas situaciones clínicas, bajo distintas vías o regímenes de administración, y para el conocimiento de su mecanismo de acción.

Las autoridades sanitarias, aun en el caso de drogas que, como los bifosfonatos, poseen una alta selectividad de acción, requieren estudios de farmacología de seguridad y toxicológicos convencionales (agudos, de larga duración y en condiciones especiales) para definir efectos sobre sistemas esquelético y no esqueléticos, estimar dosis humanas equivalentes seguras, identificar parámetros de monitorización y proveer márgenes de seguridad durante las distintas etapas de investigación clínica.

Destacando las diferencias entre lo básico y lo regulatorio, el artículo ofrecerá un panorama general de:

- Los aspectos mecanicísticos tales como los relacionados con la inhibición de la farnesil pirofosfato sintetasa.
- Los efectos farmacodinámicos de los bifosfonatos en distintos modelos de osteopenia generalizada o localizada (deprivación estrogénica, inducida por fármacos u otras drogas, mediada por PTHrp de origen tumoral, enfermedad periodontal, metástasis ósea, osteólisis peri-implantes, entre otros) y las herramientas necesarias para su evaluación (densitométricas, histomorfométricas, biomecánicas, bioquímicas, etc.)
- Las evidencias surgidas de los estudios de toxicología general o específicos con relevancia clínica

y la importancia de las buenas prácticas de laboratorio durante su realización.

- Los potenciales nuevos usos (incluyendo extra-esqueléticos) y diferentes formas de liberación (liposomas, conjugados y localizadas).

**Palabras clave:** bifosfonatos, modelos experimentales, olpadronato.

## *Experimental Evaluation of Bisphosphonates: Basic and Regulatory Aspects*

**Summary.** *Pharmacodynamic evaluation of bisphosphonates has been -and still is- highly prolific in animals and in vitro models to generate evidences that give support to their therapeutic use in different clinical situations under different administration routes or schedules and, also, to explain their mechanisms of action.*

*As part of the requirements of health authorities, and even in the case of drugs like bisphosphonates which have highly specific actions, safety pharmacology and conventional toxicological studies (acute toxicity, repeated-dose studies and special toxicity studies) are necessary for the preliminary identification of skeletal and non-skeletal target organs of toxicity, for the estimation of safe human-equivalent doses, and to identify monitoring parameters during different stages of clinical investigation.*

*Highlighting the differences between basic and regulatory aspects, this article will provide a general review of the following issues:*

- *Mechanistic pathways such as the ones related to the inhibition of farnesyl-pyrophosphate synthase.*
- *Pharmacodynamic effects in different models of generalized or localized osteopenias (estrogenic*

\* Dirección postal: Crámer 2462, C1428CTN. Buenos Aires. Correo electrónico: nmondelo@gador.com.ar

*depletion, drug-induced, associated to PTHrP-producing tumors, periodontitis, peri-implant osteolysis, among others), and the necessary tools: bone densitometry, histomorphometry, biomechanics, clinical chemistry, etc.*

- *Evidence arising from conventional toxicology or safety pharmacology studies and the importance of their conduction under good laboratory practice standards.*
- *Potential new uses (including non-skeletal uses) and different delivery systems (liposomes, conjugates, local administration).*

**Key words:** *bisphosphonates, experimental models, olpadronate.*

## 1. Introducción

La serie de experimentos que dio origen a los bifosfonatos (BPs) como familia de compuestos osteoactivos es ya parte de la historia de la terapéutica ósea. Dichos experimentos se inspiraron en las evidencias de la acción del pirofosfato sobre la homeostasis cálcica y su extrema labilidad ante las pirofosfatasas intestinales y renales, lo cual le restaba posibilidades terapéuticas. La búsqueda de derivados biológicamente más estables, el posterior diseño de los bifosfonatos con un carbono en lugar del oxígeno central del pirofosfato y los artículos publicados a fines de la década de 1960, en *Nature* y *Science*, iniciaron toda una época, que desde hace más de 30 años nos enriquece continuamente con nuevos modelos experimentales, mejores conocimientos de modos de acción y nuevas oportunidades de uso clínico.<sup>1,2</sup>

Hoy contamos con derivados de aquellas estructuras originales (NoN-BPs), y con otros, más potentes, con nitrógeno en una de sus cadenas laterales, lineal o cíclica (N-BPs), para administración oral o intravenosa, presentados en formas farmacéuticas líquidas o sólidas, de uso continuo o cíclico y para un importante número de patologías óseas que incluyen las complicaciones de las neoplasias malignas. Mientras tanto, se espera reunir más evidencia experimental y clínica para otras formas menos convencionales de administración, otros esquemas, combinaciones y otros usos, tal vez extra-esqueléticos.

La evaluación no-clínica (experimental) de los bifosfonatos ha estado presente desde sus orígenes y en cada una de las etapas de su evolución. Los ensayos *in vitro* permitieron reconocer su mecanismo de acción celular/molecular y, actualmente, intentan explicar acciones antitumorales, inmunomoduladoras, antiparasitarias, la contribución de células no-osteoclásticas a su eficacia global, y también sus efectos no deseados. La evaluación farma-

codinámica constituye el soporte más apropiado para los estudios de eficacia clínicos, y si la especie animal, la vía de administración, el esquema, la dosis y el modelo son adecuados, la extrapolación al humano puede ser muy directa. La farmacocinética experimental otorga relevancia a aquellas especies en las que un bifosfonato se absorbe, distribuye y excreta de manera similar a la encontrada en el hombre, y es una herramienta de investigación esencial durante la búsqueda de derivados más biodisponibles, con diferente grado de afinidad y retención esquelética o acumulación en tejidos blandos, para el estudio de interacciones con otras drogas o nutrientes y para la detección de potenciales órganos de toxicidad. Y finalmente, la toxicología experimental, con un gran peso regulatorio y cuyo objetivo máximo es la caracterización del perfil toxicológico y su reversibilidad, el establecimiento de la relación entre dosis y tipo de exposición, la estimación de las dosis seguras y los parámetros de monitoreo clínico para "la primera vez en humanos" y luego, para cada una de las siguientes etapas de investigación clínica.

Este artículo, que no intenta ser exhaustivo, recorrerá distintos modelos experimentales: los que establecieron un antes y un después, los más relevantes para la autoridad sanitaria y también aquellos inesperados o promisorios que contribuyeron, en distintas épocas y en distintas regiones, incluyendo nuestro país, al conocimiento del mecanismo de acción, al establecimiento de nuevos candidatos, más potentes o más seguros, de nuevas indicaciones terapéuticas, nuevos esquemas y formas de administración y, reconociendo diferencias y debilidades, seguramente permitirán, en el futuro, nuevas revelaciones.

## 2. La evaluación experimental del mecanismo de acción de los bifosfonatos y modelos de aplicación: un aspecto básico

### 2.1 El modo fisicoquímico de acción: su relación con la odontología y el diagnóstico por imágenes

El comportamiento fisicoquímico de los bifosfonatos, gracias a una interesante conexión suizo-norteamericana, justificó su primer uso en humanos en el campo de la odontología y del diagnóstico por imágenes.<sup>3</sup>

Por su afinidad a la hidroxiapatita y la posibilidad de generar radiofármacos transportadores de <sup>99m</sup>Tc al hueso, con alta eficiencia de marcación, prácticamente inauguraron una nueva era en el diagnóstico por imágenes del esqueleto.<sup>4</sup> Por su comportamiento dual al adsorberse a la hidroxiapatita, disminuyendo su solubilidad y afectando la etapa de

nucleación y formación del cristal, previenen la formación de cálculos dentales sin afectar el esmalte. Recientemente, se ha empleado un modelo modernizado de rata alimentada con una dieta calculogénica, empleando técnicas difractométricas para estudio cristalino, para evaluar un nuevo bifosfonato para esta antigua indicación.<sup>2, 3, 5</sup>

## 2.2 El modo celular/molecular de acción de los bifosfonatos

### 2.2.1 En el osteoclasto

Células con actividad macrofágica permitieron distinguir entre NoN-BPs y N-BPs. Los primeros, confundiendo al mecanismo enzimático celular que conduce a la síntesis de ATP formando un análogo tóxico: el adenosin 5'-(beta, gamma-diclorometileno) trifosfato, no hidrolizable, cuya acumulación citosólica provoca la muerte celular; y los segundos, inhibiendo a la farnesil pirofosfato sintetasa (FPPS).<sup>6, 7</sup> Luego de varios intentos con otros sistemas enzimáticos, los grupos de M. Rogers en Gran Bretaña y S. Papapoulos en Holanda, casi simultáneamente y con elegantes experimentos con macrófagos J744 y FPPS aislada, pudieron demostrar la correlación entre esta inhibición enzimática -que impide la formación de intermediarios isoprenoides tales como farnesil pirofosfato y geranyl geranyl pirofosfato-, la inhibición de la isoprenilación post-translacional de las pequeñas trifosfatasas de guanosina (GTPasas), los cambios morfológicos del osteoclasto y la actividad antiresortiva *in vivo e in vitro* (Tabla 1).<sup>7-12</sup> El osteoclasto, con grandes posibilidades de elevar

localmente la concentración del bifosfonato por resorción de la hidroxiapatita, casi como un acto suicida y por un proceso de pinocitosis en fase fluida, permitirá su ingreso al interior celular tras lo cual se inhibirá la activación de las pequeñas GTPasas (Rho, Rac, CDc42, RhoA, Rab y Ras, entre otras).<sup>9, 13</sup> De esta forma se pierde el borde rugoso, se impide la formación de anillos de actina y la reorganización del esqueleto, se afecta el tránsito vesicular y la transición de la matriz ósea degradada y puede ocurrir apoptosis.<sup>9</sup> Distintos autores, incluyendo a Mandalunis y col. en Buenos Aires, con inhibidores de caspasas o estudios histológicos sobre tibias de ratas, sugieren que la inhibición de la resorción ósea es independiente de la apoptosis osteoclastica (y ocurre con dosis o concentraciones menores).<sup>14, 15</sup>

### 2.2.2 En otras células del esqueleto

Distintas evidencias *in vitro* tales como la liberación de osteocalcina, aumento de la actividad de fosfatasa alcalina y la expresión aumentada de genes para BMP-2, colágeno tipo I y osteocalcina, e inhibición del efecto apoptótico de glucocorticoides sugieren la acción de algunos bifosfonatos sobre osteoblastos y osteocitos (R. Boland, T. Bellido y col., en Argentina y Estados Unidos, entre otros), disociando en algunos casos (lidronato, por ejemplo) el efecto pro-apoptótico sobre osteoclastos del efecto anti-apoptótico sobre estas células. Otros autores reportaron similar efecto inhibitorio de bifosfonatos sobre la apoptosis de condrocitos bovinos inducida por dexametasona.<sup>16-18</sup>

Bifosfonato	Inhibición de FPPS ( $\mu\text{M}$ ) CI 50	Actividad antiresortiva ósea	
		In vitro Liberación de $^{45}\text{Ca}$ (nM) CI 50	In vivo Modelo del retinoide DI 50, iv
<b>No N-BP</b>			
Clodronato	100 (0% de inhibición)	---	---
<b>N-BP</b>			
Pamidronato	27,50 $\pm$ 2,80	5	*
Aminopamidronato	---	30	---
Olpadronato	3,25 $\pm$ 0,60	0,5	0,022 mg/kg
Amino-olpadronato (lidronato)	100 (0% de inhibición)	>>100	> 12,5 mg/kg

**Tabla 1:** Inhibición de FPPS y actividad antiresortiva ósea.

Concentración inhibitoria 50 (CI 50, promedio  $\pm$  error estándar) de FPPS aislada de cerebro bovino (van Beek E et al.<sup>11</sup>) y en 2 modelos asociados a potencia antiresortiva ósea: inhibición de liberación de  $^{45}\text{Ca}$  de explantos óseos *in vitro* (van Beek E et al.<sup>11</sup>) y modelo del retinoide en ratas tiroparatiroidectomizadas (adaptado de Trechsel U et al.<sup>12</sup>; datos en archivo, Gador SA).

\* En experimento no simultáneo, pamidronato presentó una DI 50 = 0,5 mg/kg.

### 2.2.3 Mas allá del esqueleto: los linfocitos T gamma-delta, los parásitos y las células tumorales

Inicialmente con pamidronato y *a posteriori* con alendronato e ibandronato (pero no con NoN-BPs), se demostró la activación y expansión selectiva de linfocitos T gamma-delta en cultivos de células mononucleares de sangre periférica de humanos sanos.<sup>19</sup> Por el importante rol que se atribuye a este tipo celular en inmunoterapia como primera línea de defensa frente a diferentes formas de cáncer y enfermedades infecciosas, este hallazgo generó gran interés y, finalmente el asombro, tras la demostración de la excelente correlación entre la potencia activadora de los linfocitos T gamma-delta que expresan el receptor Vgamma 9Vdelta2 con la potencia inhibitoria de la enzima FPSS recombinante humana ( $R = 0,88$ ;  $p = 0,002$ ; con 9 derivados) o con la misma enzima expresada por *Leishmania major* ( $R = 0,82$ ;  $p < 0,0001$ ; 45 compuestos) y, en consecuencia, con la potencia antiresortiva ósea.<sup>20</sup> Un ejemplo muy ilustrativo surge de la comparación de concentraciones efectivas (CE) de olpadronato, alendronato y lidadronato en este sistema (CE50: 46, 53 y 371  $\mu\text{M}$ ) y las dosis inhibitorias (DI) de la hipercalcemia en el modelo del retinoide (DI 50: 0,022; 0,011 y  $>12,5$  mg/kg, respectivamente), la actividad inhibitoria de la FPSS indicada en **Tabla 1** y el efecto en el modelo de rata ovariectomizada que se detalla en **Tabla 2**.<sup>20</sup>

Y siempre ligado a su mecanismo más íntimo de acción sobre la FPSS, una enzima que ha mantenido un alto nivel de conservación durante el proceso evolutivo, varios organismos microscópicos resultan blanco de acción de los bifosfonatos. Todo comenzó con la curiosa correlación entre potencia antiresortiva e inhibición del crecimiento *in vitro* de *Dictyostelium discoideum* y se reflejó en los últimos años, con el trabajo pionero de Docampo y colaboradores, tras publicar los resultados antiproliferativos de pamidronato sobre amastigotes de *T. cruzi* intracelulares y sobre la parasitemia en un modelo murino de Chagas agudo. Hasta la fecha, varios otros microorganismos con relevancia patológica, otros blancos moleculares y nuevos productos de diseño están siendo investigados con este enfoque.<sup>21-24</sup>

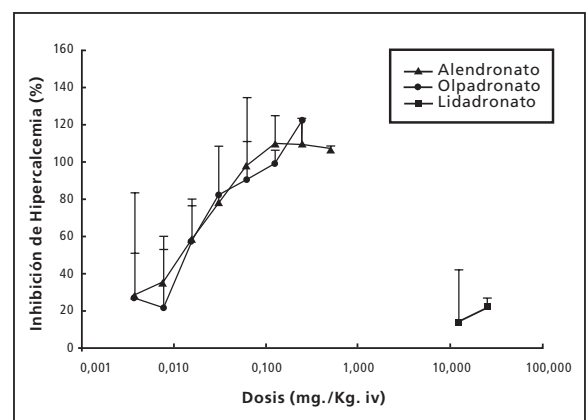
Varios bifosfonatos, en cultivos de distintas líneas celulares tumorales -mama, próstata, mieloma múltiple, para citar las más populares- inhiben su proliferación o inducen apoptosis, en forma aislada o ejerciendo un efecto sinérgico con terapias antineoplásicas específicas.<sup>25-27</sup>

## 2.3 Modelos farmacodinámicos *in vivo*

Tal como adelantara en la introducción, la farmacodinamia experimental proporcionará la racionalidad y brindará soporte a los diferentes estudios clínicos de eficacia, que finalmente permitirán a la autoridad sanitaria tomar la decisión final de "aceptabilidad" de un nuevo derivado o una nueva indicación y a los futuros investigadores, "validar" la adecuabilidad de tales modelos.

### 2.3.1 Inhibición de la resorción ósea inducida por retinoides

Los retinoides, derivados de la vitamina A, son un potente estímulo para la resorción ósea osteoclástica y en tan sólo 4 días reflejan esta propiedad con una marcada hipercalcemia en ratas tiroparatiroidectomizadas (TPTX). El "modelo del retinoide" desarrollado por H. Fleisch y col. hace casi 20 años es, tal vez, de los pocos modelos experimentales *in vivo* que en el corto plazo permiten estimar y relacionar potencia antiresortiva ósea de una serie de diferentes bifosfonatos (**Figura 1**), con una buena capacidad cualitativa-predictiva.<sup>12</sup>



**Figura 1: Prevención de la hipercalcemia inducida por retinoide en ratas TPTX.**

Prevención de la hipercalcemia inducida por retinoide Ro-136298 -donación Hoffmann-La Roche- subcutáneo en ratas TPTX (n: 2-7/grupo) con dosis únicas intravenosas de tres N-BPs según modelo adaptado de U. Trechsel y col.<sup>12</sup>

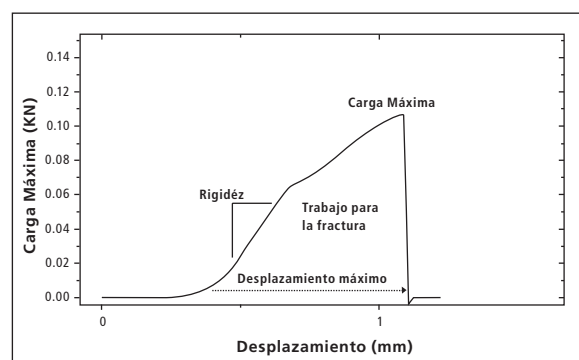
### 2.3.2 Modelo preventivo de la pérdida ósea en la rata ovariectomizada

Es muy bien conocido el efecto deletéreo de la deprivación estrogénica sobre el hueso trabecular y compacto en el humano y en otras especies animales como ratas, ovejas, primates no humanos. Por su disponibilidad, fácil manejo, costo, factibilidad



de empleo de un número estadísticamente apropiado de animales, facilidad para obtener fluidos biológicos y el reconocimiento por parte de las autoridades regulatorias, la rata ovariectomizada ha sido y es el animal más popular cuando se trata de mimetizar a la post-menopausia humana. Los bifosfonatos, con diferente grado de potencia y eficacia, previenen la pérdida de masa/densidad mineral ósea en este modelo de alto recambio. Ya que hay evidencias que indicarían que estos cambios sólo explican parcialmente la resistencia ósea, y además existe el temor de que un incremento exagerado de masa ósea, no acompañado por una mejoría en la arquitectura del hueso, pueda afectar la calidad del mismo, mientras las nuevas tecnologías no permitan evaluar confiablemente la calidad del hueso humano, la autoridad regulatoria se apoya en resultados experimentales como aproximación más temprana.<sup>28</sup> Sólo en animales o en material cadavérico se admiten las técnicas destructivas de análisis como el ensayo de flexión en 3 puntos o la resistencia a la compresión del cuerpo vertebral, mediante equipos de análisis universal de materiales y *softwares* específicos.

Se trata, básicamente, de cuantificar parámetros estructurales tales como resistencia ósea a la fractura (carga máxima o carga a la fractura), la rigidez (pendiente de la curva carga-desplazamiento), el grado de "desplazamiento" y la cantidad de trabajo (área bajo la curva) hasta la fractura final o hasta el punto de inflexión que señala el pasaje entre la fase elástica -con cambios reversibles- y plástica -microfracturas irreversibles- del hueso (Figura 2).

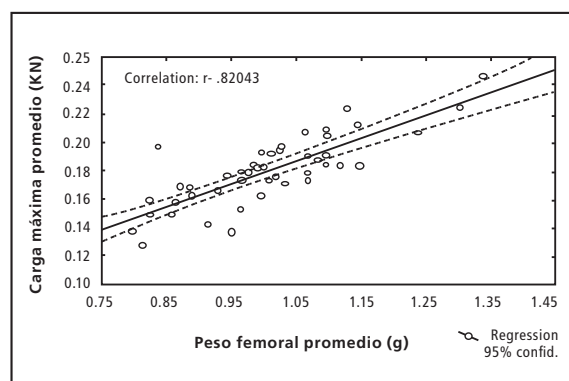


**Figura 2:** Ensayo de flexión femoral de 3 puntos: curva típica de carga-desplazamiento

Curva típica de carga-desplazamiento en un ensayo de flexión de 3 puntos en diáfisis femoral de rata (equipo Instron 4411, 11 mm de distancia entre apoyos, 2 mm/segundo de velocidad de cruceta). Los parámetros biomecánicos estructurales básicos se describen en el texto.

La Figura 3 muestra la relación directa entre el valor de carga máxima en región diafisaria, un parámetro estructural del hueso como un todo y el

peso femoral (relacionado a su vez con el peso del animal). Al normalizar los resultados considerando tamaño, forma y distribución ósea en la pieza en estudio, mediante fórmulas de ingeniería que incluyen al momento de inercia seccional (flexión de diáfisis femoral) o al área (compresión de cuerpo vertebral) podrá determinarse la calidad intrínseca del material óseo (Tabla 2).<sup>29</sup>



**Figura 3:** Correlación entre carga máxima (diáfisis) y peso de fémur de rata en ensayo de flexión de 3 puntos

Correlación de carga máxima (diáfisis central) y peso de fémur de ratas macho de aproximadamente 8 meses de edad (fémures de estudio no relacionado con bifosfonatos, Cardinali y col.; datos en archivo, Gador SA).

La Tabla 2 refleja la diferente respuesta densitométrica del hueso cortical -central- y trabecular -distal- de la rata frente a los estímulos deletéreos (ovariectomía) y beneficiosos (alendronato y olpadronato). Los cambios densitométricos y de los parámetros biomecánicos estructurales que, aun sin significación estadística, sugieren una tendencia de deterioro/protección o falta de efecto en diáfisis femoral según el grupo experimental, se manifiestan sin embargo, significativamente, cuando se considera el estrés máximo, un parámetro indicativo de calidad del material óseo constitutivo.

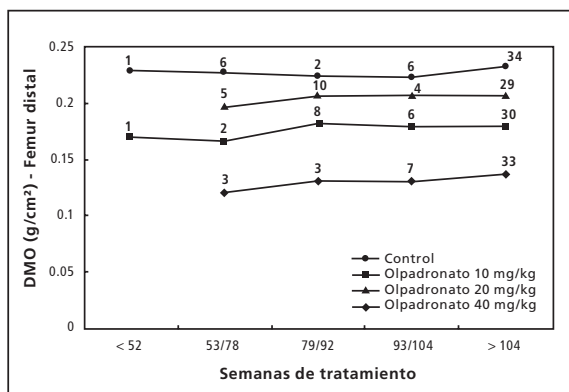
Grupo	DMO en fémur (g/cm <sup>2</sup> )		Carga máxima (kN)	Trabajo hasta fractura (mJ)	Stress máximo (MPa)
	Distal	Central			
SHAM	0,265 ± 0,042*	0,206 ± 0,042	96,0 ± 6,8	43 ± 5	94,0 ± 6,2*
OVX	0,206 ± 0,041**	0,200 ± 0,030	92,0 ± 3,2	37 ± 4	86,2 ± 5,1**
Olpadronato	0,294 ± 0,036*	0,222 ± 0,020	103,6 ± 5,4**/**	51 ± 8*	99,6 ± 5,1*
Alendronato	0,274 ± 0,034*	0,223 ± 0,029	105,3 ± 5,4**/**	50 ± 6*	98,2 ± 3,7*
Lidaronato	0,204 ± 0,032**	0,187 ± 0,024	89,5 ± 6,0	37 ± 9**	85,9 ± 5,5**

**Tabla 2.** Densidad mineral ósea (DMO, DXA) de fémur central y distal y parámetros biomecánicos estructurales (ensayo de flexión femoral de 3 puntos) en ratas, 16 semanas luego de la ovariectomía. N: 10/grupo. Los valores representan promedios ± desvío estándar. Los N-BPs (6, 3 y 10 mg/kg para olpadronato, alendronato y lidaronato, respectivamente) se administraron por vía oral, 1 vez por semana, a partir de la cirugía. El momento de inercia de la sección de fractura se estimó mediante análisis de imágenes (Optimas) sobre corte transversal de diáfisis femoral (sierra Exakt) de 0,5 mm de espesor inmediato al sitio de fractura. Se consideró diferencia estadísticamente significativa cuando  $p \leq 0,05$  (\* versus grupo OVX y \*\* versus grupo SHAM).

Junto a resultados densitométricos y biomecánicos y asociado a la necesidad de conocer la microarquitectura ósea, se requieren estudios histológicos/histomorfológicos estáticos y dinámicos para complementar el requisito regulatorio que obliga a un prolongado período de administración en al menos 2 especies animales y niveles de dosis suficientes para definir "margen de seguridad para la calidad ósea" incluyendo al menos una dosis 5 veces superior a la óptima.<sup>28</sup>

### 2.3.3 En el animal normal

Los experimentos destinados a evaluar seguridad de bifosfonatos en distintos sistemas del organismo -los estudios toxicológicos- requieren del uso de dosis muy superiores a las mínimas eficaces en lo que sería el equivalente al voluntario sano: la rata normal. Por nuestro particular interés en el comportamiento óseo, se analizaron numerosos fémures y un buen número de columnas vertebrales de ratas y ratones normales tratados con olpadronato. En uno de estos estudios, con una duración máxima de 2 años y administración oral, pudo apreciarse, en coincidencia con otros autores, el mantenimiento del efecto máximo dosis-dependiente (*endpoint* densitométrico) independientemente de la continuidad del tratamiento.<sup>30</sup>



**Figura 4: Densidad mineral ósea de fémur de rata hembra normal durante el tratamiento con olpadronato oral hasta un máximo de 104 semanas.**

Densidad mineral ósea (DXA) en fémur distal de ratas normales hembras, con olpadronato (oral, diario, intención de tratamiento durante 104 semanas). Por razones propias del envejecimiento, un pequeño número de animales (indicado en el gráfico) muere o es sacrificado antes del fin programado del estudio. El número de animales que completó el período previsto se indica en ">104"

### 2.3.4 Modelos en odontología, traumatología y otros

Modelos de periodontitis y de reparación ósea post-exodoncia en rata, se han empleado en nuestro país para demostrar el efecto preventivo de olpadronato (aplicación tópica en bolsa periodontal) sobre la destrucción ósea alveolar y su acción sistémica sobre el proceso reparativo. Tal vez, del modelo de reparación alveolar en ésta u otra especie podamos esperar en el futuro alguna contribución acerca de los mecanismos que llevan a la osteonecrosis maxilar/mandibular, entidad que últimamente se ha relacionado especialmente con la administración sistémica de altas dosis de los bifosfonatos más potentes, tras intervenciones odontológicas en pacientes con cáncer; eventualmente, nos permitirá distinguir las diferencias entre distintas entidades químicas.<sup>31-33</sup>

Para el evitamiento de osteólisis peri-implantes, una complicación mayor de este tipo de intervenciones, se han desarrollado varios diseños experimentales, entre los cuales se destacan aquéllos en que el implante es recubierto con una asociación de fosfato de calcio y bifosfonatos de forma que el hueso en contacto sea la única región esquelética expuesta a la droga.<sup>34, 35</sup> Este modelo intenta responder a la hipótesis que señala que son las partículas derivadas del implante las iniciadoras de una respuesta inflamatoria mediada por macrófagos residentes, activación de osteoclastos y resorción ósea en la interfase implante-hueso. Como prueba de concepto, y para confirmar la alta calidad del hueso peri-implante, se demostró en ratas una mayor resistencia mecánica al *pull out* de un implante condilar de titanio recubierto con zoletronato/fosfato de calcio.<sup>35</sup>

Innumerables modelos experimentales simulando patologías óseas de muy diversa naturaleza han sido utilizados aquí y en el exterior para evaluar eficacia de bisfosfonatos. En nuestro país, S. Zeni y col. han contribuido al conocimiento de la acción beneficiosa de distintos bifosfonatos en modelos de ratas hipertiroideas, con insuficiencia renal, bajo terapia con inmunosupresores, y últimamente, mostrando la relevancia de la hipovitaminosis D para la respuesta protectora en modelo de rata ovariectomizada.<sup>36-39</sup> Ferretti y col., hace ya muchos años, describieron los efectos de etidronato y pamidronato en la repercusión biomecánica de la osteopenia por corticoides en ratas jóvenes y en nuestro propio laboratorio, ratas hemiciaticectomizadas fueron el modelo de osteopenia por desuso empleado para conocer el comportamiento de olpadronato y pamidronato.<sup>40, 41</sup>

### 2.3.5 Modelos experimentales relacionados con cáncer: hipercalcemia humoral maligna y prevención/tratamiento de complicaciones óseas metastásicas

Tradicionalmente, ratas o ratones con tumores secretores del péptido relacionado con la parathormona -PTHrp- (u otros factores humorales, en una minoría) que, sin metástasis, afectan al hueso a distancia del tumor primario, han sido empleados como soporte para estudios clínicos de hipercalcemia humoral maligna en humanos.<sup>42</sup> El comportamiento dual de PTHrp, que estimula la reabsorción tubular renal del calcio además de la resorción ósea, nos permitió explicar la acción de olpadronato sobre el componente óseo, enlenteciendo la marcada y rápida hipercalcemia (Tabla 3) y protegiendo en forma completa la severa osteopenia en ratón provocada por el adenocarcinoma pulmonar mixto sólido-papilar P07 (tumor cedido por el Instituto de Oncología A. Roffo) en ratones. Este tumor conduce, en el término de 1 mes, a niveles circulantes de PTHrp muy superiores (10,1 pM) a los niveles de animales controles normales (0,8 pM) (Figura 5).<sup>43</sup>

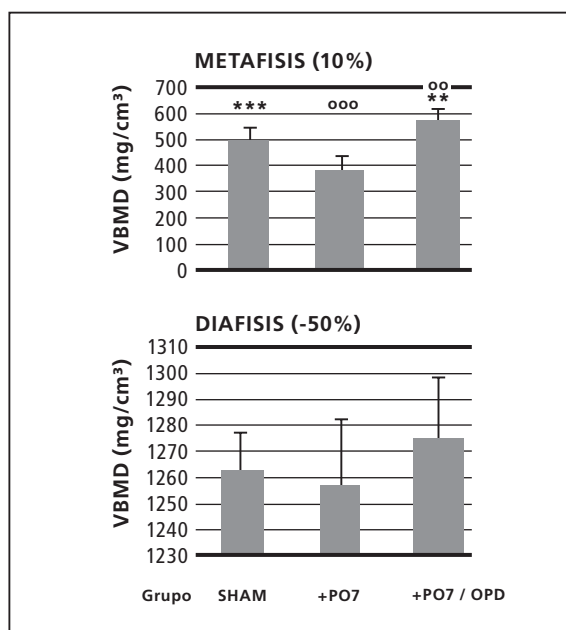
Grupo	Día 19	Día 23	Día 28
Control normal	1,32 ± 0,01	1,33 ± 0,01	1,35 ± 0,01
Control portador	1,45 ± 0,05	1,53 ± 0,09	1,88 ± 0,31
Portador + olpadronato	1,34 ± 0,03	1,41 ± 0,03	1,51 ± 0,15

**Tabla 3: Evolución de la calcemia en ratones portadores de adenocarcinoma pulmonar murino.**

Niveles de calcio iónico en ratones portadores de tumor P07 (Instituto Roffo) tratados con olpadronato (1 mg./kg. día, subcutáneo, durante 28 días) Los valores representan promedios ± desvío estándar.

Durante los últimos años se incrementó notablemente el número de modelos experimentales destinados a comprender el mecanismo por el cual los bifosfonatos resultan preventivos de las complicaciones esqueléticas en procesos malignos con metástasis óseas, buscando evidencias de su acción en distintas etapas de la progresión de un tumor: la proliferación de las células tumorales, la generación de vasos sanguíneos como paso esencial para el crecimiento de un tumor (angiogénesis), la adhesión de células malignas a la matriz ósea y finalmente la invasión ósea.

Hay, además de las evidencias *in vitro* ya mencionadas sobre proliferación y apoptosis, un creciente número de evidencias experimentales *in vivo*, que indican que los bifosfonatos pueden disminuir la carga esquelética tumoral. Podría ser que las concentraciones de bifosfonatos potencialmente alcanzables en la vecindad de los osteoclastos resorptivos fueran suficientes para inducir apoptosis de células



**Figura 5: Densidad mineral ósea volumétrica en fémur de ratones portadores de adenocarcinoma pulmonar maligno P07.**

Densidad mineral ósea volumétrica (VBMD) (metáfisis y diáfisis, promedios ± desvíos estándar) (pQCT) en fémur de ratones SHAM y portadores de tumor P07 (+P07) tratados con olpadronato (1 mg/kg.día subcutáneo) (+P07/OPD), a 28 días post-implante del tumor. \*\*/\*\* p<0,05/0,001 versus +P07; \*\*\*\* p<0,05/0,001 versus SHAM.

malignas -de mieloma, por ejemplo- o que se trate de una acción tumoral indirecta, hipótesis lógica muy difundida y asociada a la privación que sufrirían las células tumorales de los factores de crecimiento celular almacenados en hueso e interrumpiendo lo que ha dado en llamarse "círculo vicioso de retroalimentación positiva". Tras este concepto, se han publicado elaborados modelos experimentales, en su mayoría con animales inmunodeprimidos SCID o nude implantados con células tumorales de origen humano, demostrando la disminución de las áreas de metástasis y osteólisis radiológicas y en consecuencia de la destrucción de estructuras óseas (ibandronato y zoledronato), la progresión de tumores que expresan proteínas fluorescentes en el esqueleto entero (olpadronato) o destinados a la evaluación de potenciales nuevos derivados con menor afinidad ósea y mayor posibilidad de acción antitumoral directa.<sup>44-46</sup>

Pamidronato y zoledronato han mostrado efecto anti-angiogénico en modelos de vascularización de membrana corioalantoidea de huevo de gallina y de revascularización inducida por testosterona en próstata de ratas castradas, entre otros.<sup>47, 48</sup>

Empleando matriz ósea obtenida de hueso cortical o trabecular, varios N-BPs presentaron una potencia "anti-adherencia de células malignas" que, sorpresivamente, presentó una clara correlación con

su potencia antirresortiva.<sup>49</sup> La invasión de células malignas, uno de los eventos tempranos durante la formación de metástasis, requiere proteólisis local de la matriz extracelular y tanto la membrana basal como el estroma intersticial constituyen barreras a superar, por lo cual varios trabajos experimentales consideraron y probaron la acción inhibitoria de distintos bifosfonatos frente a las metaloproteinasas responsables del clivaje de los componentes de la matriz.<sup>50</sup>

El dolor óseo es un dramático componente del proceso metastásico. Un modelo murino de dolor óseo en cáncer, confinando células tumorales en un espacio reducido de médula ósea femoral, que comparte muchas de las características del equivalente humano, mostró, con alendronato, la reducción significativa de la destrucción de fibras sensoriales que inervan el hueso, los cambios neuroquímicos en sistema nervioso central y periférico propios de la sensibilización además de los reconocidos efectos sobre la destrucción ósea. Se espera que este tipo de modelo permita conocer más sobre la intervención en los múltiples componentes del dolor en cáncer de nuevos o reconocidos bifosfonatos desarrollados para enfermedad metastásica ósea y con los cuales ya hay evidencias clínicas muy alentadoras.<sup>51</sup>

### 2.3.6 Direccionamiento de fármacos: liposomas y otros

La reclusión de bifosfonatos en liposomas les permite acceder al sistema mononuclear fagocítico y, al igual que en el osteoclasto, si la dosis es suficientemente alta, producirán lisis y depleción de macrófagos o monocitos: se trata de un fenómeno "suicida". A la fecha, liposomas con clodronato y en algunos casos con alendronato, se han empleado en forma experimental en modelos de artritis reumatoidea, enfermedades neurológicas como la encefalomiелitis alérgica experimental, terapia génica, direccionamiento de fármacos, evitamiento de restenosis tras inserción de *stents* endovasculares, y, en nuestra Academia Nacional de Medicina, en modelos de trombocitopenia experimental, vinculada con la regulación de la megacariocitosis por macrófagos del microambiente medular.<sup>52-54</sup>

Es muy atractiva la idea de aprovechar el osteotropismo de los bifosfonatos para direccionar moléculas que interesa concentrar en el esqueleto. De hecho, ya se ha mencionado un ejemplo que logró trascender la fase experimental como lo es el acarreamiento de <sup>99m</sup>Tc con fines diagnósticos. En varias publicaciones se emplearon conjugados de bifosfonatos con analgésicos, drogas antineoplásicas, estrógenos, osteoprotegerina, proteínas morfogenéticas u otras, con la intención de sumar o

sinergizar efectos o, simplemente, usar al bifosfonato como transportador. Ciertos inconvenientes (falta de clivaje del conjugado o captación por el sistema mononuclear fagocítico) deberán ser superados antes de la aplicación clínica de este tipo de enfoques.<sup>55</sup>

### 2.4 Aspectos básicos y regulatorios de la farmacocinética

Los estudios farmacocinéticos constituyen un requisito regulatorio y formal, exigido fundamentalmente como herramienta predictiva del comportamiento de una droga en el humano antes de su primer uso y, *a posteriori*, para revalidar la utilidad de la especie animal utilizada en estudios farmacotoxicológicos si, como en el caso de los bifosfonatos, puede demostrarse similaridad de comportamientos. Por ejemplo, como en humanos, <sup>14</sup>C-olpadronato en ratas se distribuye rápidamente desde la sangre hasta el hueso ( $t_{1/2}$  de distribución: 15 minutos), tiene una rápida eliminación renal y permanece en el esqueleto durante un largo período de tiempo (> 7 días) (datos en archivo, Gador SA). Relacionando la radioactividad presente en idénticas "áreas de interés" vertebrales en imágenes centellográficas por vías oral e intravenosa, se estimó una biodisponibilidad oral del 1% para <sup>99m</sup>Tc-lidadronato y un perfil de distribución y excreción similar a otros bifosfonatos en humanos y animales.<sup>56</sup>

Desde el aspecto básico, los estudios farmacocinéticos experimentales tienen un rol relevante a la hora de ensayar nuevos derivados, conjugados o no, asociaciones y sus eventuales interacciones, nuevos regímenes de administración o sistemas originales de liberación, establecer especificidad de acción, relacionar con situaciones de afectación de las vías de excreción y correlacionar con su farmacodinamia y, al igual que ésta, con diseños más flexibles, no regulatorios, pueden desafiarse pre-conceptos.

### 2.5 Toxicología regulatoria y no tanto

Los estudios toxicológicos incluirán administraciones únicas (toxicidad aguda) o reiteradas (toxicidad crónica, carcinogénesis), en condiciones especiales (reproducción, gestación), emplearán las vías relevantes para el uso clínico (oral, intravenosa, localizada) y diferentes niveles de dosis (las máximas deberán demostrar un efecto tóxico) y en diferentes especies animales normales. Sus resultados tendrán gran impacto regulatorio y, al igual que la aparición de eventos adversos durante las etapas clínicas, podrán constituirse en el disparador de nuevas exigencias regulatorias.<sup>57</sup> Deberán seguirse



lineamientos pre-establecidos de diseño experimental, muchos de ellos armonizados (Conferencia Internacional de Armonización-ICH) y normas estrictas de calidad (buenas prácticas de laboratorio-GLP) para que autoridades sanitarias de alta exigencia los consideren aceptables.<sup>58,59</sup>

La gran especificidad de acción de los bifosfonatos los ha favorecido desde el punto de vista de la toxicidad extra-esquelética.<sup>60</sup> La mayoría de los efectos tóxicos experimentales observados están asociados a altas dosis o altas concentraciones en zonas de contacto (irritación local de mucosas), vías de excreción (nefrototoxicidad) o por su acción farmacológica exagerada (inhibición extrema de la resorción ósea), pudiendo distinguirse algunas diferencias por características individuales de los distintos integrantes de la familia. Estos efectos llevaron al desarrollo de un importante número de modelos específicos o de la cuantificación de parámetros no solicitados, excediendo las exigencias regulatorias y tendientes a explicar los mecanismos subyacentes. En nuestro laboratorio se emplearon conejos (por su mayor sensibilidad) y ratas simultáneamente administradas con antiinflamatorios no esteroides (para sensibilizar a la mucosa gástrica) como modelos para destacar las diferencias de irritación de mucosas oral, esofágica y gástrica entre olpadronato, alendronato y pamidronato. En los estudios de administración parenteral, se evaluaron particularmente los parámetros de funcionalidad renal (*clearance* de creatinina). Olpadronato intravenoso en ratas (dosis diarias acumuladas hasta 50 mg/kg durante 1 mes, equivalentes a dosis humanas de aproximadamente 500 mg.) no afectaron ni la histología ni la funcionalidad renal. En ratas hembras administradas con altas dosis orales de olpadronato (10, 30 y 90 mg/kg) durante el apareamiento y la gestación temprana, la respuesta antiresortiva exagerada se reflejó en la disminución no significativa pero evidente, dosis-dependiente, de los niveles de calcio iónico sanguíneo (1,18; 1,15 y 1,06 mM para un valor promedio normal de 1,23 mM). Similares dosis en hembras no preñadas no permitieron apreciar esa misma tendencia. Este hecho podría explicarse por la mayor demanda de calcio durante ese período y a su vez, justifica las dificultades durante el parto descriptas en estas condiciones experimentales para todos los bifosfonatos conocidos (datos en archivo, Gador SA).

De estos y otros estudios toxicológicos se extraerá finalmente la información sobre órganos blancos de toxicidad y las dosis con las que no se observan efectos adversos (NOAEL) para estimar las dosis equivalentes humanas (HED) e iniciar o continuar estudios clínicos con un margen de seguridad aceptable para las autoridades de alta vigilancia sanitaria.

## 2.6 Conclusiones

La investigación básica y la evaluación farmacodinámica/farmacocinética de los bifosfonatos admiten gran flexibilidad de diseños y el desafío de paradigmas. Nos facilitaron el conocimiento de sus mecanismos y sitios de acción, generaron la base racional para nuevas indicaciones, y esperamos que en el futuro nos permitan detectar moléculas con perfiles diferenciales, con mejor biodisponibilidad oral, para administraciones más localizadas o sencillas y tal vez, para usos extra-esqueléticos.

En gran medida, nuestra libertad se encuentra restringida en los diseños toxicológicos convencionales, con un gran peso regulatorio, debiendo adoptar lineamientos específicos de diseño y aplicar buenas prácticas de laboratorio estándar con el objetivo primordial de anticipar eventuales riesgos durante las primeras exposiciones humanas.

Este artículo ha pretendido ejemplificar con algunos modelos experimentales, la forma en que los bifosfonatos, luego de su tímida irrupción en la terapéutica humana, poco a poco y a fuerza de evidencias, fueron abriendo el camino que actualmente los encuentra como referentes para distintas entidades patológicas del hueso.

## Agradecimientos

*A quienes en la Argentina, aun en aquellas épocas en que sólo constituían una esperanza para una enfermedad huérfana, contribuyeron al conocimiento de los efectos de los bifosfonatos: los deseados y los que no lo son tanto, a veces precaria o equivocadamente y otras con excelencia, pero siempre, con el fuego sagrado para saber "qué más pueden ofrecer".*

Recibido: mayo de 2006. Aceptado: junio de 2006.

## Referencias

1. Fleisch H, Russell RG, Simpson B, Muhlbauer RC. Prevention by a diphosphonate of immobilization "osteoporosis" in rats. *Nature* 1969; 223: 211-2.
2. Fleisch H, Russell RG, Francis MD. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 1969; 165: 1262-4.
3. Williams KR. The Bisphosphonates story: from detergents to bone disease. *J Chem Educ* 2004; 81: 1406-7.
4. Thrall JH. Technetium-99m labeled agents for skeletal imaging. *Crit Rev Clin Radiol Nucl Med* 1976; 8: 1-31.
5. Sikder MN, Itoh M, Iwatsuki N, Shinoda H. Inhibitory effect of a novel bisphosphonate, TRK-530, on dental calculus formation in rats. *J Periodontol* 2004; 75: 537-45.
6. Frith JC, Monkkonen J, Blackburn GM, Russell RG, Rogers MJ. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma-dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1358-67.
7. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russell G, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 581-9.
8. van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C, Papapoulos S. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264: 108-11.
9. Rogers MJ. From molds and macrophages to mevalonate: a decade of progress in understanding the molecular mode of action of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int* 2004; 75: 451-61.
10. Dunford JE, Thompson K, Coxon FP, et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 235-42.
11. van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Lowik C, Papapoulos S. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit isopentenyl pyrophosphate isomerase/farnesyl pyrophosphate synthase activity with relative potencies corresponding to their antiresorptive potencies in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 255: 491-4.
12. Trechsel U, Stutzer A, Fleisch H. Hypercalcemia induced with an arotinoid in thyroparathyroidectomized rats. New model to study bone resorption in vivo. *J Clin Invest* 1987; 80: 1679-86.
13. Thompson K, Rogers MJ, Coxon FP, Crockett J C. Cytosolic entry of bisphosphonate drugs requires acidification of vesicles after fluid-phase endocytosis. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1624-32.
14. Halasy-Nagy JM, Rodan GA, Reszka AA. Inhibition of bone resorption by alendronate and risedronate does not require osteoclast apoptosis. *Bone* 2001; 29: 553-9.
15. Escudero ND, Bozal CB, Tomasi VH, Lacave M, Ubios AM, Mandalunis PM. Effect of olpadronate on osteoclasts: histochemical study. *Bone* 2006; 38: S5 (Abstract).
16. Vázquez G, Santillán G, Boland R, Roldán E, Pérez-Lloret A. Modulation of cytosolic calcium levels in osteoblast-like osteosarcoma cells by olpadronate and its amino-derivative IG-9402. *Calcif Tissue Int* 2003; 72: 215-21.
17. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest* 1999; 104: 1363-74.
18. Van Offel JF, Schuerwegh AJ, Bridts CH, Stevens WJ, De Clerck LS. Effect of bisphosphonates on viability, proliferation, and dexamethasone-induced apoptosis on articular chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 925-8.
19. Kunzmann V, Jomaa H, Feurle J, Bauer E, Herderich M, Wilhelm M. Stimulation of gamma delta T cells by aminobisphosphonates used in treatment of bone disorders. *Blood* 1997; 90(Suppl): 575 (abstract).
20. Sanders JM, Ghosh S, Chan JM, et al. Quantitative structure-activity relationships for gammadelta T cell activation by bisphosphonates. *J Med Chem* 2004; 47: 375-84.
21. Rogers MJ, Watts DJ, Russell RG, et al. Inhibitory effects of bisphosphonates on growth of amoebae of the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1029-39.
22. Urbina JA, Moreno B, Vierkotter S, et al. Trypanosoma cruzi contains major pyrophosphate stores, and its growth in vitro and in vivo is blocked by pyrophosphate analogs. *J Biol Chem* 1999; 274: 33609-15.
23. Martin MB, Grimley JS, Lewis JC, et al. Bisphosphonates inhibit the growth of *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, and *Plasmodium falciparum*: a potential route to chemotherapy. *J Med Chem* 2001; 44: 909-16.
24. Gabelli SB, McLellan JS, Montalvetti A, Oldfield E, Docampo R, Amzel LM. Structure and mechanism of the farnesyl diphosphate synthase from *Trypanosoma cruzi*: implications for drug design. *Proteins* 2006; 62: 80-8.
25. Santini D, Vespasiani GU, Vincenzi B, et al. The antineoplastic role of bisphosphonates: from basic research to clinical evidence. *Ann Oncol* 2003; 14: 1468-76.
26. Shipman CM, Rogers MJ, Apperley JF, Russell RG, Croucher PJ. Bisphosphonates induce apoptosis in human myeloma cell lines: a novel anti-tumour activity. *Br J Haematol* 1997; 98: 665-72.
27. Ullen A, Lennartsson L, Harmenberg U, Hjelm-Eriksson M, et al. Additive/synergistic antitumoral effects on prostate cancer cells in vitro following treatment with a combination of docetaxel and zoledronic acid. *Acta Oncol* 2005; 44: 644-50.
28. Preclinical and clinical evaluation of agents used in the prevention or treatment of postmenopausal osteoporosis (Draft). *FDA guidance*, April 1994.
29. Turner CH, Burr DV. Experimental Techniques for Bone Mechanics. En: *Bone Mechanics Handbook*, CRC Press, 2<sup>nd</sup> Edition. 2001: Pp 7-1 a 7-35.
30. Reitsma PH, Bijvoet OL, Verlinden-Ooms H, van der Wee-Pals LJ. Kinetic studies of bone and mineral metabolism during treatment with (3-amino-1-hydroxypropylidene)-1,1-bisphosphonate (APD) in rats. *Calcif Tissue Int* 1980; 32: 145-57.
31. Goya JA, Páez HA, Mandalunis PM. Effect of topical administration of monosodium olpadronate on experimental periodontitis in rats. *J Periodontol* 2006; 77: 1-6.
32. Sivak MG, Mandalunis PM, Guglielmotti MB. Effect of olpadronate on post-tooth healing in rats. A chronodynamic study. *Bone* 2006; 38(Suppl 1): 62 (abstract).
33. Summerlin DJ, Krowiak E, Huntley T, Freeman S, Borrowdale R, Tomich A. Osteonecrosis of the mandible or maxilla associated with the use of new generation bisphosphonates. *Laryngoscope* 2006; 116: 115-20.
34. Sivak MG, Renou SJ, Mandalunis PM, Guglielmotti MB. Effect of olpadronate on peri-implant bone healing: an experimental study in rats. *Bone* 2006; 38: S4 (Abstract).
35. Peter B, Pioletti DP, Laib S, et al. Calcium phosphate drug delivery system: influence of local zoledronate release on bone implant osteointegration. *Bone* 2005; 36: 52-60.

36. Zeni S, Gómez-Acotto C, Mautalen C. The effect of olpadronate in ovariectomized thyroxine-treated rats. *Bone* 1997; 21: 329-33.
37. Tomat A, Gamba CA, Mandalunis P, et al. Changes in bone volume and bone resorption by olpadronate treatment in an experimental model of uremic bone disease. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2005; 5: 174-81.
38. Zeni SN, Gregorio S, Gómez-Acotto C, Somoza J, Mautalen C. Olpadronate prevents the bone loss induced by cyclosporine in the rat. *Calcif Tissue Int* 2002; 70: 48-53.
39. Mastaglia SR, Pellegrini GG, Gonzales Chaves M, Mandalunis P, Friedman SM, Zeni SN. The vitamin D insufficiency reduces the protective effect of bisphosphonate on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Bone* 2006; en prensa.
40. Ferretti JL, Delgado CJ, Capozza RF, et al. Protective effect of disodium etidronate and pamidronate against the biomechanical repercussion of betamethasone-induced osteopenia in growing rat femurs. *Bone Miner* 1993; 20: 265-76.
41. Mondelo N, Parma MD, Peluffo VA, Zanchetta JR, Piccinni E, Montuori E. Efecto de olpadronato y pamidronato sobre la masa ósea. *Medicina (B. Aires)* 1997; 57(Supl 1): 17-24.
42. Davicco MJ. Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP). *Reprod Nutr Dev* 1990; 30: 639-51.
43. Parma M, García C, Diamant M, Klein S, Peluffo V, Piccinni E, Mondelo N. Effect of Olpadronate (OPD) on the hypercalcemia induced by a murine lung adenocarcinoma. *Bone* 1998; 22: 699 (abstract).
44. Neudert M, Fischer C, Krempien B, Baus F, Seibel MJ. Site-specific human breast cancer (MDA-MB-231) metastases in nude rats: model characterisation and in vivo effects of ibandronate on tumour growth. *Int J Cancer* 2003; 107: 468-77.
45. Yang M, Burton DW, Geller J, et al. The bisphosphonate olpadronate inhibits skeletal prostate cancer progression in a green fluorescent protein nude mouse model. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2602-6.
46. Fournier P, Daubine F, Lundy MW, Ebetino FU, Clezardin P. The direct antitumor activity of bisphosphonates in vivo depends on their bone mineral affinity. *Bone* 2006; 38(Suppl): S45 (abstract).
47. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302: 1055-61.
48. Fournier P, Boissier S, Filleur S, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 2002; 62: 6538-44.
49. van der Pluijm G, Vloedgraven H, van Beek E, van der Wee-Pals L, Lowik C, Papapoulos S. Bisphosphonates inhibit the adhesion of breast cancer cells to bone matrices in vitro. *J Clin Invest* 1996; 98: 698-705.
50. Heikkilä P, Teronen O, Moilanen M, et al. Bisphosphonates inhibit stromelysin-1 (MMP-3), matrix metalloelastase (MMP-12), collagenase-3 (MMP-13) and enamelysin (MMP-20), but not urokinase-type plasminogen activator, and diminish invasion and migration of human malignant and endothelial cell lines. *Anticancer Drugs* 2002; 13: 245-54.
51. Sevcik MA, Luger NM, Mach DB, et al. Bone cancer pain : the effects of the bisphosphonate alendronate on pain, skeletal remodeling and tumor necrosis *Pain* 2004; 111: 169-80.
52. van Rooijen N, van Kesteren-Hendrikx E. Clodronate liposomes: perspectives in research and therapeutics. *J Liposome Research* 2002; 12: 81-94.
53. Barrera P, Blom A, van Lent PL, et al. Synovial macrophage depletion with clodronate-containing liposomes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1951-9.
54. Alves-Rosa F, Stanganelli C, Cabrera J, et al. Rapid recovery of platelet count following administration of liposome-encapsulated clodronate in a mouse model of immune thrombocytopenia. *Brit J Haematol* 2002; 116: 357-66.
55. Hirabayashi H, Fukisaki K. Bone-specific drug delivery systems: approaches via chemical modification of bone-seeking agents. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 1319-30.
56. Mondelo N, Balbuena R, Rácaro G, et al. Marcación con <sup>99m</sup>Tc para estimar biodisponibilidad absoluta de un nuevo bisfosfonato. *Libro de Resúmenes del XIII Congreso Argentino de Biología y Medicina Nuclear*. Buenos Aires, 2001 (resumen).
57. Development of Parathyroid hormone for the prevention and treatment of osteoporosis. *FDA Guidance for Industry (Draft)*; May 2000.
58. Safety topics in [www.ich.org](http://www.ich.org)
59. Organization for Economic cooperation and Development. Good laboratory practice principles, 1998.
60. Mondelo N, Peluffo VA, Parma MD, et al. Toxicología preclínica de bisfosfonatos. *Medicina (B. Aires)* 1997; 57(Supl 1): 93-100.

## USO DE BIFOSFONATOS EN LA MUJER FÉRTIL: INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES

Alicia Bagur\*

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

La consulta médica por disminución de la densidad mineral ósea en la mujer fértil es cada día más frecuente. La causa de esta consulta es en muchos casos preventiva, para conocer el estado óseo debido a la información recibida sobre osteoporosis en los medios de comunicación, por antecedentes familiares de osteoporosis o por derivaciones de profesionales debido a enfermedades que puedan producir una disminución de la densidad mineral ósea.

Cuando se investiga la disminución de la densidad ósea en una mujer joven hay que pensar en causas idiopáticas o secundarias. Se considera causa idiopática a una disminución del pico de masa ósea -o sea, no haber llegado en la juventud a un buen capital de masa ósea- después de haber descartado enfermedades o tratamientos medicamentosos que puedan afectar al esqueleto. En estos casos, al interrogar a las mujeres jóvenes, es muy frecuente que tengan historia personal de fracturas por fragilidad ósea en la infancia y adolescencia, o que sus familiares directos (madre, abuela) hayan tenido osteoporosis o antecedente de fracturas (cadera, vértebras, muñeca, húmero) sin un diagnóstico claro.<sup>1</sup>

Dentro de las causas secundarias (Tabla 1) se destacan las enfermedades endócrinas, reumáticas, renales, hepáticas, malabsorción, tumorales, etc. También

debido a drogas como corticoides, hormona tiroidea en exceso, anticonvulsivantes, entre otras.<sup>2,3</sup>

Hay pocos estudios realizados en las mujeres jóvenes investigando las causas de la disminución de densidad mineral ósea y ninguno acerca de su posible tratamiento. La mayor información disponible sobre tratamiento surge de los estudios realizados en las mujeres postmenopáusicas.

El mecanismo fisiopatológico de pérdida de masa ósea en la pre- y post-menopausia parecerían ser diferentes. Donovan y col.<sup>4</sup> estudiaron mediante histomorfometría a partir de biopsias de cresta ilíaca, a mujeres jóvenes con disminución de la densidad mineral ósea encontrando un desacople entre la resorción y formación ósea a expensas de una disfunción en los osteoblastos. La formación ósea en este estudio fue un 52% menor, acompañado por una disminución de la frecuencia de activación al comparar los resultados de las mujeres con disminución de la densidad mineral ósea idiopática *versus* mujeres jóvenes normales de igual edad. Este estudio muestra la diferencia de comportamiento de la pérdida de masa ósea entre la pre- y la post-menopausia. En las mujeres menopáusicas fue ampliamente estudiado que el mecanismo de pérdida de masa ósea se debe al aumento de la resorción ósea.

De estas diferencias surge el interrogante sobre el posible tratamiento de las pacientes jóvenes con disminución de la densidad ósea idiopática.

Por otro lado, en los casos en los que se diagnostica una enfermedad secundaria o en los que las pacientes están recibiendo drogas que estarían afectando al hueso la conducta terapéutica es mucho más clara. Ante un diagnóstico confirmado, el primer paso a seguir sería el tratamiento de la enfermedad de base. Mencionando unos pocos ejemplos: ante el diagnóstico de hiperparatiroidismo primario el tratamiento sería la cirugía, en los pacientes con enfermedad celíaca la indicación sería la dieta sin gluten, en el hipogonadismo la

ENFERMEDADES	MEDICAMENTOS
Hipogonadismo	Glucocorticoides
Hiperparatiroidismo primario	Tiroxina
Tirotoxicosis	Anticonvulsivantes
Hipercortisolismo	Heparina
Osteomalacia	Litio
Malabsorción	Quimioterapia citotóxica
Cirrosis biliar primaria	Agonistas GnRH
Insuficiencia renal	
Enfermedades mieloproliferativas	
Enfermedades del tejido colectivo	
Osteogénesis imperfecta	
Deficiencia de hormona de crecimiento	

**Tabla 1:** Enfermedades y medicamentos que pueden producir disminución de la densidad mineral ósea.

\* Correo electrónico: abagur@hospitaldeclinicas.uba.ar



reposición de hormonas sexuales, etc. Si después de realizar los tratamientos específicos la recuperación del esqueleto no llegara a ser la deseada, entonces habría que evaluar en cada paciente individualmente la posible indicación de bifosfonatos para optimizar la masa ósea.

Los bifosfonatos (Tabla 2) son drogas anticatabólicas utilizadas desde hace muchos años en el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica.<sup>5-7</sup>

BIFOSFONATO	VÍA	DOSIS RECOMENDADA
Etidronato	Oral	400 mg/día durante 2 semanas cada 3 meses
Pamidronato	Oral Endovenoso	150 mg/día 30 mg en infusión endovenosa (1 hora) cada 3 meses
Alendronato	Oral	5 mg/día (prevención) 10 mg/día (osteoporosis establecida) 70 mg/semana (osteoporosis establecida)
Risedronato	Oral	5 mg/día 35 mg/semana
Ibandronato	Oral Endovenoso	2,5 mg/día 150 mg/mes 2 mg cada 2 ó 3 meses en bolo

**Tabla 2:** Bifosfonatos utilizados en la osteoporosis postmenopáusica: Dosis y vías de administración

Su indicación en la mujer fértil merece un análisis individual de la paciente a tratar. Hasta el momento no existen evidencias de su indicación y efecto positivo en la osteoporosis idiopática premenopáusica; sobre todo pensando que la fisiopatología en este caso no sería un aumento de la resorción sino

una disminución de la formación ósea.

Un gran interrogante es si el uso de estos medicamentos durante los años fértiles podría tener efecto teratogénico. No existen estudios controlados sobre la acción teratogénica de los bifosfonatos en humanos. En los casos aislados de pacientes que han tenido un embarazo durante el tratamiento con bifosfonatos, no se han evidenciado daños de sus bebés. La indicación preventiva en estos casos sería la suspensión del fármaco ante el diagnóstico de embarazo. De todas formas su posible uso debe quedar limitado si su potencial efecto justifica el potencial riesgo fetal.

Los bifosfonatos también son utilizados para la prevención de tratamientos con glucocorticoides, independientemente de la edad del paciente. Su administración permite evitar el efecto perjudicial del medicamento sobre el hueso.<sup>8</sup>

Por lo tanto, los bifosfonatos son drogas potentes que se pueden indicar en la mujer fértil en los casos de enfermedades que causan osteoporosis secundaria, después de haber realizado el tratamiento específico de la enfermedad de base y no haber obtenido una recuperación aceptable de la densidad mineral ósea y en la prevención de la osteoporosis corticoidea entre otras.

La indicación de bifosfonatos en la osteoporosis idiopática de la mujer fértil carece hasta el momento de sustento fisiopatológico.

(Recibido: mayo de 2006. Aceptado: julio de 2006)

## Referencias

- Rubin M, Schusheim D, Kulak C, Kurland E, Rosen C, Bilezikian J, Shane E. Idiopathic osteoporosis in premenopausal women. *Osteoporos Int* 2005; 16: 526-33.
- Khan A, Syed Z. Bone densitometry in premenopausal women. *J Clin Densit* 2004; 7: 85-92.
- Gourlay M, Brown S. Clinical considerations in premenopausal osteoporosis. *Arch Intern Med* 2004; 164: 603-14.
- Donovan M, Dempster D, Zhou H, McMahon D, Fleischer J, Shane E. Low bone formation in premenopausal women with idiopathic osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3331-6.
- Mautalen C. Bisfosfonatos. En: *Osteoporosis en Iberoamérica*. (E. Ardila y C. Mautalen, editores). Bogotá; Vesalius, 2000. Pp 247-54.
- Fromm G, Vega E, Plantalech L, Galich A, Mautalen C. Differential action of pamidronate on trabecular and cortical bone in women with involutional osteoporosis. *Osteoporos Int* 1991; 1: 129-33.
- Mautalen C, Bagur A. Los bisfosfonatos en el tratamiento de la osteoporosis. Fascículo Laboratorio Aventis. Buenos Aires, 2003. Pp 1-18.
- Sambrook PN. How to prevent steroid-induced osteoporosis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 176-8.

## ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

La revista *Actualizaciones en Osteología*, órgano oficial de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral publica, artículos relacionados con enfermedades del metabolismo óseo y mineral de autores argentinos y extranjeros. Serán consideradas también, aquellas publicaciones realizadas por argentinos en revistas extranjeras y que tengan autorización del editor obtenida por el presentador.

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

Para los *Artículos especiales, Trabajos Originales y Comunicaciones Breves, Casuísticas, Imágenes en Osteología, Editoriales, Cartas al editor, Comentarios Bibliográficos* deberá usarse el castellano.

Los trabajos se prepararán en un procesador de textos (preferiblemente en una versión reciente de Microsoft Word), a doble espacio, en letra de tipo *Times New Roman 12, Arial 10*, u otra de tamaño similar.

**Unidades de medida.** Se emplea el sistema métrico decimal. Las medidas hematológicas y de química clínica se harán en los términos más corrientes en nuestro medio, o en el Sistema Internacional de Unidades (SI), empleando comas para los decimales.

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

Los *Trabajos Originales*: comprende las investigaciones clínicas o de ciencias básicas cuyos resultados sean un aporte en el conocimiento del metabolismo óseo y mineral. Estarán divididos en *Introducción, Materiales y métodos, Resultados, y Discusión*. Todos los artículos, además de un breve Resumen en castellano, deberán incluir un *Summary* en inglés. Ambos *Resúmenes* se ubicarán a continuación de la primera página y ninguno de ellos podrá exceder las 250 palabras, evitando la mención de tablas y figuras. El Resumen es independiente del texto del artículo. El desarrollo del resumen no es estructurado; al final del mismo se precisarán 3 a 6 **palabras clave** en inglés y en castellano, recurriendo para su elección a los términos incluidos en la lista del Index Medicus (*Medical Subject Headings, MeSH*). Para cada sección o componente del trabajo se iniciará una nueva página.

Para los *Trabajos originales*:

En la *Introducción* se presentan los objetivos del trabajo, y se resumen las bases para el estudio o la observación. No deben incluirse resultados o conclusiones del trabajo.

*Materiales y métodos* incluyen una descripción de (a) la selección de los sujetos estudiados y sus características; (b) los métodos, aparatos y procedimientos. En estudios clínicos se informarán detalles del protocolo (población estudiada, intervenciones efectuadas, bases estadísticas); (c) guías o normas éticas seguidas (ver detalle más adelante); (d) descripción de métodos estadísticos con suficiente detalle, para permitir verificarlos.

Los *Resultados* deben presentarse en una secuencia lógica. No deben repetirse en el texto las informaciones presentadas en Tablas o Figuras.

En la *Discusión* se resaltan los aspectos nuevos e importantes del estudio, las conclusiones de ellos derivadas, y su relación con los objetivos que figuran en su *Introducción*. No deben repetirse informaciones que ya figuren en otras secciones del trabajo. Deben evitarse declaraciones de prioridad y referencias a trabajos aún no completados.

Cuando corresponda se agregarán *Agradecimientos*, precediendo a la bibliografía; si cabe se citarán: reconocimiento por apoyo técnico, aportes financieros, contribuciones que no lleguen a justificar autoría. En estos casos los autores serán responsables de contar con el consentimiento escrito de las personas nombradas.

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

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

Holick, ME. MacCollum award lecture, 1994: Vitamin D-new horizons for the 21<sup>st</sup> century. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 619-30.

Chapuy C.M. and Meunier P. Vitamin D insufficiency in adults and the elderly. In Feldman D. Glorieux F, Wesley Picke J. Vitamin D 1<sup>st</sup> ed San Diego: American Press. 1997; 679-694.

Tau C, Alvarez V, Rossi B, Salazar G, Lerena J. Estado vitamínico D en adolescentes de Río Gallegos, Provincia de Santa Cruz. *Libro de Resúmenes de la XV Reunión Anual de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral*. Buenos Aires, Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral, 1998 pag. 6

Censo Nacional Poblacional 2001 de la República Argentina. Instituto Nacional de Estadísticas y Censo de la República Argentina (INDEC). <http://www.indec.gov.ar>.

**Importante:** *nótese que no hay puntos en las iniciales de los nombres de los autores y tampoco comas luego de los apellidos; cada autor está separado del siguiente sólo por una coma.*

Las *referencias* de artículos a ser publicados mencionarán el nombre de la revista, y sólo podrán citarse si ya han sido aceptados para publicación (en prensa). Las comunicaciones personales se citan en el texto. Se evitarán en lo posible, las citas de comunicaciones o resúmenes. Todas las *referencias* deben ser verificadas por los autores sobre la base de los documentos originales.

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

Todas las *Figuras* (dibujos o fotografías en blanco y negro) han de presentarse en formato **jpg**, para permitir una reproducción adecuada. El nombre del archivo de cada figura deberá incluir el número de la misma (Ej.: Pérez y col Fig 1). Las leyendas para las figuras se incluirán en el

cuerpo del documento de texto principal. En las **microfotografías** se debe indicar la escala (marcador). Además, las flechas, símbolos o letras incluidas deben presentar buen contraste con el fondo.

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

Los **Artículos Especiales** tratan tópicos cuya actualización resulte pertinente y deben fundamentarse en una buena revisión bibliográfica. *Se aconseja: Introducción, separación de subtemas con títulos (mini capítulos) y conclusiones finales.* El número de páginas no debe ser mayor de 8 (ocho) sin bibliografía. Esta no deberá superar las 40 citas. Se aceptarán hasta 4 tablas y 4 figuras.

Las **Casísticas** corresponden a casos singulares con nueva información y observaciones. Se considerarán por su interés clínico, no sólo por su rareza. Estarán integradas por Introducción, Caso Clínico y Discusión, en un manuscrito que no exceda las ocho páginas y que incluya hasta dos Tablas y dos Figuras, y no más de 15 referencias.

Las **Imágenes en Osteología** pueden corresponder a radiografías, electrocardiogramas, ecografías, angiografías, tomografías computadas, resonancia nuclear magnética, microscopía óptica o electrónica, etc. Dichas imágenes, no necesariamente excepcionales pero sí ilustrativas y acompañadas de una leyenda explicativa, no deben exceder la superficie de una página impresa, deben permitir una reproducción adecuada e incluir flechas indicadoras en caso necesario. Ver presentación de Imágenes en Figuras.

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

La oportunidad y las eventuales características de los **Editoriales** quedan exclusivamente a criterio del Comité de Redacción.

En todos los casos, cada autor de un artículo debe haber participado suficientemente en el trabajo como para asumir responsabilidad por su contenido. Cuando se trate de estudios multicéntricos, los participantes deberán figurar como autores debajo del título o bien en pie de página. Cuando no corresponda ese criterio, serán mencionados en *Agradecimientos*.

Cada manuscrito recibido es examinado por el Comité de Redacción, y habitualmente también por uno o dos revisores externos (que no forman parte de ese Comité). Después de esa revisión se notifica al autor responsable sobre la aceptación (con o sin correcciones y cambios) o sobre el rechazo del manuscrito. El Comité de Redacción se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, todos los cambios editoriales exigidos por las normas gramaticales y las necesidades de compaginación.

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

## ANEXO

### INSTRUCCIONES ESPECIALES PARA LA PREPARACIÓN DE LA VERSIÓN ELECTRÓNICA

**Envío de versión electrónica:** Se hará el envío por correo electrónico, como adjunto del mismo, a la casilla mencionada más arriba.

#### Algunas recomendaciones para la preparación de la versión electrónica

Siga exactamente las instrucciones para autores al escribir cada sección del artículo. En la primera página, en el ángulo superior izquierdo indique la sección correspondiente (trabajo original, casuística, artículo especial u otro).

Luego escriba el título, con letras mayúsculas, centrado, y a continuación los nombres de los autores, con mayúsculas en negrita. Cuando hay más de una institución involucrada cada nombre irá seguido de la indicación (número en superíndice y entre paréntesis) de su lugar de trabajo. Luego de los nombres de los autores, en bastardilla, figuran esas instituciones, cada una precedida del número correspondiente en superíndice.

#### ARTÍCULO ORIGINAL

ACCIONES MOLECULARES DE LA HORMONA PARATIROIDEA EN EL TUBULO DISTAL DEL POLLO RAQUITICO

JUAN GOMEZ,<sup>(1)</sup> TERESA GUTIÉRREZ,<sup>(1)</sup> LUIS GONZÁLEZ<sup>(2)</sup>

<sup>1)</sup> Cátedra de Farmacología y <sup>2)</sup> Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Oriente Medio, Ciudad de Medina, ...

#### **Luego un título acortado, para cabeza de página, por ejemplo:**

Raquitismo y hormona paratiroidea

Dirección postal: Dr Luis Gonzalez. Cátedra de Fisiología, Fac Ciencias Médicas

Dr. Ricardo Finocchietto 4456. Medina CP ABQ 1566,

Correo electrónico: [luis.gonzalez@catfisisio.facmed.org.ar](mailto:luis.gonzalez@catfisisio.facmed.org.ar)

#### **Otras indicaciones útiles:**

Cuando emplee sub o superíndices hágalo con las facilidades que le brinda el programa (formato), y no ajustando el tamaño de los caracteres. Los símbolos y caracteres en otro idioma pueden hallarse en los procesadores de texto. Si no hallara el que Ud. necesita, acláralo en el mensaje electrónico que acompaña el envío. No justifique el margen derecho. No dé espacios o tabulados, ni separe forzosamente las líneas dentro de un párrafo, pero sí use la tecla "entrar" al final de cada párrafo (punto y aparte) y después de los títulos. Deje sólo un espacio entre palabras y entre oraciones, como en lo que está leyendo ahora. Use números arábigos en superíndice, sin paréntesis, para las referencias en el texto.

Deje un espacio entre la última letra del texto y el número en superíndice, y si éste o éstos van al final de una oración, agregue el punto final antes y no después. Ejemplo: "...surjan nuevas alternativas terapéuticas de mayor eficacia.<sup>38, 39</sup> "

Para encolumnar las tablas no dé espacios sino tabulados. Numere siempre las páginas de su trabajo con el numerador automático de su programa de texto.

Para mayor información: consultar a: [asanchez@cimero.org.ar](mailto:asanchez@cimero.org.ar)