

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 9, Nº 3 - septiembre / diciembre 2013

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



30 años de Investigación, Docencia y Asistencia



A.A.O.M.M.

(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)

ISSN 1669-8975 (Print);
ISSN 1669-8983 (Online)
Revista Cuatrimestral
Rosario (Santa Fe), Argentina
www.osteologia.org.ar

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.



Adriana Trossero
Los lirios del campo (2002)
Acuarela sobre papel 120 x 90 cm
Cortesía de la autora

VOL. 9, Nº 3
septiembre / diciembre 2013
ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)
www.osteologia.org.ar
Rosario (Santa Fe), Argentina

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



ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 9, Nº 3

septiembre / diciembre 2013

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

www.osteologia.org.ar

Rosario (Santa Fe), Argentina

Aparición: cuatrimestral

Directora: Luisa Carmen Plantalech

Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires. Juan D Perón 4190, Ciudad de Buenos Aires (C1181ACH), Argentina.

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

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

www.aaomm.org.ar / info@aaomm.org.ar

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

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

Esta es una revista de Acceso Abierto (*Open Access*). Todo el contenido es de acceso libre y gratuito. Los usuarios pueden leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor. Sin embargo, los derechos de propiedad intelectual deben ser reconocidos, y para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciado, indicando la autoría y la fuente bibliográfica. Asimismo, para la reproducción escrita del material de la revista se deberá solicitar la autorización pertinente.

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

Actualizaciones en Osteología is the scientific journal of the Argentina Association of Osteology and Mineral Metabolism (AAOMM). Accept for publication papers written in Spanish or English about clinical and experimental aspects within the osteology and mineral metabolism. The articles should be original, meet the uniform requirements for manuscript submission and be included in some sections of the journal (Original Articles, Review Articles, Short Communications, Case Reports, Consense Document and Osteology Education, Controversies, Images in Osteology, Editorials, Letters to Editor, Bibliographic Comments, Cultural Section).

The articles published in Actualizaciones en Osteología are indexed in EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Regional Information System for Scientific Journals Online of Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal), LILACS (Latin American Literature in Health Sciences), BIREME (Latin American and Caribbean Center on Health Sciences), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) and SIIC data Bases (Iberoamerican Society Scientific Information).

This is an Open Access journal. All content is freely available without charge. Users are allowed to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of the articles in this journal without asking prior permission from the publisher or the author. However, intellectual rights should be acknowledged, and to that purpose, any reproduction of the contents of any article of this Journal should be duly referenced, stating the authorship and the bibliographical source. Also, for written reproduction a Journal authorization must be request.

The content and opinions expressed in articles published are the sole responsibility of the authors.

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

DIRECTORA

Luisa Carmen Plantalech

Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina. editora-responsable@osteologia.org.ar

DIRECTORES ASOCIADOS

Lucas R. M. Brun

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina. editor-asociado@osteologia.org.ar

Alfredo Rigalli

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). editor-asociado@osteologia.org.ar

SECRETARIA DE REDACCIÓN

María Lorena Brance

Centro de Reumatología, Rosario, Argentina. redaccion@osteologia.org.ar

CORRECTORA DE TEXTO

Prof. María Isabel Siracusa. maisasiracusa@yahoo.com.ar

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

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

Teresita Bellido

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

Ricardo Boland

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

Haraldo Claus Hermsberg

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

Adriana Dusso

Investigador Senior. Laboratorio de Nefrología Experimental. IRB Lleida (Instituto de Investigaciones Biomédicas de Lleida). Fundacion Privada Dr. Pifarré y Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Facultad de Medicina. Universidad de Lleida. Lleida. España.

José Luis Ferretti

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

Carlos Mautalen

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

José Luis Millán

Sanford-Burnham Medical Research Institute. La Jolla, CA, USA.



Armando Negri

Profesor de Fisiología y Medicina. Profesor de la cátedra de postgrado en Osteología. Universidad del Salvador. Médico osteólogo y nefrólogo. Médico de Planta senior. Instituto de Investigaciones Metabólicas.

Beatriz Oliveri

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

Lilian I. Plotkin

Assistant professor, Department of Anatomy & Cell Biology Adjunct Professor. Indiana University School of Medicine. Indianapolis, USA.

Rodolfo Puche

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

Emilio Roldán

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

Ana Russo de Boland

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

Nori Tolosa de Talamoni

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

Helena Salerni

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

Julio Ariel Sánchez

Médico Director, Centro de Endocrinología. Rosario, Argentina.
Ex-director Actualizaciones en Osteología 2005-2012.

Eduardo Slatopolsky

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

José R. Zanchetta

Director de la Maestría de Osteología y Metabolismo Mineral de la Escuela de Posgrado de la Facultad de Medicina, Universidad del Salvador. Director del Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Argentina.



**AUTORIDADES DE AAOMM
COMISIÓN DIRECTIVA 2014-2015**

Presidente

Dra. Virginia Massheimer

Vicepresidente

Dra. Cristina Tau

Secretaria

Dra. Susana Morelli

Tesorera

Dra. Maria Belén Rauschemberger

Vocales

Dra. Gabriela Diaz Barboza

Dra. Mirena Butazzoni

Dra. Lorena Brance

Dr. Adrián Campelo

Dr. Pablo Cutini

Dra. Virginia Lezcano

Dra. Graciela Santillán

Dra. Marisa Sandoval

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 9, Nº3, septiembre / diciembre 2013

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral. Sus 30 años

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral. Sus 30 años

Carlos Mautalen

239

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLOGÍA / Consense Documents and Osteology Education

Valoración del riesgo de fractura a diez años mediante algoritmo computarizado (FRAX®). Usos y limitaciones en la práctica clínica

Posición Oficial ISCD-IOF.

Traducción al castellano: Dra. Diana Wiluzanski

241

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Efecto de una mezcla de galactooligosacáridos (GOS) / fructooligosacáridos (FOS) sobre la absorción intestinal y retención ósea de calcio, fósforo y magnesio: modelo experimental en ratas durante el crecimiento normal

Effect of a mixture of galactooligosaccharides (GOS) / fructooligosaccharides (FOS) on the intestinal absorption and bone retention of calcium, phosphorus and magnesium: experimental model in rats during normal growth

Gabriel Bryk, Magalí Zeni Coronel, Daniela Medina, Gretel Pellegrini, María Luz Pita Martín de Portela, Susana Noemí Zeni

245

Efectos vasculares de raloxifeno y alendronato

Vascular effects of raloxifene and alendronate

María Belén Rauschemberger, Pablo Hernan Cutini, Marisa Julia Sandoval, Virginia Laura Massheimer

257

Osteoporosis inducida por corticoides: tratamiento preventivo en la población de un sistema cerrado de salud

Glucocorticoid -induced osteoporosis: prevalence of preventive treatment in population of a closed health system

Carolina Carrizo, Gustavo Vidal, Luisa Plantalech

268

ACTUALIZACIONES / Reviews

El tejido óseo esponjoso y su evaluación por medio de imágenes

Trabecular bone and its evaluation through images

Rodolfo C. Puche

277

**IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / *Imaging in Osteology***

Mastocitosis sistémica*Systemic mastocytosis*

María Diehl, Ana Morandi, Luisa Plantalech

288

Grave alteración de la micro arquitectura ósea en síndrome de Sudeck*Severe bone microarchitecture deterioration in Sudeck syndrome*

María Belén Zanchetta

290

Osteogenesis imperfecta tipo V y tumor en pie izquierdo*Imperfect osteogenesis type V and tumor in left foot*

Luisa Plantalech

292

CONTROVERSIAS / *Controversies*

Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios in vivo, in vitro o in silico?*Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios in vivo, in vitro o in silico?*

Brenda Lorena Fina, Mercedes Lombarte, Alfredo Rigalli

294

CASUÍSTICAS / *Case Reports*

**Hipofosfatemia severa asociada a regeneración tisular
posnecrosis hepática en paciente con SIDA***Severe hypophosphatemia associated to tissue regeneration after
hepatic necrosis in a patient with AIDS*Lorena R. Katzin, Mónica L. Drnovsek, Paula Guido, María Laura Eugenio Russman,
Lucas Gutnisky, Mónica A. Ercolano

300

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control and bone*Front Endocrinol 2013*

Gabriela Picotto

307

SECCIÓN CULTURAL / *Cultural Section*

El lenguaje de los huesos. Los restos de Sor Juana Inés de la Cruz*El lenguaje de los huesos. Los restos de Sor Juana Inés de la Cruz*

Osvaldo F. Sánchez

310

NOVEDADES / *News*

312

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / *Information for Authors*

314

ÍNDICE ACUMULADO / *Cumulative Index*

317

EDITORIAL / Editorial

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE OSTEOLOGÍA Y METABOLISMO MINERAL: SUS 30 AÑOS

Carlos Mautalen*

Socio Fundador y Honorario. Expresidente AAOMM

La AAOMM acaba de celebrar su XXX Reunión Anual y cumplir 30 años de continuada labor a partir de su fundación en julio de 1983. Es para mí sumamente grato recordar sus inicios, las premisas que guiaron su formación (y que la continúan guiando), las tareas cumplidas, su sólido presente y su futuro.

El reducido grupo que pensó que era posible formar una sociedad argentina que agrupara a los, por entonces, pocos centros dedicados a las investigaciones del metabolismo óseo y mineral, tomó como guía la *American Society for Bone and Mineral Research* (ASBMR) formada en Estados Unidos en 1979. Esta sociedad requería que sus miembros contaran con antecedentes en investigación, celebraba una reunión anual –en sus inicios solo dos días de duración– cuyo motivo principal eran la presentación y discusión de las investigaciones de sus asociados. Su presidente tenía mandato de un año de duración y no era nunca reelegido. Con ese espíritu, preparamos con Ariel Sánchez los reglamentos preliminares, finalmente aprobados en julio de 1983 en una nueva reunión celebrada en un aula de la Cátedra de Anatomía Patológica (Universidad de Buenos Aires). Fue posiblemente un acierto la denominación “Osteología” con el significado de “Rama de la medicina que estudia la anatomía, fisiología, fisiopatología y clínica de las enfermedades óseas”, desechando la definición vigente que se limitaba solo a la “anatomía”. El término “osteología” fue adoptado más tarde por la Sociedad Iberoamericana y otras sociedades latinoamericanas como la de Chile y Colombia.

La AAOMM se presentó en sociedad el 10 de noviembre de 1983 –gracias al apoyo de Sandoz, empresa que también apoyó significativamente la formación de la ASBMR– con una reunión matinal en la que hablaron G. Mundy, C. Gennari y C. Nagant, tres excelentes especialistas que habían participado los dos días anteriores en un Simposio Calcitonina.

La primera Reunión Anual se celebró en Rosario en 1984. A partir de entonces, todos los años sin interrupción realizó sus reuniones anuales, en las que los grupos iniciales presentaban todos sus trabajos, aun los preliminares, para estimular la discusión y también para contribuir a alcanzar un volumen importante de trabajos en cada reunión.

* Correo electrónico: drmautalen@osteomed.com.ar



Aproximadamente una década después de la formación de la AAOMM, la especialidad experimentó una notable expansión debida a los estudios de densitometría y a la aparición de nuevos medicamentos para el tratamiento de la osteoporosis. Simultáneamente se formó en nuestro medio una sociedad con similar enfoque, que en teoría competía intensamente con la AAOMM por sus recursos humanos y posibles apoyos económicos.

Sin embargo, lejos de debilitarse, la AAOMM mantuvo sus premisas iniciales y se consolidó como el foro que agrupa a todos aquellos que efectúan investigaciones básicas y clínicas relacionadas con todos los aspectos del metabolismo óseo y mineral.

En las últimas décadas, la AAOMM emprendió nuevas actividades que, sumadas a la reunión anual, aumentaron su inserción internacional y nacional.

A partir de 1996, los mejores trabajos presentados en la reunión anual se publican en inglés en la prestigiosa revista *Bone*, dando así a conocer internacionalmente los resultados de las investigaciones efectuadas en el país.

En 2005 comenzó la publicación de la revista *Actualizaciones en Osteología*, órgano oficial de la AAOMM. “Actualizaciones”, de excelente contenido en castellano o inglés y lujosa impresión, aparece cuatrimestralmente y no ha sufrido ninguna interrupción. Publica editoriales, trabajos originales básicos y clínicos, revisiones de temas de actualidad, casos clínicos e imágenes de patologías óseas. Además ya está indexada en una serie de portales internacionales. Desde ese enfoque también debe destacarse la pertenencia de la AAOMM a las siguientes asociaciones internacionales: la *International Bone and Mineral Society*, la *International Osteoporosis Foundation*, la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral y la *European Society for Calcified Tissue*.

Otro acierto notable ha sido la realización de ateneos clínicos –con toda justicia denominados “Dr. Günther Fromm”– en colaboración con entidades locales en distintos puntos del país. Basta enumerar las ciudades en las que se celebraron en los dos últimos años –Rosario, Corrientes, Bahía Blanca, Bariloche, Mendoza, Jujuy y Buenos Aires– para acreditar su significativa trascendencia.

Considero que uno de los objetivos más loables de la AAOMM es la reciente decisión de participar junto con la Sección Osteología del Hospital Italiano en el Curso Superior de Osteología, de dieciocho meses de duración –dictado los primeros viernes y sábados de cada mes para facilitar la concurrencia de candidatos del interior del país– y que abarca en cuatro módulos sucesivos todas las enfermedades óseas y del metabolismo mineral.

La misma participación de la AAOMM y de la Sección Osteología (Endocrinología) del Hospital Italiano se planifica en una futura (a breve plazo) “Carrera de Especialización en Osteología” de dos años de duración, que otorgará el título de especialista en osteología de jerarquía universitaria.

Todos los temas mencionados de docencia y publicaciones aseguran un sólido desarrollo futuro de la AAOMM, cuya importancia presente se ha evidenciado en la XXX Reunión Anual: más de 500 concurrentes escucharon y discutieron –además de las conferencias y mesas redondas– alrededor de 40 comunicaciones presentadas esta vez por cerca de 20 centros o grupos de investigación de nuestro país.

Finalizaría esta breve reseña manifestando que el pequeño grupo de impulsores de un proyecto bastante quimérico –la formación de la AAOMM cuando la especialidad era casi desconocida– podemos sentirnos gratificados. La Asociación ha crecido considerablemente, está involucrada en importantes tareas de docencia y difusión, y una nueva generación de entusiastas investigadores y especialistas asegura una exitosa proyección futura.

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLOGÍA
Consense Documents and Osteology Education

VALORACIÓN DEL RIESGO DE FRACTURA A DIEZ AÑOS MEDIANTE ALGORITMO COMPUTARIZADO (FRAX®). USOS Y LIMITACIONES EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Posición oficial ISCD-IOF

Traducción al castellano: Diana Wiluzanski *
Centróseo (Montevideo, Uruguay)

Introducción

La valoración del riesgo de fracturas mediante un algoritmo computarizado (*Fracture Risk Assessment Tool* -FRAX®- en inglés) es una herramienta diseñada para estimar la probabilidad de presentar una fractura mayor por osteoporosis (cadera, vertebral clínica, húmero, muñeca) en un periodo de diez años. Fue desarrollada por el Centro de Colaboración de la Organización Mundial de la Salud para Enfermedades Óseas Metabólicas.

La probabilidad de fractura a diez años deriva de dos factores: el riesgo de fractura y el riesgo de muerte en el período. El primero se calcula teniendo en cuenta la edad, sexo, índice de masa corporal y categorías dicotómicas de factores de riesgo: previa fractura, antecedentes de padres con fractura de cadera, uso prolongado de corticoides, tabaquismo, artritis reumatoidea, osteoporosis secundarias, consumo excesivo de alcohol, densidad mineral ósea de cuello femoral (opcional). La expectativa de vida es un factor de importancia pues

a mayor tiempo de sobrevivida mayor probabilidad de fracturas y a la inversa. Por otra parte muchos de los factores de riesgo antes mencionados favorecen una muerte prematura incluido el riesgo de fractura per se.¹

La probabilidad de fractura calculada por FRAX® varía con las diferentes etnias y factores socioeconómicos. Esta herramienta requirió adaptaciones en distintos países. Desde su lanzamiento (2008) hasta la fecha está disponible en 52 países.

Distintas apreciaciones de investigadores y médicos asistenciales establecieron fortalezas y debilidades de FRAX. La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) y la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF) destinaron un panel de expertos para consensuar alcances y limitaciones de este método. Un documento cuya síntesis se presenta en esta sección da cuenta de este trabajo. Se destaca que los puntos 2 al 14, 21 y 22 puntualizan limitaciones del FRAX; las consideraciones 15 al 20 argumentan pro y contras sobre la utilidad

* Correo electrónico: centroseo@netgate.com.uy



de la densitometría ósea en el algoritmo. En los enunciados 23 al 28 se establecen certezas y consejos para el uso internacional de este instrumento.

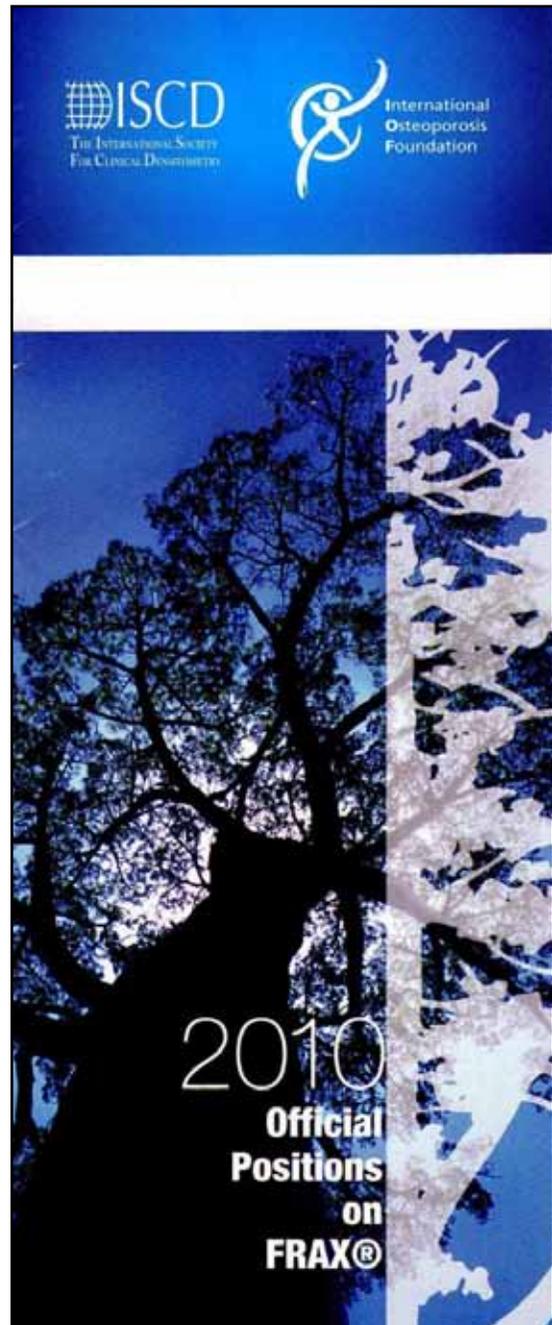
El FRAX es una herramienta en discusión y requiere mejor adaptación a países con escasos datos epidemiológicos de riesgo de fracturas y de mortalidad. El médico asistencial debe tener una mirada crítica, considerar como un dato cuantitativo más para evaluar a los pacientes, conocer sus alcances y sus inconvenientes.

Los editores de Actualizaciones en Osteología agradecen a la Dra. Diana Wiluzanski del Centróseo (Montevideo, Uruguay) la traducción al castellano de las conclusiones de la Conferencia de Desarrollo de Posiciones del FRAX realizada en 2010.

INTERPRETACIÓN Y USO DEL FRAX® EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Posición oficial de la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) y la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF).

La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) y la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF) convocaron el 14 de noviembre de 2010 en Bucarest (Rumania), a la Conferencia de Desarrollo de Posiciones del FRAX® (CDP), en la que analizaron y discutieron la “Interpretación y el uso de FRAX® en la práctica clínica”. En estos tres días de debates y discusiones dirigidos por un panel de expertos internacionales de la ISCD, la IOF, y de destacados equipos de trabajo, se aclararon aspectos importantes relacionados a la interpretación y aplicación del FRAX® en la práctica clínica. Las posiciones oficiales resultantes de la CDP están destinadas a mejorar la calidad y utilidad clínica de la evaluación del riesgo de fractura a nivel mundial. Como el campo de la valoración del esqueleto es nuevo y se encuentra en constante desarrollo, algunos aspectos de importancia clínica abordadas en la CDP no están asociados a una sólida evidencia



médica. Por lo tanto algunas Posiciones Oficiales están basadas en opinión de expertos. A pesar de las limitaciones inherentes a cualquier proceso similar, la ISCD y la IOF creen que es importante ofrecer a médicos y técnicos la mejor síntesis de los conocimientos actuales en la disciplina de la densitometría ósea, y proporcionar guías a la comunidad científica, donde aún son necesarias más investigaciones a fin

de resolver áreas de ambigüedad y/o permanente controversia.

La ISCD y la IOF reconocen los extraordinarios esfuerzos de los Presidentes y miembros del Grupo de Trabajo de la CDP que representaron a un distinguido grupo de expertos internacionales. La dedicación de estas personas ha sido ejemplar en los dos últimos años.

Conclusiones de la Conferencia de Desarrollo de Posiciones del FRAX® (CDP), Bucarest, 2010

1- El FRAX es un algoritmo computarizado que emplea factores de riesgo clínicos para estimar la probabilidad individual de fractura a 10 años. Puede ser utilizado por médicos clínicos para identificar pacientes con riesgo aumentado de fractura.

2- El grado de deterioro funcional en pacientes con artritis reumatoidea podría considerarse un factor de riesgo para fracturas clínicas. En dichos pacientes el FRAX subestimaría la probabilidad de fractura.

3- No existe evidencia consistente de que la medicación no corticoidea para la artritis reumatoidea modifique el riesgo de fractura.

4- Aunque hay evidencia de que la duración e intensidad del tabaquismo impactarían en el riesgo de fractura, no es posible cuantificarlo.

5- Las caídas son un factor de riesgo de fracturas, pero no se adaptan como una variable para ingresarlas en el presente modelo de FRAX. La probabilidad de fractura podría estar subestimada en personas con historia de caídas frecuentes, pero actualmente no es posible la cuantificación de dicho riesgo.

6- Existe una relación entre el número de fracturas previas y el subsecuente riesgo de fractura. El FRAX subestimaría la probabilidad de fractura en personas con historia de múltiples fracturas.

7- Hay una relación entre la severidad de una fractura vertebral previa y el riesgo de frac-

tura. El FRAX podría subestimar la probabilidad de fractura en personas con fracturas vertebrales severas prevalentes.

8- Aunque hay evidencias de que las fracturas de cadera, de vértebras y de húmero confieren un riesgo mayor de subsecuentes fracturas que la de otros sitios, no es posible mediante el FRAX cuantificar el aumento de este riesgo.

9- La historia familiar de una fractura por fragilidad que no sea de cadera podría ser un factor de riesgo para fractura. El FRAX subestimaría la probabilidad de fractura en personas con historia familiar de fracturas por fragilidad que no sean de cadera.

10- No es concluyente la evidencia de que los marcadores de remodelación ósea predicen el riesgo de fractura independientemente de la DMO. Por lo tanto no están incluidos entre los factores de riesgo del FRAX.

11- Existe una relación entre la dosis de los glucocorticoides usados por más de 3 meses y el riesgo de fractura. El rango de dosis mejor ponderado para ser incluido en el FRAX sería entre 2,5 y 7,5 mg/día de prednisona o su equivalente. La probabilidad de fractura podría estar subestimada cuando la dosis diaria de prednisona es mayor de 7,5 mg y sobreestimada cuando es menor a 2,5 mg.

12- El uso frecuente intermitente de altas dosis de glucocorticoides aumenta el riesgo de fractura. No es posible cuantificar este riesgo debido a la variabilidad de dosis y de planes de dosificación.

13- Dosis altas de glucocorticoides inhalantes podrían considerarse un riesgo de fractura. El FRAX podría subestimar la probabilidad de fractura en quienes consumen altas dosis de glucocorticoides inhalantes.

14- No se ha demostrado que el reemplazo adecuado de glucocorticoides en individuos con insuficiencia suprarrenal aumente el riesgo de fractura. En estos pacientes, el uso de glucocorticoides no debería ser incluido en los cálculos del FRAX.

15- Mediciones de DMO o T-score que



no sean las de cuello femoral adquiridas por Absorciometría Dual de Rayos X (DXA) no son recomendadas para el FRAX.

16- El FRAX subestimaría o sobreestimaría el riesgo de una fractura osteoporótica cuando el T-score de la columna lumbar fuera mucho más bajo o alto que el T-score del cuello de fémur (≥ 1 desvío estándar de discrepancia).

17- Un procedimiento que considere la diferencia entre los T-scores de la columna lumbar y el cuello femoral mejoraría la predicción de riesgo de fractura en la versión actual del FRAX.

18- Las manifestaciones 2010 de la CDP de la ISCD en la predicción del riesgo de fractura y la aplicación del Ultrasonido Cuantitativo de talón (QUS) se apoyan en mayor nivel de evidencia en hombres y en mujeres que las disponibles en 2007.

19- Los equipos de QUS de talón validados actualmente, utilizando criterios definidos en la CDP de la ISCD del 2007, predicen de manera similar el riesgo de fractura.

20- El FRAX con la DMO predice mejor el riesgo de fractura que los factores de riesgo clínicos o la DMO por separado. El uso del FRAX sin DMO es apropiado cuando no se dispone fácilmente de la DMO, y sirve para identificar personas que se beneficiarían con la medición de la DMO.

21- No es apropiado el uso del FRAX para monitorear la respuesta al tratamiento.

22- La evidencia de que los marcadores de pérdida ósea pueden utilizarse como un factor de riesgo de fractura es contradictoria. Por lo tanto esos marcadores no se incluyen entre los factores de riesgo del FRAX.

23- Están disponibles modelos de FRAX individuales para hispánicos, negros y asiáticos que viven en los EE. UU., debido a que las tasas de fracturas de cadera y de fracturas osteoporóticas mayores son más bajas en esos grupos étnicos que en los blancos de ese país. Hasta que se disponga de nuevos datos, deberían usarse los cálculos de FRAX para caucásicos de EE. UU. con el fin de valorar el riesgo de fractura de las mujeres nativas de los EE. UU.

24- Se esperan cambios en los índices de fractura, de mortalidad y en la calidad de la información. Por lo tanto se recomienda realizar actualizaciones periódicas de las tasas de fracturas propias de cada país basados en el modelo de FRAX.

25- Existe una significativa variabilidad en las tasas de fractura de cadera en todo el mundo. El requerimiento mínimo para construir un modelo de FRAX específico para el país es poseer información de buena calidad y que la misma sea representativa de las cifras de incidencia de fractura de cadera del país.

26- La precisión de los modelos de FRAX ha sido mejorada con la inclusión de índices de otras importantes fracturas osteoporóticas (de vértebra, húmero y antebrazo distal) específicas de cada país según edad y sexo.

27- En ausencia de datos nacionales de buena calidad de fracturas de cadera, un modelo de FRAX específico de un país puede construirse usando las tasas de incidencia de fractura de un país que disponga de un modelo similar, pero incorporándole los índices de mortalidad específicos de dicho país.

28- En ausencia de datos de fractura de cadera, se recomienda el desarrollo de modelos de FRAX basados en amplias categorías de riesgos de fractura (por ej.: bajo, mediano, alto) ajustados por índices de mortalidad específicas del país.

Las Posiciones Oficiales de ISCD-IOF son aplicables en todo el mundo. Pueden ser descargadas de los sitios web de la ISCD y IOF: www.iscd.org y www.iofbonehealth.org

Referencias

1. Kanis JA, FRAX®: Assessment of fracture risk. Chapter 34. Primer on Metabolic Bone disease and Disorders of Mineral Metabolism, Eight Edition. Edited by Clifford Rosen 2013 American Society for Bone and Mineral research. Washington, Wiley & Sons, Inc.

ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

EFECTO DE UNA MEZCLA DE GALACTOOLIGOSACÁRIDOS (GOS) / FRUCTOOLIGOSACÁRIDOS (FOS) SOBRE LA ABSORCIÓN INTESTINAL Y RETENCIÓN ÓSEA DE CALCIO, FÓSFORO Y MAGNESIO: MODELO EXPERIMENTAL EN RATAS DURANTE EL CRECIMIENTO NORMAL

Gabriel Bryk,^{1,2*} Magalí Zeni Coronel,² Daniela Medina,² Gretel Pellegrini,^{1,2} María Luz Pita Martín de Portela,³ Susana Noemí Zeni^{1,2}

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

Resumen

Según las últimas encuestas nutricionales, la ingesta de calcio (Ca) está por debajo de las recomendaciones diarias internacionales. El aumento en la absorción y biodisponibilidad sería una estrategia ante la baja ingesta para prevenir efectos negativos sobre la masa ósea. Los galactooligosacáridos (GOS) y fructooligosacáridos (FOS) favorecen la absorción activa y pasiva de Ca. Objetivo: evaluar el efecto de GOS/FOS®, sobre la absorción y retención de Ca, magnesio (Mg) y fósforo (P) en un modelo experimental de ratas normales en crecimiento. Métodos: al destete, ratas machos Wistar recibieron: AIN93-G (A) o las siguientes fórmulas lácteas: Nutrilon (N), Vital (V) y Nutrilon Sin Lactosa (NSL) hasta los 40 días. N y NSL contienen 5,3% de GOS/FOS®, y V contiene los mismos nutrientes que N sin la mezcla prebiótica. Se evaluaron consumo

de alimentos, absorción de Ca, Mg y P (mg/d y %) y desarrollo de lactobacilos; tras el sacrificio se midieron pH cecal, contenido mineral en fémur (CMF), biomecánica ósea y parámetros densitométricos (Lunar DXA). Resultados: el desarrollo de lactobacilos aumentó y el pH cecal disminuyó en los grupos N y NSL respecto de A y V ($p < 0,0001$). La absorción de Ca, Mg y P aumentó significativamente ($p < 0,05$) al igual que el CMF ($p < 0,05$), los parámetros densitométricos ($p < 0,01$) y biomecánicos ($p < 0,05$). Conclusión: la mezcla GOS/FOS® utilizada favoreció la absorción de Ca, Mg y P, lo que indujo una mayor retención de mineral en hueso; esto asegura su efecto para suministrar una cantidad extra de Ca para favorecer la salud ósea.

Palabras clave: calcio, fósforo, magnesio, galactooligosacáridos (GOS)/fructooligosacáridos (FOS), absorción, retención ósea.

* Dirección Postal: Av. Córdoba 2351 - 8vo. Piso (1120) Buenos Aires. Argentina.
Correo electrónico: snzeni@hotmail.com



Summary

EFFECT OF A MIXTURE OF GALACTOOLIGOSACCHARIDES (GOS) / FRUCTOOLIGOSACCHARIDES (FOS) ON THE INTESTINAL ABSORPTION AND BONE RETENTION OF CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM: EXPERIMENTAL MODEL IN RATS DURING NORMAL GROWTH

Calcium requirements are generally not covered regardless of age and socioeconomic status. Increase Ca intake would be adequate to prevent deficiency; however, if it is not possible, to increase intestinal absorption would be an useful tool to obtain an extra-supply of mineral. Colonic flora fermentation of galactooligosaccharides (GOS) and fructooligosaccharides (FOS) enhances active and passive Ca absorption. Objective: to evaluate GOS/FOS® effect on Ca, Mg and P absorption and retention in an experimental growing rat model. Methods: At weaning, Wistar male rats (n = 8) received AIN93-G (A), Vital, Nutrilon or Nutrilon Lactose Free (N, V and NSL respectively) formula milks until 40 days of life. NSL and N supplies 5.3% of GOS / FOS® while A and V does not. Food consumption, Ca, Mg and P absorption, and lactobacilli development in fresh feces was evaluated weekly; caecum pH, femur mineral content and biomechanical, total skeleton mineral and subareas of bone mineral content and density (BMC, BMD) (Lunar DXA) were measured after sacrifice. Results: No significant differences in caloric terms of food consumption were found among groups. N and NSL increased lactobacilli development ($p < 0.0001$); reduced caecum pH ($p < 0.0001$); increased Ca, Mg and P absorptions ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.0005$, respectively); femur mineral content ($p < 0.05$); total skeleton BMC and tibia BMD ($p < 0.01$) and biomechanical parameters ($p < 0.05$) vs. A and V.

Conclusion: The mixture GOS / FOS® supplied an extra amount of bone minerals that benefited bone acquisition.

Key words: *calcium, phosphorous, magnesium, galactooligosaccharides (GOS)/fructooligosaccharides (FOS), absorption, bone retention.*

Introducción

El mantenimiento de la homeostasis del calcio (Ca) es vital para maximizar el pico de masa ósea que se alcanza al final del crecimiento y, más adelante, limitar la pérdida que normalmente ocurre en la edad adulta.¹ La hipocalcemia induce la secreción de la hormona paratiroidea (PTH), que aumenta la resorción ósea para normalizar los valores de Ca en sangre. Este efecto, con el tiempo, se traduce en una pérdida de masa ósea que afectará negativamente la salud del hueso.²

La leche y sus derivados constituyen la mayor fuente de Ca; sin embargo, existe una tendencia en la juventud a reemplazar este tipo de alimentos por otros deficientes en Ca introduciendo un factor de riesgo para la pérdida de masa ósea a largo plazo.³ En este contexto, el comité de nutrición de Estados Unidos concluyó que la ingesta de calcio (ICa) cae del 80 al 50% en niños entre 1-5 años.⁴ Este hecho se traduce en la existencia de un alto porcentaje de la población mundial, incluidos los niños, que no cubren su recomendación diaria, a pesar de la importancia de una óptima ICa.⁵ Según la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS) realizada en la Argentina durante 2004-2006, la insuficiencia en la ICa alcanzó un 16-21% en niños y se eleva aún más en mujeres en edad fértil.^{6,7}

El incremento de la ICa sería lo más eficaz para prevenir su deficiencia/insuficiencia nutricional. Si ello no es posible, el aumento en la absorción intestinal se convertiría en una estrategia sencilla para aumentar la biodisponibilidad de dicho mineral. En este sentido, se debe recordar que la mayor parte de la absorción de Ca se produce en el intestino delgado, aunque alrededor del 10% podría ocurrir en el colon.⁸

Los oligosacáridos no digeribles (OND) constituyen la principal fuente de glúcidos después de la lactosa en la leche materna.⁹ Los OND con función prebiótica tienen la propiedad de actuar benéficamente en el colon del huésped estimulando el crecimiento y/o la actividad de un número selectivo de bacterias sacarolíticas que generan ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y gases.¹⁰ La liberación de AGCC desciende el pH y aumenta la solubilidad de diferentes sales de Ca y con ello su absorción.¹¹ Por otra parte, uno de los AGCC, el ácido butírico, presenta un efecto trófico sobre los colonocitos aumentando la profundidad y densidad de las criptas colónicas, y con ello la absorción paracelular/transcelular de minerales.^{12,13} Este incremento en la absorción colónica aumentaría la cantidad disponible de mineral que podría ser depositado en hueso si una cantidad adicional de P también fuera absorbida, con lo cual se mejoraría la adquisición de masa ósea en los niños y se evitaría la pérdida en la edad adulta.^{14,15}

Sobre estas bases se estudió el efecto de una mezcla de GOS/FOS®, actualmente utilizada en fórmulas lácteas, sobre la absorción intestinal y la retención ósea de Ca, P y Mg en un modelo experimental de ratas en crecimiento.

Materiales y métodos

Animales

Se utilizaron ratas Wistar machos al destete (~21 días de edad), con un peso comprendido entre 33-37 g, pertenecientes al bioterio de la Cátedra de Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Los animales fueron mantenidos de acuerdo con las normas de la Guía de Salud de Institutos Nacionales para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (ILARCLS, 1996). El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad de Buenos Aires (Res. CS 4081/04).

Las ratas fueron colocadas en jaulas de acero inoxidable respetando los ciclos de

luz-oscuridad de 12 horas, con temperatura controlada en 21 ± 2 °C y 55% de humedad relativa. Tanto el alimento como el agua fueron administrados *ad libitum*. Al finalizar la experiencia, los animales fueron sacrificados por punción cardíaca, previa anestesia con solución de clorhidrato de ketamina (50 mg/ml) (Holliday-Scott SA, Argentina) inyectada vía intraperitoneal (IP) en una dosis de 0,1 ml/100 g peso corporal (PC), conjuntamente con 0,02 ml de clorhidrato de xilacina (Xilacina, Lab Richmond, Div. Veterinaria SA, Argentina).

Dietas

Un total de 32 ratas (8 por grupo) recibieron desde el destete hasta los 40 días de edad una de las 4 dietas experimentales ensayadas (Tabla 1): la dieta control (A) fue preparada de acuerdo con las recomendaciones del American Institute of Nutrition (AIN93'G) del año 1993.¹⁶ Dicha dieta satisface los requerimientos nutricionales de los animales durante el crecimiento. Las otras 3 dietas fueron fórmulas lácteas comerciales en polvo: Nutrilon, Vital y Nutrilon Sin Lactosa (N, V y NSL, respectivamente) (Nutricia-Bagó, SA). Estas dietas lácteas fueron adicionadas con minerales, vitaminas y proteínas hasta alcanzar los valores recomendados por AIN93'G. Las leches N y NSL contienen 5,3% de una mezcla de GOS/FOS®, mientras que la leche V contiene los mismos nutrientes que N sin la mezcla prebiótica. Mientras que N y V contienen ~50% de lactosa, las dietas A y NSL están libres de esta.

Métodos

Parámetros zoométricos y de absorción

Desde el destete y hasta el final de las experiencias se registró la ingesta de alimentos y el peso corporal con una frecuencia de dos veces por semana.

La absorción fue evaluada por metodología de balance, tanto al comienzo de la experiencia (T=0) como al finalizar el estudio (Tf=40). Para ello, los animales fueron colo-



Tabla 1. Composición de las dietas experimentales (Reeves PG. y col., 1993).

DIETA	A	V	N	NSL
Energía (Kcal)	400	474	462	462
Proteína (g)	17,8	17,8	17,8	17,8
Lípidos (g)	7	23	23	23
Mezcla de sales (g)	4		De acuerdo a AIN93'G	
Vitaminas* (g)	1		De acuerdo a AIN93'G	
Colina (g)	0,1		De acuerdo a AIN93'G	
Cisteína (g)	0,37		De acuerdo a AIN93'G	
Celulosa (g)	5	5	5	5
GOS/FOS®	0	0	5,3	5,3
Dextrina **		hasta completar 100g		

*Vitaminas hidro y liposolubles (componentes individuales de Sigma, Missouri, USA). Ergocalciferon 200UI%.

** Dextrina, agregada como fuente de carbohidrato para alcanzar 100g de dieta.

cados en jaulas metabólicas individuales de acero inoxidable, registrando durante 3 días consecutivos la ingesta de alimento y recolectando las heces. Con dichos parámetros se calculó la absorción aparente (AP) total (mg/d) y la AP como porcentaje de la ingesta (%A) de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$1) \quad AP = I - F$$

$$2) \quad \% AP = \frac{I - F}{I} \times 100$$

donde F: eliminación fecal e I: ingesta de alimento.

Las heces y dieta fueron digeridas con HNO₃ concentrado en microondas usando bombas Parr para la determinación de Ca, Mg y P.¹⁷

El Ca se determinó mediante absorción atómica empleando cloruro de lantano (concentración de 6500 ppm) como supresor de interferencias.¹⁸

El P y Mg se determinaron por colorimetría

utilizando los métodos habituales de laboratorio y un autoanalizador (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).

Pruebas microbiológicas y pH

A partir del destete y semanalmente se extrajeron heces frescas por estimulación anal, las cuales fueron inmediatamente transferidas a tubos estériles y homogeneizadas formando una suspensión fecal mediante el agregado de una solución *buffer* fosfato 0,1 M que contenía 0,5% de cisteína. Posteriormente, con el fin de cuantificar el desarrollo de colonias de lactobacilos, se realizaron diluciones sucesivas de dicha suspensión que se sembraron en medio de cultivo Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Britania, Argentina) selectivo y específico para lactobacilos y otras bacterias ácido-lácticas, utilizando la técnica de profundidad. La incubación se realizó en atmósfera aeróbica con 5-10% CO₂, a 35-37 °C durante 48 horas. Los lactobacilos fueron identificados por el desarrollo de pequeñas colonias de color

blancogrisáceo, lisas o rugosas. El recuento total de colonias por placa se informó como unidad formadora de colonias (UFC) y se expresó como log₁₀ UFC por gramo de heces. La confirmación morfológica fue realizada mediante tinción de Gram.

Luego del sacrificio se determinó el peso (Denver instrument, USA) y pH del ciego, este último directamente por inserción de un pHmetro calibrado (Adwa AD110, Hungría) en la luz cecal.

Determinaciones bioquímicas y biomecánicas en fémur

El fémur izquierdo fue removido luego del sacrificio; se limpió de todo resto muscular y se secó 72 horas a 100 °C. Se desengrasó con una mezcla de cloroformo-metanol (3:1), se secó y se evaluaron el peso y la longitud con una balanza analítica y con un Vernier, respectivamente. Los fémures así tratados se mineralizaron con una mezcla ácida de HCl-HNO₃ (1:1) hasta su completa disolución. Esta solución fue utilizada para evaluar Ca, Mg y P por los mismos métodos descriptos previamente.

El fémur derecho limpio de todo resto muscular se utilizó para pruebas biomecánicas. Dichas determinaciones fueron realizadas mediante el test de flexión de tres puntos en un equipo Instron 4411 de análisis universal de materiales. Se determinaron los siguientes parámetros diafisarios femorales: fuerza máxima de fractura, rigidez ósea y módulo de elasticidad.

Densitometría ósea

Previo al sacrificio se determinaron "in vivo" el contenido y la densidad mineral ósea (CMO y DMO, respectivamente) del esqueleto total (et) bajo anestesia débil mediante la técnica de DXA. El equipo utilizado consta de un software diseñado específicamente para evaluar pequeños animales (DPX Alfa, radiación Lunar Corp., Madison, WI).¹⁹ Todas las ratas fueron analizadas utilizando el mismo

tipo de exploración. La precisión del software fue evaluada por la medición de una misma rata cinco veces con reposición entre dos exploraciones en el mismo y en diferentes días. El coeficiente de variación fue de 0,9% para DMO de esqueleto total y el 3,0% para CMO. El análisis de las diferentes subáreas se realizó utilizando la imagen del animal visualizado en la pantalla de la computadora mediante operación manual delimitando una ventana específica (ROI) para cada segmento. El CV para DMO de columna lumbar (CL) fue de 1,8% y para tibia proximal (TP) fue de 3,5%. Todos los análisis fueron realizados por el mismo observador con el fin de reducir al mínimo la variación interobservador.²⁰

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media ± desvío estándar (DE). La normalidad de las variables fue evaluada mediante el test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Levene. Los datos normales fueron analizados mediante análisis de varianza (ANOVA) y aquellos que no presentaron distribución normal (desarrollo de lactobacilos) mediante el test de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Cuando se constató diferencia entre los distintos grupos se aplicó *a posteriori* el test de Bonferroni para determinar entre cuáles de los grupos se encontraban diferencias significativas. El cálculo estadístico de la absorción mineral por evaluarse solo dos grupos fue realizado mediante el test de Student. Los análisis se realizaron utilizando el programa SPSS 19.0 para Windows (SPSS, Inc. Chicago, IL). Un valor de $p < 0,05$ fue considerado significativo.

Resultados

Parámetros zoométricos

El grupo A (control) tuvo un promedio de consumo de alimentos (g/d) significativamente mayor que el resto de los grupos ($p < 0,05$) (Tabla 2); sin embargo, cuando se calculó la ingesta diaria en Kcal, no existieron diferen-



cias significativas entre los grupos. El PC no mostró diferencias significativas entre los 4 grupos ni al inicio ni al final de la experiencia (Tabla 2).

Desarrollo de lactobacilos, pH y peso cecal

Al comienzo de la experiencia, todos los grupos presentaron similar desarrollo de lactobacilos. Sin embargo, a partir de la primera semana y hasta finalizar la experiencia, los grupos que consumieron la mezcla GOS/FOS® aumentaron en forma significativa la cantidad de colonias de lactobacilos en comparación con los que recibieron dietas libres de prebióticos (Figura 1).

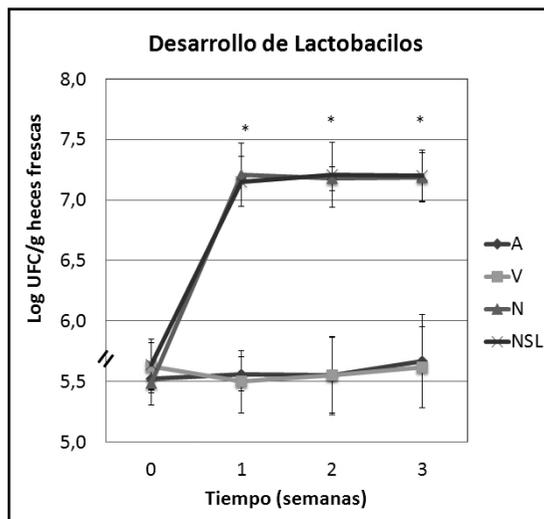


Figura 1. Efecto de la mezcla GOS/FOS sobre el desarrollo de lactobacilos (media \pm DE). * $p < 0,0001$ entre N-NSL vs A-V. Datos analizados mediante Kruskal Wallis y test "a posteriori" de Bonferroni.

El pH cecal fue significativamente inferior ($p < 0,0001$) en los grupos V, N y NSL respecto de A. La menor acidez cecal se observó en el grupo N ($p < 0,05$), mientras que los grupos V y NSL presentaron similar pH (Tabla 2).

Los grupos que consumieron la fórmula láctea que contenía lactosa (V y N) presentaron en ciego distintas zonas con gases, lo que imposibilitó su correcta pesada (Figura 2). El

peso cecal de NSL fue significativamente superior al de A ($p < 0,0001$).

Absorción aparente

Luego del consumo de dieta y durante 4 días, las ratas pertenecientes a los grupos V y N presentaron signos de diarrea. El motivo se atribuyó al elevado contenido de lactosa (~50%) varias veces superior al umbral de tolerancia de la rata (~12%). Este hecho obligó a realizar la comparación en la absorción sólo entre los 2 grupos libres de lactosa (A y NSL).

Al comienzo de la experiencia no existieron diferencias importantes en la ingesta, excreción y absorción aparente de Ca, Mg y P (datos no mostrados).

Al finalizar la experiencia, el grupo NSL presentó un valor significativamente inferior en la excreción de Ca, Mg y P respecto del grupo A ($p < 0,01$) (Tabla 3). Esto condujo a que el grupo NSL presentara, respecto del grupo A, valores significativamente superiores tanto de absorción aparente de Ca, Mg y P (mg/dL) ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,0005$, respectivamente) como porcentual ($p < 0,0005$; $p < 0,05$ y $p < 0,0001$, respectivamente) (Figura 3; Tabla 3).

Contenido mineral en fémur y parámetros densitométricos

Los grupos N y NSL presentaron valores significativamente superiores de Ca y P en fémur respecto de los grupos A y V ($p < 0,05$); asimismo, V presentó un valor significativamente mayor que A ($p < 0,05$). Sin embargo, el contenido de Mg fue similar en todos los grupos estudiados (Tabla 4).

El CMO fue significativamente menor en el grupo A respecto de los otros 3 grupos estudiados ($p < 0,005$). Asimismo, se observó que el grupo NSL presentó el valor significativamente más alto y el grupo A el valor significativamente más bajo en la DMO de esqueleto total ($p < 0,05$). La DMO de tibia proximal fue significativamente mayor en los grupos N y NSL respecto de A y V ($p < 0,01$) aunque sin

Tabla 2. Consumo, peso corporal y pH cecal (media \pm DE). Letras diferentes determinan una diferencia significativa entre grupos $p < 0,05$; * $p < 0,0001$ NSL respecto de A.

	A	V	N	NSL
Consumo diario (g/d)	12,9 \pm 1,1a	9,5 \pm 0,4b	9,5 \pm 0,6b	10,1 \pm 0,5b
Consumo diario (Kcal)	51,6 \pm 4,1	46,6 \pm 4,6	44,1 \pm 4,6	44,8 \pm 4,8
Peso inicial (g)	44,0 \pm 3,9	46,0 \pm 7,5	44,9 \pm 6,1	41,7 \pm 3,7
Peso final (g)	132,3 \pm 16,3	123,6 \pm 14,6	122,4 \pm 12,1	127,5 \pm 11,0
pH cecal	7,1 \pm 0,2a	6,6 \pm 0,3b	5,7 \pm 0,1c	6,5 \pm 0,2b
Peso cecal (g)	1,51 \pm 0,17			2,26 \pm 0,19*

Datos analizados mediante el test de Bonferroni luego de aplicar ANOVA.

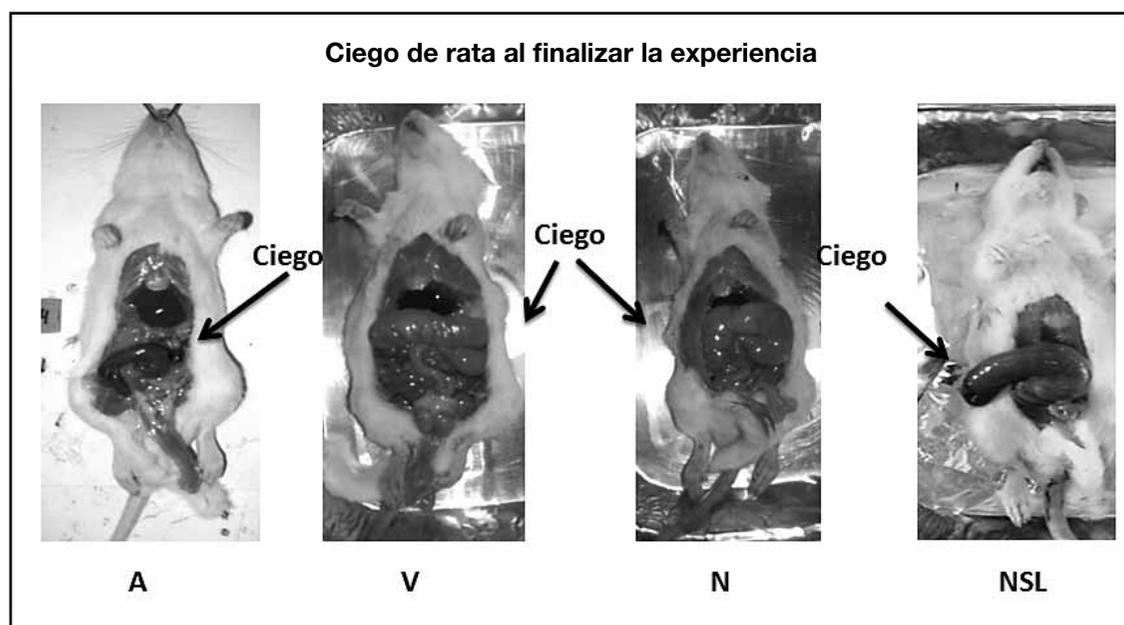


Figura 2. Aspecto de los ciegos al finalizar la experiencia (Tf=40).

diferencia entre ellos. La DMO de columna no mostró diferencias entre los distintos grupos (Tabla 4).

Pruebas biomecánicas

La Tabla 4 muestra los valores biomecánicos de los grupos estudiados. La fuerza máxima de fractura, el módulo de elasticidad y la

rigidez ósea fueron significativamente mayores en los grupos N y NSL respecto de A y V ($p < 0,05$), sin diferencias entre ellos.

Discusión

Los resultados del presente estudio confirman el efecto positivo del consumo de OND con características prebióticas sobre la absor-



Tabla 3. Absorción aparente de Ca, Mg y P en tiempo inicial y final de los grupos estudiados (media \pm DE).

	Tiempo Final		
	A	NSL	p
Consumo de dieta (g/d)	17,1 \pm 3,0	16,9 \pm 0,6	ns
Ingesta de Ca (mg/d)	85,5 \pm 7,1	84,6 \pm 2,9	ns
Ca en heces (mg/d)	18,8 \pm 4,7	9,4 \pm 1,9	0,0075
Absorción aparente de Ca (mg/d)	66,7 \pm 3,9	75,2 \pm 3,4	0,0326
Ingesta de Mg (mg/d)	8,7 \pm 1,5	8,6 \pm 0,3	ns
Mg en heces (mg/d)	3,5 \pm 0,4	2,6 \pm 0,5	0,0407
Absorción aparente de Mg (mg/d)	5,1 \pm 0,5	6,1 \pm 0,2	0,0077
Ingesta de P (mg/d)	51,3 \pm 8,9	50,8 \pm 1,7	ns
P en heces (mg/d)	10,6 \pm 1,6	4,3 \pm 1,0	0,0005
Absorción aparente de P (mg/d)	40,6 \pm 2,7	46,5 \pm 2,1	0,01

Datos analizados con la prueba t de Student. ns: no significativo

Tabla 4. Contenido mineral en fémur, parámetros densitométricos y parámetros biomecánicos (media \pm DE). Letras diferentes determinan una diferencia significativa entre grupos $p < 0,05$.

	A	V	N	NSL
Contenido mineral en fémur				
Contenido de Ca (mg/g)	117 \pm 2,6c	133,1 \pm 2,2b	152,4 \pm 2,3a	147,7 \pm 2,5a
Contenido de Mg (mg/g)	1,35 \pm 0,05	1,40 \pm 0,02	1,39 \pm 0,05	1,40 \pm 0,07
Contenido de P (mg/g)	70,0 \pm 1,1c	78,1 \pm 1,3b	85,7 \pm 2,3a	83,3 \pm 2,1a
Parámetros densitométricos				
CMO/PC Esqueleto Total (g/100g PC)	2,00 \pm 0,21b	2,27 \pm 0,30a	2,25 \pm 0,11a	2,27 \pm 0,25a
DMO de Columna (mg/cm ²)	185 \pm 5	179 \pm 2	177 \pm 12	181 \pm 7
DMO de Tibia proximal (mg/cm ²)	172 \pm 5b	169 \pm 11b	188 \pm 12a	185 \pm 22a
Parámetros biomecánicos				
Fuerza máxima de fractura (N)	46,4 \pm 2,6b	42,6 \pm 4,2b	56,1 \pm 1,2a	59,2 \pm 2,2a
Rigidez ósea (N/mm)	109 \pm 10b	105 \pm 2,9b	148 \pm 13a	141,7 \pm 14a
Módulo de elasticidad	662 \pm 118b	721 \pm 196b	1185 \pm 211a	1131 \pm 95a

Datos analizados mediante el test de Bonferroni luego de aplicar ANOVA.

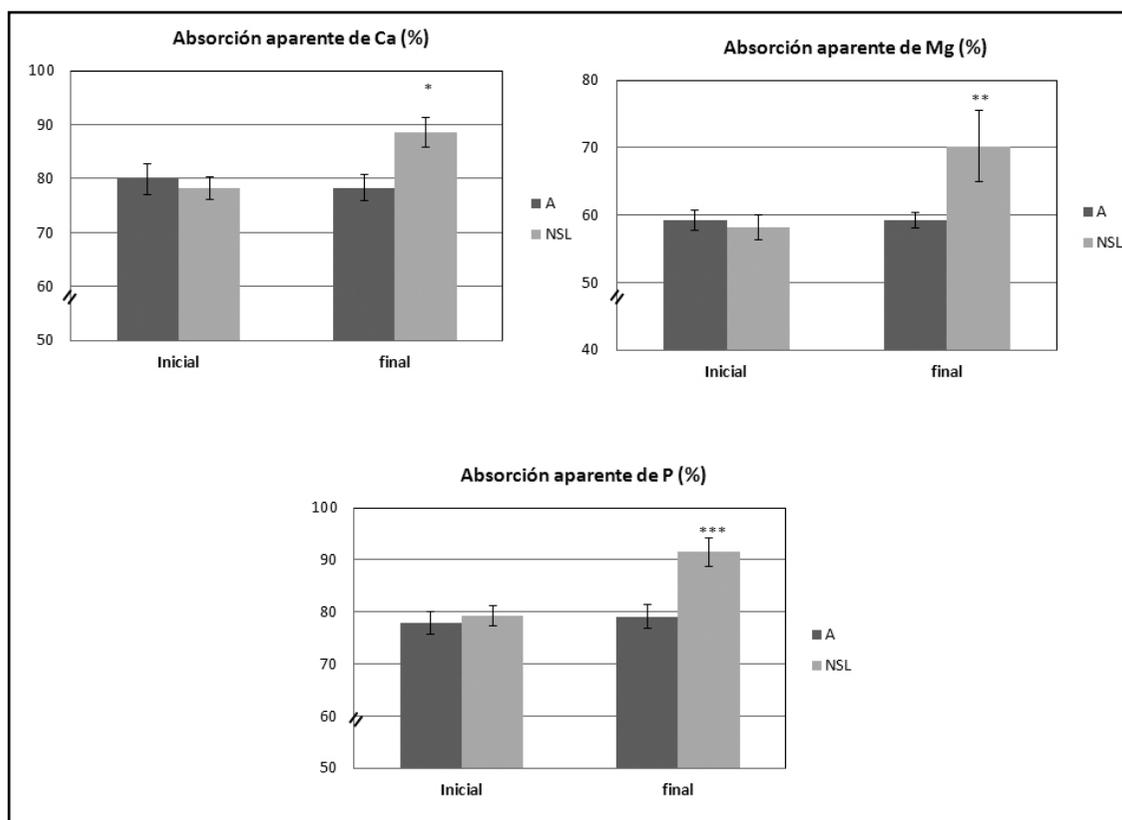


Figura 3. Absorción aparente porcentual al finalizar la experiencia (Tf=40) (media \pm DE).

* $p < 0,0005$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,0001$. Datos analizados mediante test de Student.

ción de Ca, P y Mg. Por otra parte, esa mayor absorción se tradujo en una mayor biodisponibilidad mineral que mejoró no solo la retención de Ca en hueso sino las propiedades biomecánicas del tejido.

Si bien el consumo diario expresado en gramos fue diferente entre AIN93 y las 3 fórmulas lácteas empleadas, cuando se expresó el consumo en términos calóricos no existieron diferencias entre ellas. Este resultado es consecuencia de que la rata consume en términos de requerimientos energéticos.^{21,22} Un inconveniente que se presentó en el estudio fue el elevado porcentaje de lactosa en las leches V y N, que indujo diarrea osmótica. A pesar de ello, el peso corporal alcanzado

al final del estudio fue similar en los 4 grupos estudiados.

La mayor absorción de Ca, P y Mg se produce en el intestino delgado pero, si estos minerales se mantienen en solución, también es posible su absorción a nivel de colon y ciego. Diversos estudios han demostrado el aumento en la absorción de Ca, P y Mg por el consumo de una dieta que contenía prebióticos.²³⁻²⁸

Los OND favorecen la solubilidad de las sales de Ca, P y Mg al inducir la producción de AGCC que acidifican el medio debido a la fermentación de dichos compuestos por bacterias acidorresistentes tales como bifidobacterias y lactobacilos.²⁹ En el presente estudio, la acidificación del medio por el consumo de



GOS/FOS® se evidenció a través de la reducción del pH cecal observado en los grupos que consumieron las fórmulas lácteas con prebióticos. Esta disminución favorece, por competencia, el crecimiento de bacterias benéficas o probióticos como los lactobacilos, cuyo mayor desarrollo fue confirmado en el presente estudio.³⁰ El menor pH colónico se observó a través del consumo de la dieta que aportaba lactosa y GOS/FOS®, ambos con características prebióticas; mientras que una menor disminución en el pH, aunque significativa, fue observada en los grupos NSL y V, los cuales sólo aportan uno de aquellos dos componentes prebióticos. Sin embargo, la lactosa no indujo aumento en el número de lactobacilos, posiblemente por la diarrea osmótica.

En el presente estudio se demostró una clara asociación entre el incremento de lactobacilos y el aumento en la absorción Ca, Mg y P por el consumo de GOS/FOS®. El aumento que se produjo en la absorción de estos 3 minerales favoreció la disponibilidad para su utilización en los distintos procesos fisiológicos en los que ellos se encuentran involucrados. Respecto del Ca y P, como el mayor porcentaje de estos compuestos se encuentra en hueso, es lógico suponer un aumento en los depósitos en tejido óseo. En el presente estudio se evidenció el aumento en la retención de Ca y P. Asimismo, si bien no pudo evaluarse la absorción en los grupos N y V, la cantidad de Ca y P depositado en fémur por el consumo de estas dietas aumentó sugiriendo también en estas dos dietas un aumento en la biodisponibilidad por la presencia de GOS/FOS® + lactosa o de lactosa, respectivamente. Respecto del Mg se debe recordar que es un mineral fundamentalmente intracelular que actúa en distintas vías de señalización o como cofactor enzimático en la síntesis de proteínas y de nucleótidos. En hueso, su función radica en inhibir el crecimiento cristalino para mantener el tamaño adecuado de los cristales de hidroxiapatita que asegure el cumplimiento

de las funciones biomecánicas. Este hecho podría explicar que, a pesar de una mayor absorción intestinal de Mg, el contenido del mineral a nivel óseo no aumentó significativamente. Sin embargo, se observó un aumento en las funciones biomecánicas del fémur, lo que indirectamente sugiere que su presencia contribuyó a que se produjera una adecuada mineralización del tejido.

Varios estudios han demostrado un aumento en la CMO por el consumo de diferentes prebióticos.^{14,31} En concordancia con estos estudios, el aumento que se observó en el contenido de Ca y P femoral se tradujo en un mayor depósito de hueso en todo el tejido, lo cual se evidenció por una mayor masa ósea a nivel del esqueleto total. El consumo de prebióticos favoreció asimismo el aumento de la DMO a nivel tibia proximal, sin efecto a nivel de columna. Si bien ambos tipos de hueso presentan un mayoritario porcentaje de hueso trabecular, el diferente comportamiento respecto de la densidad ósea se debe a que en los cuadrúpedos, y en especial en la rata, la tibia soporta una carga mecánica superior a la columna. Por otra parte el hueso cortical también se vio beneficiado al observarse una mayor resistencia a las fracturas con mejoras tanto en las propiedades estructurales como materiales del hueso y con ello en la rigidez y mineralización del tejido.

Conclusiones

La mezcla de GOS/FOS® indujo un aumento en la absorción colónica de Ca, Mg y P y una mejora en los parámetros óseos de los animales normales en crecimiento. Dicho aumento estuvo relacionado directa o indirectamente con el aumento de la microflora láctica responsable del descenso de pH observado. Estos resultados podrían ser extrapolados al ser humano, por lo cual la adición de una mezcla de dichos componentes a fórmulas infantiles es útil para mejorar la biodisponibilidad de minerales que afectan la salud en general y la ósea en particular.

Agradecimientos

Se agradece la ayuda brindada por la técnica de laboratorio Julia Somoza y por los técnicos de Bioterio Ricardo Orzuza y Cecilia Mambrin. Este estudio fue parcialmente financiado por el subsidio PIP-CONICET 0004 con

el apoyo de la Universidad de Buenos Aires y Nutricia-Bagó S.A. ® N.V.Nutricia

(Recibido: agosto 2013.
Aceptado: septiembre 2013)

Referencias

1. Schettler AE, Gustafson EM. Osteoporosis prevention starts in adolescence. *J Am Acad Nurse Pract* 2004; 16:274-82.
2. Ondrak KS, Morgan DW. Physical activity, calcium intake and bone health in children and adolescent. *Sports Med* 2007; 37:587-600.
3. Forshee RA, Anderson PA, Storey ML. Changes in calcium intake and association with beverage consumption and demographics: comparing data from CSFII 1994-1996, 1998 and NHANES 1999-2002. *J Am Coll Nutr* 2006; 25:108-16.
4. Greer FR, Krebs NF; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Optimizing bone health and calcium intakes of infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 2006; 117:578-85.
5. Bailey RL, Dodd KW, Goldman JA, et al. Estimation of total usual calcium and vitamin D intakes in the United States. *J Nutr* 2010; 140:817-22
6. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS). La Alimentación de los niños menores de 2 años. Ministerio de Salud, ENNyS; 2000-2009. <http://www.msal.gov.ar>
7. Kogan L, Abeya-Gilardon E, Mangiolavori G, Biblieri A, Zeni SN. Calcium intake and its relationship to overweight and obesity. Data obtained from the National Survey of Nutrition and Health (ENNyS). *Bone* 2009; 45:S150.
8. Younes H, Demigné C, Réémésy C, Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *Br J Nutr* 1996; 75:301-14.
9. Lidestri, M, Agosti, M, Marini, A, Boehm, G. Oligosaccharides might stimulate calcium absorption in formula-fed preterm infants. *Acta Paediatrica* 2003; 92:91-2.
10. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125:1401-12.
11. Flint HJ. Prokaryote diversity in the human GI tract. In: Logan N, Lappin-Scott H, Oyston P (eds.). Prokaryotic Diversity: Mechanisms and Significance. Society for General Microbiology Symposium no. 66, Warwick April 2006, pp. 65-90 Cambridge: Cambridge University Press.
12. Cummings JH, Macfarlane GT. Gastrointestinal effects of prebiotics. *Br J Nutr* 2002; 87 (Suppl 2):S145-51.
13. Pérez-Conesa D, López G, Ros G. Effects of probiotic, prebiotic and symbiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralization in rats. *J Sci Food Agric* 2007; 87:1059-68.
14. Abrams SA, Griffin IJ, Hawthorne KM, et al. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:471-6.



15. Macfarlane GT, Macfarlane S. Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 (Suppl):S120-7.
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-51.
17. Sapp RE, Davidson SD. Microwave digestion of multicomponent foods for sodium analysis by atomic absorption spectrometry. *J Food Sci* 1991; 56:1412-14.
18. Perkin Elmer Corp. Analytical method for atomic absorption spectrophotometry. Perkin Elmer Corp. Norwalk CT, 1971.
19. Mastaglia SM, Pellegrini GG, Mandalunis P, Gonzales Chaves MMS, Friedman SM, Zeni SN. Vitamin D insufficiency reduces the protective effect of bisphosphonate on ovariectomy induced bone loss in rats. *Bone* 2006; 39:837-44.
20. Zeni SN, Gómez-Acotto C, Di Gregorio S, Mautalén C. Differences in bone turnover and skeletal response to thyroid hormone treatment between estrogen-depleted and repleted rats. *Calcif Tissue Int* 2000; 67(2):173-7.
21. Collier G, Hirsch E, Kanarek, R. La operante vista de nuevo. En: Honig WK, Staddon JER (eds.). Manual de conducta operante. México: Trillas;1983. pp. 47-78.
22. Coates ME. The influence of the diet of laboratory animals on experimental research in Laboratory animal studies in the quest of health and knowledge. Rothschild HA, Rosenkranz A, Moura Duarte FA (eds.). ICLAS-CEMIB-FESBE SCIENTIFIC MEETING. Aguas de Lindoia, SP, Brazil; 1986. pp.13-21.
23. Brommage R, Binacua C, Antille S, Carrié AL. Intestinal calcium absorption in rats is stimulated by dietary lactulose and other resistant sugars. *J Nutr* 1993; 123(12):2186-94.
24. Ohta A, Motohashi Y, Ohtsuki M, Hirayama M, Adachi T, Sakuma K. Dietary fructooligosaccharides change the concentration of calbindin-D9k differently in the mucosa of the small and large intestine of rats. *J Nutr* 1998; 128:934-9.
25. Younes H, Coudray C, Bellanger J, Demigné C, Rayssiguier Y, Révész C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *Br J Nutr* 2001; 86:479-85.
26. Kruger MC, Brown KE, Collett G, Layton L, Schollum LM. The effect of fructooligosaccharides with various degrees of polymerization on calcium bioavailability in the growing rat. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228:683-8.
27. Weaver CM, Martin BR, Nakatsu CH, et al. Galactooligosaccharides improve mineral absorption and bone properties in growing rats through gut fermentation. *J Agric Food Chem* 2011; 59:6501-10.
28. Lavanda I, Isay Saad SM, LOBO A, COLLI C. Prebióticos y su efecto en la biodisponibilidad del calcio. *Rev Nutr* 2011; 24:333-4.
29. Pérez-Conesa D, López G, Abellan P, Ros G. Bioavailability of calcium, magnesium and phosphorus in rats fed probiotic, prebiotic and synbiotic powder follow-up infant formulas and their effect on physiological and nutritional parameters. *J Sci Food Agric* 2006; 86:2327-36.
30. Lee do K, Park SY, Jang S, et al. The combination of mixed lactic acid bacteria and dietary fiber lowers serum cholesterol levels and fecal harmful enzyme activities in rats. *Arch Pharm Res* 2011; 34:23-9.
31. Legette LL, Lee W, Martin BR, Story JA, Campbell JK, Weaver CM. Prebiotics enhance magnesium absorption and inulin-based fibers exert chronic effects on calcium utilization in a postmenopausal rodent model. *J Food Sci* 2012; 77:H88-94.

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

EFFECTOS VASCULARES DE RALOXIFENO Y ALENDRONATO

María Belén Rauschemberger^{1,2}, Pablo Hernan Cutini^{1,2}, Marisa Julia Sandoval^{1,3}, Virginia Laura Massheimer^{1,2}

1. Cátedra de Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. 2. INBIOSUR. CONICET-UNS. 3. Unidad de Química. Universidad Tecnológica Nacional. FRBB.

Resumen

El objetivo del trabajo fue estudiar y comparar los efectos vasculares de fármacos empleados en el tratamiento de la osteoporosis: el modulador selectivo del receptor de estrógenos raloxifeno y el bisfosfonato alendronato. Se investigaron las acciones *in vitro* sobre procesos celulares vitales para la salud vascular: la biodisponibilidad de óxido nítrico y la interacción monocito-plaqueta-endotelio. Ambos fármacos estimularon la producción del vasoactivo en las dosis ensayadas (56; 64% sobre control, raloxifeno; alendronato). Para el estudio del mecanismo de acción se emplearon el antagonista del receptor de estrógenos ICI 182780 e inhibidores específicos de las vías MAPK (PD98059) y PI3K (LY294002). El receptor de estrógenos y la vía PI3K participan en el mecanismo de acción del raloxifeno, mientras que la vía MAPK en la acción vascular del alendronato. En condiciones de elevado

calcio extracelular, el alendronato mantuvo su capacidad de estimular la síntesis de óxido nítrico (80,5% sobre el control, $p < 0,05$), mientras que el raloxifeno pierde su potencial de acción sobre la producción del vasoactivo. En ensayos de agregación plaquetaria determinamos que el raloxifeno ejerce un marcado efecto antiagregante (65; 76% de inhibición con respecto al control, raloxifeno 1; 10 nM, $p < 0,05$). Al estudiar la interacción monocito-endotelio, el alendronato no modificó la adhesión basal de monocitos, pero suprimió parcialmente la adhesión inducida por el proinflamatorio lipopolisacárido bacteriano. En síntesis, si bien basalmente cada fármaco regula positivamente la función vascular con mecanismos de acción específicos, ante condiciones de estrés solo el alendronato exhibe una capacidad de sustentar los efectos beneficiosos.

Palabras clave: calcio; raloxifeno; alendronato; óxido nítrico; calcificaciones vasculares.

* Dirección Postal: Dra. Virginia Laura Massheimer. Depto BByF-UNS. San Juan 670. B8000ICN. Bahía Blanca. Correo electrónico: massheim@uns.edu.ar



SUMMARY

VASCULAR EFFECTS OF RALOXIFENE AND ALENDRONATE

The aim of this work was to study and compare the vascular effects of two drugs frequently used osteoporosis treatment, the estrogen receptor modulator raloxifene and the bisphosphonate alendronate. We investigate the *in vitro* actions of raloxifene and alendronate on key cellular processes involved in vascular homeostasis such as the bioavailability of nitric oxide, and monocyte-platelet-endothelium interactions. Using endothelial cells cultures we found that, both drugs significantly enhanced nitric oxide production (56; 64% over control, raloxifene; alendronate respectively). The mechanism of action evoked by each drug was studied employing an estrogen receptor antagonist (ICI 182780 compound), and specific MAPK (PD98059) y PI3K (LY294002) inhibitors. The evidence obtained shows that estrogen receptor and PI3K mediated vascular raloxifene actions, meanwhile the effect of alendronate was dependent on MAPK signalling transduction pathway. When endothelial cells were incubated in high extracellular calcium concentrations, only alendronate was able to sustain its stimulatory action on nitric oxide synthesis. In platelet aggregation assays, we found that raloxifene exhibits a potent antiaggregatory action. To study monocyte-endothelium interactions, the effect of alendronate on monocyte adhesion to endothelial cells was evaluated. The bisphosphonate did not affect basal mononuclear adhesion, but significantly prevented monocyte adhesion induced by inflammatory environment represented by the presence of bacterial lipopolysaccharide. In summary, although both drugs elicited potential beneficial action on key process involved in vascular health, under stress conditions only alendronate maintain its capability to modulate the synthesis of the main vasoactive factor, nitric oxide.

Keywords: cardiovascular system; raloxifene; alendronate; nitric oxide; vascular calcifications.

Introducción

Teniendo en cuenta la integridad del eje óseo-vascular, se considera que drogas utilizadas para el tratamiento de la osteoporosis (bifosfonatos, moduladores selectivos del receptor de estrógenos o SERMs, calcitriol)¹ pueden afectar la salud vascular, y por el contrario, los fármacos empleados en la terapéutica cardiovascular (estatinas, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas del receptor de angiotensina II) pueden afectar el metabolismo óseo. La osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares (ECV) son patologías prevalentes en la menopausia, hecho que ha sido atribuido principalmente a la disminución de los estrógenos circulantes. Diversos estudios epidemiológicos y preclínicos han demostrado una interesante relación entre osteoporosis, ECV y mortalidad asociada.^{2,3} Aunque tradicionalmente estas enfermedades se han considerado como procesos independientes relacionados con la edad y *status* ovárico, cada vez existe mayor evidencia que confirma que ambas entidades comparten mecanismos fisiopatológicos.

La terapia hormonal de reemplazo (THR) en base a estrógenos, o combinada (estrógenos más progestágenos), surge como alternativa para prevenir patologías posmenopáusicas.⁴ Si bien a nivel óseo los resultados de ensayos clínicos aleatorizados sobre el sistema cardiovascular han sido satisfactorios, los estudios HERS (*Heart and Estrogen progestin Replacement Study*), WHI (*Women's Health Initiative*) y ERAS (*Estrogen Replacement and Atherosclerosis Study*) pusieron en duda la utilidad clínica de la THR para la prevención de ECV.⁵ Los SERMs han sido propuestos como alternativa de terapia para minimizar los síntomas asociados al hipoestrogenismo posmeno-

páusico. Constituyen compuestos sintéticos diseñados para interactuar con el receptor de estrógenos (RE), reproducir selectivamente los efectos beneficiosos y/o antagonizar los efectos no deseables de los estrógenos. El raloxifeno (RAL) es un SERM desarrollado específicamente para mantener los efectos beneficiosos del 17 β -estradiol en hueso y en el perfil lipídico y comportarse como antagonista estrogénico en mama y endometrio. Su uso clínico fue aprobado para el tratamiento contra la osteoporosis,⁶ siendo poco claros sus efectos vasculares. Se propone que tendría un impacto positivo a nivel cardiovascular; sin embargo, el estudio RUTH (*Raloxifene Use for The Heart*) no pudo confirmar una acción beneficiosa en la prevención de ECV posmenopáusica e incluso alertó sobre un riesgo incrementado de tromboembolismo venoso y accidentes cerebrovasculares.⁷ No obstante ello, algunos estudios recientes refieren una acción protectora del RAL sobre la función endotelial⁸ y proponen que, en mujeres posmenopáusicas, el RAL incrementa la concentración de osteoprotegerina en el entorno vascular,⁹ lo que reduciría el riesgo de calcificaciones vasculares. Por consiguiente, el impacto vascular del RAL sigue siendo motivo de estudio y debate.

Los bifosfonatos (BP) son análogos del pirofosfato con gran afinidad por el tejido óseo. Los BP reducen la resorción ósea y disminuyen el riesgo de fractura, y constituyen uno de los tratamientos de primera línea para la osteoporosis. En particular, aquellos compuestos que tienen un nitrógeno en su estructura molecular exhiben mayor potencia; tal es el caso del alendronato (ALN). Existe poca información en la literatura acerca de los efectos celulares y moleculares de los BP a nivel vascular. Los datos existentes provienen mayoritariamente de estudios clínicos en pacientes con patología renal crónica y diabetes, que proponen que los BP reducen el engrosamiento de la íntima arterial¹⁰ e inhiben la calcificación vascular (CaV). Sin embargo,

los resultados son contradictorios y no está claro aún si actúan en forma directa sobre células vasculares o indirectamente a través de su acción sobre el sistema óseo.¹¹

La aterosclerosis, principal ECV, es una patología crónica inflamatoria que conduce a una pérdida de la arquitectura vascular y generación de una lesión vascular (ateroma) que ocluye el vaso afectado.¹² Se inicia con una disfunción endotelial, evento caracterizado por un desequilibrio en la producción de factores vasodilatadores y vasoconstrictores. Se observa una marcada disminución en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO), lo que conduce a un estado de vasoconstricción, pro-oxidante, proinflamatorio y protrombótico.¹³ La respuesta inicial al daño vascular es el aumento de la permeabilidad endotelial y la secreción de citoquinas inflamatorias, lo que provoca la adhesión de plaquetas al endotelio activado por la injuria. A su vez, las plaquetas activadas promueven el reclutamiento de monocitos y su activación a macrófagos. La adhesión de monocitos cargados de lípidos y su migración a través del endotelio constituye el factor más importante de aceleración de la aterogénesis.¹⁴ Producto de la activación de células endoteliales (CE) y de monocitos, aumenta la expresión de moléculas de adhesión celular en ambos sistemas celulares. La proliferación y migración de células musculares lisas vasculares (CMLV) provoca la formación de la neoíntima y la estenosis del vaso. La lesión y muerte del endotelio vascular inducido por el ambiente inflamatorio contribuye a la desestabilización de la placa y ruptura hemorrágica del ateroma. La etapa más avanzada de la lesión es la calcificación aterosclerótica de la íntima, consistente en un reemplazo casi completo del tejido vascular por tejido similar osteogénico. Es la forma de vasculopatía calcificante más común, resultado de la inducción de una transdiferenciación osteogénica de subpoblaciones de células vasculares como consecuencia del microambiente inflamatorio. Aproximadamente el 15% de las pla-



cas ateromatosas humanas desarrollan una completa calcificación, con una arquitectura indiferenciable de la estructura histológica trabecular.¹⁵

El objetivo del presente trabajo fue estudiar y comparar los efectos vasculares de fármacos empleados en el tratamiento de la osteoporosis. Para ello seleccionamos el SERM RAL y el bifosfonato ALN, e investigamos sus acciones *in vitro* sobre procesos celulares vitales para la salud vascular como son la biodisponibilidad de NO y la interacción monocito-plaqueta-endotelio.

Materiales y métodos

Materiales

Los reactivos de Griess fueron adquiridos en Laboratorios Britania (Buenos Aires, Argentina). Tripsina/EDTA (10x), L-glutamina (100x), anfotericina-B (0,25 mg/ml), penicilina/estreptomicina (100x) y suero fetal bovino (SFB) fueron obtenidos en Laboratorios GBO. El medio de cultivo Dulbecco's Eagle's modificado (DMEM), los inhibidores LY294002 y PD98059, el lipopolisacárido de origen bacteriano (LPS), RAL, ALN y demás reactivos empleados fueron adquiridos en Sigma (St. Louis, MO, USA). El antagonista del RE ICI 182780 se obtuvo en Bioscience Tocris (Park Ellisville, USA).

Cultivo de CE de aorta de rata

Se emplearon CE obtenidas por cultivo primario de explante a partir de anillos de aorta de ratas Wistar de 4 a 6 semanas de edad, según lo descrito previamente.^{16,17} Se cortaron anillos de 1 a 2 mm de longitud y se sembraron en placas de Petri (NUNC) de 5 cm de diámetro, en medio de cultivo DMEM, suplementado con 10% de SFB, penicilina (100 U/ml), estreptomicina (100 µg/ml), anfotericina-B (2,5 µg/ml) y L-glutamina (2 mM). Se incubaron a 37 °C en atmósfera de 95% aire y 5% de CO₂ durante 5 días. Transcurrido este tiempo, los anillos fueron removidos y las CE se cultivaron

hasta alcanzar un crecimiento confluyente. La identidad de las CE fue determinada por: a) la observación en microscopio de contraste de fase (Nikon Eclipse TS100) de las características morfológicas típicas de las CE cuando crecen en monocapa, b) por la reacción inmunocitoquímica positiva con Factor VIII, y con anti-Vimentina, clone V9 usando Sistema En-Vision DakoCytomation, y c) la capacidad de síntesis de NO.¹⁶ Para todos los ensayos se emplearon cultivos de CE de pasajes 2 a 4.¹⁸ Los trabajos con animales se llevaron a cabo en el Bioterio del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur.

Medición de la producción de NO

Se utilizó el método colorimétrico de Griess, como se describió previamente.¹⁹ Las CE se siembran en una densidad de $3,5 \times 10^4$ células/pocillo y, luego de alcanzar un 90% de confluencia, se tratan con RAL o ALN en medio DMEM que contiene 1% de suero fetal bovino (SFB). Se procesó siempre en paralelo un grupo control con vehículo solamente (isopropanol para RAL, agua para ALN) adicionados en concentración <0,1%. Inmediatamente después del tratamiento se midió la producción de nitritos (productos estables y no volátiles del NO liberado) en el medio de incubación. Cuando se emplearon los compuestos ICI 182780 (antagonista del RE), LY294002 o PD98059 (inhibidores de vías mensajeras PI3K y MAPK, respectivamente), estos fueron agregados al medio de cultivo 30 minutos antes del tratamiento con los fármacos. En los ensayos donde se estudió la contribución de altas concentraciones de calcio (5 mM), las CE se cultivaron en un medio enriquecido en calcio durante 24 horas previas a la adición de RAL o ALN. Alícuotas del sobrenadante fueron mezcladas con el reactivo de Griess y se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. La absorbancia fue medida a 548 nm en lector de placas multimodo Synergy HT (Biotek, USA). La concentración de NO se de-

terminó por referencia a una curva estándar realizada con nitrito de sodio en la misma matriz. Las células se disolvieron en NaOH 1 M y se determinó contenido proteico por el método de Lowry. Los resultados se expresaron como nmoles de NO/mg de proteína.

Ensayos de agregación plaquetaria

La agregación plaquetaria se evaluó empleando un método turbidimétrico de acuerdo con lo descrito previamente.²⁰ Las CE se cultivaron en multiplacas de 24 pocillos (NUNC) en una densidad de 3×10^4 células/pocillo en DMEM suplementado con 10% de SFB. Luego de alcanzar un 90% de confluencia, el medio de cultivo fue reemplazado por 400 μ l de un *pool* de plasma rico en plaquetas (PRP, 3×10^8 plaquetas/ml) y se trató con RAL. Se procesó en paralelo un grupo control que recibió vehículo solamente (isopropanol <0,1%). Finalizado el tratamiento, se tomaron alícuotas de 285 μ l del PRP y se colocaron en la cubeta del agregómetro (CronoLog 430). Se inició la agregación plaquetaria con el agregado de adenosina difosfato (ADP) 2×10^{-5} M. Se registraron los cambios en la transmisión de luz en un intervalo de 5 minutos. Las CE se disolvieron con NaOH 1 M y se tomaron alícuotas para la determinación de las proteínas por el método de Lowry. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria por mg de proteína. La agregación plaquetaria máxima se consideró aquella inducida por el grupo control.

Ensayo de adhesión de monocitos a CE

El aislamiento de los monocitos se realizó mediante un gradiente de densidad (Ficoll-Paque Plus) de acuerdo con lo descrito previamente por nuestro laboratorio.²¹ Una vez aislados, los monocitos se cultivaron en medio DMEM con 10% de SFB. Las CE fueron tratadas con ALN durante 24 horas en medio DMEM suplementado con 1% de SFB. Este tratamiento se realizó en ausencia y presencia del agente proinflamatorio LPS

(1 μ g/ml), el cual se agregó durante las últimas 21 horas de tratamiento con el fármaco. Finalmente, un número exacto de monocitos se sembraron sobre las CE pretratadas y se incubaron durante 2 horas a 37 °C.²² Se colectó el medio y el número de monocitos adheridos a las CE fue calculado por diferencia entre el total de monocitos sembrados y el total de monocitos no adheridos presentes en el sobrenadante.

Análisis estadístico

Cada condición experimental fue realizada en tres experimentos independientes hechos por cuadruplicado. Los datos se expresan como la media \pm desvío estándar (SD). Se utilizó el test t de Student para la comparación entre dos medias independientes y para las comparaciones múltiples ANOVA de una y dos vías seguido de la prueba LSD de Fisher. Las diferencias de $p < 0,05$ se consideraron significativas.

Resultados

Empleando el método de Griess evaluamos los efectos de RAL y ALN sobre la producción de NO en CE. Como se observa en la Figura 1, ambos fármacos estimulan significativamente la producción del vasoactivo en las distintas dosis ensayadas (56 y 67% sobre su control, RAL 1 y 10 nM respectivamente, $p < 0,05$; 49 y 64% sobre su control, ALN 1 y 5 μ M, respectivamente, $p < 0,01$). Evaluamos la participación del RE en la transducción de la señal mediada por el RAL. Se observó que el efecto estimulador de RAL (55% sobre control) se suprime en presencia del antagonista del RE, ICI 182780 1 μ M (47,2 \pm 2,5 vs. 29,0 \pm 1,5 nmoles NO/mg proteína, RAL vs. RAL+ICI 182780, respectivamente) (Tabla 1).

Teniendo en cuenta que las vías de señalización intracelular MAPK y PI3K regulan la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) y la producción de NO mediada por agonistas naturales del sistema vascular, estudiamos la participación de estas cascadas de señalización en el mecanismo de acción de RAL y

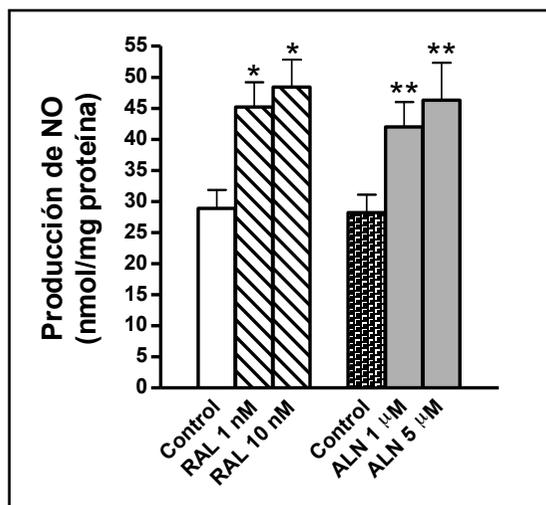


Figura 1. Efecto de raloxifeno (RAL) y alendronato (ALN) sobre la producción de óxido nítrico (NO) en células endoteliales.

Las células se incubaron durante 15 minutos con RAL (1 y 10 nM), ALN (1 y 5 μ M) o sus respectivos vehículos (isopropanol y H₂O, respectivamente). La producción de NO se midió por el método de Griess como se describe en Materiales y métodos. Los resultados representan la media \pm SD de tres experimentos independientes (n=4). * p <0,05 vs. control de RAL, ** p <0,01 vs. control de ALN. Test estadístico: ANOVA seguido de LSD de Fisher.

ALN. Para ello se realizaron ensayos de medición del vasoactivo en presencia de inhibidores de las vías MAPK (PD98059, 5 μ M) y PI3K (LY294002, 1 μ M). En presencia del inhibidor de PI3K se suprimió la síntesis de NO mediada por el SERM (29,5 \pm 1,9 vs. 30,4 \pm 2,1 nmoles NO/mg proteína, C+LY294002 vs. RAL+LY294002, respectivamente), mientras que en los ensa-

yos realizados en presencia del inhibidor de MAPK, el RAL mantuvo su efecto estimulatorio sobre la actividad de NOS (Tabla 1). Al evaluar las vías de señalización involucradas en la transducción de señales mediadas por ALN, la supresión del estímulo en la síntesis de NO se observó en cultivos de CE previamente incubados con PD98059 (67,3 vs. 3,2% sobre el

Tabla 1. Efecto de raloxifeno (RAL) y alendronato (ALN) sobre la producción de NO en células endoteliales: participación del RE y las vías mensajeras de MAPK y PI3K.

Las células endoteliales se preincubaron con ICI 1828780 (1 μ M), LY294002 (1 μ M) ó PD98059 (5 μ M) durante 30 minutos e inmediatamente después se trataron con raloxifeno (RAL) 10 nM, alendronato (ALN) 5 μ M ó vehículo durante 15 minutos. La producción de óxido nítrico (NO) se midió por el método de Griess como se describe en Materiales y métodos. Los resultados representan la media \pm SD de tres experimentos independientes (n=4). Test estadístico: ANOVA seguido de LSD de Fisher.

Tratamiento	Vehículo	+ICI 182780	+ LY294002	+ PD98059
Control	30.3 \pm 2.1	28.3 \pm 1.4	29.5 \pm 1.9	31.2 \pm 1.6
RAL 10 nM	47.2 \pm 2.5* (\uparrow 55.8%)	29.0 \pm 1.5	30.4 \pm 2.1	50.3 \pm 1.9* (\uparrow 61.2%)
ALN 5 μ M	50.7 \pm 2.3* (\uparrow 67.3%)	ND	48.7 \pm 2.0* (\uparrow 65%)	32.2 \pm 1.7

* p <0.05 frente a sus respectivos controles.

ND: no determinado.

\uparrow : aumento

control, ALN vs. ALN+PD98059, $p<0,05$). La preincubación con LY294002 no afectó el incremento en NO inducido por ALN (67,3 y 65% sobre control, ALN y ALN+LY294002, respectivamente, $p<0,05$) (Tabla 1). Estos resultados sugieren que la vía PI3K participa en el mecanismo de acción de RAL y la vía MAPK en la acción vascular de ALN.

Mantener la biodisponibilidad de NO por parte de las CE es uno de los eventos moleculares que inhiben la CaV. Considerando esto evaluamos el efecto de RAL 10 nM y ALN 5 μ M sobre la producción de NO en CE cultivadas en condiciones fisiológicas o de calcificación (1 o 5 mM calcio en el medio extracelular, respectivamente). Como se aprecia en la Tabla 2, en condiciones fisiológicas, los dos fármacos estimularon marcadamente la producción de NO en CE ($23\pm 1,3$; $37,0\pm 1,8^{**}$ y $41,0\pm 1,6^*$ nmoles NO/mg proteína; control; RAL y ALN; $**p<0,01$, $*p<0,05$, respectivamente). Cuando los ensayos de producción de NO se realizaron en condiciones de CaV (calcio 5 mM en el medio extracelular), el ALN mantuvo su capacidad de estimu-

lar la síntesis del vasoactivo en CE (80,5% de estímulo sobre el control, $p<0,05$). En cambio, en condiciones de elevado calcio extracelular, el RAL pierde su acción sobre la síntesis de NO.

Se evaluó el efecto del RAL sobre la agregación plaquetaria dependiente del endotelio vascular. Para llevar a cabo el experimento, las CE se incubaron en PRP y se trataron con RAL (1 y 10 nM) durante 10 minutos. Finalizado el tratamiento, se midió la agregación plaquetaria inducida por ADP 2×10^{-5} M. Como se aprecia en los registros de agregación plaquetaria mostrados en la Figura 2A, el tratamiento con RAL 1 y 10 nM indujo una agregación plaquetaria marcadamente inferior a la correspondiente al grupo control. La cuantificación de este efecto se puede observar en la Figura 2B, donde se grafica el porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria con respecto al grupo control. El tratamiento con el fármaco inhibió significativamente la agregación plaquetaria (65 y 76% de inhibición con respecto al control, RAL 1 y 10 nM, respectivamente, $p<0,05$). Estos resultados ponen

Tabla 2. Efecto del calcio sobre la producción de óxido nítrico (NO) mediada por raloxifeno (RAL) ó alendronato (ALN).

Cultivos de células endoteliales se incubaron en medio con calcio (1 mM ó 5 mM) durante 24 hs y luego se trataron con RAL 10 nM, ALN 5 μ M ó sus respectivos vehículos (isopropanol y H₂O respectivamente) durante 15 minutos. La producción de óxido nítrico se midió por el método de Griess como se describe en Materiales y métodos. Los resultados representan la media \pm SD de tres experimentos independientes (n=4). Test estadístico: ANOVA seguido de LSD de Fisher.

Tratamiento	Calcio 1 mM	Calcio 5 mM
Control	23.0 \pm 1.3	20.0 \pm 1.8
RAL 10 nM	37.0 \pm 1.8** (\uparrow 60.9%)	21.2 \pm 1.2
ALN 5 μM	41.0 \pm 1.6* (\uparrow 78.3%)	36.1 \pm 1.0* (\uparrow 80.5%)

* $p<0.05$ frente a su respectivo control;

** $p<0.01$ frente a su respectivo control.

\uparrow : aumento

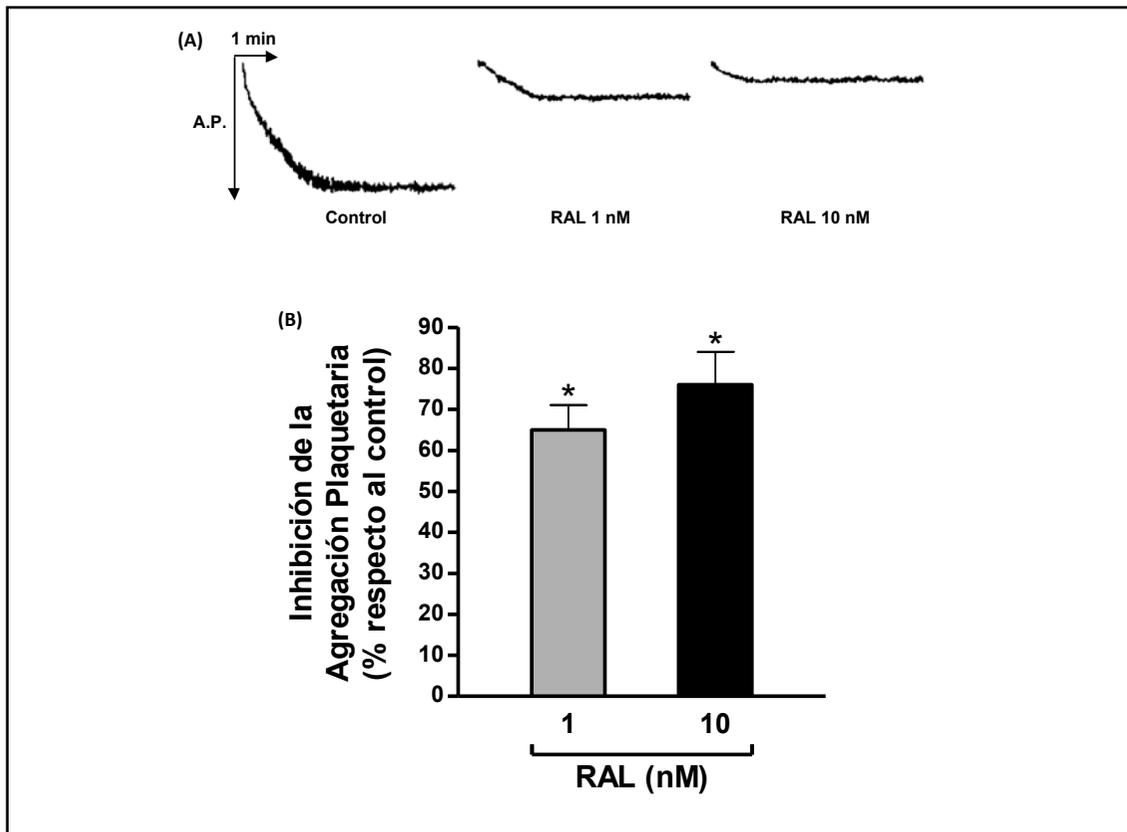


Figura 2. Efecto de raloxifeno (RAL) sobre la agregación plaquetaria.

Se muestran registros representativos de la agregación plaquetaria (A) y la respectiva cuantificación (B) de la inhibición de la agregación plaquetaria inducida por raloxifeno. Las CE se incubaron en 400 μ l de PRP en ausencia (control) o presencia de las concentraciones indicadas de raloxifeno o vehículo (isopropanol) durante 10 minutos. Finalizado el tratamiento, el PRP se retiró rápidamente y se inició la agregación de las plaquetas por adición de 2×10^{-5} M de ADP. Se midió el aumento en la transmisión de luz como se describe en Materiales y métodos. Los resultados representan la media \pm SD de tres experimentos independientes ($n=4$). * $p < 0,05$ frente al control. Test estadístico: test t de Student.

en evidencia que el SERM ejerce un marcado efecto antiagregante.

De acuerdo con lo reportado en la literatura, la adhesión de monocitos al endotelio es uno de los eventos celulares que promueven la formación de calcificaciones vasculares. Por este motivo investigamos el efecto de ALN sobre la adhesión de monocitos a cultivos de CE en respuesta a un estímulo proinflamatorio inductor de adhesión. Como estímulo de inflamación empleamos LPS. Las células se trataron duran-

te 24 horas con el bisfosfonato (5 μ M) en ausencia o presencia de LPS (1 μ g/ml), el cual se agregó en las últimas 21 horas del tratamiento con ALN. Finalizado este, las células se incubaron con la suspensión de monocitos durante 2 horas adicionales. En la Figura 3 se muestran los resultados de la cuantificación de la adhesión de los mononucleares a las CE. Como se puede observar, el tratamiento con LPS indujo una mayor adhesión de monocitos a las CE con respecto al grupo control ($23,06 \pm 2,53$ vs.

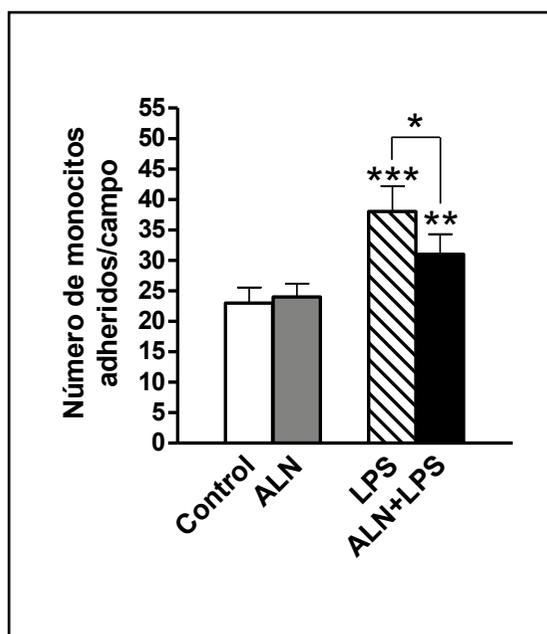


Figura 3. Efecto de alendronato (ALN) sobre la adhesión de monocitos a células endoteliales.

Las células endoteliales fueron tratadas con ALN (5 μ M) o su correspondiente vehículo (H_2O) durante 24 horas en presencia o ausencia de LPS (1 μ g/ml), el cual se agregó durante las últimas 21 horas del tratamiento con el bisfosfonato. Finalizado este, los monocitos se sembraron sobre la monocapa de CE durante 2 horas adicionales. Inmediatamente después se retiró el sobrenadante y se realizó el recuento de monocitos adheridos de acuerdo con lo descrito en Materiales y métodos. Los resultados representan la media \pm SD de tres experimentos independientes ($n=4$). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ vs. ALN, *** $p<0,001$ vs. control. Test estadístico: ANOVA seguido de LSD de Fisher.

38,12 \pm 4,2 células/campo, control vs. LPS, respectivamente, $p<0,001$). Cuando las CE son tratadas con ALN no se modifica la adhesión basal de monocitos. Sin embargo, si las CE son previamente expuestas al bisfosfonato, se suprime parcialmente el estímulo inducido por el agente proinflamatorio (65% vs. 34% sobre el grupo control, LPS vs. LPS+ALN, respectivamente, $p<0,05$).

Discusión

Los resultados presentados muestran que ambos fármacos son activos a nivel vascular, potenciando la producción del principal vasoactivo (NO) e inhibiendo la interacción de plaquetas o de monocitos con las células endoteliales. En su conjunto, estas representan acciones saludables sobre la homeostasis de los vasos sanguíneos. Si bien cada fármaco exhibe un mecanismo de acción específico, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los efectos de cada uno de ellos, por lo que hasta el presente no podemos establecer si alguno posee un mayor potencial de acción. Sí encontramos diferencias

bajo condiciones de estrés (elevado calcio extracelular), donde solo el ALN conservó su capacidad de estimular la síntesis de NO aun en condiciones desfavorables.

El NO es el regulador por excelencia del metabolismo vascular. Prácticamente todas las funciones vasculares dependen del NO, por eso se lo conoce como el segundo mensajero vascular. Mantener la biodisponibilidad de NO es indispensable para prevenir la enfermedad aterosclerótica, y aun en caso de una lesión establecida actúa como inhibidor de la calcificación vascular. Ambos fármacos estimularon significativamente la producción de NO. Como era de esperar, siendo el RAL una droga del grupo de los SERM, su mecanismo de acción involucra la participación del RE. Las concentraciones de RAL empleadas en este estudio son cercanas a los niveles circulantes reportados para seres humanos bajo terapéutica estándar con RAL (1-2 nM).²³ Por su parte, los niveles de BP empleados concuerdan con el rango de concentración descrito en la literatura para el cual el ALN previene la apoptosis osteoblástica y favore-



ce la viabilidad de osteoblastos osteocitos.²⁴ El mecanismo a través del cual los fármacos estimulan la síntesis de NO es selectivo. En el caso del RAL comprende la participación del RE y de la vía PI3K/Akt. Este mecanismo es similar al empleado por 17 β -estradiol en la activación de NOS endotelial.²⁵ Para el ALN la acción es mediada por la vía MAPK, sistema de señalización intracelular que participa activamente en el control del tono vascular, el crecimiento celular y la antiaterogenicidad. Las células vasculares expresan el sensor de calcio. En estados de hipoxia o estrés oxidativo es precisamente la vía MAPK la responsable de transmitir la señal de activación del sensor de calcio desde la membrana plasmática al interior celular.²⁶

Como se mencionó en la introducción, la adhesión y agregación plaquetaria y la adhesión de monocitos al endotelio vascular son eventos que condicionan fuertemente el progreso de la lesión vascular. Demostramos que ambos fármacos modulan estos procesos, inhibiendo la agregación plaquetaria en el caso del RAL y previniendo la adhesión monocítica inducida por estrés inflamatorio para el ALN. Estos efectos podrían interpretarse como positivos y potencialmente beneficiosos para la homeostasis vascular, ya que ante una injuria podrían contribuir a inhibir la génesis de la lesión ateromatosa.

La calcificación de la íntima arterial constituye la etapa más avanzada de la lesión vascular. Mantener la capacidad de síntesis de NO es uno de los eventos clave que inhiben

la transdiferenciación de células vasculares a linaje osteogénico y previene el depósito de cristales de hidroxiapatita en la matriz extracelular.¹⁵ Utilizando condiciones de elevado calcio en el medio extracelular obtuvimos evidencia de que solo el ALN conserva la capacidad de estimular la síntesis endotelial de NO en una magnitud equivalente al efecto observado en condiciones fisiológicas (1 mM calcio). Si bien estos resultados requieren una investigación más exhaustiva empleando estrategias experimentales de simulación completa del proceso de calcificación vascular, preliminarmente sugieren que, ante condiciones de estrés, existe una capacidad de sustentar efectos beneficiosos a favor del ALN.

En conclusión, lo descrito en este trabajo sostiene la premisa de mantener una mirada fisiopatológica y farmacológica integral del eje óseo-vascular.

Agradecimientos

La realización de este trabajo ha sido sustentado por subsidios de la SGCyT, Universidad Nacional del Sur, Argentina (PGI 24/B159); Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 5790, PIP 0350, CONICET, Argentina).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: agosto 2013.

Aceptado: septiembre 2013)

Referencias

1. Demer L, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation* 2008; 117:2938-48.
2. Tanko LB, Christiansen C, Cox DA, Geiger MJ, McNabb MA, Cummings SR. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2005; 20:1912-20.
3. McFarlane SI, Muniyappa R, Shin JJ, Bahtiyar G, Sowers JR. Osteoporosis and cardiovascular disease: brittle bones and boned arteries, is there a link?. *Endocrine* 2004; 23:1-10.
4. Pinkerton J, Santen R. Alternatives to the use of estrogen in postmenopausal women. *Endocr Rev* 1999; 20:308-20.
5. Ouyang P, Michos E, Karas R. Hormone replacement therapy and the cardiovascular

- system lessons learned and unanswered questions. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:1741-53.
6. Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH, et al. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1997; 337:1641-7.
 7. Karwowski W, Naumnik B, Szczepanski M, Mysliwiec M. The mechanism of vascular calcification-a systematic review. *Med Sci Monit* 2012; 18:RA1-11.
 8. Wong CM, Yung LM, Leung FP, et al. Raloxifene protects endothelial cell function against oxidative stress. *Br J Pharmacol* 2008; 155:326-34.
 9. Fernández-García D, Muñoz-Torres M, Mezquita-Raya P, et al. Effects of raloxifene therapy on circulating osteoprotegerin and RANK ligand levels in post-menopausal osteoporosis. *J Endocrinol Invest* 2008; 31:416-21.
 10. Santos L, Cavalcanti T, Bandeira F. Vascular effects of bisphosphonates-a systematic review. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes* 2012; 5:47-54.
 11. Price P, Faus SA, Williamson M. Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:817-24.
 12. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-26.
 13. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420:868-74.
 14. Van Gils JM, Zwaginga JJ, Hordijk PL. Molecular and functional interactions among monocytes, platelets, and endothelial cells and their relevance for cardiovascular diseases. *J Leukoc Biol* 2009; 85:195-204.
 15. Boström K, Nalini M, Rajamannan, Towler D. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circ Res* 2011; 109:564-77.
 16. Cutini P, Selles J, Massheimer V. Cross-talk between rapid and long term effects of progesterone on vascular tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 115:36-43.
 17. Bachetti T, Morbidelli L. Endothelial cells in culture: a model for studying vascular functions. *Pharmacol Res* 2000; 42:9-19.
 18. Polini N, Rauschemberger MB, Mendiberri J, Selles J, Massheimer V. Effect of genistein and raloxifene on vascular dependent platelet aggregation. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 267:55-62.
 19. Rauschemberger MB, Selles J, Massheimer V. The direct action of estrone on vascular tissue involves genomic and non-genomic actions. *Life Sci* 2008; 82:115-23.
 20. Cutini P, Campelo A, Agriello E, Sandoval M, Rauschemberger MB, Massheimer V. The role of sex steroids on cellular events involved in vascular disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012; 132:322-30.
 21. Sandoval MJ, Cutini PH, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The soyabean isoflavone genistein modulates endothelial cell behaviour. *Br J Nutr* 2010; 104:171-9.
 22. Pawlowski NA, Abraham EL, Pontier S, Scott WA, Cohn ZA. Human monocyte-endothelial cell interaction in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:8208-12.
 23. Heringa M. Review on raloxifene: profile of a selective estrogen receptor modulator. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2003; 41:331-45.
 24. Plotkin L, Manolagas S, Bellido T. Dissociation of the pro-apoptotic effects of bisphosphonates on osteoclasts from their anti-apoptotic effects on osteoblasts/osteocytes with novel analogs. *Bone* 2006; 39:443-52.
 25. Serock MR, Wells AK, Khalil RA. Modulators of vascular sex hormone receptors and their effects in estrogen-deficiency states associated with menopause. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov* 2008; 3:165-86.
 26. Li GW, Xing WJ, Bai SZ, et al. The calcium-sensing receptor mediates hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary artery smooth muscle cells through MEK/ERK1,2 and PI3K pathways. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011; 108:185-93.



ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

OSTEOPOROSIS INDUCIDA POR CORTICOIDES: PREVALENCIA DEL TRATAMIENTO PREVENTIVO EN LA POBLACIÓN DE UN SISTEMA CERRADO DE SALUD

Carolina Carrizo,¹ Gustavo Vidal,² Luisa Plantalech.^{1*}

1. Sección Osteopatías Metabólicas, Servicio de Endocrinología, 2. Farmacia del Plan de Salud. Hospital Italiano de Buenos Aires.

Resumen

El uso de glucocorticoides (GC) se asocia a pérdida de masa ósea e incremento del riesgo de fracturas. Los objetivos del trabajo fueron establecer la prevalencia del tratamiento crónico con GC en la población de un hospital de comunidad, evaluar el porcentaje de pacientes tratados por osteoporosis inducida por corticoides (OIC) y el tipo de tratamiento implementado en la población con fracturas y sin ellas que consume GC. Se evaluaron pacientes mayores de 18 años que recibían tratamiento crónico con GC (mayor de 3 meses). Se obtuvieron de la historia clínica electrónica los datos de compra de GC, medicación para OIC, fractura y densitometría ósea.

La población con consumo crónico de GC (2493 pacientes) representa el 1,7% de los afiliados (n=146.647). La edad media es 68±15 años y predomina el sexo femenino (63,6%). Se prescribieron: GC orales, inhalantes, parenterales y GC orales e inhalantes en el 35,6%, 36,5%, 11,2% y 16,8%, respectivamente. No se observaron diferencias de edad,

sexo y fracturas en los subgrupos según los distintos tipos de administración de GC. El 41% recibió tratamiento para OIC con predominio de bifosfonatos (26,6%) y vitamina D (22,2%). La población tratada en relación con la no tratada presentaba mayor porcentaje de fracturas (20,4% vs. 8,6%, $p<0,0001$), cantidad de estudios de densitometría realizados (26,1% vs. 8,4%, $p<0,0001$); esta subpoblación consumía menor cantidad de fármacos por enfermedades asociadas ($p<0,001$). El 13,6% de la población presentaba antecedente de fracturas. El 62,3% de ese subgrupo recibía tratamiento para OIC. En nuestro estudio un bajo porcentaje de la población que consumía en forma crónica GC recibió tratamiento preventivo para osteoporosis, lo que demuestra una escasa e insuficiente intervención institucional. Se requiere mayor concientización de médicos y pacientes sobre la importancia de este tratamiento preventivo. **Palabras clave:** glucocorticoides, osteoporosis, tratamiento, fracturas.

* Correo electrónico: luisa.plantalech@hospitalitaliano.org.ar

Summary

GLUCOCORTICOID INDUCED OSTEOPOROSIS: PREVALENCE OF PREVENTIVE TREATMENT IN POPULATION OF A CLOSED HEALTH SYSTEM

The use of glucocorticoids (GC) is associated with loss of bone mass and increased risk of fractures. The objectives of this study were to establish the prevalence of chronic treatment with GC in the population of a community hospital, to evaluate the percentage of patients treated for glucocorticoid-induced osteoporosis (GIO) and type of treatment implemented in the population consuming GC with and without fractures. We evaluated patients older than 18 years with chronic treatment with GC (for over 3 months). Data were obtained from GC purchases, medication for GIO, fracture and bone densitometry detailed on electronic medical records. The population with chronic use of GC (2493 patients) represented 1.7% of institutional members ($n = 146647$). Mean age was 68 ± 15 years in predominantly (63.6%) female patients. Prescription included: GC oral inhalation, parenteral and oral and inhaled GC at 35.6%, 36.5%, 11.2% and 16.8%, respectively. There were no differences of age, sex and fractures in subgroups according to the different types of GC administration. 41% received bisphosphonate-predominant (26.6%) and vitamin D (22.2%) treatment for GIO. The treated population relative to untreated patients had higher percentage of fractures (20.4% vs. 8.6%, $p < 0.0001$), densitometry studies (26.1% vs. 8.4%, $p < 0.0001$) and consumed fewer drugs for associated diseases ($p < 0.001$). 62.3% of patients with fractures (13.6%) received treatment for GIO. In our study, a low percentage of the population that chronically consumed in GC received preventive treatment for osteoporosis, which showed a poor and insufficient institutional intervention. More physician and patient awareness of the

importance of this preventive treatment is required.

Key words: glucocorticoids, osteoporosis, treatment, fractures.

Introducción

La osteoporosis inducida por corticoides (OIC) es la causa más frecuente de osteoporosis secundaria. La cantidad de personas tratadas en forma crónica con glucocorticoides (GC) se estima entre el 0,9 y el 1,2% de la población mayor de 20 años.^{1,2}

El uso de GC en altas dosis se asocia a pérdida de masa ósea en los primeros meses del tratamiento. También se advierte disminución con bajas dosis de GC acumuladas en el tiempo y con el uso de GC por inhalación. El riesgo de fracturas vertebrales se incrementa de 2 a 4 veces en pacientes que reciben dosis de prednisona igual o mayor de 2,5 mg por tiempo prolongado y el de fractura de cadera aumenta dos veces con dosis mayores de corticoides. Al suspender la corticoterapia, el riesgo de fractura disminuye pero no desaparece.³⁻⁸

El tratamiento con calcio (Ca), vitamina D y bifosfonatos (BF) disminuye el riesgo de fractura.⁷⁻¹³ En estudios epidemiológicos se advierte un bajo porcentaje de tratamiento (4-37%) preventivo de OIC.¹⁴⁻²²

Resulta paradójico que, disponiendo en la actualidad de los medios necesarios para diagnosticar y prevenir, un pequeño porcentaje de pacientes recibe tratamiento para evitar la pérdida de masa ósea. El reconocimiento y la actuación precoz son fundamentales para disminuir la incidencia de fracturas por fragilidad.

Este estudio tiene como objetivos establecer la prevalencia del tratamiento crónico con GC en la población de un sistema cerrado de salud, evaluar el porcentaje de pacientes tratados para OIC en aquellos medicados con GC y en las subpoblaciones con fracturas y sin ellas. Determinar qué tipo de tratamiento se prescribe en la institución.



Población y métodos

Se trata de un estudio de corte transversal que incluyó a todos los pacientes de edad mayor o igual a 18 años, afiliados al sistema cerrado de salud del Hospital Italiano de Buenos Aires. Se excluyeron los pacientes con trasplantes de órganos y los enfermos oncológicos.

La recolección de los datos se realizó en forma retrospectiva utilizando la Historia Clínica Electrónica (HCE), que funciona como único repositorio de información de todo lo que le ocurre al paciente. La HCE tiene un registro de las compras de medicamentos de la farmacia del hospital. Se asumió que el paciente tomaba la medicación si presentaba el registro de compra en la farmacia. Se consideró que el paciente recibió un tratamiento crónico de GC cuando se detectaban 5 o más compras durante un año.

Se obtuvieron de la HCE los siguientes parámetros:

- 1) Edad y sexo del paciente.
- 2) Fracturas por fragilidad, dato obtenido del rubro "PROBLEMAS" de la HCE.
- 3) Densitometría ósea (DMO) realizada en el período 2003-2010 (informe descripto en HCE).
- 4) Compra de GC según vía de administración oral, inhalante y/o parenteral.
- 5) El consumo de Ca, BF, vitamina D, ranelato de estroncio y teriparatida. No se consideraron la terapia de reemplazo hormonal y el uso de raloxifeno. Estos tratamientos no son habituales para osteoporosis en general y OIC en particular en nuestra institución.

Se definió paciente "polimedicado" cuando se observó un consumo de fármacos igual o mayor de 4 en los registros de la HCE.

Análisis estadístico

Se estableció la prevalencia de: 1) pacientes que reciben GC del universo de pacientes evaluados, 2) el tipo de GC utilizado, 3) pacientes que consumen en forma crónica GC con tratamiento para OIC y sin él, 4) tipo de

fármaco utilizado para prevenir OIC, 5) subpoblación de pacientes con antecedentes de fracturas, 6) pacientes que realizaron densitometría ósea (DMO).

Se expresaron las variables continuas con media y desvío estándar cuando su distribución era normal y mediana y rango intercuartilo cuando era asimétrica. Las variables categóricas, en proporciones con intervalo de confianza del 95%. Se utilizó el test de T y ANOVA. Se consideró significancia estadística cuando la $p < 0,05$. Las estadísticas se realizaron mediante el programa Epi info 2003.

Resultados

La población con consumo crónico de GC (2493 pacientes) representaba el 1,7% de los afiliados (n: 146.647). La edad media fue 68 ± 15 años y predominaba el sexo femenino (63,6%).

Se prescribieron GC por diferentes vías: oral (35,6%), inhalante (36,5%), oral e inhalante (16,8%) y parenteral (11,2%). No se observaron diferencias significativas de edad, sexo, presencia de fracturas y tratamiento indicado para osteoporosis según los tipos de GC y vías de administración en esta población (Tabla 1).

El 41% de los pacientes recibió algún tipo de tratamiento para osteoporosis. Los fármacos más prescritos fueron BF en mayor proporción, seguido de vitamina D, Ca y asociación de Ca y vitamina D. (Figura 1). Nueve pacientes recibieron ranelato de estroncio y uno teriparatida.

El grupo etario más tratado estaba comprendido entre las décadas 7ª y 9ª (Figura 2).

Comparando las poblaciones de pacientes tratados para OIC con los no medicados, se comprobó que los primeros eran más añosos, se les prescribieron menos tratamientos asociados, se les realizó DMO en mayor proporción y era el grupo con mayor cantidad de fracturas (Tabla 2).

Se observó presencia de fracturas clínicas en 339 pacientes (13,6%): el 2,9% de muñe-

Tabla 1. Característica de la población que consume glucocorticoides según vía de administración en pacientes de un sistema cerrado de salud de un hospital de comunidad.

	GC oral	GC por inhalación	GC oral + por inhalación	GC intravenoso	p
Edad media, DS	69,1±15	68,5±15,1	67,0±15,2	68,7±15,1	ns
Sexo fem %	64,9	63,9	66,3	68,3	ns
Tto para OIC %	44,4	44,1	48,7	36,7	ns
Fractura %	15,4	12,7	14,1	9,6	ns

GC: glucocorticoides; Tto: tratamiento; OIC: osteoporosis inducida por corticoides. ns= no significativo.

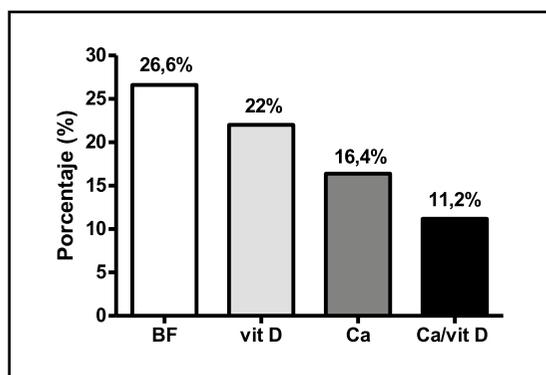


Figura 1. Tipo de tratamientos para prevención de osteoporosis inducida por corticoides en la población de pacientes de un sistema cerrado de salud de un hospital de comunidad.

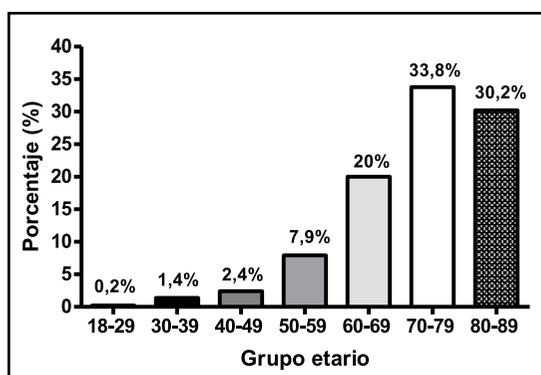


Figura 2. Tratamiento de osteoporosis inducida por corticoides en pacientes de un sistema cerrado de salud de un hospital de comunidad. Se evalúa el porcentaje de tratados según décadas.

ca, el 2,1% de cadera, el 1,6% vertebrales y se describen otras en el 6,2%. Se efectuó densitometría ósea en el 15,6% de los pacientes con corticoterapia crónica.

El 62,3% de la población con fracturas recibía tratamiento con vitamina D (50%) y BF (45%). Esta proporción fue superior al grupo general de pacientes en tratamiento crónico con GC (41%) (Figura 3).

Discusión

La prevención primaria y secundaria de la OIC cobró interés en la comunidad médica en los últimos años. La morbilidad que acarrea las fracturas en un paciente vulnera-

do por otra enfermedad motivó el estudio de la entidad. Numerosos trabajos de diferentes diseños y características poblacionales destacaron el subdiagnóstico y la escasa intervención terapéutica de pacientes con OIC. En los últimos años se difundieron guías para prevención y tratamiento; sin embargo, la implementación de estas medidas es aún poco satisfactoria^{9,25,26,27}

En este estudio, el 1,7% de la población mayor de 18 años consumía GC en forma crónica. Se excluyeron del trabajo los pacientes con trasplantes de órganos y enfermedades oncológicas porque otros factores asociados a la enfermedad de base y/o sus tratamientos



Tabla 2. Características clínicas de la población tratada en relación con la no tratada para prevención de osteoporosis inducida por glucocorticoides en pacientes de un sistema cerrado de salud de un hospital de comunidad.

	Tto para OIC	Sin Tto para OIC	p
Edad años	73±10,5	66,1±16,3	0,000
Pacientes polimedificados (n)	849	929	0,000
DMO realizada %	26,1	8,4	0,000
Fracturas %	20,4	8,6	0,000

DMO: densitometría ósea; Tto: tratamiento; OIC: osteoporosis inducida por corticoides.

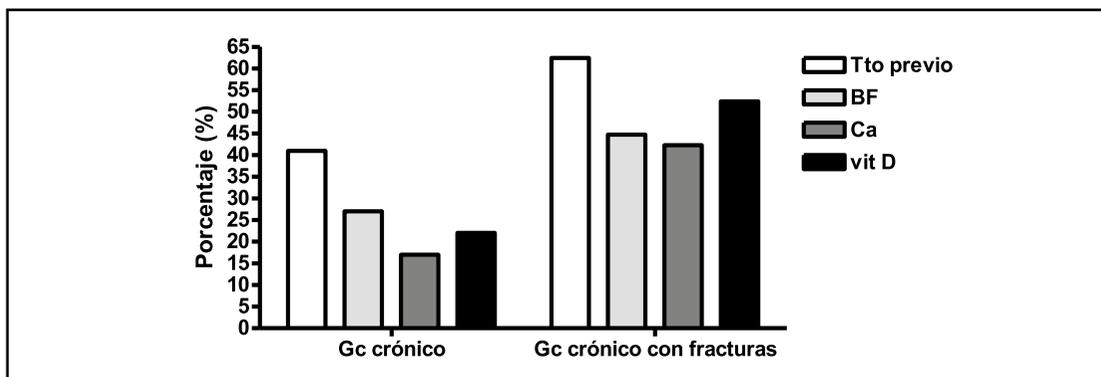


Figura 3. Prevalencia de tratamiento preventivo para osteoporosis inducida por corticoides en el subgrupo que presenta fracturas comparado con la población general.

afectan el esqueleto. La edad promedio de 68 años y el predominio del sexo femenino son similares a otras observaciones.^{1,17,23,24}

La baja prevalencia de consumo de GC en esta población fue comparable a estudios del Reino Unido y los Estados Unidos.^{1,2,17} Van Staa y cols. describieron prescripción de GC orales en el 0,9%, que alcanzó cifras de 2,5% entre 70 y 79 años en Inglaterra y Gales.¹ A similares conclusiones arribaron Walsh y cols. observando que el 1,7% de las mujeres de 55 años o más recibían tratamientos crónicos con GC.¹⁷ Algunas estadísticas más recientes procedentes de Estados Unidos (NANHES 1999-2008) determinaron que el 1,2% de la

población mayor de 20 años utilizaba GC en forma crónica y la cifra ascendía al 2,9 % en los mayores de 80 años.²

Se advierte en todos los estudios incremento del uso de GC a mayor edad, predominio del sexo femenino y una baja prevalencia de uso de GC crónicos en todas las poblaciones.

El 53,3% de los pacientes de este estudio utilizaba corticoides inhalantes; a partir de estos datos podemos inferir que la patología respiratoria fue la indicación principal del uso de GC. El consumo de corticoides por vía oral seguía en importancia, y en menor proporción, la aplicación parenteral de GC. Destacamos

que no hubo discrepancias en los subgrupos según vías de administración de GC, al comparar edad, sexo, presencia de fracturas y terapéutica preventiva para OIC.

El porcentaje de pacientes tratados para prevenir OIC es bajo, tal como se advierte en estudios internacionales y en nuestro trabajo. El amplio rango de prevalencia observada en diversas investigaciones (4 al 54%) se adscribe a los diferentes diseños de los estudios, los tipos de poblaciones evaluadas y los criterios que se consideraron para definir tratamiento óptimo de OIC.^{2,17,21,23,26,27}

Algunos investigadores canadienses observaron un incremento del tratamiento de 15 a 24% en una década de observación. La intervención se incrementó con el paso del tiempo pero no lo suficiente, siendo aún subóptima.²²

El 41% de los sujetos con consumo crónico de GC de nuestro análisis recibía tratamiento preventivo de OIC. Una posible explicación de esta mayor prevalencia en comparación con otros estudios se relacionaría con el tipo de población tratada, que es de composición homogénea y de clase media. Este sistema de salud dispone de un médico de cabecera que evalúa al paciente en forma integral y tiene facilitado el acceso a los especialistas y a las medicaciones. Por otra parte consideramos "tratamiento para OIC" la administración única o combinada de calcio, vitamina D, BF u otro tratamiento "osteoaactivo" (anelato de estroncio, teriparatida). Otros autores tienen criterios más estrictos: definen el tratamiento para OIC cuando se prescriben drogas anti-resortivas y teriparatida.^{22,25,27}

En este estudio, los fármacos más indicados fueron los BF y la vitamina D, terapéuticas similares a la descrita por Solomon.²¹ En un reciente metaanálisis, realizado con trabajos de distinto diseño y calidad, Duyvendak y cols.²⁷ observaron que el tratamiento con BF representó el 31±25%, cualquier tipo de tratamiento 54±30% y los anti-resortivos excluidos Ca y vitamina D: 41±23%. Para Van

Staa y cols., los fármacos más prescritos fueron BF y vitamina D, en pacientes mayores de 45 años y que consumían altas dosis de corticoides.¹ Chantler y cols.²⁸ informaron mayor consumo de BF entre la 7ª y 8ª década de la vida (22% y 27%, respectivamente). En la mayoría de los trabajos, el tratamiento con Ca y vitamina D o su asociación fueron más prescritos que los BF (21 vs. 52 %).^{2,21-23,27,29}

El BF es la prescripción para osteoporosis más indicada en la institución. El tratamiento con drogas anabólicas es incipiente y más difundido el uso de BF, preferidos por experiencia y costos; por ello, pocos pacientes recibieron ranelato de estroncio y uno teriparatida. Si evaluamos el tratamiento exclusivo de BF (26%), el porcentaje de tratamiento fue comparable al de otros estudios.^{1,2,20}

La prescripción del tratamiento para OIC se observó con mayor prevalencia en la población más añosa, con menos tratamientos para otras comorbilidades, con estudios diagnóstico para osteoporosis (DMO) y con fracturas óseas. En otra investigación se advirtieron semejantes indicaciones: edad, sexo femenino, fracturas, altas dosis acumuladas de GC y enfermedades reumáticas u otras comorbilidades eran los disparadores principales de prescripción de terapéuticas preventivas para OIC.²⁷

En este trabajo, el uso de corticoides fue más frecuente entre la 7ª y la 9ª década de vida coincidiendo con la prevalencia de uso de GC y otros estudios.^{19,22} Por otra parte, la escasa evidencia de tratamiento preventivo para OIC en población menor de 50 años (guías de prevención con poca claridad en las normativas), especialmente en mujeres en etapa reproductiva, condicionaron una pobre intervención entre los más jóvenes.^{9,25}

A diferencia de otros autores, los pacientes polimedicados recibían en menor proporción medicaciones para OIC, probablemente porque los médicos de cabecera priorizaban la indicación de fármacos para enfermedades más graves o prevalentes.^{19,27}



El 16% de la población con consumo crónico de GC tenía al menos una densitometría ósea realizada, y si bien en la OIC la DMO es sólo un parámetro más para tener en cuenta con miras al diagnóstico, observamos que la población tratada tenía mayor porcentaje de DMO realizadas que la no tratada. Los resultados publicados por otros autores son muy variables (entre 6- 50%).^{20-22,26} Es conocida la importancia de esta herramienta en la adherencia a los tratamientos de prevención primaria y secundaria de osteoporosis.³⁴

El 20,4% de la población que consumía GC presentaba un registro de fractura, mientras que, en los pacientes no intervenidos, el 8,6%, una diferencia significativa. La presencia de fracturas fue un motivo de importancia para la prescripción del tratamiento para osteoporosis. Majumdar y cols. consignaron similares apreciaciones.²²

Existe la evidencia de que el uso crónico de GC se asocia a un aumento de riesgo de fracturas. El 13,2% presentaba fracturas por fragilidad de diferente índole. En este estudio de cohorte transversal no podemos identificar si la fractura fue previa al uso del corticoide o concomitante con él. Por otra parte, también existe un subregistro de las fracturas vertebrales asintomáticas; no se evaluaron radiografías del raquis.

Los pacientes con tratamiento crónico de GC inhalantes presentaban también fracturas clínicas. Gonnelli y cols. y otros autores demostraron aumento del riesgo de fracturas vertebrales y pérdida de masa ósea en pacientes tratados con altas dosis de GC inhalantes^{7,8,28,29}.

Es de interés incorporar en estudios poblacionales de OIC la categoría de GC inhalatorios, por su uso frecuente y sus consecuencias esqueléticas.

En la subpoblación de pacientes con fractura, la prescripción de tratamiento para OIC fue superior (62% vs. 41%) a la población total que consumía GC. Se infiere que hay mayor motivación para el tratamiento en pacientes

con osteoporosis grave. Las medicaciones más prescritas fueron la vitamina D (50%) y los BF (45%), a diferencia del grupo general en el que el BF fue la indicación preponderante. Se destaca que la vitamina D es una medicación necesaria pero no suficiente para el tratamiento de estos pacientes con fracturas.⁹⁻¹⁵ Teniendo en cuenta el alto riesgo de fracturas de esta población se requiere mayor concientización médica para indicar terapias preventivas y mejor difusión de esquemas terapéuticos por parte los especialistas en enfermedades óseas a la comunidad médica en general.

Conclusiones

En nuestro estudio se observó que la población tratada en forma crónica con GC representa un bajo porcentaje de pacientes en un sistema de medicina prepaga. Este trabajo comprende a una población seleccionada; sin embargo, la prevalencia coincide con estudios de comunidades.

Se destaca que el tratamiento preventivo para OIC fue insuficiente, así como también los estudios implementados para el diagnóstico de la población de riesgo de padecer fracturas.

La prevención de la OIC se realizó con BF, vitamina D y Ca en toda la población estudiada. Si bien los pacientes con fracturas recibían más tratamiento que su contraparte, el tipo de terapéutica indicada no era la más adecuada.

La morbimortalidad que acontece por OIC es de relevancia y requieren adecuada atención por los sistemas de salud. Se requieren políticas sanitarias a fin de concientizar a médicos y pacientes sobre la importancia y necesidad de tratamiento en pacientes que reciben GC en altas dosis y en forma crónica.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: abril 2013.
Aceptado: octubre 2013)

Referencias

1. Van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a metaanalysis. *Osteoporos Int* 2002; 13:777-8.
2. Overman RA, Yeh JY, Deal CL. Prevalence of oral glucocorticoid usage in the United States: A general population perspective. *Arthritis Care Res* 2013; 65:294-8.
3. Van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 993-1000.
4. Van Staa TP, Leufkens HGM, Abenhaim L, Begaud B, Zhang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids in the United Kingdom. *QJM* 2000 93:105-11.
5. Weinstein RS. Glucocorticoid induced bone disease. *N Engl J Med* 2011 365:62-70.
6. Kanis JA, Johansson H, Oden A, et al. A meta-analysis of prior corticosteroid use and fracture risk. *J Bone Miner Res* 2004; 19:893-89.
7. Gonnelli S, Caffarelli C, Maggi S, et al. Effect of inhaled glucocorticoids and beta (2) agonists on vertebral fracture risk in COPD patients: the EOLO study. *Calcif Tissue Int* 2010; 87:137-43.
8. Mortimer KJ, Harrison TW, Tattersfield AE. Effects of inhaled corticosteroids on bone. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94:15-21.
9. Grossman JM, Gordon R, Ranganath VK, et al. American College of Rheumatology 2010 recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid induced osteoporosis. *Arthritis Care Res* 2010; 62:1515-26.
10. Saag KG, Emkey R, Schnitzer TJ, et al, and the Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Intervention Study Group. Alendronate for the prevention and treatment of glucocorticoid induced osteoporosis. *N Engl J Med* 1998; 339:292-9.
11. Cohen S, Levy RM, Keller M, et al. Risedronate therapy prevents corticosteroid induced bone loss: a twelve-month, multicenter, randomized, double-blind, placebo controlled, parallel-group study. *Arthritis Rheum* 1999; 42:2309-18.
12. Reid DM, Hughes RA, Laan RF, et al. Efficacy and safety of daily risedronate in the treatment of corticosteroid-induced osteoporosis in men and women: a randomized trial. European Corticosteroid- Induced Osteoporosis Treatment Study. *J Bone Miner Res* 2000;15:1006-13.
13. Wallach S, Cohen S, Reid DM, et al. Effects of risedronate treatment on bone density and vertebral fracture in patients on corticosteroid therapy. *Calcif Tissue Int* 2000;67:277-85.
14. Saag KG, Shane E, Boonen S, et al. Teriparatide or alendronate in glucocorticoid induced osteoporosis. *N Engl J Med* 2007;357:2028-39.
15. Reid DM, Devogelaer JP, Saag K, et al. Zoledronic acid and risedronate in the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis (HORIZON): a multicentre, double blind, double-dummy, randomized controlled trial. *Lancet* 2009;373:1253-63.
16. Saag KG, Gehlbach SH, Curtis JR, Youket TE, Worley K, Lange JL. Trends in prevention of glucocorticoid induced osteoporosis. *J Rheum* 2006; 33:1651-7.
17. Walsh LJ, Wong CA, Pringle M, Tattersfield AE. Use of oral corticosteroids in the community and the prevention of secondary osteoporosis: a cross sectional study. *BMJ* 1996; 313:344-6.
18. Peat ID, Healy S, Reid DM, Ralston SH. Steroid induced osteoporosis: an opportunity for prevention? *Ann Rheum Dis* 1995 54:66-8.
19. Aagaard EM, Lin P, Modin GW, Lane NE. Prevention of glucocorticoid induced osteoporosis: practice at an urban county hospital. *Am J Med* 1999; 107:456-60.
20. Yood RA, Harrold LR, Fish L, et al. Prevention of glucocorticoid induced osteoporosis: experience in a managed care setting. *Arch Intern Med* 2001; 161:1322-7.
21. Solomon DH, Katz JN, Jacobs JP, La Tourette AM, Coblyn J. Management of glucocorticoid-induced osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis: rates and predictors of care in an academic rheumatology practice. *Arthritis Rheum* 2002;46:3136-42.
22. Majumdar SR, Lix LM, Yogendran M, Morin



- SR, Metge CJ, Leslie WD. Population-Based Trends in Osteoporosis Management after New Initiations of Long-Term Systemic Glucocorticoids (1998–2008). *J Clin Endocrinol Met* 2012; 97:1236-42.
23. Caballero-Urbe C, Acosta JG, Hernández EA. Prevention, Diagnosis, and treatment of glucocorticoid induced osteoporosis by rheumatologists in a latin-American city. *J Clin Rheumatol* 2008; 14:153-5.
24. Hougardy DMC, Peterson GM, Bleasel MD, Randall CTC. Is enough attention being given to adverse effects of corticosteroid therapy? *J Clin Pharm Ther* 2000; 25:227-34.
25. Hansen KE, Wilson HA, Zapalowski C, Fink HA, Minisola S, Adler RA. Uncertainties in the prevention and treatment of glucocorticoid induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2011; 26:1989-96.
26. Lekamwasam S, Adachi JD, Agnusdei D. A framework for the development of guidelines for the management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int* 2012; 23:2257-76
27. Duyvendak M, Naunton M, van Roon N, et al. Systematic review of trends in prophylaxis of corticoid-induced osteoporosis: the need for standard audit. Guidelines. *Osteoporosis Int* 2008; 19:1379-94.
28. Chantler IW, Davie MW, Evans SF, Rees JS. Oral corticosteroid prescribing in women over 50, use of fracture prevention therapy, and bone densitometry service. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:350-2.
29. Naunton M, Peterson GM, Jones G, Griffin GM, Bleasel MD. Multifaceted educational program increases prescribing of preventive medication for corticosteroid induced osteoporosis. *J Rheumatol* 2004; 31:550-6.
30. Buckley LM, Marquez M, Freezor R, Ruffin DM, Benson LL. Prevention of corticosteroid-induced osteoporosis- results of a patient survey. *Arthritis Rheum* 1999; 42:1736-9.
31. Smith MD, Cheah SP, Taylor K, Ahern MJ. Prevention of corticosteroid induced osteoporosis in inpatients recently discharged from a tertiary teaching hospital. *J Rheumatol* 2001; 28:566-70.
32. Gudbjornsson B, Juliusson UI, Gudbjornsson FV. Prevalence of long term steroid treatment and the frequency of decision making to prevent steroid induced osteoporosis in daily clinical practice. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:32-6.
33. Walsh LJ, Wong CA, Pringle M, Tattersfield AE. Use of oral corticosteroids in the community and the prevention of secondary osteoporosis: a cross-sectional study. *BMJ* 1996; 313:344-6.
34. Eisman J, Bogoch ER, Dell R, Harrington JT. Making the first fracture the last fracture: ASBMR task force report on secondary fracture prevention. *J Bone Miner Res* 2012; 27:2039-46.

ACTUALIZACIONES / *Reviews*

EL TEJIDO ÓSEO ESPONJOSO Y SU EVALUACIÓN POR MEDIO DE IMÁGENES

Rodolfo C. Puche*

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

Resumen

Este artículo describe la importancia fisiológica del hueso trabecular y la estrecha relación existente entre su estructura y función. Se comparan las tecnologías que producen imágenes de alta calidad requeridas por el diagnóstico médico: densitometría ósea dual (DXA), espectroscopia infrarroja y espectro analizado por la transformada de Fourier (FT IR), resonancia magnética de alta resolución (HR-MRI), tomografía computarizada cuantitativa multicorte (MSCT), microtomografía computarizada (μ CT), resonancia magnética de estado sólido (^{31}P NMR), tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT), microtomografía computarizada asociada a sincrotrón (SR-CT) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Se describe con mayor detalle el TBS (*Trabecular bone score*), evaluación del tejido esponjoso vertebral mediante el análisis de las imágenes obtenidas por DXA.

Palabras clave: hueso trabecular, calidad ósea, imágenes digitales, transformada de Fourier, fractales y *trabecular bone score*.

Summary

TRABECULAR BONE AND ITS EVALUATION THROUGH IMAGES

This article describes the physiological importance of trabecular bone and the close association between its function and structure. The available technologies that provide high quality images required for medical diagnosis are compared: Dual energy X-ray absorptiometry (DXA), Infrared spectroscopy and analysis of spectra through the Fourier Transform (FT IR), high resolution Nuclear magnetic resonance (HR-MRI), Multislice computed tomography (MSCT), X-ray microtomography (μ CT), Solid state Nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR), Peripheral quantitative computed tomography (pQCT), Synchrotron radiation computed tomography (SR-CT), scanning electron microscope (SEM). Details are given for the assessment of vertebral trabecular bone through the Trabecular bone score (TBS) define by analysis of DXA images.

Key words: *trabecular bone, bone quality, digital images, Fourier Transform, fractals, trabecular bone score.*

* Dirección postal: Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100. Rosario. Argentina. Correo electrónico: rodolfopuche@ciudad.com.ar



El fascinante hueso trabecular

El hueso trabecular ocupa, aproximadamente, el 20% de la masa esquelética de un ser humano adulto. Está compuesto por una red interconectada de placas y barras que reciben el nombre de trabéculas. El hueso esponjoso se encuentra principalmente cerca de los extremos de los huesos largos, distribuye las cargas mecánicas desde las superficies articulares hasta el hueso cortical. Es el constituyente principal que absorbe las cargas de las vértebras.

La densidad mineral relativa del hueso (relativa respecto de los valores más altos) varía entre 0,05-0,7 para el hueso trabecular y entre 0,7-1,0 para el cortical.¹ La densidad relativa de una celda abierta, con estructura de barras, es generalmente menor de 0,13, mientras que en una celda cerrada con estructura de placas es mayor de 0,2. Los valores intermedios se dan en una combinación entre barras y placas. El cambio de densidad relativa modifica el módulo de elasticidad y afecta la rigidez del tejido. A densidades relativas bajas, las celdas forman una red abierta de barras; conforme aumenta la densidad relativa, se acumula más material en las paredes de las celdas y la estructura se transforma en una red más cerrada de placas.

La densidad relativa, arquitectura y función del hueso en una posición determinada dependen de la magnitud de las cargas a las que está sometida. Las imágenes muestran que, en regiones de bajos esfuerzos, se desarrollan estructuras de celdas abiertas con bajas densidades relativas, mientras que las de mayores densidades y celdas cerradas se desarrollan en regiones sometidas a altos esfuerzos.

El tejido óseo trabecular contribuye a disminuir la masa del esqueleto con reducida

pérdida de su resistencia a la fractura. En el hueso trabecular, las células óseas se sitúan entre lamelas o en la superficie de la trabéculas, donde pueden ser influenciadas por componentes de la médula. Por su amplia superficie, expuesta a la circulación, parece ser metabólicamente más activo y de respuesta más rápida a las cargas que el hueso cortical.

La estrecha relación entre la forma de una estructura y su función

El análisis de las formas constituye una parte muy importante del diagnóstico en todas las ciencias de la salud. La estrecha relación entre forma y función ha convertido la idea de forma en uno de los conceptos fundamentales en todas las ciencias biológicas.

Reconocemos la forma de un objeto*, sobre la base de exposiciones múltiples y previas de objetos conocidos. Así terminamos acumulando modelos mentales de esos objetos. Por ello, nuestra identificación o clasificación siempre tendrá alguna cuota de subjetividad.

El ojo humano es capaz de detectar diferencias sutiles entre dos formas (la del objeto presente y la definida previamente como normal o de referencia). Conviene recordar que los procesos implicados en la recepción, reconocimiento y especialmente en la integración de estímulos visuales son aún imperfectamente conocidos.

La habilidad humana de discriminar entre formas tomando nota de las diferencias en tamaño, perfil, color, trama, textura, etc. está tan integrada que nuestra respuesta es a menudo automática o inconsciente.

No podemos confiar exclusivamente en nuestros ojos. Somos sensibles a diferencias en contraste (sobrestimaremos el tamaño si el contraste es alto), a cambios en perspectiva

* Se utiliza el término "objeto" con el propósito de generalizar. Según el interés del lector puede reemplazarse por estructura, silueta, corte histológico, radiografía, etcétera

y profundidad, a la orientación de la iluminación (preferimos la iluminación desde arriba). Además, tendemos a completar la imagen con aquello que pensamos que debe estar en ella. Para complicar el diagnóstico, las estructuras biológicas exhiben un espectro continuo de modificaciones.

Thompson² definió una serie de conceptos que han pasado a ser clásicos: “El estudio de la forma puede ser meramente descriptivo analítico. Se comienza por describir la silueta de un objeto con palabras coloquiales y se termina utilizando el preciso lenguaje de las matemáticas. El segundo método sigue al primero en estricto orden científico y de continuidad histórica”.

Bastará que el lector recuerde haber visto imágenes de ilusiones ópticas para aceptar que no podemos confiar exclusivamente en nuestros ojos y comenzará a explicarse por qué el análisis de las formas utiliza actualmente “el preciso lenguaje de las matemáticas”, como lo enunció Thompson en 1915.

¿Qué método elegir?

Es una pregunta de difícil respuesta. Depende de una serie de factores que explican la extraordinaria diversidad de investigaciones básicas y clínicas de la literatura:

- a) El interesado ¿es un investigador básico o clínico (interesado especialmente en el conocimiento de la biología del tejido o interesado principalmente en el diagnóstico y prevención)?
- b) ¿Cuál es la tecnología disponible para obtener imágenes del tejido?
- c) ¿Se usará una técnica no invasiva aplicable a los pacientes o una técnica invasiva que requiere material *ex vivo*?
- d) ¿Qué costo tienen los equipos? ¿Cuál es el costo de su operación?
- e) ¿Cómo y quién analizará las imágenes?
- f) ¿Se ha demostrado la eficacia clínica del método elegido?

Los lectores de *Actualizaciones en Osteo-*

logía son testigos del constante avance en la tecnología destinada a producir mejores imágenes. Debe ser evidente que la calidad de las imágenes es función de las características de la radiación, la dosis de esta que puede recibir el paciente y el entorno del hueso (el antebrazo y el calcáneo han sido objeto de intensas investigaciones por tener poco tejido blando cercano).

El costo y la disponibilidad de los instrumentos contribuyen a la diversidad de informes publicados: los investigadores utilizan los recursos disponibles, aplican a las imágenes obtenidas alguno de los análisis de imágenes y efectúan la comparación entre sujetos normales y la patología de su interés.

Los equipos que producen directamente imágenes digitales constituyen un gran avance porque, al obviar el uso de placas radiosensibles y su revelado, se reducen las variaciones de la calidad de las imágenes, lo que termina siendo clave para su análisis.

Definición de las formas de una determinada fracción de tejido óseo

El análisis de las formas encontradas al estudiar el tejido óseo ha avanzado hasta incluir el concepto de “calidad ósea”. Este concepto surgió como respuesta al hecho de que la cantidad de hueso (un descriptor de la forma), evaluada mediante la densidad mineral ósea (DMO, g/cm²), es una variable con conocidas limitaciones como predictor del riesgo de fractura.

Las investigaciones (básicas y clínicas) sobre la calidad del hueso tienen como objetivo ahondar en el conocimiento del tejido y perfeccionar el manejo clínico de los pacientes.

Es conocido que el monto de la masa ósea está fuertemente asociado a la fortaleza de los huesos. No obstante, por sí sola no es suficiente para determinar la fortaleza ósea,^{3,4} ni predecir su fractura,^{5,6} o evaluar el éxito terapéutico.⁷ La calidad del hueso es un importante factor para determinar su



resistencia⁸⁻¹⁰ y (además de la cantidad) es función de la:

- Microarquitectura ósea (trama trabecular).
- Propiedades materiales (grado de mineralización de la matriz).
- Acumulación de daño (microfracturas).
- Características genéticas del colágeno.
- Actividad metabólica (tasas de reabsorción y formación óseas).

Recursos tecnológicos que proveen imágenes de hueso trabecular

La Figura 1 exhibe en escala logarítmica los diferentes recursos disponibles, en función de la resolución de sus imágenes.

- Radiografía convencional y digital. Es extensamente disponible y útil para huesos periféricos recubiertos por escaso tejido blando (antebrazo, calcáneo). Los análisis de la

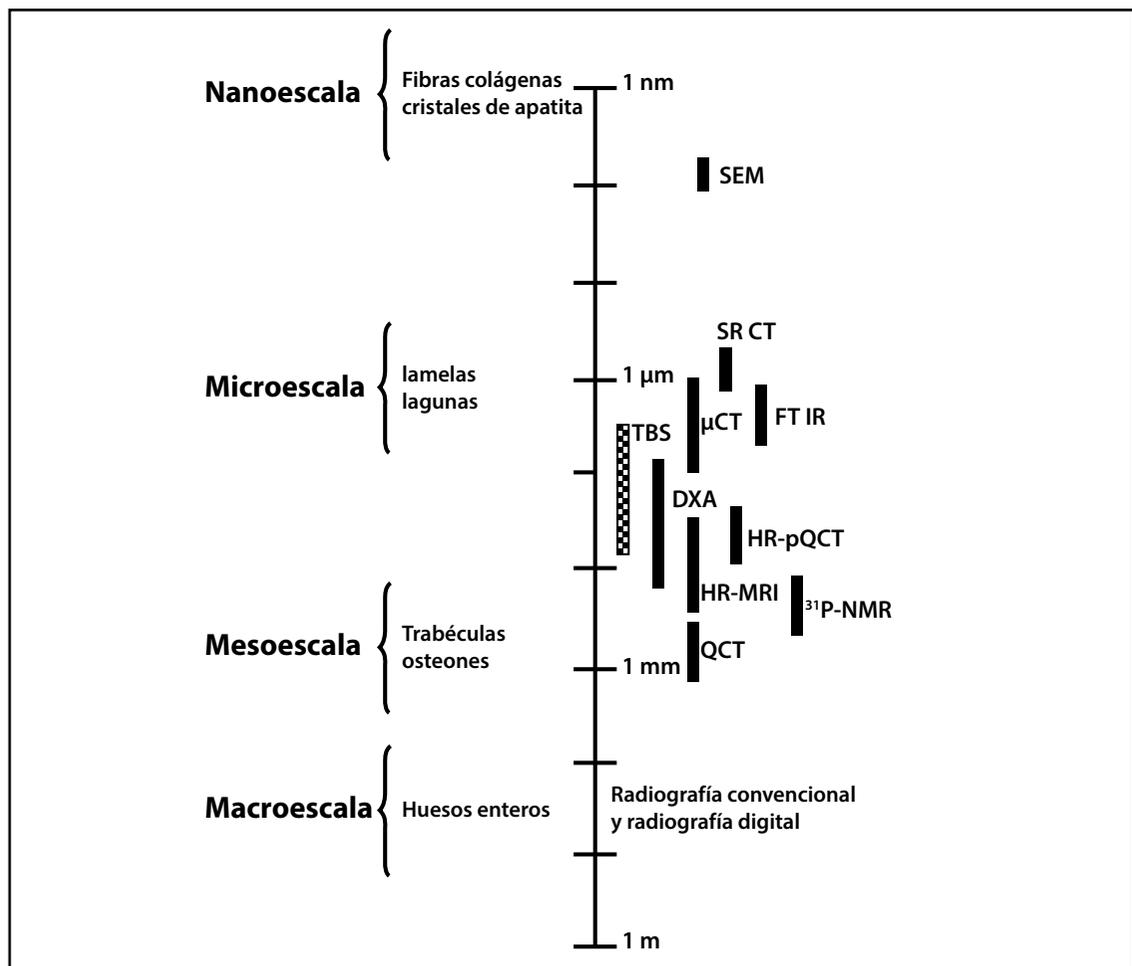


Figura 1. Instrumentos productores de imágenes de hueso trabecular (barras solidas) en función de sus resoluciones: DXA (densitometría ósea dual), FT IR (Espectroscopia Infrarroja y espectro analizado por la Transformada de Fourier), HR-MRI (Resonancia magnética de alta resolución), μCT (Micro-tomografía computarizada), ³¹P NMR (Resonancia magnética de estado sólido), HR pQCT (Tomografía computarizada cuantitativa periférica, de alta resolución), SR CT (Sincrotrón asociado a micro-tomografía computarizada), SEM (Microscopía electrónica de barrido). Barra de escaques: TBS (*Trabecular bone score*). Se ha omitido la referencia de la MSCT (Tomografía computarizada cuantitativa multicorte) porque su resolución es inferior a μCT y es de reciente aparición en la literatura. Adaptado de Ref. 10.

textura de radiografías del ilíaco se correlacionan con información obtenida con micro-CT.¹¹

- Tomografía computarizada cuantitativa multicorte (MSCT). Un estudio inicial con la TC de 64 cortes ha mostrado su utilidad para evaluar la geometría ósea en tres dimensiones: distinguir el hueso cortical del trabecular, producir valores de DMO volumétrica y la reconstrucción de la microarquitectura de cuerpos vertebrales.¹²

- Tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT). En un estudio con pacientes de insuficiencia renal crónica, los análisis de la textura de radiografías de radio y tibia se correlacionaron de manera significativa (aunque modesta) con información de la microarquitectura trabecular obtenida por pQCT.¹³

- Resonancia magnética de alta resolución. (HR-MRI). No utiliza radiación ionizante para producir imágenes sino un fuerte campo magnético y una serie de pulsos de radiofrecuencia para generar las imágenes del hidrógeno (¹H, elemento diamagnético) aportado principalmente por el agua contenida en el tejido óseo. Los resonadores magnéticos convencionales no producen imágenes del tejido óseo por el bajo contenido de agua de este. La resolución es baja *in vivo* y requiere largo tiempo de escaneado.

- Microtomografía computarizada (μ CT). Utiliza material de biopsia y puede caracterizar la microarquitectura trabecular con una resolución de 1-6 μ m, sobre un cilindro óseo de aproximadamente 1 cm de diámetro y 1,5 cm de largo. Permite obtener parámetros morfológicos del hueso trabecular tales como fracción de hueso por unidad de volumen de tejido, número, grosor, separación y conectividad entre trabéculas y DMO volumétrica verdadera.

- Sincrotrón asociado a microtomografía computarizada (SR CT). Se obtuvo una mejora en la tecnología μ CT cuando se usó el sincrotrón como fuente de rayos X. El sincrotrón acelera electrones radialmente por medio de un campo magnético circular. La trayectoria en espiral hace que los electrones se acele-

ren hasta adquirir la frecuencia de los rayos X (*synchrotron radiation*). La fuente radiante, colimada y filtrada, permite obtener imágenes con resolución de 1 μ m, medir gradientes de mineralización trabecular, analizar zonas en reabsorción, microfracturas, conectividad trabecular, anisotropía y forma de las trabéculas (travesaños o placas).¹⁴

- Resonancia magnética de estado sólido (NMR). De los elementos contenidos en el tejido óseo, son de interés el ¹H y ³¹P. Los espectros NMR varían al modificar la frecuencia de los pulsos de radiofrecuencia y la información obtenida puede emplearse para caracterizar cambios de la química mineral en función del tiempo.^{15,16}

- Espectroscopia infrarroja y espectro analizado por la transformada de Fourier (FT IR). Esta metodología requiere cortes ultrafinos de tejido (2 μ m). La radiación infrarroja incidente excita (hace vibrar) los enlaces químicos del mineral y de las proteínas de la matriz. Este fenómeno se produce, para cada tipo de enlace, en una determinada longitud de onda de la radiación. El análisis del espectro producido sirve para definir la composición del tejido.^{17,18}

- Microscopía electrónica de barrido (SEM). Sirve para caracterizar la morfología de las superficies de muestras de tejido, que debe ser deshidratado y recubierto con material conductor.

- La densitometría ósea (DXA) emplea una tecnología de rayos X que se ha constituido en el método estándar para medir la densidad mineral ósea. Por su disponibilidad y extenso uso en el diagnóstico osteológico, nos ocuparemos más adelante del análisis de las imágenes de tejido trabecular que se obtienen con esta tecnología.

Morfometría

La morfometría¹⁹ (definición cuantitativa de una estructura) elimina la subjetividad, asegura la reproducibilidad y extiende los límites de detección de las diferencias, aplicadas a



conjuntos de datos: distancias, ángulos y cocientes entre estos.

El *Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee*²⁰ ha definido las variables primarias de histomorfometría ósea para microscopía 2D, tal como la emplea el patólogo al analizar cortes finos de tejido óseo no descalcificado, incluido en un plástico. Este tratamiento asegura la indeformabilidad de las estructuras que serán estudiadas y medidas en el microscopio. Las variables son a) área (volumen[#] óseo, de osteoide, mineralizado, vacío, de médula ósea, fibrótico, celular, citoplásmico, nuclear), b) longitud (interfase ósea, superficie ósea, de osteoide, quiescente, en reabsorción, mineralizada, cubierta por osteoblastos, marcada con uno o dos marcadores fluorescentes, cubierta por osteoclastos, en reversión), c) distancias (espesor cortical, espesor mineralizado, del osteoide, del marcador, de las trabéculas, del intersticio) y d) número (de osteoblastos, osteoclastos, osteocitos, núcleos, canales, costuras).

Con la información de las variables primarias, el patólogo puede derivar índices estructurales y cinéticos, con los que definirá la actividad metabólica de la zona de la que se extrae el material: índices estructurales (número de trabéculas, separación trabecular); índices cinéticos (tasa de aposición mineral, de aposición ajustada, de aposición de osteoide, de formación de mineral, de formación ósea, de reabsorción ósea, tiempo que requiere la mineralización del osteoide, de maduración de osteoide, de formación, de reabsorción, de reversión, de remodelado, término de vida de las unidades multicelulares básicas (BMU), período de quiescencia y frecuencia de activación). Para estimar las tasas de los procesos de reabsorción y formación óseas se

requiere definir el inicio y el final del período de estudio mediante la marcación de las superficies óseas con fluorocromos.

Los análisis morfométricos estructurales pueden aplicarse a imágenes digitales obtenidas en el microscopio óptico o radiológicas o tomográfico-computarizadas del hueso trabecular. La información contenida en las imágenes puede ser extraída mediante programas de computación que facilitan la tarea.

La textura de las imágenes

La información contenida en las imágenes digitales puede ser analizada globalmente sobre la base de su "textura".

Hay varias definiciones de textura. Quizá lo mejor sea ofrecerlas al lector (que sin duda tiene una idea intuitiva de textura) para que el concepto se extienda al análisis de las imágenes.

Es una característica de la imagen para dividirla en regiones de interés y/o clasificar esas regiones y/o comparar regiones (o muestras de la imagen) y/o extraer detalles de ellas.

Es información sobre el arreglo espacial de colores o intensidades en una imagen.

No puede definirse en un punto sino en la región de interés (ROI).

Estos detalles de la textura se encuentran en el tono (intensidad de los píxeles en la textura) y la estructura (relación espacial entre texturas de una imagen).

Hay por lo menos 4 enfoques para el análisis de la textura:

- Estructural: morfología matemática.²¹
- Espectral: análisis de las frecuencias de la textura (transformada de Fourier y derivados de ella).²²
- Basado en modelos: captura del proceso que ha generado la textura (fractales).²³
- Estadística: propiedades que gobiernan la

[#] La transformación de una superficie en un volumen se basa en un teorema de Estereología Microscópica.

distribución de los valores de niveles de grises.²⁴

Análisis espectral de la textura

La transformada de Fourier de una imagen contiene el espectro de las frecuencias que la componen, que el ojo humano percibe como colores o tonos de gris.

La transformada de Fourier es muy popular en el análisis de imágenes porque produce una descripción unívoca de su tamaño, silueta y estructura. Permite la recreación visual de la imagen con gran precisión y es eficaz en términos de computación (permite la reducción del conjunto de datos sin pérdida significativa de la precisión, y que dicha información sea recuperable).²⁵ Con las palabras “bone image Fourier”, PubMed registra 190 trabajos publicados entre 1984 y 2013.

Análisis basados en modelos. Fractales.

Un fractal es un objeto geométrico que puede dividirse en fracciones, cada una de las cuales es una copia de tamaño reducido del objeto. El objeto geométrico tiene estas características: a) es muy irregular para ser descrito en términos de la geometría clásica, b) posee estructura fina a escala arbitrariamente pequeña y c) tiene una definición simple y recurrente (autosimilaridad). Es evidente que las imágenes de hueso trabecular satisfacen las tres características.

Dimensión fractal. El cálculo de la dimensión fractal²⁶ puede efectuarse con el método de conteo de cajas o “box counting”. El programa de análisis cubre la imagen con una cuadrícula (cajas) y cuenta el número de ellas que cubren la imagen. Aplica, sucesivamente, cuadrículas más pequeñas con lo cual aumenta el número de cajas necesarias para cubrir la imagen. En escala doble logarítmica, los datos definen una línea recta: el número de cajas (ordenada) en función del tamaño de las cajas (abscisa). El valor de la pendiente define la dimensión fractal: un número con decimales.

Una imagen digital pequeña B&W, de

600×500 píxeles contiene 300.000 puntos, cada uno de los cuales es revisado más de 1.000 veces por el algoritmo de cálculo. El uso de una computadora moderna con un programa de análisis fractal de imágenes²⁶ permite obtener rápidamente el valor de la dimensión fractal de una imagen. El lector observará que el análisis de una imagen termina en un número, que simplifica la comparación entre imágenes semejantes.

El análisis por fractales está en plena evolución. Actualmente el programa aludido cuenta el número de cajas negras (NB), blancas (NW) y grises (NBW) y provee tres dimensiones fractales (análisis multifractal) DB y DW, que caracterizan los planos blanco y negro, y DBW, que caracteriza el borde B&W.

Con las palabras “bone image fractals”, PubMed registra 69 trabajos publicados entre 1993 y 2012.

Análisis estadístico de la textura (basado en la distribución de los valores y distribución de los niveles de grises).

A partir del conocimiento de que la DMO no es suficiente para definir la calidad del tejido, el desarrollo de una técnica que permitiera conocer el estado de la estructura trabecular se constituyó en un desafío. En opinión de este revisor, el hallazgo de una metodología de aplicación clínica, eficaz, no invasiva, que utilice equipamiento disponible, parece haberse aproximado al objetivo: el *Trabecular bone score* (TBS).

El TBS se obtiene a partir del análisis de la distribución de los niveles de gris de los píxeles de las imágenes obtenidas por DXA.²⁷ Es un parámetro cuantitativo de la textura de las imágenes de los cuerpos vertebrales en proyección anteroposterior. Las imágenes pueden ser evaluadas por un programa de análisis (TBS iNsight®).

La Figura 2 exhibe la imagen de un cuerpo vertebral en proyección anteroposterior obtenida por DXA y una fracción de la imagen de un cuerpo vertebral normal (abajo izquier-



da) y otro osteoporótico (abajo derecha). El programa de análisis contiene un algoritmo que evalúa los niveles de gris de cada uno de los píxeles de la imagen. El “color” de los píxeles de la imagen va de blanco (cuando el haz de rayos X fue atenuado en su trayectoria por tejido calcificado) a negro (cuando el haz no fue atenuado). En un hueso osteoporótico, el mismo examen mostrará menos píxeles claros (tejido calcificado) y más espaciados. Un valor elevado de TBS indica que

el tejido contiene muchas trabéculas, bien conectadas y con poco espacio entre ellas. A la inversa, un valor bajo indica pocas trabéculas, poco conectadas y con amplio espacio entre ellas.

La eficacia del TBS fue comprobada al comparar imágenes 2D obtenidas por proyección de la estructura trabecular 3D obtenida por μ CT. La correlación fue elevada y poco afectada por la degradación en la resolución de las imágenes y la presencia de ruido.²⁸ Se

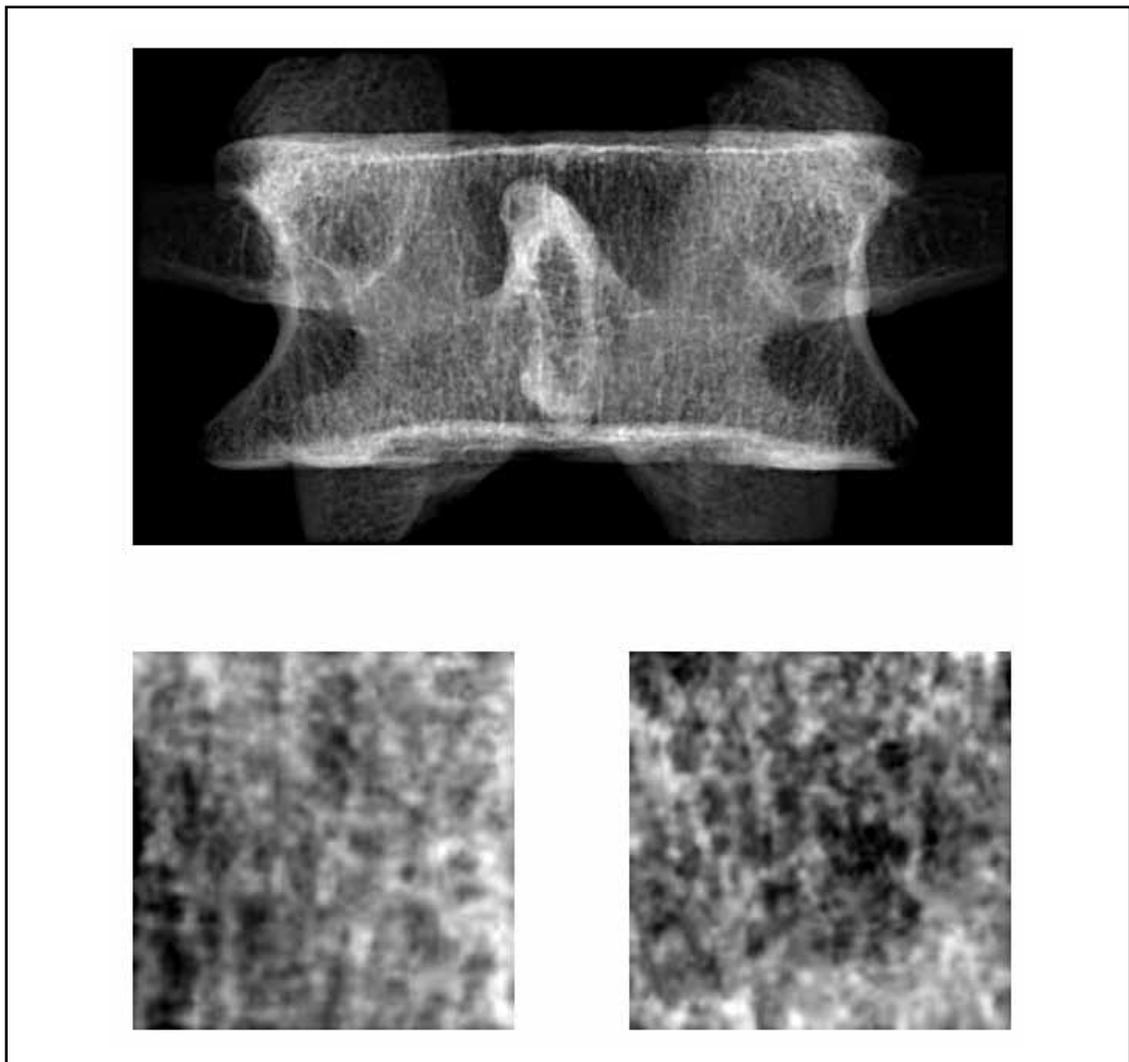


Figura 2. Imagen de un cuerpo vertebral en proyección anteroposterior obtenida por DEXA y una fracción de la imagen de un cuerpo vertebral normal (abajo izquierda) y otro osteoporótico (abajo derecha).

ha demostrado que el TBS está fuertemente correlacionado con el número y la conectividad de las trabéculas y negativamente correlacionado con el espacio entre ellas.^{29,30} Además, el TBS agrega valor y poder a la diferenciación entre sujetos con DMO semejantes pero con diferente microarquitectura trabecular.³⁰

En un estudio realizado con la participación de 29.407 sujetos de 50 o más años, se investigó la incidencia de fracturas osteoporóticas no traumáticas posteriores a una medición de DMO. Valores significativamente bajos de TBS y DMO se encontraron en mujeres con fracturas osteoporóticas de columna o cadera (todos $p < 0,0001$). Según los resultados obtenidos, el TBS es capaz de predecir las fracturas con independencia de la DMO. El empleo de los dos criterios mejora el valor predictivo en mujeres posmenopáusicas.³¹ Resultados optimistas se informaron a partir de un estudio de 560 mujeres posmenopáusicas³² y en una investigación de casos (241 mujeres posmenopáusicas, 50-80 años de edad) y controles destinada a determinar si TBS y DMO, solos o combinados, son útiles para predecir el riesgo de fracturas vertebrales.³³ La combinación de TBS y DMO perfecciona ligeramente la capacidad de predicción de fractura de la DMO de cadera.³⁴ El TBS no parece útil para predecir el comportamiento biomecánico del tejido.³⁵

El párrafo anterior describe una serie de investigaciones clínicas, habituales para asignar valor a la información contenida en las imágenes. Esta revisión concluirá con una breve referencia al análisis de la estructura del

tejido esponjoso efectuada con el Método de Elementos Finitos.

A partir de las imágenes en alta resolución, obtenidas generalmente *ex vivo*, es posible reconstruir modelos del tejido en tres dimensiones, susceptibles de análisis ulteriores. El análisis por elementos finitos (FEA) es un método que conecta las ecuaciones aplicables a elementos simples de múltiples subdominios llamados elementos finitos, para obtener una aproximación a la ecuación compleja de un dominio mucho más amplio. La caracterización de la estructura trabecular por FEA permite evaluar el deterioro de la microarquitectura, estimar el riesgo de fractura y complementar la información obtenida por DXA.

Con las imágenes, los investigadores construyen *un modelo*: una malla de elementos finitos (hexaédricos, cúbicos, etc.), que reproduce la estructura tridimensional del tejido. Con la información de esta malla teórica se alimenta un programa de computación que simula el comportamiento mecánico de la microarquitectura en condiciones de compresión o tensión y que termina emitiendo un informe sobre las peculiaridades de la estructura. El método ha evolucionado hasta haberse propuesto uno "a la medida de", susceptible de ser aplicado a cada paciente.³⁶

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflictos de intereses.

(Recibido: abril de 2013.

Aceptado: junio de 2013)



Referencias

1. Jee W. The skeletal tissues. In: Cell and tissue biology. A text book of histology. Baltimore: Urban and Schwarzenberg; 1988.
2. Thompson DW. Morphology and mathematics. *Tran Roy Soc Edinburgh* 1915; 50:857-98, citado en Lestrel PE. Fourier descriptors and their applications in biology. Edinburgh: Cambridge University Press; 1997.
3. Johnell O, Kanis JA, Oden A, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res* 2005; 20:1185-94.
4. Rice JC, Cowin SC, Bowman JA. On the dependence of the elasticity and strength of cancellous bone on apparent density. *J Biomech* 1988; 21:155-68.
5. Hordon LD, Raisi M, Aaron JE, Paxton SK, Beneton M, Kanis JA. Trabecular architecture in women and men of similar bone mass with and without vertebral fracture: I. Two-dimensional histology. *Bone* 2000; 27:271-6.
6. McClung MR. Do current management strategies and guidelines adequately address fracture risk? *Bone* 2006; 38:S13-7.
7. Compston J. How to manage osteoporosis after the menopause. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19:1007-19.
8. Seeman E, Delmas PD. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med* 2006; 354:2250-61.
9. Chesnut CH 3rd, Rosen CJ. Bone Quality Discussion Group. Reconsidering the effects of antiresorptive therapies in reducing osteoporotic fracture. *J Bone Miner Res* 2001; 16:2163-72.
10. Donnelly E. Methods for assessing bone quality. *Clin Orthop Rel Res* 2011; 469:2128-38.
11. Guggenbuhl P, Bodic F, Hamel L, Baslé MF, Chappard D. Texture analysis of X-ray radiographs of iliac bone is correlated with bone micro-CT. *Osteoporos Int* 2006; 17:447-54.
12. Showalter C, Clymer BD, Richmond B, Powell K. Three-dimensional texture analysis of cancellous bone cores evaluated at clinical CT resolutions. *Osteoporos Int* 2006; 17:259-66.
13. Bacchetta J, Boutroy S, Vilayphiou N, et al. Assessment of bone microarchitecture in chronic kidney disease: a comparison of 2D bone texture analysis and high-resolution peripheral quantitative computed tomography at the radius and tibia. *Calcif Tissue Int* 2010; 87:385-91.
14. Ito M, Ejiri S, Jinnai H, et al. Bone structure and mineralization demonstrated using synchrotron radiation computed tomography (SR-CT) in animal models: preliminary findings. *J Bone Miner Metab* 2003; 21:287-93.
15. Kuhn LT, Grynypas MD, Rey CC, Wu Y, Ackerman JL, Gluimcher MJ. A comparison of the physical and chemical differences between cancellous and cortical bovine bone mineral at two ages. *Calcif Tissue Int* 2008; 83:146-54.
16. Wu Y, Hrovat MI, Ackerman JL, et al. Bone matrix imaged in vivo by water and fat suppressed proton projection MRI (WASPI) of animal and human subjects. *J Magn Reson Imaging* 2010; 31:954-93.
17. Boskey A, Mendelsohn R. Infrared analysis of bone in health and disease. *J Biomed Opt* 2005; 10:031102.
18. Carden A, Morris MD. Application of vibrational spectroscopy to the study of mineralized tissues (review). *J Biomed Opt* 2000; 5:259-68.
19. Weibel ER. Stereological principles for morphometry in electron microscopy. *Int Rev Cytol* 1969; 26:235-302.
20. Parfitt AM, Drezler MK, Glorieux FH, et al. Bone Histomorphometry: Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units. *J Bone Min Res* 1987; 2:595-610.
21. Goutsias J, Heijmans HM. Nonlinear multiresolution signal decomposition schemes--part I: morphological pyramids. *IEEE Trans Image Process* 2000; 9:1862-76.
22. Ferreira T, Rasband W. The Image. J User Guide - Version 1.43, Apr 2010 <http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/user-guide.pdf>.
23. HarfA versión 5.5L http://www.fch.vutbr.cz/lectures/imagesci/includes/harf_a_download.inc.php
24. Serra N (1982), citado por Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Lesty C, Robert L. Morphometric

- analysis of dermal collagen fibers in normal human skin as a function of age. *Arch Gerontol Geriatr* 1991; 13:1-14.
25. Lestrel PE. Fourier descriptors and their applications in biology. Edinborough: Cambridge University Press; 1997.
26. Zmeskal O, Veselý M, Nezádál M, Buchnicek M. Fractal Analysis of image structures. Harmonic and Fractal Image Analysis 2001; 1:3-5. http://www.fch.vutbr.cz/lectures/imagesci/download_ejournal/01_O.Zmeskal.pdf
27. Hans DD, Barthe NN, Boutroy SS, Pothuau LL, Winzenrieth RR, Krieg MA. Correlations Between Trabecular Bone Score, Measured Using Anteroposterior Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Acquisition, and 3-Dimensional Parameters of Bone Microarchitecture: An Experimental Study on Human Cadaver Vertebrae. *J Clin Densitom* 2011; 14:11.
28. Winzenrieth R, Michelet F, Hans D. Three-Dimensional(3D)MicroarchitectureCorrelations with 2D Projection Image Gray-Level Variations Assessed by Trabecular Bone Score Using High-Resolution Computed Tomographic Acquisitions: Effects of Resolution and Noise. *J Clin Densitom* 2012; 15:257-9.
29. Didier H, Barthe N, Boutroy S, Pothuau L, Winzenrieth R, Krieg MA. Correlations Between Trabecular Bone Score, Measured Using Anteroposterior Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Acquisition, and 3-Dimensional Parameters of Bone Microarchitecture: An Experimental Study on Human Cadaver Vertebrae. *J Clin Densitom* 2011;14:302-12.
30. Piveteau T, Winzenrieth R, Didier H. Assessment of correlations between 3D μ CT microarchitecture parameters and TBS: Effects of resolution and correlation with TBS DXA measurements. *J Clin Densitom* 2011; 14:169.
31. Didier H, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: The Manitoba study. *J Bone Min Res* 2011; 26:2762-9.
32. Boutroy S, Hans D, Sornay-Rendu E, Vilayphiou N, Winzenrieth R, Chapurlat R. Trabecular bone score improves fracture risk prediction in non-osteoporotic women: the OFELY study. *Osteoporos Int* 2013; 24:77-85.
33. Winzenrieth R, Dufour R, Pothuau L, Hans D. A retrospective case-control study assessing the role of trabecular bone score in postmenopausal Caucasian women with osteopenia: analyzing the odds of vertebral fracture. *Calcif Tissue Int* 2010, 86:104-9.
34. Del Rio LM, Winzenrieth R, Cormier C, Di Gregorio S. Is bone microarchitecture status of the lumbar spine assessed by TBS related to femoral neck fracture? A Spanish case-control study. *Osteoporos Int* 2013; 24:991-8.
35. Roux JP, Wegrzyn J, Boutroy S, Bouxsein ML, Hans D, Chapurlat R. The predictive value of trabecular bone score (TBS) on whole lumbar vertebrae mechanics: an ex vivo study. *Osteoporos Int* 2013; 24:1073-8.
36. Keyak JH, Meagher JM, Skinner HB, Mote CD. Automated three-dimensional finite element modelling of bone: a new method. *J Biomed Eng* 1990; 12:389-97.



IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / *Imaging in Osteology*

MASTOCITOSIS SISTÉMICA

María Diehl,¹ Ana Morandi,² Luisa Plantalech.^{1*}

Sección Osteopatías Metabólicas, Servicios de Endocrinología¹ y Anatomía Patológica². Hospital Italiano de Buenos Aires.

Se presenta las imágenes de biopsias de hueso y médula ósea de un paciente de 74 años quien consultó por lesiones cutáneas eritemato-papulosas compatibles con urticaria pigmentosa. Las radiografías evidenciaron esclerosis ósea en todo el esqueleto axial (raquis, pelvis), la densidad mineral ósea de raquis y fémur proximal era supra-normal y en el

laboratorio se observó un aumento significativo de fosfatasa alcalina.

Se diagnosticó mastocitosis sistémica mediante biopsia ósea (infiltración de médula ósea por mastocitos). Se advierte importante formación de tejido osteoide como expresión de actividad osteoblástica.

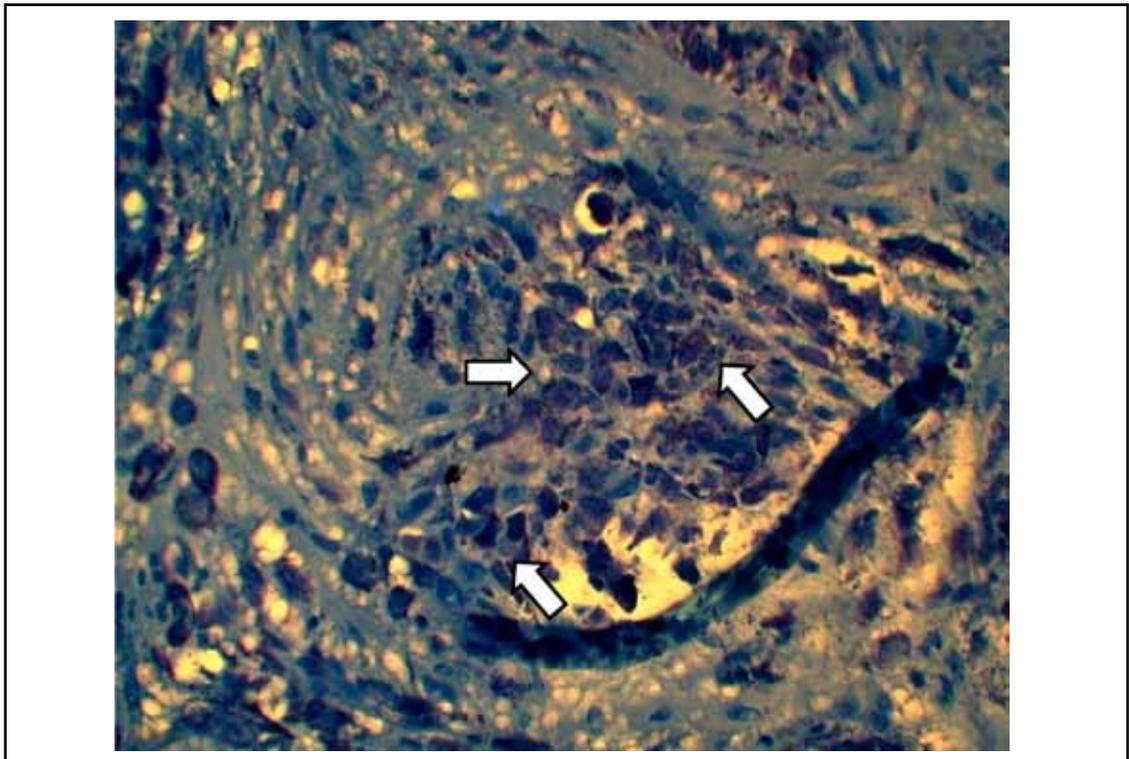


Figura 1. Presencia de mastocitos (flechas) que infiltran la médula ósea. Véase la gran cantidad de células que invaden el espacio medular. Tinción: azul de toluidina. Magnificación x200

* Correo electrónico: luisa.plantalech@hospitalitaliano.org.ar

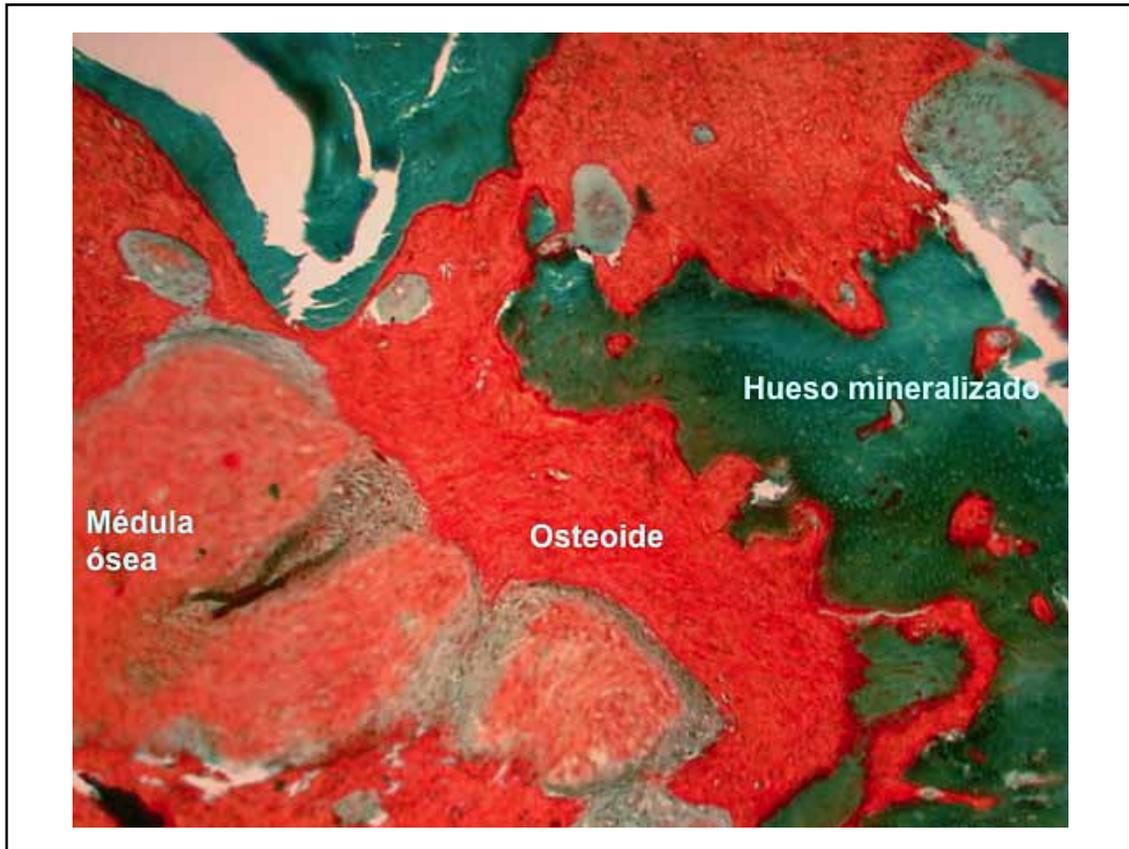


Figura 2. Biopsia ósea: se advierte incremento de osteoide en relación al hueso mineralizado. Médula ósea con incremento de la celularidad. Tinción: tricrómica de Goldner, Magnificación x200

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: septiembre 2013.
Aceptado: octubre 2013)



IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / *Imaging in Osteology*

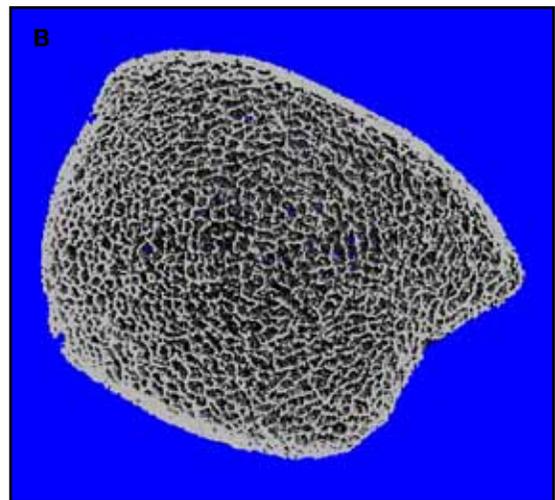
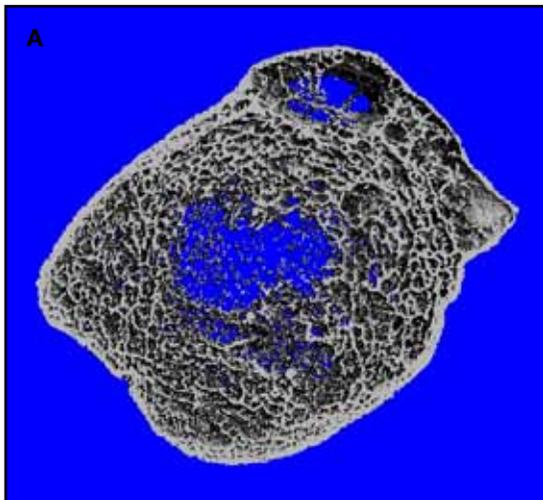
GRAVE ALTERACIÓN DE LA MICROARQUITECTURA ÓSEA EN SÍNDROME DE SUDECK

María Belén Zanchetta

IDIM, Instituto de Investigaciones Metabólicas. Cátedra de Osteología y Metabolismo Mineral, Universidad del Salvador.

Se presenta el caso de un varón sano de 38 años, quien sufrió una fractura de tibia conminuta en un accidente de automóvil. La evolución se complicó por la interconurrencia de un síndrome de Sudeck, por lo cual permaneció 15 meses inmovilizado.

La imagen por tomografía computarizada de alta resolución (HR-pQCT) muestra una grave alteración de la microarquitectura ósea en la tibia afectada, con predominante compromiso trabecular.



Imágenes tridimensionales HR-pQCT en paciente masculino con síndrome de Sudeck. **A.** Tibia afectada. **B.** Tibia contralateral del mismo paciente.

* Correo electrónico: mbzanchetta@idim.com.ar

	Tibia afectada	Tibia contralateral	% de diferencia
D 100: Densidad Total (mg HA/ccm)	271,8	187,2	-31
Densidad cortical (mg HA/ccm)	748	786	-4,8
Grosor cortical (mm)	0,890	1,010	-12
Densidad trabecular (mg HA/ccm)	111	179	-38
Volumen óseo trabecular, BV/TV (%)	9	15	-40
Número de trabéculas TbN (1/mm)	0,910	1,990	-54
Grosor Trabecular TBTh	0,075	0,102	-26

Parámetros densitométricos: densidad trabecular y densidad cortical. **Parámetros estructurales:** BV/TV: volumen óseo/volumen trabecular. TbN: número de trabéculas. TbTh: grosor trabecular.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener conflictos de intereses.

(Recibido: septiembre 2013.

Aceptado: octubre 2013)



IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / *Imaging in Osteology*

OSTEOGENESIS IMPERFECTA TIPO V Y TUMOR EN PIE IZQUIERDO

Luisa Plantalech*

Sección Osteopatía Metabólicas, Servicio de Endocrinología, Hospital Italiano de Buenos Aires.

La osteogénesis imperfecta (OI) de tipo V fue descrita por Glorieux en el año 2000, representa el 5% de todas la OI y se caracteriza por: su herencia autosómica dominante, fragilidad ósea, escleróticas blancas, denti-nogénesis normal, limitación en la pronosupinación de ambos antebrazos, y callos óseos exuberantes en sitios de fractura y quirúrgicos. La histología del hueso laminar es "tipo red". Recientes investigaciones demuestran que la mutación del gen del *Interferon Induced Transmembrane Protein 5* (IFITM5) es responsable de esta patología, dando cuenta de nuevos mecanismos regulatorios en la osificación humana. Las imágenes radiológicas de OI tipo V son características por la presencia de bandas metafisiarias radiodensas adyacentes al cartílago de crecimiento y calcificación de membranas interóseas.¹⁻³

Presentamos imágenes radiológicas de antebrazo, pierna y tomografía computarizada de pie de un varón de 27 años con múltiples fracturas en la infancia y adolescencia y escoliosis que requirieron intervenciones quirúrgicas en varias oportunidades. Presentó callo exuberante en codo y dorso con remisión *ad integrum* y tumor en pie izquierdo, extirpado, con diagnóstico de condrosarcoma de bajo grado.

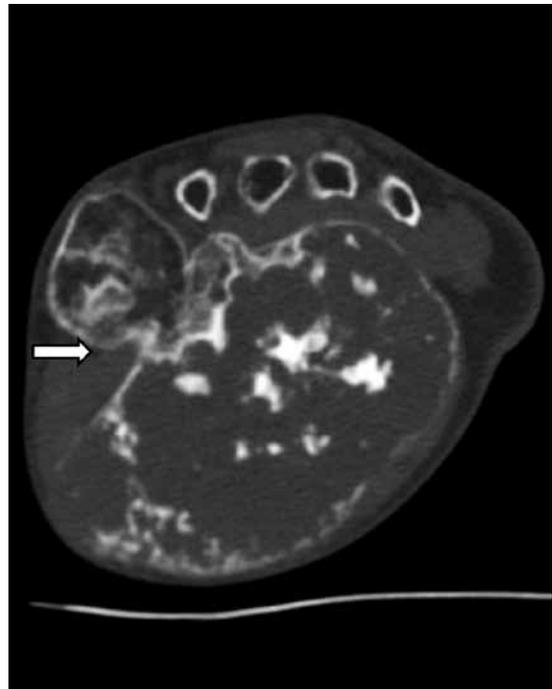


Figura 1. Tomografía computarizada de pie izquierdo de un varón con OI tipo V. Presenta voluminosa formación expansiva con calcificaciones dismórficas en su interior y en la pared ubicada a nivel de la cara plantar relacionada con 1° metatarsiano (flecha).

* Correo electrónico: luisa.plantalech@hospitalitaliano.org.ar



Figura 2. Imágenes radiográficas de radio y cúbito derecho de un varón con OI tipo V. Se señala la calcificación de membranas interóseas (flechas) características de este tipo de OI.



Figura 3. Radiografía simple de pierna izquierda de varón con OI tipo V. Se observa calcificación de membrana interósea entre tibia y peroné (flecha imagen izquierda), rarefacción ósea (flechas imagen derecha), defomidades de ambos huesos y clavo endomedular en tibia.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener conflictos de intereses.

(Recibido: agosto 2013.

Aceptado: septiembre 2013)

Referencias

1. Glorieux FH, Rauch F, Plotkin H, et al. Type V osteogenesis imperfecta: a new form of brittle bone disease. *J Bone Mineral Res* 2000; 15:1650-8.
2. Cho TJ, Lee KE, Lee SK, et al. A single recurrent mutation in the 5'-UTR of IFITM5 causes osteogenesis imperfecta type V. *Am J Hum Genet* 2012; 91:343-8.
3. Rauch F, Moffatt P, Cheung M, et al. Osteogenesis imperfecta type V: Marked phenotypic variability despite the presence of the IFITM5 c.-14C > T mutation in all patients. *J Med Genet* 2013; 50:21-4.



CONTROVERSIAS / *Controversies*

INVESTIGACIÓN DE UN FENÓMENO NATURAL: ¿ESTUDIOS *IN VIVO*, *IN VITRO* O *IN SILICO*?

Brenda Lorena Fina, Mercedes Lombarte, Alfredo Rigalli*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe 3100, Rosario, Argentina.

Resumen

Un tema de controversia y discusión en la investigación biomédica es la validez de la información obtenida de los experimentos realizados. Los modelos experimentales utilizados determinan el tipo de conclusiones así como la información obtenida. Básicamente podemos clasificar los modelos experimentales en: experimentos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*. Se entiende por experimento *in vivo* aquel que se lleva a cabo con especies animales. Los experimentos *in vitro* son realizados en dispositivos de laboratorio utilizando tejidos, células o moléculas provenientes de las especies animales. Por último, los experimentos *in silico* son simulaciones o reproducciones de experimentos *in vivo* o *in vitro*, que emplean modelos matemáticos y softwares de simulación. ¿Cuál de ellos es más adecuado? Es una pregunta que no debe hacerse el investigador. La pregunta que se debe hacer es: ¿Qué modelo es más adecuado para responder a mi interrogante respecto del fenómeno natural que estoy estudiando? En general, los modelos mencionados se complementan y no son excluyentes. Los modelos *in vivo* permiten estudiar las condiciones biológicas en las que ocurre un fenómeno y

cuáles son sus consecuencias. Los modelos *in vitro* nos aproximarán a los mecanismos subyacentes y los modelos *in silico* permitirán anticipar la magnitud de las respuestas del sistema en estudio ante variaciones de las variables intervinientes. Si bien es cierto que lo mismo podría hacerse con modelos *in vivo*, es indudable que la velocidad de obtención de la información y el menor gasto justifica enormemente su utilización.

Palabras clave: experimento *in vivo*, experimento *in vitro*, experimento *in silico*.

Summary

A subject of controversy and discussion in biomedical research is the validity of the information obtained from the experiments. Experimental models determine the conclusions and the information obtained. Basically we can divide experimental models: experiments *in vivo*, *in vitro* and *in silico*. An *in vivo* experiment is that is carried out in an animal species. The *in vitro* experiments are performed in laboratory devices using tissues, cells or molecules from animal species. Finally, *in silico* experiments are simulations of *in vivo*

* Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100. 2000 Rosario. Argentina. Correo electrónico: arigalli@conicet.gob.ar

or *in vitro* experiments, using mathematical models and simulation software. Which one is best? Is a question that the researcher should not ask himself. The question to ask is: Which model is more suitable to answer my question about the natural phenomenon I am studying? In general the models mentioned are complementary and not exclusive. The models allow us to study *in vivo* biological conditions in which a phenomenon occurs and what are the consequences. *In vitro* models approximate us the underlying mechanisms, and *in silico* models allow us to anticipate the magnitude of system's responses to changes in the variables involved. Although the same information could be obtained with *in vivo* models, there is no doubt that less time and low cost is involved in obtaining the information.

Key words: *experiment in vivo, experiment in vitro, experiment in silico.*

El conocimiento científico surge de la aplicación del método científico. Este último se fundamenta en la observación de un fenómeno natural, la formulación de una hipótesis y la verificación de esta a través de experimentos. El experimento es una situación generalmente controlada en la cual se reproduce el fenómeno observado. Si bien experimentalmente intentamos acercarnos a la situación real en la que fue observado dicho fenómeno, la multitud de variables existentes hace que a muchas de ellas no las podamos conocer, o más aún, que ni sospechemos su presencia. En el mejor de los casos, estas variables desconocidas o incontrolables pueden no ser las determinantes del fenómeno, pero en otros casos pueden ser las que condicionen la respuesta de nuestro sistema y las estemos ignorando.

Cada ciencia tiene sus modelos para el estudio de los fenómenos. Así, las ciencias biomédicas se basan en diferentes modelos experimentales para poner a prueba las hipótesis: modelos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*.

Los ensayos *in vivo* son aquellos en los cuales hacemos el estudio en las condiciones más próximas al fenómeno observado, por ejemplo un ensayo clínico. Pero muchas veces el modelo *in vivo* no es el mismo donde se observó el fenómeno. Por ejemplo, se observó que en ciertas zonas del planeta, las personas presentaban mayor densidad mineral ósea (DMO) y menor riesgo de fracturas. Las investigaciones condujeron a pensar que era el fluoruro contenido en el agua el responsable, al menos en parte, de la mayor DMO.¹ Se intentó estudiar el proceso utilizando animales de experimentación a los que se les administró fluoruro de sodio en el agua de bebida, en algunos casos con resultados que confirmaron la hipótesis² y en otros que la refutaban.³ La reproducción de la situación real en pacientes administrando fluoruro por vía oral tampoco dio resultados comparables a los observados naturalmente.⁴ Si bien los modelos *in vivo* intentaron reproducir el efecto del fluoruro sobre el esqueleto, carecieron de validez. En primer lugar, la observación fue hecha en seres humanos de una región dada pero en el laboratorio se realizaron ensayos con animales de experimentación, donde el escalado de dosis puede no ser exacto. Además, al administrar fluoruro a pacientes se lo hizo en dosis diarias únicas y a mujeres posmenopáusicas y no como ocurrió en la observación, donde las mujeres habían recibido fluoruro en bajas dosis por largo tiempo y seguramente antes de la menopausia. Aún queda una pregunta que no tiene respuesta: ¿Habría sido el fluoruro el responsable de la mayor DMO? ¿o habría sido la combinación de fluoruro y otras variables?

Como contracara de los estudios *in vivo* se encuentran los estudios *in vitro*, los cuales intentan simular las condiciones naturales en que se realizó la observación o al menos aproximarse a las condiciones aplicadas en los experimentos *in vivo*. Estos experimentos son herramientas adecuadas para el estudio de mecanismos involucrados en los fenóme-



nos observados. Sin embargo, un estudio *in vitro* muestra parcialmente el mecanismo en estudio. Las extrapolaciones que se hacen de un trabajo *in vitro* deben ser bien aclaradas en la discusión y en las conclusiones, a fin de evitar malas interpretaciones.⁵ Volviendo al efecto del fluoruro sobre el esqueleto, se demostró *in vitro* que el fluoruro inhibe una proteína fosfatasa que desfosforila receptores de factores de crecimiento, potenciando de esta manera la acción de dichos factores.⁶ Este conocimiento permite entender cómo actúa el fluoruro a nivel de las células óseas, pero de ninguna manera asegura que lo que ocurre *in vivo* sea lo observado en este tipo de experimentos y menos puede asegurarnos que es lo único que ocurre. Además, por lo general se utilizan concentraciones que se encuentran muy lejos de las halladas en plasma luego de una dosis de fluoruro y se mantienen a lo largo del tiempo, situación que está alejada de la realidad en la cual las células son expuestas solo unos minutos al fluoruro luego de una dosis oral.⁷

Existen opiniones acerca de que los trabajos *in vitro* podrían ser mejores que los *in vivo*; se argumentan mejor control o condiciones éticas, reducción de errores estadísticos y menor costo.⁸ Se propone que debería argumentarse claramente la necesidad de hacer un estudio *in vivo* cuando el *in vitro* ha demostrado el resultado. La misma consideración podría hacerse en contrario y parecería ser más adecuada: debería demostrarse el porqué de no hacer el trabajo *in vivo*.

Es conocido que los resultados hallados en un modelo no son fácilmente extrapolables a otro modelo. Aun dentro de un mismo tipo de modelo, pero cambiando de especie, la compatibilización de resultados no es directa. Dentro de un mismo tipo de modelos, por ejemplo *in vivo*, el escalado es una herramienta importante, pero requiere grandes esfuerzos y verificaciones.⁹ Más difícil es la extrapolación de resultados hallados en modelos *in vitro* a modelos *in vivo*.

Una duda que le surge al investigador es cuál es el mejor modelo para estudiar un fenómeno. La respuesta derivada de la experiencia parece ser sencilla: todos. Cada uno de ellos cumplirá un papel clave en la explicación de un fenómeno natural. La complementación de los modelos utilizados con los adecuados diseños experimentales y las pruebas estadísticas contribuirán a construir una hipótesis correcta respecto del fenómeno observado.

¿Cuál debería ser la secuencia lógica de experimentación? Respuesta difícil de dar. De hecho, la experimentación debe surgir como respuesta a un interrogante. En general, el interrogante es un fenómeno natural que tiene explicación parcial y, en nuestra área de experimentación en particular, podríamos decir algún funcionamiento fisiológico o patológico de algún sistema, aparato u órgano. Esta situación puede provenir de diferentes orígenes, pero básicamente son dos: causas genéticas o causas ambientales.

La primera investigación necesariamente debe ser *in vivo*, observacional, identificando causas de la situación en estudio. El trabajo en esta área es arduo ya que la cantidad de variables involucradas es innumerable. Contrastar resultados con otros grupos en los cuales las variables tengan otros valores daría información adicional de gran valor. Identificadas las posibles variables causantes del fenómeno, lo adecuado sería intentar demostrar que lo mismo ocurre en modelos experimentales *in vivo*, pero recurriendo a modelos animales, controlando mejor las variables y aplicando un escalado adecuado que permita evitar la distorsión de los resultados por mala aplicación de la dosis, el tiempo de tratamiento, la edad, el estado hormonal, etcétera.

Si los resultados *in vivo* con animales permiten reproducir con buena semejanza los resultados observados del fenómeno natural, el estudio del mecanismo podría encararse a través de experimentos *in vitro*, utilizando tejidos, células, componentes subcelulares o

moléculas. Estos experimentos podrían dar la forma en la que se produce el fenómeno y de alguna manera brindar información de cómo hacer manipulable o controlable el fenómeno natural observado.

¿Qué aportan los experimentos *in silico*? La modelización de los fenómenos naturales no es una práctica que se inició en los últimos años. Sin embargo, con el avance de la tecnología, la posibilidad de modelizar los fenómenos naturales se ha hecho cada vez más común, debido a la velocidad a la que se pueden resolver los modelos con la ayuda de las ciencias informáticas. La interrelación de las ciencias biológicas con las ciencias de la computación y la ingeniería han permitido construir y resolver modelos matemáticos que permiten llevar a una computadora un determinado fenómeno. ¿Qué ventajas ofrecen estos modelos? En primer lugar podríamos decir que no tienen desventajas, no producen grandes gastos y permiten progresar intelectualmente sobre el fenómeno, pensando en las variables que podrían influir sobre él. Estos modelos matemáticos computacionales o modelos *in silico* permiten simular situaciones reales, modificando los valores de las variables involucradas en un amplio rango de valores y contrastarlos con los valores reales. De esta manera nos mostrarán comportamientos que quizá llevaría décadas obtener de la observación o de la experimentación. Los modelos *in silico* a nivel biológico podríamos decir que están surgiendo lentamente pero de manera sostenida. El número de publicaciones periódicas en esa área lo avalan.¹⁰ La deficiencia actual de estos modelos radica en el escaso conocimiento necesario que existe a nivel biológico de los fenómenos y la interacción de estos con otros fenómenos. Por ejemplo, sabemos por experimentos *in vitro* que el fluoruro aumenta la proliferación y diferenciación de osteoblastos, pero por experimentos *in vitro* e *in vivo* sabemos que el fluoruro disminuye la secreción de insulina, hormona que también tiene efecto sobre

el hueso pero de manera contraria a lo que hace el fluoruro. Además, el fluoruro no tiene el mismo efecto sobre la secreción de insulina en diferentes animales. Por lo tanto, un modelo *in silico* debería contener ambos fenómenos y la escritura de estos en términos matemáticos tiene limitantes a nivel intelectual, que no son fácilmente salvables.

Los experimentos *in silico* son novedosos, ya que incorporan la computadora y los softwares de simulación, pero no son novedosos en la ciencia. Cuando un médico hace un diagnóstico y prescribe un medicamento, básicamente está haciendo un experimento *in silico*, tomando una decisión sobre la base de un modelo previamente desarrollado y esperando la respuesta que el modelo le predice. El avance de los modelos *in silico* ha sido importante y ya hay quienes plantean el reemplazo de experimentos con animales por experimentos en simuladores. En muchas áreas de la ciencia se ha planteado la duda sobre los modelos *in vivo* o *in vitro*. Por ejemplo, a nivel de la genotoxicidad, se estima que con el enorme número de sustancias con dicha capacidad podría llevar cientos de años llegar a obtener resultados fiables con modelos *in vitro* o *in vivo*. En cambio, el uso de algoritmos adecuados puede conducir a resultados fiables en mucho menos tiempo. La utilización de modelos Q(SAR)¹¹ (*quantitative structure activity relationship*) y Q(SPR) (*quantitative structure properties relationships*) para relacionar la estructura de una sustancia con su actividad¹² o la estructura con sus propiedades es prometedor. Si bien estos modelos tienen deficiencias, la utilización combinada de más de un software dentro de estas metodologías puede aportar resultados más fiables que los experimentos *in vivo* o *in vitro*.^{13, 14} Los beneficios de la combinación de modelos son evidentes en innumerables trabajos de la farmacodinamia y farmacocinética.¹⁵ Un avance reciente que merece ser mencionado es un simulador para estudios preclínicos en diabetes, que fue aprobado por la FDA como



sustituto de estudios en animales.¹⁶ El simulador usa algoritmos que modelizan el sistema metabólico humano basado en datos de 300 pacientes diabéticos de diferentes edades y tiene 26 parámetros que permiten modelizar estados individuales de cada paciente. Permite introducir variables como ejercicio físico, dieta e inyección de insulina, y estudiar la eficacia de nuevos productos o compararlos con otros existentes.

Los experimentos *in silico* o simuladores permiten avances en diversos campos de la ciencia, la incorporación de simuladores en el entrenamiento de pilotos de aeronaves o en el área biomédica, por ejemplo para el entrenamiento en prácticas quirúrgicas es una muestra más del potencial de estos modelos.¹⁷

A modo de conclusión podríamos decir que el modelo que se va a utilizar para estudiar un fenómeno natural no es ajeno al principio de las 3 Rs¹⁸ que rige en las áreas

básicas de las ciencias biomédicas donde la experimentación con animales es corriente. Las 3 Rs propuestas por este principio: **Reemplazar** modelos *in vivo* cuando sea posible, **Refinar** las técnicas y metodologías de manera de obtener resultados más fiables y **Reducir** el número de animales para trabajos *in vivo* sin duda abren más aún las puertas a los modelos *in silico*. No hay duda de que, con el avance de la informática, la tecnología y la mayor cantidad de científicos en el área de la modelización *in silico*, el progreso de estos modelos los llevará a ocupar un lugar de elección entre los investigadores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: septiembre 2013.

Aceptado: octubre 2013)

Referencias

1. Bernstein DS, Sadowsky N. Prevalence of osteoporosis in high and low fluoride areas in North Dakota. *JAMA* 1966; 198:499-504.
2. Rigalli A, Ballina JC, Puche RC. Bone mass increase and glucose tolerance in rats chronically treated with sodium fluoride. *Bone and Min* 1992; 16:101-8.
3. Vigorita VJ, Suda MK. The microscopic morphology of fluoride induced bone. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 177:274-82.
4. Riggs BL, O'Fallon WM, Lane A, et al. Clinical trial of fluoride therapy in postmenopausal osteoporotic women: extended observations and additional analysis. *J Bone Miner Res* 1994; 9:265-75.
5. Lorian V. Differences between *in vitro* and *in vivo* studies. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32:1600-1.
6. Farley JR, Wergedal JE, Baylink DJ. Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone forming cells. *Science* 1983; 222:330-2.
7. Xu H, Wang CH, Zhao ZT, Zhang WB, Li GS. Role of oxidative stress in osteoblasts exposed to sodium fluoride. *Biol Trace Elem Res* 2008; 123:109-15.
8. Polli JE. *In vitro* studies are sometimes better than conventional human pharmacokinetic *in vivo* studies in assessing bioequivalence of immediate-release solid oral dosage forms. *AAPS J* 2008; 10:289-99.
9. Campetelli G, Lombarte M, Basualdo M, Rigalli A. Scaling the endocrine system from

- rats to humans. *Computer Aided Chemical Engineering* 2013; 32:145-50.
10. SCImago. (2007). SJR — SCImago Journal & Country Rank. Consulta: septiembre 23, 2013, from <http://www.scimagojr.com>
 11. Nantasenamat C, Isarankura-Na-Ayudhya C, Naenna T, Prachayasittikul V. A practical overview of quantitative structure-activity relationship. *Excli J* 2009; 8:74-88.
 12. Nantasenamat C, Isarankura-Na-Ayudhya C, Prachayasittikul V. Advances in computational methods to predict the biological activity of compounds. *Expert Opin. Drug Discov* 2010; 5:633-54.
 13. Hayashi M. Three Rs in mutation research. From in vivo to in silico evaluation. *AATEX* 2007; 14:9-13 .
 14. Mekenyan OG, Petkov PI, Kotov SV, et al. Investigating the relationship between in vitro-in vivo genotoxicity: derivation of mechanistic QSAR models for in vivo liver genotoxicity and in vivo bone marrow micronucleus formation which encompass metabolism. *Chem Res Toxicol* 2012; 20:277-96.
 15. Gharaghani S, Khayamian T, Ebrahimi M. Molecular dynamics simulation study and molecular docking descriptors in structure-based QSAR on acetylcholinesterase (AChE) inhibitors. *SAR QSAR Environ Res* 2013; 24:773-94.
 16. Kovatchev BP, Breton M, Dalla Man C, Cobelli C. In Silico Preclinical Trials: A Proof of Concept in Closed-Loop Control of Type 1 Diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2009; 3:44-55.
 17. Bambakidis NC, Selman WR, Sloan AE. Surgical rehearsal platform: potential uses in microsurgery. *Neurosurgery* 2013; Suppl 1:S122-6.
 18. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. *London: Methuen* 1959, p. 238.



CASUÍSTICAS / Case Reports

HIPOFOSFATEMIA SEVERA ASOCIADA A REGENERACIÓN TISULAR POSNECROSIS HEPÁTICA EN PACIENTE CON SIDA

Lorena R. Katzin, Mónica L. Drnovsek*, Paula Guido, María Laura Eugenio Russman, Lucas Gutnisky, Mónica A. Ercolano.

División Endocrinología, Hospital J.M. Ramos Mejía. Buenos Aires.

Resumen

El fósforo es un componente vital de las membranas celulares, sistemas enzimáticos, ácidos nucleicos y nucleoproteínas. La mayor parte del fósforo intracelular forma parte de la molécula de ATP, necesaria para desarrollar diferentes procesos fisiológicos. El balance de fósforo depende del equilibrio entre la absorción intestinal, la excreción renal y el intercambio entre el compartimento intracelular y extracelular. En población VIH/SIDA la prevalencia de hipofosfatemia es del 7-26% y su origen puede ser multifactorial. Presentamos el primer caso de hipofosfatemia severa asociada a regeneración hepatocítica posnecrosis hepática en paciente con SIDA y depleción crónica de fósforo. El tratamiento intravenoso con fosfato posibilitó normalizar rápidamente el nivel de fósforo sérico así como sostener el proceso anabólico de recuperación tisular posnecrosis hepática. Debido a que la hipofosfatemia es un trastorno electrolítico

frecuente y multifactorial en esta población, subrayamos la importancia de la evaluación del metabolismo mineral en todo paciente con SIDA.

Palabras clave: hipofosfatemia, regeneración hepatocítica, SIDA.

Summary

SEVERE HYPOPHOSPHATEMIA ASSOCIATED TO TISSUE REGENERATION AFTER HEPATIC NECROSIS IN A PATIENT WITH AIDS

Phosphorus is an essential component of cell membranes, enzyme systems, nucleic acids and nucleoproteins. Most of the intracellular phosphorus is part of the ATP molecule, necessary to develop various physiological processes. Serum phosphorus depends on the balance between intestinal absorption, re-

* Dirección postal: Urquiza 609, CABA, Buenos Aires, Argentina.
Correo electrónico: monica.drnovsek@gmail.com

nal excretion and the exchange between the intra and extracellular compartment. Hypophosphatemia prevalence in patients with HIV/AIDS is 7-26% and its causes are multiple. We report the first case of severe hypophosphatemia associated with hepatocyte regeneration after liver necrosis in a patient with AIDS and chronic depletion of phosphorus. Intravenous treatment allowed rapid normalization of serum phosphorus level and as well as sustaining the anabolic tissue recovery process post hepatic necrosis. Since hypophosphatemia is a common and multifactorial electrolyte disorder in this population, we emphasize the importance of evaluation of mineral metabolism in all patients with AIDS.

Key words: hypophosphatemia, hepatocyte regeneration, AIDS.

Introducción

El fósforo es un electrolito esencial para las células vivas debido a que es un componente vital de las membranas celulares, los sistemas enzimáticos, ácidos nucleicos y varias nucleoproteínas. La relación fósforo intracelular:extracelular es de 100:1. La mayor parte del fósforo intracelular existe como fosfato orgánico en forma de ATP, principal reservorio de energía necesaria para el desarrollo de diferentes procesos fisiológicos. También forma parte del 2,3 difosfoglicerato, que modula la liberación de O₂ desde la hemoglobina hacia los tejidos. Es por esto que la función celular óptima depende de niveles séricos adecuados de fósforo.^{1,2}

En la población VIH/SIDA la prevalencia de hipofosfatemia alcanza un 7-26% y su etiología es multifactorial.³ Es de destacar que en el estudio HOPS (*HIV Outpatient Study*) que incluyó más de 250 pacientes VIH no se observaron niveles de fosfato inferiores a 1,0 mg/dl.⁴ En los procesos de proliferación celular, como ocurre en leucemias, quemados y regeneración hepática, la hipofosfatemia se debe a la

redistribución desde el espacio extracelular al intracelular.¹

El objetivo del presente trabajo es la presentación de un caso de hipofosfatemia severa asociada a la recuperación de necrosis hepática en paciente con SIDA.

Caso clínico

Varón de 46 años portador de SIDA que ingresa en el servicio de Clínica Médica en marzo de 2011 por diarrea crónica (6 meses de evolución), desnutrición (pérdida de 30 kilos en 3 meses), fiebre, tos, expectoración y disnea clase funcional II.

Antecedentes personales: hepatitis B, SIDA diagnosticado en febrero de 2011 en contexto de estudios por astenia y diarrea crónica (CD4: 22 cel/mm³ y carga viral: 64 cp/ml, 1,8 log₁₀). No presentaba antecedentes de consumo de alcohol ni drogas.

Al examen físico se encontraba lúcido, desnutrido, deshidratado, estable hemodinámicamente; presión arterial: 100/60 mmHg, sin ortostatismo; frecuencia cardíaca: 96/min; frecuencia respiratoria: 20/min; IMC: 17 kg/m².

Exámenes complementarios: radiografía de tórax: infiltrado mixto bilateral, electrocardiograma y ecografía de abdomen normales. Serologías: VDRL: negativo; toxoplasmosis, Chagas, micosis (paracoccidiomicosis, coccidiomicosis, histoplasmosis), citomegalovirus, Epstein-Barr: negativos. Hemocultivos seriados y cultivos de orina, materia fecal, líquido cefalorraquídeo, lavado alveolobronquial: negativos. Parasitológico de materia fecal: negativo.

Laboratorio de ingreso (tabla): hematocrito: 24%, glóbulos blancos: 2430/mm³, plaquetas: 107.000/mm³, glucemia: 71mg/dl, albumina: 2,4 g/dl, función renal y hepatograma normales, cortisol 8 horas: 27 µg/dl, TSH: 6,7 µU/ml (normal: 0,5-4 µU/ml), T3: 83 ng/dl (normal: 85-175 ng/dl), T4: 8,3 µg/dl (normal: 5-11,5 µg/dl), anticuerpos antitiroperoxidasa: negativos, calcemia corregida por albumina: 8,4 mg/dl, fosforemia: 2,3 mg/dl, magnesio-



mia: 0,9 mg/dl, calciuria: 20 mg/24 horas, fosfaturia: 40 mg/24 horas, reabsorción tubular de fósforo (RTP): 97%, excreción urinaria de fosfato por tasa de filtrado glomerular (UPO4V/TFG): 0,06 mg%, PTH: 94,5 pg/ml, 25(OH)D: 4,2 ng/ml, FAL: 139 UI/l, sodio: 133 mmol/l, potasio: 4,3 mmol/l, EAB: compatible con trastorno mixto (alcalosis respiratoria + acidosis metabólica).

Se inicia tratamiento con hidratación y plan de alimentación oral con dieta astringente y aumento calórico progresivo hasta alcanzar 20 cal/kg/día. Reposición de fósforo oral 1 g/día, sulfato de magnesio intravenoso 25 mmol/día (6 g/día), carbonato de calcio 2 g/día y colecalciferol 100.000 UI/semana. Se le indicó tratamiento antirretroviral con zidovudina, lamivudina y efavirenz; fluconazol, trimetropina asociado a sulfametoxazol trisemanal y azitromicina. Se inició también antibioticoterapia para gérmenes comunes respiratorios: ampicilina, sulbactam y claritromicina.

Por persistencia de cuadro febril y mal estado general, sin recuperación de peso durante la primera semana de tratamiento, se realiza tomografía computarizada (TC) de tórax que muestra infiltrado bilateral en vértices, por lo que se indica tratamiento en forma empírica con pirazinamida, rifampicina, isoniazida y etambutol.

Luego de 14 días de iniciado dicho tratamiento se detecta aumento de enzimas hepáticas. Con sospecha de hepatitis tóxica, se suspenden drogas antifímicas y antirretrovirales y se observó, a las 96 horas, un descenso de las transaminasas hepáticas. Coincidiendo con la normalización de la función hepática se constata hipofosfatemia severa de 0,2 mg/dl e hipomagnesemia de 1,0 mg/dl, por lo que se indicó tratamiento de reposición intravenosa con sulfato de magnesio 25 mmol/día y fosfato de potasio (5 mg/kg día en infusión de 6 horas) durante 6 días, hasta lograr niveles sostenidos de magnesio y fósforo sérico mayores de 1 mg/dl; por lo tanto, se continuó luego con reposición a través de vía oral. El paciente evolucionó favorablemente con nor-

malización de la función hepática y con franca mejoría y estabilización del metabolismo mineral luego de 39 días.

Discusión

Describimos el primer caso de hipofosfatemia severa posregeneración hepática en un paciente con SIDA.

El balance normal de fósforo depende del equilibrio entre la absorción intestinal, la excreción renal y el intercambio entre sus compartimentos intracelular y extracelular. En su regulación intervienen la PTH, la 1,25(OH)₂D y el FGF23.^{1,3} Los niveles normales de fósforo sérico se encuentran entre 2,5 y 4,5 mg/dl. La hipofosfatemia se puede producir por tres mecanismos: disminución de la absorción intestinal, pérdida urinaria de fósforo, o por redistribución entre el espacio extracelular e intracelular.^{1,3} La hipofosfatemia puede ocurrir en presencia de fósforo corporal total bajo, normal o alto. En estos dos últimos casos se produciría por desplazamiento de fósforo del *pool* extracelular hacia el intracelular.^{1,3}

Las hipofosfatemias leves y moderadas que cursan con fósforo entre 2,0-2,2 mg/dl y 1,0-1,9 mg/dl, respectivamente, con frecuencia son asintomáticas o pueden cursar con mialgias y calambres. La hipofosfatemia severa, que presenta niveles de fósforo sérico por debajo de 1,0 mg/dl, compromete profundamente todos los sistemas orgánicos debido al descenso intracelular de ATP y 2,3 difosfoglicerato afectando directamente la función celular.^{1,5,6} En dicho caso, la hipofosfatemia puede ser sintomática, en especial si se produce en el contexto de depleción profunda de fósforo, es decir que no sería atribuible solamente al desplazamiento de fósforo al espacio intracelular.¹ En los casos más severos compromete la vida, pues puede desencadenar insuficiencia cardíaca por deterioro en la contractilidad del miocardio, miopatía proximal y diafragmática con insuficiencia respiratoria, rabdomiólisis, anemia hemolítica, encefalopatía metabólica y acidosis metabólica.^{1, 6, 7}

Tabla. Datos evolutivos de laboratorio en un paciente con hipofosfatemia posregeneración hepática.

	Basal	Necrosis hepática (día 21)	Recuperación (día 25)	Alta
IMC (kg/m ²)	17			21
Hematocrito (%) / Glóbulos blancos (mm ³)	24/2430	44/12300	27/11600	31/7390
Creatinina (mg/dl; VN: 0,7-1,2)	0,9	1,7	0,5	0,6
Alb (gr/l)	2,4	2		2,8
Ca corregido por Alb (mg/dl; VN: 8,4-10,2)	8,4	10,3	8,6	8,2
Ps (mg/dl; VN: 2,7-4,5)	2,3	3,8	0,25	3,8
Mg (mg/dl; VN 1,6-2,6)	0,9	1,6	1,0	1,5
Cau (mg/24 hs; VN: 100-300)	20		13	
Pu (mg/24hs ; VN: 740-1570)	40		0	
RTP (%; VN: 80-90%)	97		100	
UPO4V/TFG (mg%; VN:0,18-0,78)	0,06		0	
PTH (pg/ml; VN: 10-69)	94			
25(OH)D (ng/ml; VN: >30 ng/ml)	4,2			
TGO (UI/l; VN: <38)	39	629	44	28
TGP (UI/l; VN: <41)	30	306	86	17
Bilirrubina total (mg/dl; VN:<1)	0,26	1,15	0,4	0,4
Bilirrubina directa (mg/dl; VN:<0,25)		1,04		
FAL total (UI/l; VN: hasta 300)	139	372	166	179
Na+/K+ (mmol/l; VN:135-145/3.5-5.5)	133/4,7	126/6,4	128/3,6	138/3,7

IMC: Índice de masa corporal VN: valor normal; Alb: albúmina; Ca: calcemia; Ps: fosforemia; Mg: magnesemia; Cau: calciuria; Pu: fosfaturia; RTP: reabsorción tubular de fósforo; UPO4V/TFG: excreción urinaria de fósforo por tasa de filtrado glomerular. FAL: Fosfatasa alcalina.

La incidencia de hipofosfatemia moderada en pacientes hospitalizados es del 2,8%, pero resulta mucho más elevada en la población de pacientes de unidades de terapia intensiva: se encuentra hasta en un 80%, mientras que los valores menores de 1 mg/dl son poco frecuentes.^{1,3,5,8}

Con la introducción de las drogas anti-retrovirales altamente activas, si bien hubo disminución de las alteraciones hidroelectrolíticas relacionadas con procesos infecciosos oportunistas como es el síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética, aumentaron las alteraciones en los niveles séricos de fósforo, entre otras.⁹ En la población

VIH/SIDA la prevalencia de hipofosfatemia ha sido estimada entre 7 y 26%.^{3,10} y su origen es multifactorial. Está asociada a diarreas crónicas, uso de antiácidos, déficit de vitamina D y aumento de la pérdida urinaria del electrolito.^{3,9}

El uso de análogos de nucleótidos como cidofovir, adefovir y tenofovir se asocia a toxicidad del túbulo renal capaz de inducir pérdida renal de fósforo.^{3,4,10,11} En la hipofosfatemia asociada a tratamiento antirretroviral no se han referido valores inferiores a 2 mg/dl y además cursa con escasa clínica. Este mecanismo no parecería intervenir en el caso de nuestro paciente, ya que las



drogas que se utilizaron no se relacionan con hipofosfatemia y el laboratorio no fue compatible con tubulopatía.

La diarrea crónica que presentaba el paciente ocasionó malabsorción de fósforo, calcio, vitamina D y desarrollo de hiperparatiroidismo secundario, favoreciendo el estado de depleción crónica de fósforo. El déficit de vitamina D y el hiperparatiroidismo secundario son hallazgos comunes en pacientes con VIH,^{3,12-16} y además se ha reportado una correlación inversa con el grado de inmunodeficiencia.^{9,13}

La terapia de realimentación favorece el desarrollo de procesos anabólicos propios del síndrome de realimentación que generan redistribución del fósforo corporal total por desplazamiento del electrolito desde el espacio extracelular al intracelular.^{6,17-19} En nuestro paciente, durante el proceso de alimentación oral, el nivel de fósforo sérico se mantuvo estable en valores entre 3 y 3,8 mg/dl en virtud del tratamiento concomitante con dosis farmacológicas de colecalciferol y sales de fosfato.

En el contexto de este paciente con depleción crónica de fósforo, el cuadro de regeneración poshepatitis tóxica desencadenó una hipofosfatemia que llevó el nivel sérico de fósforo a valores por debajo de 1 mg/dl.

Saito y col. han descrito un cuadro de hipofosfatemia grave posterior al daño hepático agudo en dos pacientes con desnutrición severa. En ambos casos no hubo cambios en el estado nutricional antes de desencadenarse la hepatopatía, y la hipofosfatemia fue seguida de un descenso rápido de las enzimas hepáticas. Los autores atribuyeron la hipofosfatemia al proceso de regeneración hepatocítica.¹⁸ Varios informes relacionados con hepatitis fulminante proponen que la hipofosfatemia asociada a daño hepático se produce por desplazamiento de fósforo hacia el tejido hepático para generar el ATP intracelular necesario en el proceso de regeneración tisular. Pomposelli y col. describieron hipofosfatemia marcada en

donantes de hígado sometidos a hepatectomía parcial, atribuyéndola al proceso regenerativo poshepatectomía.²⁰ Salem y col. refirieron hipofosfatemia asociada a hiperfosfatemia, con niveles medios de excreción fraccional de fósforo de 45%, en pacientes sometidos a resección hepática por patología tumoral.²¹ En nuestro paciente, los niveles más bajos de fósforo sérico coincidieron con fosfatemia "cero", lo que sugiere que la hipofosfatemia fue consecuencia del aumento de la demanda de fósforo propia del proceso de regeneración hepática. Más aún, algunos autores postulan que la hipofosfatemia podría predecir la capacidad de recuperación hepática.^{18,22}

El tratamiento de la hipofosfatemia depende de su magnitud y de la presencia de síntomas. La hipofosfatemia moderada puede tratarse con suplementos de fósforo por vía oral entre 2,5 y 3,5 g por día fraccionados en dos o tres veces. El tratamiento de la hipofosfatemia severa debe realizarse por vía intravenosa debiendo tener presente las complicaciones de esta, como la hipocalcemia, la hipomagnesemia, la hiperfosfatemia y la hipotensión. La dosis inicial requerida de fosfato puede oscilar entre 2,5 y 19,8 mg/kg. Se sugiere aportar 2-5 mg/kg de fosfato inorgánico disuelto en solución salina 0,45% durante una infusión de 6-12 horas.^{1,3,5,7,8}

Conclusión

La hipofosfatemia es un trastorno electrolítico frecuente y de origen multifactorial en la población VIH/SIDA. Durante el tiempo de estadía hospitalaria, la presencia de factores agravantes de este trastorno aumenta la incidencia de hipofosfatemia, motivo por el cual una determinación aislada de este electrolito podría subestimar dicho desorden. Consideramos de importancia la evaluación del metabolismo mineral y del nivel de vitamina D en todo paciente con SIDA.

El fósforo, como parte de la molécula de ATP, es esencial en los procesos proliferativos y de regeneración tisular. En nuestro paciente,

la hipofosfatemia se asoció con la recuperación del daño hepático y la adecuada reposición con fosfato intravenoso posibilitó sostener el proceso anabólico posnecrosis hepática. Sería importante considerar la evaluación de dicho electrolito durante la evolución de este proceso.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: agosto 2013.
Aceptado: septiembre 2013)

Referencias

1. Gaasbeek A, Meinders AE. Hypophosphatemia: an update on its etiology and treatment. *Am J Med* 2005; 118:1094-101.
2. Stoff JS. Phosphate homeostasis and hypophosphatemia. *Am J Med* 1982; 72:489-95.
3. Bagnis CI, Karie S, Deray G, Essig M. Hypophosphatemia: an easy strategy for diagnosis and treatment in HIV patients. *Antivir Ther* 2009; 14:481-8.
4. Buchacz K, Brooks JT, Tong T, et al. (HIV Out-patient Study –HOPS- Investigators). Evaluation of hypophosphatemia in tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-exposed and TDF-unexposed HIV infected out-patients receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006; 7:451-6.
5. Charron T, Bernard F, Skrobik Y, Simoneau N, Gagnon N, Leblanc M. Intravenous phosphate in the intensive care unit: More aggressive repletion regimens for moderate and severe hypophosphatemia. *Intensive Care Med* 2003; 29:1273-8.
6. Subramanian R, Khardori R. Severe hypophosphatemia. Pathophysiologic implications, clinical presentations, and treatment. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79:1-8.
7. Shiber JR, Mattu A. Serum phosphate abnormalities in the emergency department. *J Emerg Med* 2002; 23:395-400.
8. Lee JW. Fluid and Electrolyte Disturbances in Critically ill Patients. *Electrolyte Blood Press* 2010; 8:72-81.
9. Isnard Bagnis C, Du Montcel ST, Fonfrede M, et al. Changing Electrolyte and Acido-Basic Profile in HIV-Infected Patients in the HAART Era. *Nephron Physiol* 2006;103:131-8.
10. Badiou S, De Boever JT, Terrier N, Baillat V, Cristol JP, Reynes J. Is tenofovir involved in hypophosphatemia and decrease of tubular reabsorption in HIV positive adults? *J Infect* 2006; 52:335-8.
11. Avihingsanon A, Praditpornsilpa K, Avihingsanon Y, et al. Association of fibroblast growth factor 23 and hypophosphatemia in well-suppressed HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. Eleventh International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. *Journal of the International AIDS Society* 2012; 15 (Suppl 4):18311.
12. Mueller NJ, Fux CA, Ledergerber B, et al. High prevalence of severe vitamin D deficiency in combined antiretroviral therapy-naive and successfully treated Swiss HIV patients. *AIDS* 2010; 24:1127-34.
13. Haug CJ, Aukrust P, Haug E, Morkrid L, Muller F, Froland SS. Severe deficiency of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human immunodeficiency virus infection: association with immunological hyperactivity and only minor changes in calcium homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3832-8.
14. Childs K, Welz T, Samarawickrama A, Post FA. Effects of vitamin D deficiency and combination antiretroviral therapy on bone in HIV-positive patients. *AIDS* 2012; 26:253-62.
15. Cervero M, Agud JL, García-Lacalle C, et al.



- Prevalence of vitamin D deficiency and its related risk factor in a Spanish cohort of adult HIV-infected patients: effects of antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; 28:963-71.
16. Allavena C, Delpierre C, Cuzin L, Rey D, Viget N, Bernard J, et al. High frequency of vitamin D deficiency in HIV-infected patients: effects of HIV-related factors and antiretroviral drugs. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:2222-30.
 17. Liamis G, Millionis HJ, Elisaf M. Medication-induced hypophosphatemia: a review. *QJM* 2010; 103:449-59.
 18. Saito T, Tojo K, Miyashita Y, Tominaga M, Masai A, Tajima N. Acute Liver Damage and Subsequent Hypophosphatemia in Malnourished Patients: Case Reports and Review of Literature. *Int J Eat Disord* 2008; 41:188-92.
 19. Marinella MA. The refeeding syndrome and hypophosphatemia. *Nutr Rev* 2003; 61:320-3.
 20. Pomposelli JJ, Pomfret EA, Burns DL, et al. Life-threatening hypophosphatemia after right hepatic lobectomy for live donor adult liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7:637-42.
 21. Salem RR, Tray K. Hepatic resection-related hypophosphatemia is of renal origin as manifested by isolated hyperphosphaturia. *Ann Surg* 2005; 241:343-8.
 22. Baquerizo A, Anselmo D, Shackleton C, et al. Phosphorus as an early predictive factor in patients with acute liver failure. *Int J Eat Disord* 2008; 41:188-92.

AGRADECIMIENTO

EL COMITE EDITORIAL DE ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGIA
AGRADECE EL SUBSIDIO OTORGADO EN FORMA DESINTERESADA POR **TECPETROL S.A.**
PARA LA EDICIÓN DE ESTE NÚMERO.

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control and bone

Jakob Starup-Linde

Front Endocrinol 2013; 4:21.

Gabriela Picotto*

Bioquímica y Biología Molecular, INICSA (CONICET-UNC), Córdoba, Argentina.

Existen complicaciones tardías de la diabetes mellitus (DM) muy conocidas como lo son la neuropatía, retinopatía, aterosclerosis, microangiopatía y nefropatía diabética. Sin embargo, el remodelado óseo y la integridad del esqueleto podrían estar también afectados; siendo la enfermedad ósea en estos pacientes una probable complicación colateral de la DM.

Dos meta-análisis realizados^{1,2} informaron un bajo valor de z-score de densidad mineral ósea (DMO) en pacientes diabéticos tipo 1 (T1D) y un alto z-score en pacientes diabéticos tipo 2 (T2D) en comparación con los controles. Sin embargo, los pacientes diabéticos tipo 2 tenían más fracturas que los controles no diabéticos, mientras que los diabéticos tipo 1 presentaban más fracturas de cadera que las esperadas de acuerdo a su bajo valor de z-score. Esto sugiere que el debilitamiento de las propiedades biomecánicas del hueso quedaría de alguna manera fuera del alcance de lo que puede evaluarse por una DMO. Esta alteración de la competencia biomecánica po-

dría deberse a alteraciones en el remodelado del hueso o en su matriz de colágeno, dado que la DMO refleja principalmente el contenido óseo de calcio.

Esta revisión está realizada a partir de los datos de la literatura obtenidos de distintas bases de datos (PubMed, Embase, Sinal, etc). Se incluyeron como marcadores de formación ósea a la osteocalcina (OC), fosfatasa alcalina ósea (BAP), fosfatasa alcalina (AP), osteoprotegerina (OPG), los propéptidos de colágeno (P1NP y P1CP), mientras que los de resorción ósea comprenden los telopéptidos de colágeno (NTX y CTX), fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP), RANKL, piridolinas (PYR y DPD), hidroxiprolina (HP) y esclerostina (Scl). RANKL, OPG y Scl no son marcadores en un sentido estricto pero se incluyeron en este estudio dado que están fuertemente relacionados al recambio óseo. Sin embargo, los niveles de algunos de estos marcadores estarían influenciados por la dieta o por la regulación metabólica de los hidratos de carbono. Por ejemplo, la OC está asociada al fun-

* Correo electrónico: gpicotto@conicet.gov.ar



cionamiento de las células β y la sensibilidad a insulina y de esta manera, al control de la glucosa plasmática. Otros ejemplos similares son P1NP, CTX y RANKL. Tampoco podemos olvidarnos del metabolismo lipídico. La adiponectina estimula la proliferación y diferenciación de osteoblastos a la vez que decrece los niveles séricos de glucosa al aumentar la sensibilidad de las células a la insulina. La leptina por su parte, suprime la función de los osteoclastos *in vitro*. Esto conduce a preguntarse si los marcadores séricos de recambio óseo reflejan realmente lo que está sucediendo en el hueso.

El objetivo de esta revisión fue examinar la conexión entre DM y los marcadores óseos en muestras de pacientes y evaluar los posibles efectos de la DM sobre estos marcadores, estudiando diferencias y similitudes entre T1D y T2D. En general, el mayor problema que encontraron los autores es la falta de estudios histomorfométricos en humanos y la casi ausencia de búsqueda de correlación entre marcadores bioquímicos óseos y cambios reales en el hueso. Otro problema fue la falta de evaluación de la función renal que afecta a los marcadores y a la histomorfometría del hueso. Se resumen a continuación las observaciones principales:

1. T1D vs. controles:

Los valores de calcio sérico, AP, BAP, TRAP y Scl parecen no diferir a los controles. Los de OC serían más bajos en T1D y podrían disminuir aún más durante el crecimiento puberal. Esto implicaría que aquellos pacientes diagnosticados antes de la adultez nacieron con un crecimiento disminuido de los huesos que continuará en la edad adulta. La falta de asociación entre DMO y CTX sugiere que los procesos de formación y de resorción están acoplados en la T1D y que no afectarían a la DMO. Sin embargo la asociación negativa entre OC y HbA1c sugieren que la formación ósea podría estar debilitada por los altos niveles de glucosa. En relación a esto, se ha

corroborado que la fragilidad ósea es mayor cuando existe un mal control de la glucemia. Tampoco hay conclusiones claras con respecto al metabolismo del colágeno: los niveles de CTX estarían disminuidos mientras que los de NTX no serían diferentes a los controles. Sin embargo, los autores sugieren que esta disminución de CTX estaría relacionada negativamente a los niveles de HbA1c y por ello, el recambio óseo reducido durante el desarrollo puberal en T1D. Los altos niveles de glucosa no estarían vinculados al mecanismo por el cual disminuye la OPG, ya que OPG se relaciona positivamente con HbA1c.

2. T2D vs. controles:

La calcemia es normal y no correlaciona con los niveles de hemoglobina glicosilada o la DMO; es por lo tanto un marcador pobre del estatus óseo y de glucemia en T2D. Tampoco se encuentra afectado el eje PTH-calcitriol-calcitonina. Sin embargo hay una relación positiva entre PTH, TRAP y CTX, lo que sugiere que PTH induce la resorción ósea en T2D. Con respecto a los marcadores secretados por las células del hueso, los valores séricos de AP y BAP no se modifican, los de OC y TRAP se reducen y Scl aumenta, lo que en conjunto sugiere que T2D presenta un estado de bajo recambio óseo. OC y Scl tienden a correlacionar negativamente con los valores de hemoglobina glicosilada, lo que indicaría que el bajo turnover óseo y la osteopenia que aparecen en T2D podrían estar causadas por la glucemia elevada. Estas diferencias observadas podrían deberse también al tiempo o a la heterogeneidad de desarrollo de la T2D. La participación de adiponectina o leptina es incierta.

3. T1D vs. T2D:

La ausencia de diferencias en los marcadores de recambio óseo indican que ambos tipos de diabetes no son diferentes con respecto al metabolismo del hueso aunque se hayan encontrado valores séricos de Scl un

poco mayores en T2D, lo que sugiere que en este caso y no en T1D, los huesos estarían afectados por el antagonismo sobre la vía Wnt.

4. Otros factores:

Los autores destacan que estas observaciones podrían estar influenciadas por: a) la severidad de la DM que conlleva a neuropatía y nefropatía y que a su vez altera marcadores como PTH, P1NP u OC; b) una DM de larga data lleva a la supresión del recambio y al aumento de la fragilidad ósea, alterando más la resorción que la formación ósea; c) el bajo número de pacientes estudiado y su heterogeneidad en cuanto a edad, criterios de exclusión, duración de la enfermedad, etc. podrían afectar los datos de los marcadores óseos.

Conclusiones:

La aparente paradoja que se presenta cuando un paciente con T2D tiene altos niveles de Scl y aún así su DMO está aumentada, podría explicarse por mecanismos inflamatorios, lo que podría afectar también a los otros marcadores evaluados. Los altos valores de glucemia en pacientes con DM o el tiempo transcurrido desde el inicio de la diabetes resultarían en errores en la determinación de algunos de los marcadores de recambio óseo. Sin embargo, la diabetes parecería disociar específicamente los fenómenos de resorción y formación del hueso, lo que podría sugerir un desacoplamiento debido al mal manejo del metabolismo de glucosa, característico la DM.

Referencias

1. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes, a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2007; 18:427-44.
2. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Diabetes and its complications and their relationship with risk of fractures in type 1 and 2 diabetes. *Calcif Tissue Int* 2009; 84:45-55.



SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

EL LENGUAJE DE LOS HUESOS. LOS RESTOS DE SOR JUANA INÉS DE LA CRUZ

Osvaldo F. Sánchez

Cátedra de Filosofía e Historia de la Medicina. U.A.I. Sede Rosario.

Los inescrutables designios del Señor motivaron que un minúsculo pueblo de provincias, San Miguel de Nepantía, ubicada a 60 kilómetros de Ciudad de México, fuera cuna, el 12 de noviembre de 1651, de una de las glorias de las letras americanas y del mundo entero. Ese día, el modesto villorio escuchó, absorto, los primeros vagidos de una niña que con el correr de los años y durante su corta vida terrenal asombraría a sus contemporáneos, para luego vencer a la muerte por medio de sus obras.

Sor Juana Inés de la Cruz, a la temprana edad de tres años, aprendió a leer, y a los ocho escribía sus primeras poesías. En poco tiempo adquirió conocimientos de latín. La universidad rechazó su matriculación por su condición de mujer. A raíz de ello fue admitida en la corte del virrey de México. Con posterioridad ingresó en un convento de la orden de San Jerónimo.

El ambiente reposado y propicio del convento le permitió dar inicio a su fecundo camino en las letras que interrumpió cruelmente la muerte en 1695. La facilidad para abordar temas líricos valiéndose de décimas, redondillas y romances, le concedieron gran predicamento. Sus obras, recopiladas en tres tomos, se publicaron en 1689, 1691 y 1700. En el género dramático, aparte los tres autos sacramentales (influidos por Calderón) el "Divino Narciso", "San Hermenegildo" y el "Cetro de

José", destacan sus comedias "Los empeños de una casa" y "Amor es más laberinto", que tienen intención autobiográfica.

A su muerte, los restos mortales fueron sepultados en Ciudad de México en el convento de San Jerónimo, ubicado en el centro de aquélla. El edificio, sometido a partir de 1964 a trabajos de restauración por daños importantes que sufriera luego de la revolución de 1910, fue el centro de interés de los arqueólogos.

Ante la certeza que poseían los expertos de que los restos de la exquisita poeta descansaban en el lugar, se iniciaron en 1975 las tareas para encontrar los mismos. Dicha labor insumió tres años. En efecto, en 1978, en uno de los túneles del edificio se descubrieron numerosos ataúdes, entre los cuales destacaba uno de ébano que por los adornos que lo revestían indicaban el alto rango de la persona fallecida. Los arqueólogos, que calificaron el hallazgo como de un valor incalculable, creyeron fundadamente que eran los restos mortales de Sor Juana Inés de la Cruz.

La situación no se canceló con la opinión de los expertos en arqueología.

Una inquietud afloró con el tiempo: la necesidad de ratificar con rotundidad la autenticidad de los restos de una persona fallecida en 1695, año en que sor Juana Inés de la Cruz ingresó en la historia de la humanidad mer-

ced a su exquisita actividad como escritora y poetisa.

Con los avances generados en biología molecular y la aparición consiguiente de tecnología adecuada se obtuvo una poderosa herramienta de investigación sobre los huesos antiguos.

A todo esto el examen antropométrico de los restos óseos hallados en las tareas de restauración antes mencionadas indicó que –en vida– Sor Juana Inés de la Cruz alcanzó una estatura de 1,53 metro, portaba una textura pequeña y poseía rasgos sutiles.

Para desbrozar el camino de dificultades, la comunidad científica mexicana plasmó una vía de abordaje –categórica, podría afirmarse– tendiente a confirmar que los restos óseos encontrados corresponden a Sor Juana Inés de la Cruz.

Los expertos propusieron la obtención del ADN mitocondrial obrante en los huesos de Sor Juana Inés de la Cruz. Una vez estudiado se lo comparó con el ADN mitocondrial extraído de dos actuales descendientes de Josefa María Ramírez, hermana de la poetisa.

Por otra parte, puede agregarse que la indagación concretada en los huesos indicó que Sor Juana Inés de la Cruz no padeció ni artritis ni osteoporosis.

Un resumen de lo expuesto con anterioridad, en especial la vía molecular en los res-

tos de la eximia poetisa, permite conocer los tramos recorridos para llevar a feliz término la investigación en curso. Por aplicación de estudios genealógicos se determinó que sus padres fueron de nacionalidad española, desechando una posible ascendencia indígena. Utilizando los mismos cánones genealógicos se pudo localizar a los descendientes de su hermana María Josefa Ramírez. De dichos descendientes se obtuvieron secuencias de ADN mitocondrial que de inmediato fueron sometidas a análisis.

En relación al estudio de ADN mitocondrial de los descendientes de la hermana de Sor Juana Inés de la Cruz, el mismo está concluido hace tiempo pero los expertos, con prudencia suma –en consideración a la jerarquía de la poetisa– han resguardado el resultado y esperarán la confirmación que emerja del ADN mitocondrial de los restos óseos de la progenitora de una gloria de la literatura de todos los tiempos. Acotemos que hasta la fecha y pese a la búsqueda pertinente en orden de los antecedentes, no se tienen noticias de la exhumación de los restos que corresponden a la Madre de Sor Juana Inés de la Cruz.

En otro orden, es indudable que lo único asertivo está plasmado –hasta ahora– en la opinión de los peritos en arqueología y antropología, muy respetable por cierto pero insuficiente para las metas deseadas.

II NOVEDADES II

II Actividades AAOMM II

Reunión Anual AAOMM 2014

XXXI Reunión Anual Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM)
21-23/8/2014. Salguero Plaza, sito en Salguero 2686, Ciudad de Buenos Aires.
www.aaomm.org.ar – info@aaomm.org.ar

Curso Superior de Osteología

Instituto Universitario del HIBA – AAOMM

Directoras: Dra. Luisa Plantalech y Dra. Diana Gonzalez

Inicio: 7 de Junio de 2013. Finaliza: Diciembre de 2014.
Carga horaria: 140 horas
Día y hora de cursada: Primer viernes y sábado de cada mes.
Contacto: posgrado@hospitalitaliano.org.ar

INSCRIPCIÓN ABIERTA PARA MÓDULO II: OSTEOPOROSIS (ABRIL-AGOSTO 2014)

Módulos:

- 1- Enfermedades del Metabolismo Mineral: Hipercalcemia, hiperparatiroidismo, hipocalcemia e hipoparatiroidismo, hipovitaminosis D, hiperfosfatemia, etc.
- 2- Enfermedades del Metabolismo Óseo I: Osteoporosis
- 3- Enfermedades del Metabolismo Óseo II: Enfermedad de Ósea de Paget, osteonecrosis, metástasis óseas, tumores primarios, enfermedades infiltrativas óseas.
- 4- Enfermedades congénitas y hereditarias del Metabolismo Óseo y Mineral: raquitismos hereditarios, osteogénesis imperfecta, displasia fibrosa, miositis osificante.

OTROS CURSOS Y MAESTRÍAS

Curso de Osteología 2014 – Universidad Favaloro

Directora: Dra. Maria Silvia Larroudé. Coordinadoras: Dra. Maria Ines Tamborenea, Dra. María Susana Moggia y Dra Ana Puscar.
Resolución CS. N° 110/07 - Resolución FPosg. N° 037/07-

Inicio: 30 de mayo de 2014. Finalización: 7 de noviembre de 2014. Cursada intensiva mensual.
Contacto: mariasilvia.larroude@gmail.com

Maestría en Osteología y Metabolismo Mineral

Acreditación de la CONEAU, Resolución Número 733/04.
Universidad del Salvador - Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM)
Director: Prof. Dr. José R. Zanchetta
Modalidad presencial (1320 horas de carga horaria). Duración 2 años.
Inicio: Marzo y agosto de cada año.
Contacto: vdelascasas@idim.com.ar

|| NOVEDADES ||

CONGRESOS INTERNACIONALES 2014

■ **IOF-ESCEO World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases**

2-5/4/2014 - Sevilla, España.

www.wco-iof-esceo.org

■ **14th World Congress on the Menopause**

1-4/5/2014 - Cancun, Mexico.

www.imsociety.org/world_congress.php

■ **41st European Calcified Tissue Society Congress**

17-20/5/2014 - Praga, República Checa

www.ectscongress.org/2014

■ **44rd International Sun Valley Workshop: Musculoskeletal Biology**

3-6/8/2014 - Sun Valley, Idaho, USA.

www.ibmsonline.org

■ **16th International Congress of Endocrinology ICE/ ENDO 2014**

21-24/6/2014 - Chicago. USA.

www.endocrine.org/endo-2014

■ **American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR)**

12-15/9/2014 - Houston – Texas – USA

www.asbmr.org

■ **84th Annual Meeting of the American Thyroid Association**

29/10-2/11/2014, Hotel del Coronado. Coronado, CA

www.thyroid.org

■ **XI Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)**

27-29/8/2015 – Lisboa, Portugal

sibomm.ammom.com.mx

CONGRESOS NACIONALES 2014

■ **XXXI Reunión Anual Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM)**

21-23/8/2014 - Buenos Aires

www.aaomm.org.ar - info@aaomm.org.ar

■ **Congreso Argentino de Osteoporosis (SAO)**

4-6/9/2014 - Buenos Aires.

www.osteoporosis.org.ar

■ **Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología (FASEN)**

8-10/10/2014 – Córdoba.

www.congresofasen.com.ar

■ **Sociedad Argentina de Reumatología (SAR)**

14-17/10/2014 – Salta.

www.reumatologia.org.ar



INSTRUCCIONES PARA AUTORES

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Presentación de manuscritos

Los manuscritos serán enviados por correo electrónico a actualizaciones@osteologia.org.ar

En la primera página deben 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 completos, y dirección electrónica del autor con quien se deba mantener correspondencia.

Asimismo deberá indicar una sección que se corresponda con el contenido de su artículo:

Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Imágenes en Osteología, Editoriales, Cartas al editor, Comentarios Bibliográficos, Consensos y Educación en Osteología, Sección Cultural, Controversias.

El artículo podrá ser redactado en castellano o en inglés.

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

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

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

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

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

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

La **Bibliografía** debe limitarse a aquellos artículos directamente relacionados con el trabajo mismo, evitándose las revisiones bibliográficas extensas, solo aceptables en la sección **Actualizaciones**. Se numerarán las referencias consecutivamente, en el orden en que se las menciona en el trabajo. Se incluirán todos los autores cuando sean seis o menos; si fueran más, el tercero será seguido de la expresión et al. (et alia: y otros) Los títulos de las revistas serán

abreviados según el estilo empleado en el *Index Medicus* (la lista puede obtenerse en <http://www.nlm.nih.gov>). Los nombres de las revistas deben ir en *bastardilla*.

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

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

Las **Tablas**, presentadas en hojas individuales y numeradas con números arábigos, deben ser indispensables y comprensibles por sí mismas, y poseer un título claramente explicativo de su contenido. 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** han de permitir una reproducción adecuada y serán numeradas correlativamente con una inscripción al dorso que facilite identificarlas, y una leyenda explicativa en hoja aparte. En las microfotografías se debe indicar la escala (marcador). Además, las flechas, símbolos o letras incluidas deben presentar buen contraste con el fondo. Emplear tamaños de letra y grosor de líneas que se reproduzcan con claridad en la publicación. Deben presentarse en formato de imágenes (.jpg o .tif) con una resolución no menor de 300 dpi.

Considerar que, en la versión *on line* la imagen se publicará en color y en la versión impresa, en escala de grises.

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.

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

Todos los artículos que publica **Actualizaciones en Osteología** son enviados a **revisión por pares (peer-review)**. La revisión está a cargo del Editor y por lo menos dos revisores con amplia experiencia y prestigio en el tema. La identidad de los autores y de los revisores se mantiene en forma confidencial. El Editor devolverá a los autores, sin pasar por el proceso de arbitraje, aquellos manuscritos que no se ajusten a las normas de preparación o que no coincidan con los



propósitos y orientación de Actualizaciones en Osteología. El tiempo de evaluación durará entre 30 y 60 días. Luego de que el Comité de Redacción haya completado el proceso de evaluación se notificará por correo electrónico al autor responsable sobre la aceptación (con correcciones o sin ellas) o el rechazo del manuscrito. La decisión de este será inapelable. El Comité de Redacción se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, todos los cambios editoriales exigidos por las normas gramaticales y las necesidades de compaginación. Los trabajos aceptados con modificaciones serán devueltos a sus autores para eventuales correcciones y se les otorgará para la devolución un plazo no mayor de 30 días. Luego de su aceptación y diagramación, se otorgará a los autores 72 horas para revisar la prueba de galera. Seguiremos los lineamientos expuestos por el *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE, [http:// www.icmje.org](http://www.icmje.org)) sobre otros aspectos no mencionados aquí, y también en lo referente a **Conflicto de intereses** de revisores, autores y editores, a las relaciones con la industria, al apoyo financiero de ella recibido, a la confidencialidad de los manuscritos y a las relaciones entre revistas médicas y los medios populares de difusión.

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

Transferencia de Derechos de Autor

Una vez aceptado el manuscrito y antes de su publicación, se debe enviar al editor una carta de concesión de los derechos de autor y consentimiento de publicación, firmada por todos los autores. En el caso de que los autores certifiquen que el artículo arriba mencionado es trabajo original y no ha sido previamente publicado excepto en forma de resumen, y sea aceptado para publicación en **Actualizaciones en Osteología**, los derechos de autor serán transferidos a la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

ÍNDICE ACUMULADO

Organizado por número de Comunicación Libre (CL)

VOL. 9, N° 1
enero / abril 2013

EDITORIAL / Editorial

Nota de despedida del director saliente

Past Editor's Farewell Message

Ariel Sánchez

8

Nota de presentación de la directora entrante

Message from the new Editor

Luisa Plantalech

10

IN MEMORIAM / In Memoriam

A la memoria de Zulema Man

In memory of Zulema Man

María Silvia Larroudé

12

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLOGÍA / Consense Documents and Osteology Education

Osteoporosis inducida por glucocorticoides: análisis de las guías internacionales de prevención y tratamiento

Glucocorticoid-induced osteoporosis: analysis of the international guidelines for prevention and treatment.

María Lorena Brance, Luisa Plantalech

14

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Comparación de los efectos del tratamiento con monofluorofosfato de sodio o fluoruro de sodio sobre el proceso de reparación ósea en ratas

Comparison of the treatments with sodium monofluorophosphate and sodium fluoride on bone repair process in rats

Sandra P Mejía Delgado, Alfredo Rigalli

28

Relación entre densidad mineral ósea, pérdida de talla y estilo de vida de mujeres adultas

Relationship between bone mineral density, height loss and lifestyle in adult women

Celeste Squillace, María Laura Oliva, Beatriz Alorda, Lorena Belén, Laura Maffei,

María Laura Rossi, María Elena Torresani

36

**Evaluación de la textura y orientación preferida del tejido trabecular de cortes de vértebras humanas, secas, cadavéricas**

Assessment of texture and preferred orientation of trabecular bone of human, dry, cadaveric vertebral slices.

Rodolfo C. Puche, Alfredo Rigalli

47

ACTUALIZACIONES / Reviews

Osteocitos y su rol en el remodelado óseo

Osteocytes and their role in bone remodeling

Teresita Bellido

56

Metabolismo óseo y vascular: impacto de la enfermedad renal crónica

Bone and vascular metabolism: impact of chronic kidney disease

Natalia Carrillo-López, Sara Panizo, Isabel Rodríguez,
José Bernardino Díaz-López, Jorge B. Cannata-Andía

65

IMÁGENES EN OSTEOLÓGIA / Imaging in Osteology

Significativa alteración de la microarquitectura ósea trabecular en una mujer joven con reciente diagnóstico de enfermedad celíaca

Significat Trabecular compromise in a young women with recent diagnosis of celiac disease

María Belén Zanchetta, Vanesa Longobardi

79

Enfermedad ósea de Paget

Paget's disease

Matías Borensztein, Osvaldo Velan

82

Análisis de la composición ósea en ratones recién nacidos

Analysis of the skeletal composition in newborn mice

Rafael Pacheco-Costa, Lilian I. Plotkin

84

CONTROVERSIAS / Controversies

Fracturas atípicas asociadas al uso prolongado de bifosfonatos: ¿un problema menor?

Atypical fractures associated with prolonged use of bisphosphonates: a minor problem?

Haraldo Claus-Hermberg, María Josefina Pozzo

86

CASUÍSTICAS / Case Reports

Hipercalcemia asociada a granuloma por cuerpo extraño en paciente con HIV

Hypercalcemia associated with foreign body granuloma in a patient with HIV

Magdalena Rey, María Pía Lozano, María Paz Martínez, María Josefina Bomarito,
María Josefina Pozzo, Gabriel Casas, Manuel Canalis

96

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments

Bisphosphonate therapy for osteoporosis: benefits, risks, and drug holiday

Am J Med 2013

Ariel Sánchez

102

SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

Modificaciones culturales en los dientes

Cultural changes in the teeth

Ariel Sánchez

104

NOVEDADES / News

105

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

107

VOL. 9, Nº 2

mayo / agosto 2013

EDITORIAL / Editorial

**Fuentes de calcio, biodisponibilidad y salud ósea:
evidencias e interrogantes**

*Sources of calcium bioavailability and bone health:
evidence and questions*

María Luz Pita Martín de Portela

118

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLÓGÍA / Consense Documents and Osteology Education

**Guías 2012 para el diagnóstico, la prevención
y el tratamiento de la osteoporosis**

*Guidelines 2012 for the diagnosis, prevention
and treatment of osteoporosis*

León Schurman, Alicia Bagur, Haraldo Claus-Hermberg,
Osvaldo D. Messina, Armando L. Negri, Ariel Sánchez,
Claudio González, María Diehl, Paula Rey, Julieta Gamba,
Javier Chiarpenello, María Susana Moggia, Silvina Mastaglia.

123

**ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals**

Disminución del riesgo de mortalidad en pacientes tratados con bifosfonatos luego de una fractura de cadera por osteoporosis*Bisphosphonate treatment and mortality risk reduction after osteoporotic hip fracture***María Diehl, Andrea Beratarrechea, Natalia Pace, Javier Saimovici, Adriana Trossero, Gastón Perman, Luisa Plantalech**

154

Modulación por la hormona paratiroidea del ciclo celular en células de adenocarcinoma de colon humano*Cell cycle modulation by parathyroid hormone in human colon adenocarcinoma cells***Natalia Calvo, Ana Russo de Boland, Claudia Gentili**

165

ACTUALIZACIONES / Reviews

Los osteocitos como mecanosensores del hueso*Osteocytes as mechanosensors in bone***Carola B. Bozal**

176

Osteomalacia tumoral*Tumor-induced osteomalacia***Silvina Mastaglia, Julia Somoza, Diana González, Beatriz Oliveri**

194

IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / Imaging in Osteology

Características de la red osteocitaria observadas por microscopía láser de barrido confocal*The osteocyte network by confocal laser scanning microscopy***Carola B. Bozal, Angela M. Ubios**

203

Densitometría ósea de cadera: artefacto*Hip bone densitometry: artifact***Ariel Sánchez**

204

Grave deterioro de la microarquitectura ósea inducido por desuso y denervación crónica*Severe bone microarchitecture deterioration caused by chronic denervation and disuse***María Celeste Balonga, María Belén Zanchetta**

205

CONTROVERSIAS / Controversies

Controversia sobre los niveles adecuados de vitamina D para la salud ósea propuestos por el Instituto de Medicina de los Estados Unidos y la Comunidad Médica Internacional

Controversy referred to the adequate vitamin D levels concerning bone health proposed by institute of medicine and the international medical community

Silvina Mastaglia, Dana Z Watson, Beatriz Oliveri

207

CASUÍSTICAS / Case Reports

Osteólisis multicéntrica no hereditaria con nefropatía: reporte de un caso y revisión de la literatura

No hereditary multicentric osteolysis with nephropathy: report of a case and review of the literature

Leandro Ferreyra-Garrott, Gabriel Meneses, Luisa Plantalech

217

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments

Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomised placebo-controlled trial

Ann Rheum Dis 2013

María Lorena Brance

225

SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

Deformaciones culturales en los huesos

Cultural changes in the bones

Ariel Sánchez

228

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

230

**VOL. 9, N° 3
septiembre / diciembre 2013**

EDITORIAL / Editorial

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral. Sus 30 años

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral. Sus 30 años

Carlos Mautalen

239

**CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLÓGÍA / Consense Documents and Osteology Education**

Valoración del riesgo de fractura a diez años mediante algoritmo computarizado (FRAX®). Usos y limitaciones en la práctica clínica*Posición Oficial ISCD-IOF.*

Traducción al castellano: Dra. Diana Wiluzanski

241

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Efecto de una mezcla de galactooligosacáridos (GOS) / fructooligosacáridos (FOS) sobre la absorción intestinal y retención ósea de calcio, fósforo y magnesio: modelo experimental en ratas durante el crecimiento normal*Effect of a mixture of galactooligosaccharides (GOS) / fructooligosaccharides (FOS) on the intestinal absorption and bone retention of calcium, phosphorus and magnesium: experimental model in rats during normal growth*

Gabriel Bryk, Magalí Zeni Coronel, Daniela Medina, Gretel Pellegrini, María Luz Pita Martín de Portela, Susana Noemi Zeni

245

Efectos vasculares de raloxifeno y alendronato*Vascular effects of raloxifene and alendronate*

María Belén Rauschemberger, Pablo Hernan Cutini, Marisa Julia Sandoval, Virginia Laura Massheimer

257

Osteoporosis inducida por corticoides: tratamiento preventivo en la población de un sistema cerrado de salud*Glucocorticoid -induced osteoporosis: prevalence of preventive treatment in population of a closed health system*

Carolina Carrizo, Gustavo Vidal, Luisa Plantalech

268

ACTUALIZACIONES / Reviews

El tejido óseo esponjoso y su evaluación por medio de imágenes*Trabecular bone and its evaluation through images*

Rodolfo C. Puche

277

IMÁGENES EN OSTEOLÓGÍA / Imaging in Osteology

Mastocitosis sistémica*Systemic mastocytosis*

María Diehl, Ana Morandi, Luisa Plantalech

288

Grave alteración de la micro arquitectura ósea en síndrome de Sudeck*Severe bone microarchitecture deterioration in Sudeck syndrome*

María Belén Zanchetta

290

Osteogenesis imperfecta tipo V y tumor en pie izquierdo*Imperfect osteogenesis type V and tumor in left foot*

Luisa Plantalech

292

CONTROVERSIAS / Controversies

Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios in vivo, in vitro o in silico?*Investigación de un fenómeno natural: ¿estudios in vivo, in vitro o in silico?*

Brenda Lorena Fina, Mercedes Lombarte, Alfredo Rigalli

294

CASUÍSTICAS / Case Reports

**Hipofosfatemia severa asociada a regeneración tisular
posnecrosis hepática en paciente con SIDA***Severe hypophosphatemia associated to tissue regeneration after
hepatic necrosis in a patient with AIDS*Lorena R. Katzin, Mónica L. Drnovsek, Paula Guido, María Laura Eugenio Russman,
Lucas Gutnisky, Mónica A. Ercolano

300

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments

Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control and bone*Front Endocrinol 2013*

Gabriela Picotto

307

SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

El lenguaje de los huesos. Los restos de Sor Juana Inés de la Cruz*El lenguaje de los huesos. Los restos de Sor Juana Inés de la Cruz*

Osvaldo F. Sánchez

310

NOVEDADES / News

312

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

314

ÍNDICE ACUMULADO / Cumulative Index

317