

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 11, Nº 2 - mayo / agosto 2015

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



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 OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral



Antonio Berni

Juanito dormido fragmento, 1978

*De la serie Juanito Laguna Óleo, madera, latas, tela, yute, clavos, papel, papel mâché y juguete de plástico sobre madera terciada, 156 x 111 cm
Colección MALBA / Museo de Arte Latinoamericano de Buenos Aires*

Agradecemos la generosidad de la familia Berni por autorizar la reproducción de la obra.

VOL. 11, Nº 2

mayo /agosto 2015

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. 11, Nº 2

mayo /agosto 2015

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

PROPIETARIO: Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

DOMICILIO LEGAL: 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.

EDITORA RESPONSABLE

Luisa Carmen Plantalech

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

editora-responsable@osteologia.org.ar

EDITORES ASOCIADOS

Lucas R. M. Brun

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

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

EDITOR ASOCIADO SENIOR

Julio Ariel Sánchez

Médico Director, Centro de Endocrinología. Rosario, Argentina.

Ex-director Actualizaciones en Osteología 2005-2012.

SECRETARIA DE REDACCIÓN

María Lorena Brance

Centro de Reumatología, Rosario, Argentina.

redaccion@osteologia.org.ar

ASISTENTES COMITÉ EDITORIAL

Maela Lupo

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

Manuel Rebón

Licenciado en Ciencias de la Comunicación y Magister en Comunicación y Cultura de la Facultad de Ciencias Sociales, UBA.

CORRECTORA DE TEXTO

Prof. María Isabel Siracusa

maisasiracusa@yahoo.com.ar

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

Ricardo A. Battaglini

Harvard School of Dental Medicine. Mineralized Tissue Biology Department. The Forsyth Institute. USA.

Teresita Bellido

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

David Burr

Professor of Anatomy and Cell Biology. Indiana University School of Medicine. USA.

Marilia Buzalaf

Bauru School of Dentistry, University of São Paulo, Bauru-SP, Brazil.

Jorge B. Cannata Andía

Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral del Hospital Universitario Central de Asturias. España.

Haraldo Claus Hermberg

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

Gustavo Duque

Division of Geriatric Medicine, Department of Medicine & Director, Musculoskeletal Ageing Research Program. Sydney Medical School Nepean, University of Sydney. Australia.

Adriana Dusso

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

Pedro Esbrit

Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo. Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) - Fundación Jiménez Díaz. Madrid. España.

José Luis Ferretti

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFoC). Hospital del Centenario. Rosario. Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Ana María Galich

Sección Osteopatías Metabólicas del Servicio de Endocrinología del Hospital Italiano de Buenos Aires.

Diana González

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

María Luisa Gonzalez Casaus

Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral del Hospital Central de Defensa de Madrid. España.

Arancha R. Gortázar

Instituto de Medicina Molecular Aplicada. Facultad de Medicina. Universidad CEU San Pablo, Madrid, España.



Nuria Guañabens

Servicio de Reumatología del Hospital Clínic de Barcelona. España.

Suzanne Jan de Beur

Johns Hopkins University School of Medicine. Division of Endocrinology, Diabetes, and Metabolism. Johns Hopkins Bayview Medical Center. USA.

Patricia Juárez Camacho

Unidad Biomédica. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. México.

Carlos Mautalen

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

Michael McClung

Oregon Osteoporosis Center, Portland, OR, USA.

José Luis Millán

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

Armando Negri

Instituto de Investigaciones Metabólicas. Editor de la Revista Argentina de Osteología. Editor Asociado Revista de Nefrología Diálisis y Transplante.

Beatriz Oliveri

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

Lilian I. Plotkin

Department of Anatomy & Cell Biology. Indiana University School of Medicine. Indianapolis, USA.

Hans L Porias Cuéllar

Nuevo Sanatorio Durango. México. Ex presidente fundador de AMMOM y ex presidente de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología.

María Josefina Pozzo

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires.

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

Helena Salerni

División Endocrinología del Hospital Durand. Buenos Aires, Argentina. Ex presidente de la Sociedad Argentina de Osteoporosis.

Eduardo Slatopolsky

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

José R. Zanchetta

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. María Belén Rauschemberger

Vocales

Dra. Gabriela Díaz 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 11, Nº 2, mayo /agosto 2015

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Animales de experimentación: el valor de una palabra

Experimental animals: the value of one word

Marcela Rebuelto.

111

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Tratamiento prolongado con teriparatida en el hipoparatiroidismo grave de difícil manejo

Long term treatment with teriparatide in severe cases of hypoparathyroidism

Ariela Verónica Kitaigrodsky, María Diehl, Ana María Galich, Soledad Lovazzano, Liliana Santangelo, Diego Giunta, Luisa Plantalech.

114

Respuestas del proceso condilar mandibular y de la tibia a la restricción proteica. Estudio histomorfométrico en ratas en crecimiento.

Mandibular condylar process and tibial bone responses to a protein restriction diet.

A histomorphometric study in growing rats.

Juan A Garat, Adrián E. Martín, Nora Ruiz Holgado, Laura López Miranda, Héctor E. Meheris.

125

ACTUALIZACIONES / Reviews

Cooperación biofísico-bioquímica en el control direccional de la "calidad estructural" ósea (resistencia a la fractura)

Biophysical-biochemical cooperation in the directional control of bone "structural quality"

Ricardo Francisco Capozza, Laura Marcela Nocciolino, Gustavo Roberto Cointy, José Luis Ferretti.

136

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLOGÍA / Consense Documents and Osteology education

Guía de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología sobre diagnóstico, prevención y tratamiento de la hipovitaminosis D

Guideline of Argentina Federation of Endocrinology Societies on diagnosis, prevention and treatment of vitamin D deficiency

Ariel Sánchez, Beatriz Oliveri, José Luis Mansur, Erich Fradinger, Silvina Mastaglia.

151



CASUÍSTICAS / Case Reports

Imágenes osteocondensantes: valor de la densitometría ósea en una presentación inusual de un carcinoma de mama

Osteoblastic lesions: utility of bone densitometry in an unusual presentation of breast carcinoma

Francisco Rodolfo Spivacow, María Carolina Spivacow.

172

CONTROVERSIAS / Controversies

Controversias en la medición de parathormona

Controversies in measuring parathyroid hormone

Erich Fradinger.

178

IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / Imaging in Osteology

17 β -estradiol disminuye las conexiones intercelulares inducidas por peróxido de hidrógeno en cultivos de células de músculo esquelético

17 β -estradiol decreases hydrogen peroxide-induced intercellular connections in cultured skeletal muscle cells

Anabela La Colla, Lucía Pronsato, Lorena Milanesi, Andrea Vasconsuelo.

185

CARTAS AL COMITÉ DE REDACCIÓN / Letters to the Editor

Medicina basada en la evidencia y las enfermedades raras

Evidence-based medicine and rare diseases

Emilio J. A. Roldán.

186

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / Bibliographical Comments

The p38 α MAPK function in osteoprecursors is required for bone formation and bone homeostasis in adult mice

PLOS One 2014; 9:e102032

Valeria Andrea Rodríguez.

187

SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

La bandera de los piratas

Pirates' flag

Ariel Sánchez.

189

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

191

EDITORIAL / Editorial

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN: EL VALOR DE UNA PALABRA

Marcela Rebuelto*

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

“El uso de animales en la investigación básica es esencial para el progreso médico”, afirma la Asociación Médica Mundial (AMM) en su *Declaración sobre el uso de animales en la investigación médica*.¹ En esta declaración, la AMM expresa el sentir de la comunidad científica biomédica, en cuanto a su rechazo a toda forma de violencia que busca eliminar el uso de los animales en las investigaciones, y a la importancia de los estudios de las numerosas áreas de la salud que necesitan de los animales con el fin de investigar en forma válida sistemas y funciones complejas, en su estado normal o modificado por la enfermedad, y para las cuales no existen alternativas posibles. En la actualidad, el uso de animales para fines científicos está regulado en numerosos países mediante reglamentaciones. Aquellos que realizan un control sobre los animales utilizados aportan cifras asombrosas. En Canadá,² durante el año 2011 (último reportado) se utilizaron 3.333.689 animales con fines científicos, que incluyen la investigación, la docencia y pruebas diversas; el 61% de esos animales se usó para estudios de investigación básica. Del total, los más utilizados fueron peces (39%), ratones (32%) y ratas (6%). En la Unión Europea,³ el número total de animales empleados con fines científicos fue un poco menor de 11,5 millones durante el año 2011 (último reportado), siendo los ratones (61%) y las ratas (14%) las especies más utilizadas; de estos animales el 46% fue destinado a estudios de investigación básica, y el 18% a estudios de investigación y desarrollo.

Si bien estos números parecerían indicar un consenso en la comunidad científica sobre el uso de animales para la investigación biomédica, en la actualidad esto es motivo de debate en toda la sociedad desde dos enfoques, el científico y el ético. El fundamento para tal debate se resume en la siguiente paradoja: los animales de experimentación son lo suficientemente similares a los seres humanos como para que los resultados de las experimentaciones se puedan aplicar para su beneficio en forma válida, y lo suficientemente diferentes como para que sea ético este aprovechamiento de una especie por parte de otra. Considerando la primera afirmación, el estudio de los mecanismos de una enfermedad o el desarrollo de modelos experimentales que semejan enfermedades en seres humanos se basa en la similitud entre la presencia de ciertos síntomas en los animales, que son análogos a los que ocurren en el ser humano. Si aceptamos este postulado, aceptamos también que los animales no solo reproducen esos síntomas, sino que son capaces física y emocionalmente de experimentar las sensaciones negativas (dolor, angustia, sufrimiento) asociadas a ellos. Basten como ejemplos el uso de ratas para la comprensión de algunos estados anímicos y la evaluación de fármacos ansiolíticos, como la prueba del laberinto en cruz elevado (la validez predictiva de este test se basa en la capacidad de los animales de experimentar, al menos en parte, emociones similares o acompañantes de la ansiedad); o los diversos modelos experi-

* Dirección postal: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires
Chorroarín 280 (1427) CABA. Correo electrónico: marcelarebuelto@gmail.com



mentales para el estudio de analgesia, como la prueba de la formalina, del plato caliente y de la cola del ratón. Es así como la posición cartesiana de que el animal es una máquina incapaz de sentir dolor –posición que permitió crueldades hacia los animales, como los experimentos que incluían la vivisección– es inaceptable. En la actualidad se considera que los animales vertebrados, y algunos invertebrados como los pulpos, son capaces de sentir dolor, sufrimiento, estrés, ansiedad, y que poseen los mecanismos neuroanatómicos, neuroquímicos y neurofisiológicos que generan conciencia en los seres humanos.⁴ De manera que nuestros animales de experimentación son seres “sensibles”, es decir, capaces de sentir física y emocionalmente.

El agregado de esta palabra, “sensible”, a la caracterización de los animales de experimentación aporta una dimensión ética a su uso para fines científicos, ya que nos hace cuestionarnos sobre si es justo causarles daño para nuestro beneficio. Surge entonces la pregunta: ¿En qué condiciones es éticamente aceptable el uso de animales “sensibles” en la investigación? La importancia de la capacidad de sufrir como factor de consideración moral ya fue expuesta en el siglo XVIII por el filósofo Jeremy Bentham, quien en su libro *Introducción a los principios de moral y legislación* (1789) expresó, con referencia a la protección hacia los animales: “La pregunta no es ¿pueden razonar? ni tampoco ¿pueden hablar? sino ¿pueden sufrir? ¿Por qué la ley debería negar su protección a cualquier ser sensible?”. Este argumento ha sido retomado en la actualidad por el conocido filósofo Peter Singer,⁵ quien mantiene la siguiente postura: los animales tienen intereses, en cuanto son capaces de experimentar sensaciones de placer y de dolor; por ello lo justo es aplicar la doctrina de la igual consideración de intereses, o sea, considerar intereses similares en forma similar. Lo contrario, es decir, tratar diferente el interés de los animales (discriminar) sería caer en “especismo”, que, a su

modo de ver, es tan grave como el racismo o el sexismo, ya que este filósofo considera que la especie, al igual que la raza o el sexo, no constituye una característica que deba ser implicada en la consideración moral. Otra postura contemporánea, más extrema que la de Peter Singer, es la desarrollada por Tom Regan,⁶ quien otorga derechos a los animales por el hecho de ser poseedores de vida, un valor inherente, no instrumental. Esta postura aboliría todo tipo de experimentación con animales ya que entre estos derechos incluye el derecho a la vida.

Han surgido leyes y normativas con vistas a la protección del animal de experimentación (lamentablemente, asignatura pendiente en nuestro país), como la recientemente actualizada *Guía de cuidado y uso de los animales de laboratorio* de los Estados Unidos, y la Directiva 2010/63 de la Unión Europea. Estas normas, y otras de diversos países, basan los requisitos éticos en el principio de las 3Rs, que fue postulado en *The Principles of Humane Experimental Technique* de William M. S. Russell y Rex Burch (1959). Este principio comprende: 1) el reemplazo del uso de animales por sistemas no animales, como los cultivos de tejidos, órganos *ex vivo*, computadoras, y otros, siempre que sea posible para lograr los mismos objetivos científicos; 2) la reducción del número de animales, utilizando el mínimo que asegure resultados válidos y 3) el refinamiento del alojamiento y de las técnicas experimentales, para evitar o minimizar la producción de dolor, daño o estrés a los animales de experimentación.

Hoy en día, este principio de las 3Rs debe ser incorporado a las investigaciones de manera tal que sean aceptables desde una concepción filosófica utilitarista de evaluación riesgo/beneficio, por lo cual el investigador ha de disminuir los “riesgos” del animal (lesiones, dolor, sufrimiento, estrés, muerte) en relación con los “beneficios” obtenidos para la salud humana o animal, o para el avance del conocimiento.

La palabra “sensible”, por otro lado, nos lleva a reconsiderar el aspecto científico del debate, ya que corresponde hacerse otra pregunta: Si nuestros animales de experimentación son “sensibles”, ¿cuán válidos son los resultados de nuestras investigaciones si se encuentran doloridos, asustados, estresados? Por citar algunos ejemplos, externalidades a los procedimientos experimentales pueden generar modificaciones fisiológicas importantes, como la disminución de producción de embriones por ruidos en ratonas superovuladas,⁷ y el mero transporte de los animales^{8,9} produce aumento de corticoides asociado al estrés, con sus repercusiones en el organismo todo.

Lo anteriormente comentado no descalifica el valor de la investigación básica con animales, sino que nos desafía a encararla en forma responsable, obligándonos a considerar al animal de experimentación no como un reactivo más, sino como un reactivo “sensible”.

Los animales estresados o doloridos no son buenos sujetos de investigación, los resultados que producen tienen mayor variabilidad, ya que parten de situaciones fisiológicas no homogéneas, se necesitan mayores números y, por ende, mayores recursos para obtener resultados válidos. Por otro lado, es deber ético de todos los investigadores implementar todas las medidas necesarias para evitar a los animales que expone a su experimentación, todo dolor, estrés o daño innecesario. Por todo lo expuesto, sea por razones científicas o por razones éticas, el incorporar la palabra “sensible” al diseño de la investigación y actuar en consonancia, traerá una mejor ciencia.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener conflictos de intereses.

(Recibido: julio 2015.

Aceptado: julio 2015).

Referencias.

1. Asociación Médica Mundial (AMM). Declaración sobre el uso de animales en la investigación médica (2006). Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policias/a18/>, acceso julio 2015.
2. Canadian Council of Animal Care (CCAC). Animal use statistics (2011). Disponible en: http://www.ccac.ca/Documents/Publications/Statistics/CCAC_Animal_Use_Statistics_2011.pdf, acceso julio 2015.
3. Comisión Europea. Séptimo Informe sobre las estadísticas relativas al número de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en los Estados miembros de la Unión Europea (2013). Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:52013DC0859&from=EN>, acceso julio 2015.
4. Francis Crick Memorial Conference on Consciousness in Human and non-Human Animals. Cambridge Declaration on Consciousness. (2012). Disponible en <http://fcmconference.org/img/CambridgeDeclarationOnConsciousness.pdf>, acceso julio 2015.
5. Singer P. Animal Liberation. New York: New York Review/Random House; 1975.
6. Regan T. The case for animal rights. Disponible en: <http://www.animal-rights-library.com/texts-m/regan03.pdf>, acceso julio 2015.
7. Diercks AK, Schwab A, Rittgen W, Kruspel A, Heuss E, Schenkel J. Environmental influences on the production of pre-implantation embryos. *Theriogenology* 2010; 73:1238-43.
8. Tuli JS, Smith JA, Morton DB. Stress measurements in mice alter transportation. *Lab Anim* 1995; 29:132-8.
9. Hoorn EJ, McCormick JA, Ellison DH. High tail-cuff blood pressure in mice 1 week after shipping: the need for longer acclimation. *Am J Hypertens* 2011; 24:534-6.



ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

TRATAMIENTO PROLONGADO CON TERIPARATIDA EN EL HIPOPARATIROIDISMO GRAVE DE DIFÍCIL MANEJO

Ariela Verónica Kitaigrodsky,^{1*} Maria Diehl,¹ Ana Maria Galich,¹ Soledad Lovazzano,¹ Liliana Santangelo,¹ Diego Giunta,² Luisa Plantalech.¹

1. Sección Osteopatías Metabólicas, Servicio de Endocrinología, Hospital Italiano de Buenos Aires.

2. Sección Investigación Clínica, Servicio de Clínica Médica, Hospital Italiano de Buenos Aires.

Resumen

El tratamiento convencional del hipoparatiroidismo resulta insuficiente en algunos casos graves. La terapéutica con PTH1-34 es una opción para considerar. Objetivos: describir la respuesta bioquímica y densitométrica en pacientes con hipoparatiroidismo tratados con PTH1-34. Materiales y métodos: se revisaron historias clínicas de pacientes con hipoparatiroidismo bajo tratamiento convencional (calcio, calcitriol y tiazidas) o con PTH1-34. Se compararon calcemia, calciuria, fosfatemia, requerimiento de calcio y calcitriol, basal y al año de tratamiento. Se analizó la posterior evolución bajo PTH1-34 de estos parámetros, de los marcadores de remodelado y la densitometría ósea. Resultados: ocho mujeres, de 132 pacientes con hipoparatiroidismo, recibieron tratamiento con PTH1-34 (20-40 µg/día), durante 9 meses a 7 años. Presentaban hipoparatiroidismo grave con internaciones frecuentes, tenían menor calcemia ($p=0,01$), mayor fosfatemia ($p=0,03$), calciuria ($p=0,02$) y consumo de calcio y calcitriol ($p<0,001$) que los tratados en forma convencional. Al año de tratamiento con PTH1-34, aumentó la calcemia ($p=0,018$), disminuyeron los requerimientos de calcio (5,00 a 1,75 g/día, $p=0,018$) y calcitriol (0,69 a 0,20 µg/día, $p=0,002$), asemejándose a aquellos que recibieron tra-

tamiento convencional. Los marcadores de resorción se incrementaron al inicio con posterior descenso y normalización. Los cambios densitométricos fueron variables de acuerdo con la edad y el estatus óseo pretratamiento. No se observaron complicaciones graves. Conclusiones: el tratamiento con PTH1-34 permite normalizar la calcemia con menor requerimiento sustitutivo. Es importante el seguimiento con densitometría ósea sobre todo en mujeres en edad perimenopáusica o posmenopáusica. La sustitución de la hormona deficitaria es una opción para considerar en el hipoparatiroidismo de difícil manejo.

Palabras clave: hipoparatiroidismo, hipocalcemia, teriparatida, PTH1-34.

LONG TERM TREATMENT WITH TERIPARATIDE IN SEVERE CASES OF HYPOPARATHYROIDISM

Summary

Usual treatment may be insufficient in severe cases of hypoparathyroidism. Teriparatide (PTH1-34) is a therapeutical option for these patients. Objective: describe the biochemical response and bone densitometry in patients with hypoparathyroidism treated with PTH1-34.

* Correo electrónico: arielakita@gmail.com

Materials and methods: clinical records of patients with hypoparathyroidism treated conventionally (calcium, calcitriol and thiazides) or with PTH1-34 were reviewed. Calcemia, phosphatemia, calciuria, calcium and calcitriol requirements, basal and after one year of treatment were compared. The evolution of laboratory parameters, bone densitometry and bone turn-over markers was analyzed in the PTH treated group during follow up. Results: eight women of 132 patients with hypoparathyroidism were treated with PTH1-34, (20-40 µg/day) from 9 months to 7 years. Patients with PTH replacement had previously frequent hospitalizations, lower calcemia ($p=0.01$), higher urinary calcium ($p=0.03$) and phosphatemia ($p=0.02$) and received higher calcium and calcitriol doses ($p<0.001$) than the conventional group. After a year of treatment with PTH1-34 serum calcium levels improved ($p=0.018$) and calcium and calcitriol requirement decreased (5.00 to 1.75 g/day, $p=0.018$ and 0.69 to 0.20 µg/day, $p=0.002$), and became similar to the conventionally treated group. Bone resorption markers increased initially with subsequent normalization. Densitometric changes were variable according to age and pre-treatment bone status. No serious complications were observed. Conclusion: PTH1-34 treatment can normalize serum calcium with lower calcium and calcitriol requirement in patients with severe hypoparathyroidism. Periodic bone densitometry testing is necessary, mainly in peri or post menopausal women. PTH replacement is an option to consider when hypocalcemia cannot be controlled with conventional therapy.

Key words: hypoparathyroidism, hypocalcemia, teriparatide, PTH1-34.

Introducción

El tratamiento convencional del hipoparatiroidismo con calcio, vitamina D y tiazidas resulta suficiente en la mayoría de los pacientes. Sin embargo, algunos de ellos, con hipoparatiroidismo grave, requieren altas dosis de

suplementos de calcio, sin lograr la normalización de sus parámetros de laboratorio. En estos casos, las internaciones son frecuentes por hipocalcemia sintomática de difícil manejo, y se ve alterada la calidad de vida.¹

Hasta hace poco tiempo, el hipoparatiroidismo era la única endocrinopatía para la cual no se disponía de una terapia de reemplazo hormonal. Los trabajos de Winer iniciaron el cambio, al utilizar la PTH1-34 para el tratamiento de esta enfermedad. La autora describe en sus trabajos normalización de la calcemia y descenso de la calciuria, sin observar diferencias de efectos adversos al comparar con la propuesta sustitutiva convencional.^{2,3,4}

Teniendo en cuenta estas investigaciones, hace unos años se inició en nuestro hospital el tratamiento con PTH1-34 (fármaco disponible en nuestro medio), en aquellos pacientes que presentaban hipoparatiroidismo grave de difícil manejo, con internaciones frecuentes y mala calidad de vida. En este trabajo describimos la experiencia. Los objetivos de este estudio son: establecer las características de los pacientes con hipoparatiroidismo grave tratados con PTH1-34, evaluar sus parámetros de laboratorio del metabolismo mineral, de remodelado óseo, los cambios en la densitometría ósea y sus requerimientos de calcio y calcitriol luego de la implementación de esta terapéutica.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo de cohorte de pacientes con hipoparatiroidismo permanente, en el período comprendido entre 2003 y 2013. Se estableció la búsqueda mediante “vocablos controlados” en la historia clínica electrónica del sistema informatizado hospitalario. Se detectaron 198 casos potenciales de hipoparatiroidismo atendidos en el Hospital Italiano de Buenos Aires. Todos los datos fueron evaluados a partir de la revisión manual de la historia clínica electrónica por un especialista en osteopatías metabólicas.



Se seleccionaron los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de hipoparatiroidismo permanente (n=132). De los 132 pacientes, 119 (89%) eran referidos como hipoparatiroidismo posquirúrgico y los 13 restantes presentaban otras causas: congénito, autoinmune o idiopático. La edad media de toda la población se estimó en $55,7 \pm 16,9$ años.

El 93,9% (n: 124) de los pacientes con

hipoparatiroidismo recibían tratamiento convencional (calcio, calcitriol, tiazidas) y el 6,1% fueron tratadas con PTH1-34.

En la Tabla 1 se consignan las características de esta población: internaciones reiteradas por hipocalcemia (> 2 veces), presencia de litiasis renal, edad al diagnóstico y al inicio del tratamiento con PTH1-34, la duración, dosis diarias y tipo de esquema recibido.

Tabla 1. Características de la población que recibió tratamiento con PTH1-34.

Paciente	Internaciones reiteradas	Litiasis renal	Edad al diagnóstico (años)	Edad inicio tratamiento (años)	Tiempo de tratamiento	Dosis diaria de PTH 1-34 (µg/día) y distribución
1	Si	(+)	29	46	7 años	20-40 (días alternos)
2	Si	(-)	47	50	3 años	20 (10 cada 12 hs)
3	No	(-)	32	35	4 años	40 (20 cada 12 hs)
4	Si	(-)	41	45	9 meses	20 (1 vez por día)
5	Si	(-)	51	57	4 años	20 (1 vez por día)
6	No	(-)	71	75	4 años	40 (20 cada 12 hs)
7	Si	(+)	32	36	7 años	20-40 (días alternos)
8	Si	(-)	18	25	7 años	40 (10 cada 6 hs)

Se conformaron dos grupos:

- **Grupo convencional (GCONV):** de los 124 pacientes tratados con calcio, calcitriol y tiazidas, se seleccionó una muestra representativa en forma aleatorizada, es decir, 5 pacientes por cada paciente que recibió PTH1-34 (n: 40).

Se evaluaron calcemia (VR: 8,5-10,5 mg/dl), fosfatemia (VR: 2,7-4,5 mg/dl), calciuria (VR: <250 mg/día), índice calcio/creatinina (VR: <0,25) mediante sistema autoanalizador Au 5800 Beckman Coulter® y requerimientos diarios de calcio (g de calcio elemental/día) y calcitriol (µg/día).

- **Grupo PTH (GPTH):** se incluyeron las pacientes que recibieron tratamiento con PTH1-34, durante un período mínimo de 6 meses (n: 8). Se midieron en este grupo los

mismos parámetros que en el grupo anterior, a tiempo basal (GPTH0) y al año de tratamiento (GPTH1). Se evaluó también la evolución de los parámetros bioquímicos antedichos, de los marcadores de remodelado óseo y de la densitometría ósea.

Los marcadores de remodelado medidos en el período de tratamiento fueron: fosfatasa alcalina (FAL) por método Au 5800 Beckman Coulter (VR 31-100 UI/ml), N-telopéptidos por inmunoensayo de quimioluminiscencia competitiva VITROS® de JJ (VR 10-55 nMB-CE/mMcr), fosfatasa ácida no prostática tartrato-resistente (TRAP), medido por LX20 de Beckman Coulter® (VR 1,8-4,4 U/L). La densitometría ósea (DMO) se determinó mediante DXA en raquis lumbar (CL) y cuello femoral (CF) con un equipo Lunar Prodigy®.

Se realizaron las siguientes comparaciones entre grupos:

GCONV con GPTH0 para determinar diferencias entre poblaciones a tiempo basal.

GPTH0 con GPTH1 para evaluar la respuesta al tratamiento mediante estudios bioquímicos y consumo de calcio y calcitriol.

GCONV con GPTH1 para establecer el impacto de la medicación con PTH1-34 en relación con el tratamiento convencional en los parámetros arriba señalados.

Se informaron los resultados como mediana e intervalo intercuartil (Iq). Se realizó test de T para muestras pareadas.

Con el objetivo de evaluar las diferencias entre poblaciones disímiles, se construyó un *propensity score* mediante un modelo de regresión logística estimando la probabilidad para cada paciente de recibir PTH1-34 otorgada por la calcemia basal.

Se realizó una regresión lineal para establecer la magnitud de cambio en las distintas variables (calcemia, fosfatemia, calciuria, índice calcio/creatinina y requerimientos diarios de calcio y calcitriol) en el grupo que recibió PTH1-34, ajustando por el *propensity score* generado anteriormente y el valor de calcemia al año. Se reportaron los estimadores del modelo ajustado (coeficientes beta ajustado) y los p valor de cada modelo; se consideró significativa $p < 0,05$.

Se utilizó el software SPSS versión 19.

Resultados

En el GPTH, el hipoparatiroidismo fue de causa posquirúrgica en siete casos y en uno, idiopática. El rango de edad fue de 25 a 75 años. Las pacientes recibieron tratamiento convencional por un período de 3 a 17 años antes de iniciar el tratamiento con PTH 1-34. La duración del tratamiento con PTH1-34 fue variable (9 meses a 7 años hasta el momento de este estudio). Siete de las 8 pacientes presentaron buena tolerancia y refirieron mejoría de la calidad de vida (datos no medidos), expresada por la menor toma de comprimidos diarios y la disminución de internaciones por hipocalcemia. Una paciente suspendió el tratamiento a los 9 meses por intolerancia de la medicación (referida por náuseas y síntomas de hipotensión ortostática luego de la aplicación) y otra falleció por causa no relacionada, a los 4 años de iniciado el tratamiento. La dosis y frecuencia de aplicación de PTH1-34, como se describe en la Tabla 1, fue variable: 20 µg/día (n=3), 40 µg/día divididos en 2 a 4 aplicaciones por día (n=3) y 20-40 µg en días alternos (n=2). Al comparar los grupos a tiempo basal, como se observa en la Tabla 2, el GPTH0 presentaba hipoparatiroidismo de mayor gravedad indicado por mayor requerimiento diario de calcio y calcitriol, menor calcemia, mayor fosfatemia y mayor calciuria (datos estadísticamente significativos).

Tabla 2. Requerimiento de calcio, calcitriol y parámetros de laboratorio del grupo tratado en forma convencional y del grupo tratado con PTH1-34, previo a su inicio.

	GCONV *	GPTH *	p
Requerimiento de calcio (g/día)	2,00 (2,00)	5,00 (3,00)	<0,001
Requerimiento de calcitriol (µg/día)	0,29 (0,26)	0,69 (0,43)	<0,001
Calcemia (mg/dl)	8,50 (0,80)	7,75 (1,20)	0,01
Fosfatemia (mg/dl)	4,90 (0,90)	5,70 (1,30)	0,03
Calciuria (mg/día)	150 (184)	294 (262)	0,02
Índice calcio/creatinina urinario	0,16 (0,20)	0,27 (0,20)	0,03

GCONV: Grupo convencional - GPTH: Grupo tratado con PTH1-34. * Valores expresados en mediana (intercuartiles).



Las pacientes tratadas con PTH1-34, como se advierte en la tabla 3, presentaron al año un incremento de la calcemia acercándose al límite inferior del rango ($p=0,018$); en relación con la fosfatemia, la calciuria y el

índice Ca/Cr se observó una tendencia a la normalización.

Los requerimientos diarios de calcio y calcitriol disminuyeron en forma estadísticamente significativa al año de tratamiento.

Tabla 3. Requerimiento de calcio, calcitriol y parámetros de laboratorio, del grupo tratado con PTH1-34 basal y al año de tratamiento.

	GPTH0 *	GPTH1 *	p
Requerimiento de calcio (g/día)	5,00 (3,00)	1,75 (2,00)	0,018
Requerimiento de calcitriol ($\mu\text{g/día}$)	0,69 (0,43)	0,20 (0,33)	0,002
Calcemia (mg/dl)	7,75 (1,20)	8,30 (1,00)	0,018
Fosfatemia (mg/dl)	5,70 (1,30)	4,40 (1,30)	0,063
Calciuria (mg/día)	294 (262)	264 (298)	0,499
Índice calcio/creatinina urinario	0,27 (0,20)	0,21 (0,20)	0,236

GPTH0: grupo tratado con PTH1-34, resultado basal. GPTH1: grupo tratado con PTH1-34 al año de tratamiento. * Valores expresados en mediana (intercuartiles).

Se analizó la respuesta al año de tratamiento en el GPTH1 y se lo comparó con el GCONV, como se puede ver en la tabla 4. Los pacientes del GPTH1, de mayor gravedad inicial, mejoraron sus parámetros bioquímicos: calcemia, fosfatemia y calciuria, y alcanzaron similares valores que los pacientes del GCONV. En el grupo tratado con PTH1-34 disminuyó el requerimiento de calcio a va-

lores cercanos a los del grupo convencional ($p=0,98$). Al ajustar por la calcemia, se advierte que el GPTH, de mayor severidad inicial, logra requerir una dosis de calcio diaria significativamente menor que el GCONV (p ajustada sobre la base del *propensity score* $<0,006$), con un descenso calculado de dosis diaria de calcio de 702 mg (β ajustada -0,702 g/día de calcio elemental).

Tabla 4. Requerimiento de calcio, calcitriol y parámetros de laboratorio, del grupo tratado en forma convencional y del que recibió PTH1-34, luego de 1 año de tratamiento.

	GCONV *	GPTH1 *	p	p ajustada	β ajustada**
Requerimiento calcio (g/día)	2,00 (2)	1,75 (2,00)	0,98	0,006	-0,702
Calcitriol ($\mu\text{g/día}$)	0,29 (0,26)	0,29 (0,26)	0,48	0,072	-0,490
Calcemia (mg/dl)	8,50 (0,80)	8,30 (1,00)	0,92	0,49	0,20
Fosfatemia (mg/dl)	4,90 (0,90)	4,40 (1,30)	0,23	0,73	-0,101
Ca/Cr	0,16 (0,20)	0,21 (0,20)	0,11	0,66	-0,124
Calciuria (mg/día)	150 (184)	264 (298)	0,11	0,26	-0,301

GCONV: grupo tratado en forma convencional - GPTH1: Grupo que recibió PTH1-34, luego de 1 año de tratamiento. *Valores expresados en mediana (intercuartiles). ** Beta ajustada por calcemia al año y *propensity score* de recibir PTH1-34.

En el seguimiento longitudinal, los parámetros bioquímicos del GPTH (calcemia, fosfatemia y calciuria) se mantuvieron estables a 2 (n=7), 3 (n=6), 5 (n=3) y 7 años (n=2) de tratamiento.

Se observó en toda la población el incremento de la calcemia, el descenso de la fosfatemia y calciuria y un cociente Ca/Cr con parámetros dentro de rangos deseables (Figura 1).

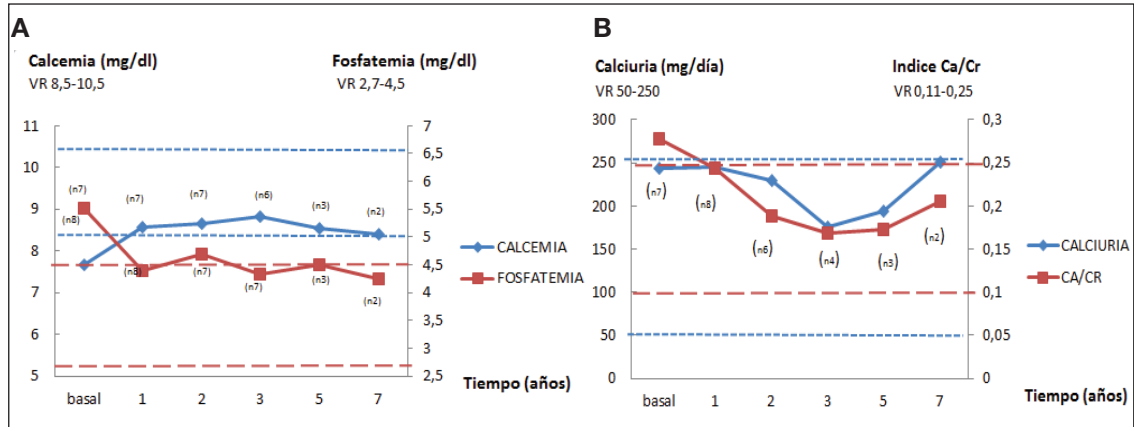


Figura 1. Evolución en el tiempo de calcemia y fosfatemia (A), calciuria e índice calcio/creatinina (B), en el grupo tratado con PTH1-34.

Al considerar los marcadores de remodelado óseo, evaluados según la metodología disponible en el período, se observaron en todos ellos un patrón de incremento, luego descenso y estabilización con las siguientes características:

A) La FAL, de un valor promedio basal de 50,7 (36-82) UI, aumentó el primer año a 95,1 (98-120) UI y a los dos años a 88,8 (42-126) UI, superando el valor normal en 4 pacientes. A los

3 años derivó en rango normal en 5 pacientes, siendo el promedio 71 (45-234) UI, pero en la paciente en peri-menopausia se elevó a 234 UI. A los 5 y 7 años se normalizó este marcador bioquímico en todas las pacientes (Figura 2 A).

B) Los marcadores de resorción (N-telopéptidos y TRAP) se incrementaron en el primero (2,8 veces el valor superior normal) y segundo año (x 1,0) con descenso a partir los 3 y 5 años (Figura 2 B,C).

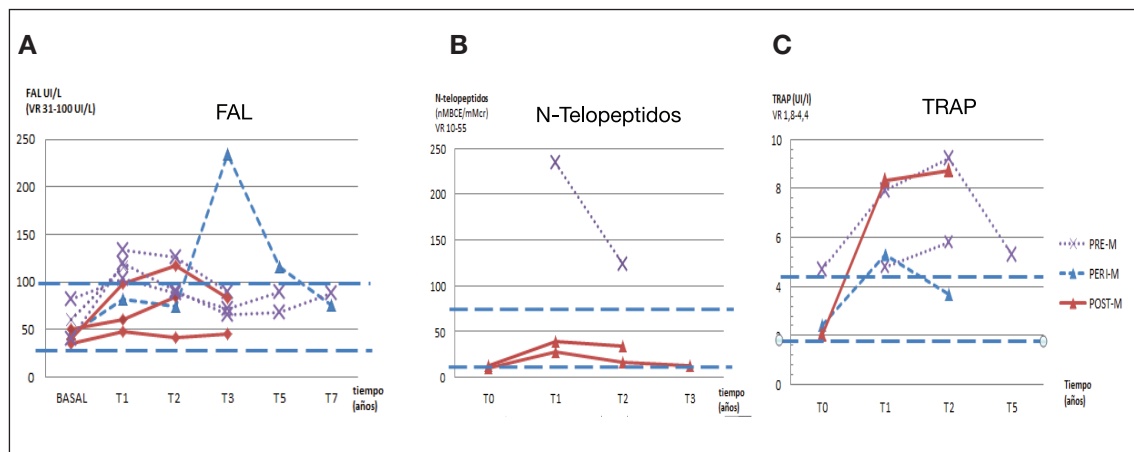


Figura 2. Fosfatasa alcalina (A), N-telopéptidos (B) y fosfatasa ácida tartrato resistente (C) en el grupo tratado con PTH1-34, evaluado en mujeres pre, peri y posmenopausicas. FAL: Fosfatasa alcalina TRAP: fosfatasa ácida tartrato resistente.



La DMO basal era normal en las 3 pacientes premenopáusicas y en la paciente que cursaba el período de perimenopausia; las mujeres posmenopáusicas presentaban osteoporosis y osteopenia. Como se observa en la Figura 3, los cambios fueron variables según las distintas etapas de la vida. En las pacientes en premenopausia, la DMO aumentó, tanto en columna lumbar (CL) (>11-18%) como en cuello femoral (CF) (>1,6-17%), superando en dos casos los valores normales. La paciente en perimenopausia presentó mar-

cado descenso al ser tratada en principio con dosis alternas de 20- 40 $\mu\text{g}/\text{día}$ (CL <31%); entonces se disminuyó la dosis a 20 $\mu\text{g}/\text{día}$ y presentó mejoría (CL >21% y CF >14%).

La paciente posmenopáutica que presentaba osteoporosis mejoró en CL (al año >13%, 2 años >6 %, 3 años >5 %); las otras dos, con osteopenia, se mantuvieron estables. La DMO de CF no mostró importantes variaciones en las mujeres con osteopenia e incrementó 5,9% a los 2 años en la paciente con osteoporosis (Figura 3 A, B).

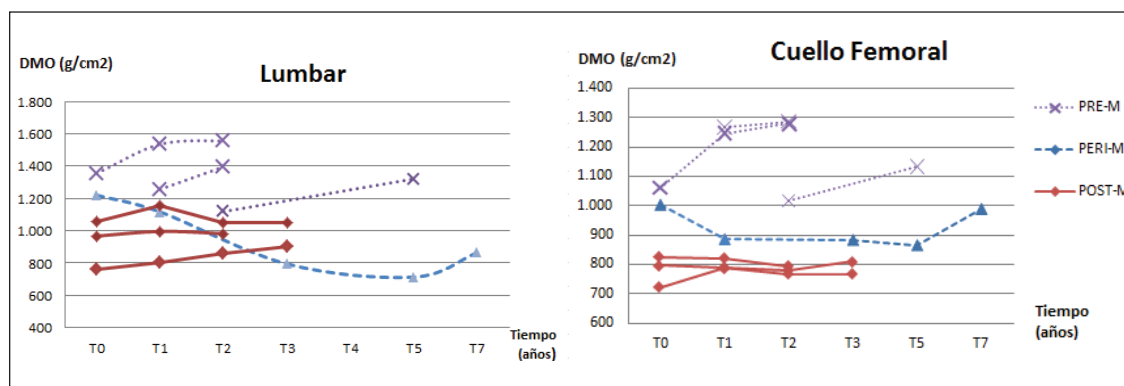


Figura 3. Densidad mineral ósea lumbar y femoral de pacientes en tratamiento con PTH1-34. PRE-M: Premenopausia. PERI-M: Perimenopausia. POST-M: Postmenopausia.

Discusión

El hipoparatiroidismo, cualquiera sea su causa, se trata con reposición de calcio, calcitriol y eventualmente tiazidas, que en la mayoría de los pacientes resulta suficiente para lograr los objetivos del tratamiento de minimizar en lo posible los síntomas de hipocalcemia, mantener la calcemia en el límite inferior del rango de referencia y evitar la hipercalcemia. En la población estudiada, el 94% de los pacientes fue tratado de manera convencional. Sin embargo, un pequeño grupo (6%), a pesar de recibir una considerable cantidad de comprimidos diarios de calcio y calcitriol, cumpliendo adecuadamente con la prescripción médica, presentaba hipocalcemia sintomática con internaciones reiteradas y en algunos casos litiasis renal. Estas situaciones graves, de

infrecuente presentación, constituyen un verdadero desafío terapéutico.

La teriparatida, fármaco con acción anabólica ósea, está indicada en el tratamiento de la osteoporosis severa o con alto riesgo de fracturas, por un lapso máximo de 24 meses. El uso en pacientes con hipoparatiroidismo es de reciente data.⁵ Los primeros estudios se adscriben a Winer, quien utilizó PTH1-34 en una población de pacientes con hipoparatiroidismo de distintas etiologías.² Otros autores publicaron recientemente sus experiencias con el uso de PTH1-84.⁶ Teniendo en cuenta estas experiencias previas, se inicia a partir del año 2006 el tratamiento con PTH1-34 en 8 pacientes de los 132 con hipoparatiroidismo.

En este estudio observamos mejoría de la calcemia con el uso de PTH1-34, coincidiendo con los estudios pioneros de Winer y cols.⁷

En nuestra experiencia, la dosis de calcio, calcitriol y teriparatida se adecuaron a la gravedad de cada caso con el fin de mantener la calcemia. La utilización del dispositivo, que se encuentra disponible para tratamiento de la osteoporosis con dosis prefijada de 20 µg, fue una limitante para individualizar y dividir la dosis de teriparatida, sin embargo se pudo llevar a una dosis mínima de 10 µg al fraccionarla en jeringas de menor volumen como las utilizadas para insulina. Las pacientes recibieron entre 1 y 4 aplicaciones por día y la dosis varió entre 20, 20-40 µg/días alternos y 40 µg/día (en 20 µg cada 12 horas o 10 µg cada 6 horas). Winer describió que el uso de 2 dosis diarias de PTH1-34 lograba mayor estabilidad de la calcemia con menor dosis diaria de medicación. En una reciente investigación propuso la administración de teriparatida mediante una bomba de infusión pulsátil, postulando que sería la forma más fisiológica, con la que obtuvo descenso del 50% de la calciuria, con disminución del 65% de la dosis de PTH (de 37 ± 14 µg/día con dos dosis diarias a 13 ± 4 µg/día con bomba de infusión).^{8,9}

El estudio de Rubin con PTH1-84, de vida media más prolongada, muestra que con este tipo de hormona paratiroidea se obtiene una buena respuesta de la calcemia con una aplicación cada 24 o 48 horas.⁶

Las pacientes de este estudio no solo mejoraron la calcemia, también disminuyeron en forma significativa las cantidades de calcio y calcitriol que, con el uso asociado a teriparatida, fueron similares a las del grupo control. Cuando se ajustó la dosis diaria de ambos fármacos por la calcemia se advirtió que en el grupo GPTH requirieron menores aportes de calcio y calcitriol, lo que implica una mejoría con el tratamiento en esta población. El hipoparatiroidismo, de mayor gravedad, pasó a ser un cuadro más leve, similar al de aquellos pacientes con buena respuesta al tratamiento convencional. La reducción de las dosis diarias de calcio y calcitriol fue descripta en los trabajos con PTH1-84, en los cuales se com-

probó disminución significativa del 75 y 50% del aporte de calcio y 30 y 73% de calcitriol según las experiencias de Rubin y cols. y Sijaker.^{10,11} En un caso reportado con PTH1-34, los suplementos de calcio, calcitriol e hidrocortizida fueron suspendidos a los 2 meses de inicio del tratamiento con teriparatida.¹²

Si bien no se midió en forma objetiva, las pacientes que continuaron en tratamiento refirieron mejoría de su calidad de vida en función de la menor toma de comprimidos diarios, y la disminución de las internaciones por hipocalcemia al recibir teriparatida.

El tratamiento con PTH recombinante en pacientes con osteoporosis moviliza los marcadores de remodelado óseo de una manera bifásica: elevación en los primeros meses o años y luego descenso y normalización.⁵ En esta población con hipoparatiroidismo se observaron similares variaciones. En el estudio de Winer, los marcadores de resorción aumentaron en los dos primeros años y luego se normalizaron; otra investigación evidenció aumento de la fosfatasa alcalina, N-telopéptidos, piridolina y deoxipiridolina en los primeros 12 meses que luego descendieron, con excepción de los niveles de osteocalcina, durante la terapia con PTH1-34.^{7,13} Los trabajos a 4 años con PTH1-84 arrojaron resultados coincidentes: aumento de los marcadores de remodelado con pico a los 6-12 meses, descenso subsiguiente y normalización de los valores a los 30 meses.¹⁴ En nuestra experiencia, la metodología de los marcadores bioquímicos de remodelado óseo fue variable debido a los cambios implementados por el laboratorio en el período del estudio. Sin embargo, nuestras observaciones coincidieron con los trabajos prospectivos: elevación de marcadores en los primeros años, tanto de formación (fosfatasa alcalina) como de resorción ósea y estabilización posterior.

La evaluación de la respuesta ósea mediante densitometría fue dispar en nuestra población; las pacientes tenían un rango de edad variable y se encontraban en diferentes



etapas de la vida (premenopausia, perimenopausia y posmenopausia). Las mujeres en premenopausia, con densitometría ósea normal, la incrementaron luego del tratamiento con PTH1-34; esto podría deberse a la acción sinérgica de PTH con los estrógenos endógenos. Lo contrario se observó en una mujer que ingresó en el período de la perimenopausia y se comprobó un alto remodelado óseo y acentuada disminución de la DMO en CL y CF, situación que se revirtió al disminuir la dosis de teriparatida. Este caso ilustra la necesidad de seguimiento de esta población con DMO para ajustar el esquema terapéutico. Las pacientes en menopausia presentaban en la evaluación inicial distintos grados de pérdida de masa ósea. Se observó incremento de la DMO en una paciente con osteoporosis y dos mujeres con osteopenia conservaron valores estables de densidad mineral durante el tiempo de observación. En el estudio de Winer (18-70 años) no se encontraron diferencias significativas en la densidad mineral ósea (medida en CL, CF, radio y cuerpo entero) entre el grupo tratado con PTH1-34 y el grupo convencional durante los 3 años del estudio. Sin embargo, los tratados en forma convencional presentaron aumento gradual en el cuerpo entero mientras que el grupo PTH1-34 presentó una disminución en el tercio distal del radio. En CF aumentó en ambos grupos, siendo significativo en el grupo tratado con PTH.⁷ Rubin, en el estudio a 2 años con PTH1-84 en días alternos, en una población heterogénea en edad (rango: 25-68 años) con DMO normal o supranormal, describe un aumento de densidad ósea en columna lumbar y no advierte cambios en la DMO del cuello femoral.⁶ Tal vez las respuestas sean variables teniendo en cuenta la edad de los individuos, la etapa de la vida en la cual se desarrolla el hipoparatiroidismo y el antecedente de osteoporosis, por lo cual concluimos que el seguimiento mediante DMO es recomendable, sobre todo en las pacientes que se encuentran en el período de la perimenopausia o de la menopausia, y en la población con

valores de DMO descendidos al inicio de este tratamiento.

Las variaciones observadas en la densitometría ósea se correlacionan con los estudios de microarquitectura ósea en pacientes con hipoparatiroidismo tratado con PTH1-34 o PTH1-84. Se describen en la histomorfometría aumento del volumen de hueso trabecular e incremento del número de trabéculas con disminución de la separación intertrabecular. El grosor cortical se mantiene, pero se incrementa la porosidad. En forma integrada, el tratamiento con PTH incrementa el hueso trabecular y la “trabecularización” del hueso cortical, transformando el bajo/normal recambio óseo en un estado de alto recambio, coincidiendo con el inicial aumento de los marcadores bioquímicos referidos.^{13,15}

Los efectos adversos fueron escasos en la mayoría de las pacientes; sin embargo, una de ellas debió suspenderlo por intolerancia: presentaba hipotensión, dolores lumbares, náuseas y vómitos. Las otras pacientes no presentaron complicaciones. En el estudio a 3 años de tratamiento con PTH1-34, Winer no observó diferencia significativa en la incidencia de efectos adversos entre ambos grupos, incluida la hipercalcemia. Con PTH1-84, Rubin describe que la hipercalcemia fue poco frecuente (4% de las mediciones) y se corrigió al ajustar las dosis de calcio y calcitriol.^{6,7}

El hipoparatiroidismo permanente es una enfermedad crónica, los pacientes que necesitan teriparatida lo harán por tiempo prolongado o incluso de por vida y poco se conoce sobre efectos adversos a muy largo plazo. En este estudio, la mayoría de las pacientes continúan con el tratamiento, algunas de ellas por 7 años sin presentar complicaciones de importancia. El uso de teriparatida para osteoporosis se ha limitado a 18-24 meses debido a la aparición de osteosarcoma en los estudios de toxicidad farmacológica en ratas. Como analizaron distintos autores, esto no es trasladable en forma lineal a seres humanos por varios motivos: las dosis utilizadas de PTH en

experimentación fue 200 veces mayor que la dosis terapéutica recomendada en seres humanos, durante un tiempo equivalente al 90% de su expectativa de vida en un hueso con respuesta farmacológica exagerada, debido a diferencias en la fisiología ósea.¹⁶⁻¹⁸

En más de 10 años de experiencia en el tratamiento de la osteoporosis en seres humanos no ha habido aumento en la incidencia de osteosarcoma.¹⁹ Por otro lado, los pacientes con osteoporosis tienen niveles normales de PTH, a diferencia del hipoparatiroidismo, donde se está reemplazando la hormona endógena insuficiente. Avalando esta hipótesis se reporta en la literatura el caso de una mujer con hipoparatiroidismo por mutación activante del receptor de calcio, que recibió PTH1-34 durante 14 años, desde los 6 años; aunque no pudo evitarse el desarrollo de nefrocalcinosis, mantuvo un crecimiento normal y no presentó fracturas ni aparición de osteosarcoma.²⁰

En el último año se han producido avances significativos en este tema y, recientemente, en enero de 2015, la *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó el uso de PTH (Natpara®, PTH1-84) para aquellos pacientes con hipoparatiroidismo grave, advirtiendo que –por el riesgo potencial de osteosarcoma, descrito en animales y desconocido en seres

humanos– solo debe ser recomendado para aquellos pacientes cuya calcemia no pueda ser controlada con el tratamiento convencional y en quienes el beneficio supere el riesgo potencial.²¹

El tratamiento con PTH permite lograr valores adecuados de calcemia con reducción significativa de los requerimientos de calcio y calcitriol, mejoría de la calidad de vida y buena tolerancia. Teniendo en cuenta estas consideraciones, se plantea el uso de teriparatida como terapia de reemplazo en el hipoparatiroidismo grave cuando el tratamiento convencional sea insuficiente. Se considera importante evaluar la densidad mineral considerando las variaciones de la biología ósea según la edad de los pacientes.

Las reacciones adversas en general son escasas. La teriparatida (disponible en nuestro medio) y la PTH1-84 son opciones de terapia sustitutiva en pacientes con hipoparatiroidismo de difícil manejo o con intolerancia al tratamiento convencional.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: julio 2015.
Aceptado: agosto 2015).

Referencias

1. Cusano NE, Rubin MR, McMahon DJ, et al. The effect of PTH(1–84) on quality of life in hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:2356–61.
2. Winer KK, Yanovski JA, Cutler GB Jr. Synthetic human parathyroid hormone 1–34 vs. calcitriol and calcium in the treatment of hypoparathyroidism. *JAMA* 1996; 276:631–6.
3. Winer KK, Sinaii N, Peterson D, Sainz B Jr, Cutler GB Jr. Effects of once versus twice-daily parathyroid hormone 1–34 therapy in children with hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:3389–95.
4. Winer KK, Sinaii N, Reynolds J, Peterson D, Dowdy K, Cutler GB. Long term treatment of 12 children with chronic hypoparathyroidism: A randomized trial comparing synthetic human parathyroid hormone 1–34 versus calcitriol and calcium. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:2680–8.
5. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Ef-



- fect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344:1434–41.
6. Rubin MR, Sliney J. Jr, McMahon D J, Silverberg SJ, Bilezikian JP. Therapy of hypoparathyroidism with intact parathyroid hormone. *Osteoporos Int* 2010; 21: 1927–34.
 7. Winer KK, Ko CW, Reynolds JC, et al. Long-term treatment of hypoparathyroidism: a randomized controlled study comparing parathyroid hormone-(1–34) versus calcitriol and calcium. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4214–20.
 8. Winer KK, Yanovski JA, Sarani B, Cutler GB Jr. A randomized, crossover trial of once-daily versus twice-daily parathyroid hormone 1–34 in treatment of hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3480–6.
 9. Winer KK, Zhang B, Shrader JA, et al. Synthetic human parathyroid hormone 1–34 replacement therapy: A randomized crossover trial comparing pump versus injections in the treatment of chronic hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:391–9.
 10. Sikjaer T, Rejnmark L, Rolighed L. The effect of adding PTH (1–84) to conventional treatment of hypoparathyroidism: a randomized, placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2358–70.
 11. Cusano N, Rubin MR, Sliney J. Jr, Bilezikian JP. Mini-review: new therapeutic options in hypoparathyroidism. *Endocrine* 2012; 41:410–4.
 12. Angelopoulos NG. Sporadic hypoparathyroidism treated with teriparatide: a case report and literature review. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007; 115:50–4.
 13. Gafni RI, Brahim JS, Andreopoulou P, et al. Daily parathyroid hormone 1–34 replacement therapy for hypoparathyroidism induces marked changes in bone turnover and structure. *J Bone Miner Res* 2012; 27:1811–20.
 14. Cusano NE, Rubin MR, McMahon DJ, et al. Therapy of hypoparathyroidism with PTH (1–84): a prospective four-year investigation of efficacy and safety. *J Clin Endocrinol Metabolism* 2013; 98:137–44.
 15. Rubin MR, Dempster DW, Sliney Jr. J, et al. PTH(1–84) Administration Reverses Abnormal Bone-Remodeling Dynamics and Structure in Hypoparathyroidism. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2727–36.
 16. Vahle JL, Sato M, Long GG, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1–34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicol Pathol* 2002; 30:312–21.
 17. Jolette J, Wilker CE, Smith SY, et al. Defining a noncarcinogenic dose of recombinant human parathyroid hormone 1–84 in a 2-year study in fischer 344 rats. *Toxicol Pathol* 2006; 34:929–40.
 18. Vahle JL, Sato M, Long GG, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1–34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicol Pathol* 2012; 30:312–21.
 19. Cipriani C, Irani D, Bilezikian JP. Safety of osteoanabolic therapy: a decade of experience. *J Bone Miner Res* 2012; 27:2419–28.
 20. Theman TA, Collins MT, Dempster DW, et al. PTH (1–34) replacement therapy in a child with hypoparathyroidism caused by a sporadic calcium receptor mutation. *J Bone Miner Res* 2009; 24:964–73.
 21. Food and Drug Administration (FDA). FDA approves Natpara to control low blood calcium levels in patients with hypoparathyroidism (2015, January 23). <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm431358.htm> Acceso julio 2015.

ARTICULOS ORIGINALES / *Originals*

MANDIBULAR CONDYLAR PROCESS AND TIBIA BONE RESPONSES TO A PROTEIN RESTRICTION DIET. A HISTOMORPHOMETRIC STUDY IN GROWING RATS.

Juan A Garat,* Adrián E Martín, Nora Ruiz Holgado, Laura López Miranda, Héctor E Meheris.

Department of Histology. School of Dentistry. National University of Tucumán.

Summary

This study analyze the effect of protein restriction on bone remodeling in mandibular condylar process and its impact on longitudinal bone growth, and compare this responses to that on the proximal tibia in growing rats. Wistar rats of 21 days were assigned to one of the following groups: control (fed a regular hard diet *ad libitum*) and experimental (fed a hard diet lacking protein *ad libitum*). Animals were euthanized five weeks after. Both bones were obtained and fixed in 10% formalin; the mandibles were hemisected at the symphysis. Remaining soft tissue was removed. Metallic landmarks were placed in the mandibular foramen of each hemimandible. The hemimandibles were radiographed in order to perform cephalometric studies. Tibial and condylar process length was recorded. Sections of the tibial metaphysis and mandibular condyle were obtained and stained with hematoxylin-eosin and toluidine blue. Histomorphometric determinations were performed on histologic sections of tibia and condylar process subchondral bone of both groups: protein restricted and control animals. The length of the tibia and the condylar processes was significantly lower in the experimental group. The histomorphometric analysis showed that the experimental group exhibit a significant de-

crease in bone formation surfaces associated with an increase in bone surfaces covered with lining cells in the tibia, and concomitant with an increase in bone resorption surfaces, in the condylar process. Tibia and condylar process bone volume was significantly lower in the experimental group. In summary, severe protein undernutrition inhibits osteogenesis in the bone remodeling process in the tibia and mandibular condyle.

Key words: protein restriction diet, bone growth, histomorphometry, endochondral ossification.

RESPUESTAS DEL PROCESO CONDYLAR MANDIBULAR Y DE LA TIBIA A LA RESTRICCIÓN PROTEICA. ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO EN RATAS EN CRECIMIENTO.

Resumen

Este estudio analiza el efecto de la desnutrición proteica en la remodelación ósea y en el crecimiento longitudinal del cóndilo mandibular, y comparamos esta respuesta con la observada en la metafisis proximal de la tibia de ratas en crecimiento. Ratas Wistar de 21 días de edad fueron distribuidas en dos grupos denominados control (alimentados con

* Dirección postal: Av. Benjamín Aráoz 800 (4000), San Miguel de Tucumán. Tucumán. Argentina.
Correo electrónico: juan.garat@odontologia.unt.edu.ar



dieta dura regular *ad libitum*), y experimental (alimentados con dieta dura restringida en proteínas *ad libitum*). Los animales fueron sacrificados a las cinco semanas del inicio del experimento. Ambos huesos fueron disecados, fijados en formol al 10%, los tejidos blandos fueron eliminados y las mandíbulas fueron divididas en la línea media. Marcas metálicas fueron colocadas en el agujero mandibular y las hemimandíbulas fueron radiografiadas para realizar estudios cefalométricos. Se registraron la longitud del proceso condilar y de las tibias. Posteriormente se realizaron cortes longitudinales del proceso condilar y de la metáfisis de la tibia y se colorearon con hematoxilina-eosina y azul de toluidina. Los cortes fueron analizados al microscopio óptico y sometidos a análisis histomorfométrico. La longitud de las tibias y del proceso condilar fueron significativamente menores en el grupo experimental. El análisis histomorfométrico mostró que el grupo experimental presenta una reducción significativa de las superficies de formación ósea asociadas a un incremento de las superficies cubiertas por osteoblastos inactivos en las tibias y de las superficies de reabsorción ósea en el proceso condilar. El volumen óseo resultó significativamente menor en ambos huesos en el grupo experimental. En síntesis, la restricción proteica inhibe la osteogénesis en la tibia y el cóndilo mandibular.

Palabras claves: restricción proteica, crecimiento óseo, histomorfometría, osificación endocondral

Introduction

Protein undernutrition in third world countries is associated to weaning in an extremely poor environment constituting a serious public health problem. It occurs rapidly as a result of protein deficient diets based almost solely on carbohydrates, negatively influences the ponderal curve, and therefore the growth curve of the child.^{1,2}

It is well documented that bone formation during growth is related to several factors such as heredity, functional and environmental factors.^{3,4} Environmental factors include nutritional deficiencies, which may appear during growth and affect bone development causing marked variations in bone shape and size.^{5,6}

Dietary proteins are essential to the biosynthesis of organic matrix of bone tissue and to the different factors involved in endochondral ossification. There is evidence that longitudinal bone growth is regulated by systemic factors, such as growth (GH), thyroid, sexual, and calcitropic hormones (PTH and vitamin D),⁶ and others such leptin, which is secreted by adipocytes.⁷ During fetal and postnatal growth, there is a close relation between the overall nutritional status and longitudinal bone growth. Protein deprivation decreases GH production and the quantity of GH receptors in the liver, as well as liver production and plasma concentration of IGF-1 in growing rats, since IGF-1 production is associated with amino acid bioavailability,^{8,9} thus resulting in impaired longitudinal bone growth. In this regard, there are a number of studies on the effects of undernourishment on development of long bones and mandibular condylar process, focused primarily on the epiphyseal growth plate.

It is well documented that protein deprivation affects the expression of the insulin like growth factor receptor, total height, as well as the number of chondrocytes per column in the proliferative and hypertrophic zones of the growth cartilage and the size of hypertrophic chondrocytes.^{5,10-12}

In addition to causing morphological alterations in the epiphyseal cartilage in the rat, protein deprivation after weaning leads to low body weight,^{5,10,11} lack of mandibular and craneofacial development,^{13,14} and decreased long bone length.¹⁴ This suggests that protein malnutrition causes alterations not only in the epiphyseal growth plate but also in subchondral bone remodeling.

Whether mandibular condylar process and axial or peripheral skeleton respond similarly to systemic bone loss remains a subject of controversy. There are reports in the literature of the effects of protein undernutrition on condylar fractures¹⁵ and on the expression of insulin like growth factor receptor in the condylar cartilage.¹²

In the other hand it is well documented that there is an association between protein deprivation and osteoporosis, systemic bone mineral density (BMD) and alveolar bone BMD, this association seems to be inferior in alveolar bone, compared with that observed in other skeletal sites.¹

In this context, it is necessary to pointed out that mandibular condylar process like alveolar bone are subjected to intermittent, abrupt and heavy forces during mastication.

However, to the best of our knowledge, there are no studies of the effect of protein undernutrition on the subchondral bone remodeling and on growth of the mandibular condylar process compared with tibia, nor

about its implications in facial development.

Based on the above, the aim of the present experimental work was to assess, using radiographics and histomorphometric methods the influence of chronic protein restriction diet in longitudinal bone growth of mandibular condylar process, and bone activity in the subchondral region of the mandibular condylar process, and compare this response to that on the proximal metaphysis of tibia in growing Wistar rats. In addition, the effects of longitudinal condylar growth is analyzed in relation to facial development

Materials and methods

Twenty Wistar rats were used. The animals were weaned at the age of 21 days and assigned to one of the following groups: control group (n=10) fed ad libitum a biosynthetic regular hard diet, and protein restricted (PR) group (n=10) fed ad libitum a biosynthetic hard diet with lower protein content (7%) (Table 1).

Table 1. Centesimal chemical composition per substance expressed as a percentage (%) of chow fed to control and protein-restricted animals in the present study.

	Controls	Protein-restricted
Proteins (casein)	21	7
Carbohydrates (corn starch)	60	74
Fat (corn oil)	13	13
Vitamin mixture (ICN, Biomedicals, Inc., Ohio, USA)	2.5	2.5
Salt mixture (ICN, Biomedicals, Inc., Ohio, USA)	3.5	3.5

Body weight and food consumed by all the animals were recorded throughout the experiment.

Five weeks after (rats aged 8 weeks) the animals were euthanized, the mandibles and tibia were carefully dissected and fixed in 10% formalin, after which the soft tissue was removed.

The National Institute of Health Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals (NHI publication 85-23 Rev. 1985) were followed. In order to perform the radiographic study, the mandibles were hemisected at the symphysis.

Metallic landmarks consisting in L shaped 0.2 mm steel ligature wires were placed in



the mandibular foramens of one hemimandible of each rat (Figure 1).¹⁶ The marked hemimandibles were positioned laterally on the film alongside a 10 mm

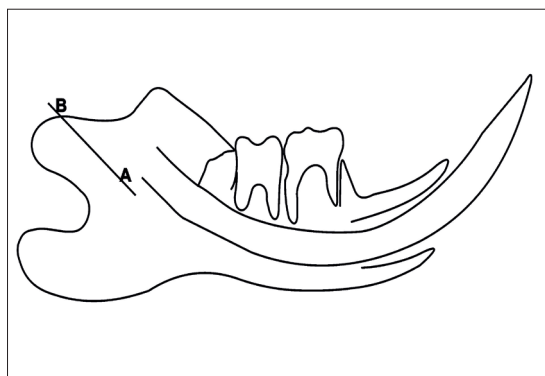


Figure 1. Reference points defined on the lateral roentgenograph of the mandible. A. Position of markers in the mandibular foramen. B. Fovea pterioides.

The marked hemimandibles were positioned laterally on the film alongside a 10 mm long wire and radiographed using standard X-ray equipment at 70 kV and 8 mA, 0.3 second exposure time; the focus to film distance was 40 cm. Reference points were marked on paper tracings of the projected image of the radiographs (x7 magnification) in order to determine the length of the condylar process (Figure 1). Following, the tibia and hemimandibles were decalcified in 10% EDTA, pH=7.2 and processed following routine procedures for embedding in paraffin. Longitudinal sections were obtained at the level of the mandibular condyle and proximal metaphysis of the tibia. Sections were stained with hematoxylin-eosin and toluidine blue for histomorphometric determinations (Figures 2 and 3).

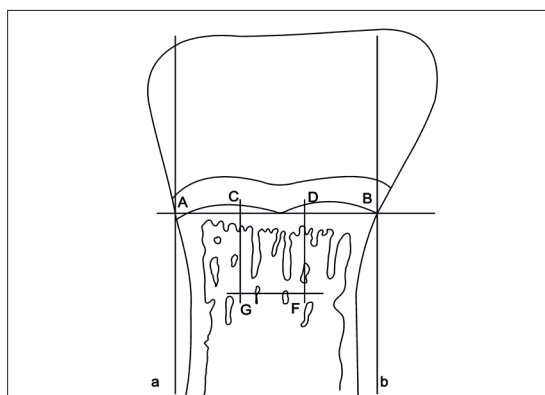


Figure 2. Diagram of a longitudinal tibia section. The studied area was determined as follows: lines **a** and **b** were drawn parallel to the longest axis of the bone, and tangential to the intersection of the growth cartilage with the cortical plates. Line **c** was drawn tangential to the lower of the growth cartilage and perpendicular to lines **a** and **b**; points **A** and **B** were thus determined at the intersection of line **c** with lines **a** and **b** respectively. Segment **AB** was divided into three equal segments: **AC**, **CD**, and **DB**. Segment **CG** was drawn parallel to lines **a** and **b**, through point **C**, and segment **DF** was drawn similarly, through point **D**; both segments were 7 cm long. Segment **GF** was drawn through point **G**, parallel to **AB**. The histomorphometric study was performed on area **CDFG**.

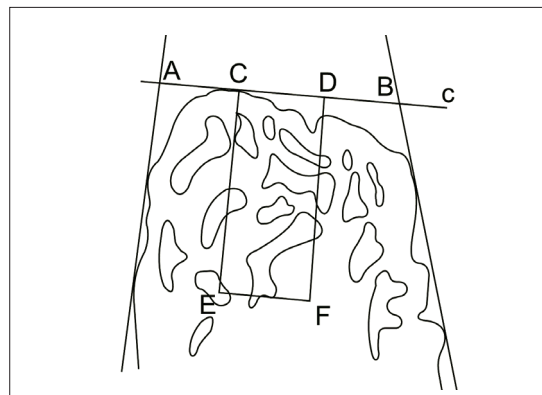


Figure 3. Diagram of a sagittal section of the mandibular condylar process. The studied area was determined as follows: lines **a** and **b** were drawn tangential to the upper anterior and lower posterior borders of the mandibular condylar process. Line **c** was drawn tangential to the upper border and perpendicular to the longitudinal axis of the mandibular condylar process, thus determining points **A** and **B** at its intersection with lines **a** and **b** respectively. Segment **AB** was divided into three equal parts: **AC**, **CD**, and **DB**. Segment **CE** was drawn through point **C**, parallel to line **a**, and segment **DF** was drawn parallel to segment **CE** through point **D**; both segments were 7 cm long. Segment **EF** was drawn through point **E**, parallel to **AB**. The histomorphometric study was performed on the area **CDFE**.

Tibia length was measured with a precision caliper, using the intercondyloid eminence and the medial malleolus as a reference points.

The length of the condylar process was determined on paper tracings of the radiographs of the hemimandibles (Figure 1), according to a method described elsewhere.¹⁶

Histomorphometric determinations

The following parameters were measured in mandibular condyle subchondral bone and tibia of control and protein restricted animals following standard stereological methods.¹⁷

1. Trabecular surface covered by osteoblasts (Obl S/BS%): indicating active bone formation.
2. Trabecular surfaces with resorption areas (with or without osteoclasts) (RS/BS%): indicating bone resorption.
3. Trabecular surface covered by lining cells (Flat Obl S/BS%): indicating bone at rest.
4. Trabecular bone volume to total volume of

the measured area (BV/TV%).

Experimental data were expressed as mean $\pm$ SD.

Single comparisons between groups were assessed by Student's *t* test.

Differences were considered significant if $p < 0.05$.

Results

Body Weight

A slight increase in body weight was observed in both groups throughout the first ten days of the study, after which no further increase was detected in the PR group.

Body weight was significantly lower in PR rats as compared to controls at the end of the experimental period (Figure 4).

There was no significant difference in the amount of food consumed between the control and PR groups (Figure 5).

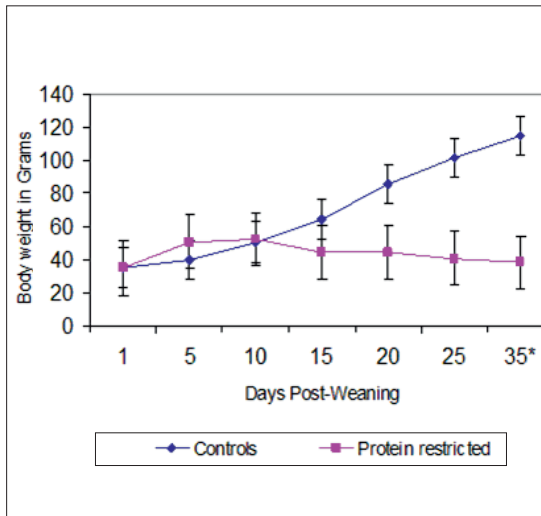


Figure 4. Body weight of control and protein-restricted groups. * $p < 0.05$. Students *t* test.

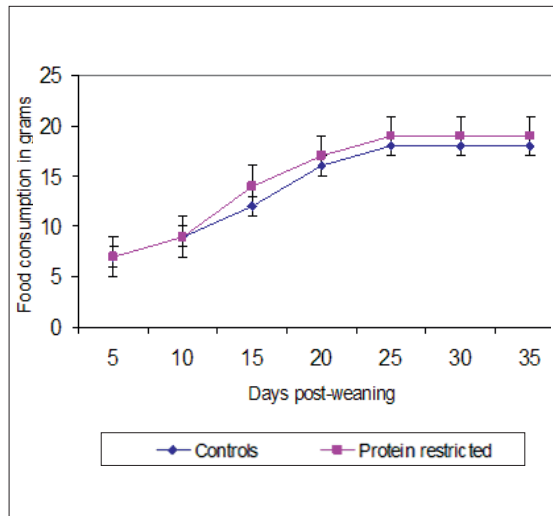


Figure 5. Food consumption in controls and protein restricted groups.



Histomorphologic analysis

The tibia and condylar process histologic sections of control animals exhibited normal bone trabeculae as regards number and thickness. The primary trabeculae had a cartilage core and mostly cuboidal osteoblasts on their surface (Figures 6 and 7).

Sections corresponding to protein restricted group showed alterations in the subchondral bone of the proximal metaphysis of the tibia and of the condylar process, exhibiting fewer, shorter, and thinner bone trabeculae compared to those observed in control sec-

tions. In addition, none of the sections of the protein restricted group presented bone trabeculae with a stained cartilage core, nor osteoid on their surface. The few osteoblasts that were encountered failed to exhibit the typical cuboidal shape, and were irregular.

Angiogenesis was clearly evident in the condylar process; a large number of trabeculae had no lining cells on the surface. The number of osteoclasts was markedly higher, but no differences in osteoclast morphology were observed between the control and protein restricted groups (Figures 8 and 9).

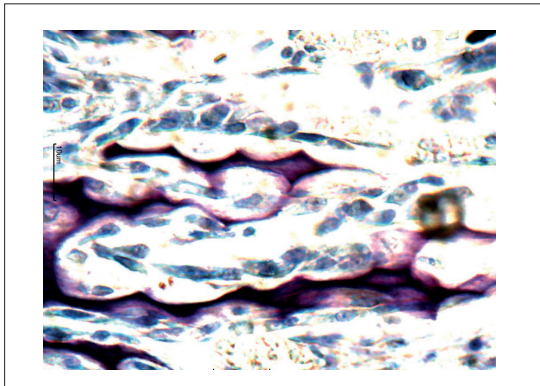


Figure 6. Light micrographs of trabecular tibial bone in control animals, showing cuboidal osteoblasts with rich cytoplasm on the osteoid layer along the bone surface. The trabeculae shows a methachromatic cartilage core. Toluidine blue 40x.

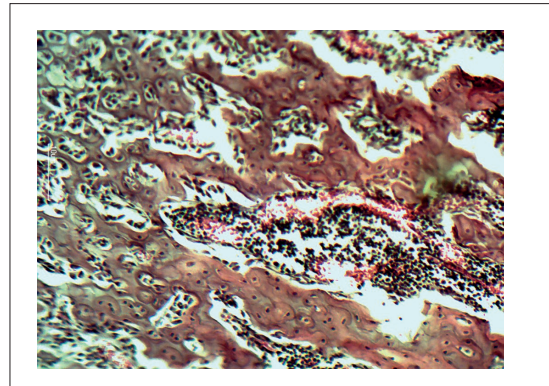


Figure 7. Light micrographs of the subchondral bone in condylar process in control group showing normal bone trabeculae in terms of number and thickness. Cuboidal osteoblasts can be observed along the trabecular bone surface. Hematoxylin and eosin 10x.

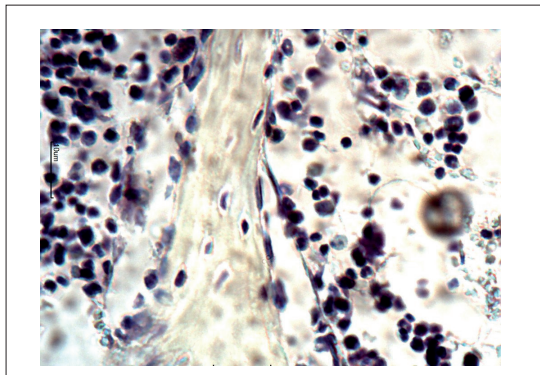


Figure 8. Light micrographs of trabecular tibial bone in protein-restricted animals showing thin trabeculae without osteoid and osteoblastic cells. Note the absence of metachromasia in the center of the bone trabeculae. Toluidine blue 40x.

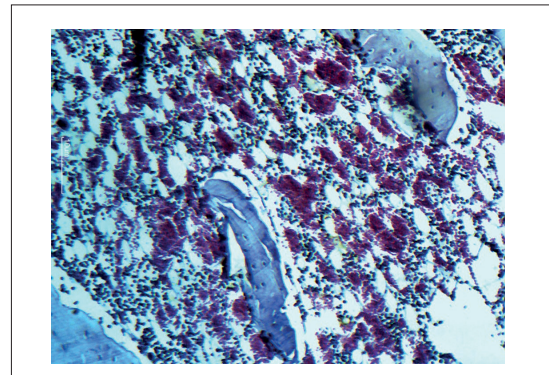


Figure 9. Condylar process in the protein-restricted group showing thin and disorganized trabeculae. Osteoid and typical osteoblastic cells cannot be observed. Angiogenesis was clearly evident. Hematoxylin and eosin 10x.

Tibia and mandibular dimensions

The length of the tibia was significantly lower in PR group (Control: 28 ± 1 mm vs. PR: 25 ± 0.7 mm; $p < 0.05$).

The condylar process length in tracings was significantly shorter in PR animals (Control: 21 ± 2 mm vs. PR: 17 ± 3 mm; $p < 0.05$).

Histomorphometric analysis

The histomorphometric analysis of bone activity in the proximal metaphysis of the tibia showed that the protein restricted group ex-

hibited a statistically significant decrease in bone formation surfaces, associated with an increase in bone areas covered with lining cells. Bone volume was significantly lower in the protein restricted group.

A statistically significant decrease in bone formation surfaces covered with active osteoblasts associated with an increase in bone resorption surfaces was observed in the condylar process of protein restricted animals.

Bone volume was significantly lower in this group.

The results of the morphometric study are summarized in Tables 2 and 3.

Table 2. Histomorphometric determinations in the tibia according different diets (Mean $\pm$ SD).

	Controls	Protein restricted	Student's t test
Obl S/BS%	68 ± 6	18 ± 14	$p < 0.05$
Flat Obl S/BS%	20 ± 7	59 ± 25	$p < 0.05$
RS/BS%	12 ± 6	24 ± 15	ns
BV/TV%	60 ± 10	30 ± 10	$p < 0.05$

Obl S/BS%: Trabecular surface covered by osteoblasts, indicating active bone formation. Flat Obl S/BS%: Trabecular surface covered by lining cells, indicating bone at rest. RS/BS%: Trabecular surfaces with resorption areas (with or without osteoclasts) Indicating bone resorption. BV/TV% : Trabecular bone volume to total bone volume of the area measured ratio.

Table 3. Histomorphometric determinations of the condylar process according different diets (Mean $\pm$ SD).

	Controls	Protein restricted	Student's t test
Obl S/BS%	55 ± 19	18 ± 9	$p < 0.05$
Flat Obl S/BS %.	15 ± 7	12 ± 5	NS
RS/BS %.	24 ± 7	70 ± 9	$p < 0.05$
BV/TV%	70 ± 6	20 ± 3	$p < 0.05$

Obl S/BS%: Trabecular surface covered by osteoblasts, indicating active bone formation. Flat Obl S/BS%: Trabecular surface covered by lining cells, indicating bone at rest. RS/BS%: Trabecular surfaces with resorption areas (with or without osteoclasts) Indicating bone resorption. BV/TV%: Trabecular bone volume to total bone volume of the area measured ratio.



Discussion

The results obtained in the present work show that dietary protein deficiency following weaning causes alterations in subchondral bone remodeling in the tibia and mandibular condylar process; these alterations are characterized by a decrease in bone surfaces covered by active osteoblasts, indicating a severe decrease in bone formation.

Protein undernutrition induced by feeding weanling rats a diet lacking in proteins results in bone growth arrest and alterations in the size and biomechanical properties of the mandible and long bones.^{13,14,18} A number of histomorphometric studies of the epiphyseal cartilage have demonstrated height and cell density of the proliferative and hypertrophic zones to be decreased.^{6,10,11} Nevertheless, how and to what extent protein malnutrition affects subchondral bone remodeling in long bones and the mandibular condyle remains to be clarified. In the present study the percentage of protein in the diet of the experimental group, as well as weight loss achieved in PR group are consistent with those reported by other authors.^{1,12,13,15,18}

Our results showed that dietary protein deficiency clearly alters the bone remodeling process. According to the histomorphometric study of subchondral bone activity in the tibia, these alterations feature a statistically significant decrease in trabecular surfaces covered with active osteoblasts, associated with an increase in bone surfaces covered with lining cells. However, no significant differences in trabecular surfaces with resorption areas were observed between groups. These results may indicate that dietary protein deficiency would cause that the osteoblast precursor cells failure to differentiate to active osteoblasts. This alteration in cell differentiation would have a negative impact on osteogenetic activity, and its most immediate, obvious consequence is the significant decrease in BV/TV. However, it also has a direct effect on bone growth, as

evidenced by the significant difference in tibia length of control and experimental animals.

Longitudinal growth of long bones is mainly due to endochondral ossification of the epiphyseal growth plate. Firstly, it is essential that chondrocytes proliferate in this cartilage as a result of mitotic activity in the proliferative zone. Secondly, they must differentiate by changing in shape and volume in the hypertrophic zone, and finally terminal chondrocyte maturation and vascular invasion must take place.¹¹ Hypertrophic chondrocytes synthesize vascular-endothelial growth factor (VEGF), which promotes vascular invasion prior to ossification,¹⁹ and core binding factor a 1 (Cbfa 1), a transcription factor that is essential for cells differentiation from osteoprogenitor cells to osteoblasts.²⁰ It is well documented that protein undernutrition severely affects gene expression, protein synthesis, and cell differentiation.²¹ It is therefore likely that in the present study, protein restriction affected chondrocyte proliferation and differentiation at the end of the cell cycle, and during the transition to hypertrophic chondrocytes.⁶ Given that hypertrophic chondrocytes express high levels of RNAm for VEGF¹⁹, alterations in their differentiation would imply alterations in vascular invasion in the active ossification zone. Undoubtedly, this situation would alter the microenvironment that osteoblast precursor cells require to differentiate and begin to synthesize organic matrix. Hypertrophic chondrocytes also synthesize Cbfa1.^{19,20} It has been demonstrated that a lack of this factor leads to a total lack of bone formation in mice, since osteoblast maturation is blocked.²² It is highly probable that synthesis and secretion of these factors was inhibited or altered in the present study, contributing to failure of osteoblast precursor cells to complete differentiation to active osteoblasts.

The condyle is the main growth center of the lower jaw. The present study showed that the decrease in bone formation surfaces in subchondral bone of the condyle in the

protein restricted group was associated with an increase in erosive surfaces, whereas ac- quiescent surfaces were not significantly different compared to those of the control group. Our results indicate that protein undernutrition affects bone remodeling in the condyle and in the tibia through different mechanisms. However, its impact on bone growth is similar, as shown by the finding that the condylar process was significantly smaller in the protein-restricted group. The increase in erosive areas in bone tissue under conditions of protein undernutrition may be explained by the fact that osteoblasts play a mayor role in their onset.²³ Thus, the increase observed in bone resorption surfaces may be due to damage to the osteoblasts, which in turn may release soluble mediators of bone resorption,²⁴ or lose contact with the bone surface as was observed in the present study, resulting in the presence of erosive surfaces.²⁵ Although a quantitative analysis of the osteoclast population was not performed, the presence of functional, well-differentiated osteoclasts in the mandibular condyle under conditions of severe protein undernutrition was evident. It could therefore be inferred that osteoclastogenesis regulation in protein-deprived animals may be affected by other factors, besides osteoblast-osteoclast interaction mediated by RANK-RANKL (receptor activator of nuclear factor-Kappa B-RANK ligand)²⁶ and TGF β 1 (transforming growth factor β 1) associated to an increase in RANK RNAm and protein.²⁷ In addition, hypocalcemia, which is typically associated with protein undernutrition and is caused by a decrease in calcium-transporting blood proteins, may induce an increase in osteoclast number and bone resorption surfaces, probably via parathormone²⁸. However, further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms of the effects of protein undernutrition on physiological bone remodeling. According to the results obtained in this study, isocaloric protein restriction not only negatively affects the growth curve of the

child, but also it could be stated that a lack of development of the condylar process in malnourished children may be found. In this context these changes could have an immediate impact on facial development. During normal facial growth the mandibular symphysis moves down and forward with respect to the other facial structures along the Rickett's facial axis.^{29,30} This movement is the result of vertical and sagittal growth vectors. However, the vertical growth vector has a crucial effect on the sagittal (anteroposterior) growth direction of the mandibular symphysis. This growth pattern results from the descent of the glenoid fossae and, essentially, from the increase in condyle length³⁰. The development of both components compensates simultaneously the vertical growth of the upper jaw and the upper alveolar process as well as of the lower alveolar process.^{30,31} In this context the lack of development of the condylar process in undernourished subjects, may alter the normal pattern of facial growth. This alteration could be characterized by the loss of vertical control and the loss of the spatial position of the mandible with respect to the base of the skull, a growth pattern characterized by a downward and backward displacement of the mandibular symphysis and a posterior rotation of the mandible with an increase in the angle to the base of the skull and a downward inclination of the occlusal plane, resulting in a dolichofacial growth pattern. Under these conditions in which there is a marked occlusal curve it would be plausible to posit that the lower incisors would drift upward and forward to compensate the posterior rotation of the mandible. In addition, it is likely that the lack of condylar growth would result in premature occlusal contact, thus an anterior open bite could be a frequent finding in this type of nutrition deficiency.¹⁸ Severe protein undernutrition inhibits osteogenesis in the bone remodeling process in the tibia and mandibular condyle having a negative impact on stature, as well as on complex processes involved in facial development.



Acknowledgments

This work was supported by grants from The National University of Tucumán Research Council 26/J412.

Conflicts of interest: The authors report no conflict of interest.

(Recibido: julio 2015.
Aceptado: agosto 2015.)

References

1. Mavropoulos A, Rizzoli R, Amann P. Different responsiveness of alveolar and tibial bone to bone loss stimuli. *J Bone Miner Res* 2007; 22:403-10.
2. Balint JP. Physical findings in nutritional deficiencies. *Pediatr Clin North Am* 1998; 45:245-60.
3. Kimura M, Nishida I, Maki K. An experimental study on changes in the mandible at growth stage due to hardness of food. *Jpn J Ped Res* 1991; 31:291-8.
4. Marimoto I, Tanaka T, Kito S. Quantitative radiographic changes in the mandible and the tibia in systemically loaded rats fed a low-calcium diet. *Oral Dis* 2000; 6: 310-7.
5. Petrikowski CG, Overton TR. Quantitative radiographic changes in the mandible, femur and vertebra in lactating rats fed a low calcium diet. *Dentomaxillofac Radiol* 1996; 25:136-45.
6. Heinrichs C, Colli M, Yanovski J, Laue L, Gerstl N, Kramer A, Uyeda J, Baron J. Effects of fasting on the growth plate: Systemic and local mechanisms. *Endocrinology* 1997;138:5359-65.
7. Steppan CM, Crawford DT, Chidsay-Frink KL, Ke H, Swick AG. Leptin is a potent simulator of bone growth in *ob/ob* mice. *Regul Pept* 2000; 92:73-8.
8. Maiter D, Fliesen T, Underhood LE, et al. Dietary protein restriction decreases insulin-like growth factor-I independent of insulin and liver growth hormone binding. *Endocrinology* 1989; 124:2604-11.
9. Straus DS, Takemoto CD. Effects of fasting on insulin-like growth factor-I and growth hormone receptor mRNA levels and IGF-I gene transcription in rat liver. *Mol endocrinol* 1990; 4:91-100.
10. Gat-Yablonski, Ben-Ari T, Shtaf B, et al. Leptin reverses the inhibitory effect of caloric restriction on longitudinal growth. *Endocrinology* 2004; 145:343-50.
11. Farnum C, Lee A, O'Hara K, Wilsman N. Effect of short-term fasting on bone elongation rates: An analysis of catch-up growth in young male rats. *Pediatric Research* 2003; 53:33-41.
12. Cavalli MA, Gonçalves A, Pereira JN, da Silva JB, Boldrini Sde C, Liberti EA. Evaluation of protein undernourishment on the condylar process of the Wistar rat mandible correlation with insulin receptor expression. *J Appl Oral Sci* 2015; 23:135-44.
13. Alippi RM, Meta MD, Olivera MI, et al. Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. *Arch Oral Biol* 2002; 47:47-53.
14. Murray SS, Duarte ME, Brochmann EJ. The effects of dietary restriction on humeral and mandibular bone in SENCAR, C57BL/6, and DBA/2 mice. *Metabolism* 2003; 52:970-7.
15. Rodrigues L, Correa L, Luz J. Effects of the condylar process fracture on facial symmetry in rats submitted to protein undernutrition. *Acta Cir Bras* 2011; 26:88-93.

16. Kiliaridis S. Muscle function as a determinant of mandibular growth in normal and hypocalcaemic rat. *Eur J Orthod* 1989; 11:298-308.
17. Weibel ER, Elias H. Introduction to stereology and morphology. In: Quantitative Methods in Morphology. Heidelberg. Germany: Springer-Verlag; 1967:3-19.
18. Garat JA, Martín A, Pani M, Ruiz Holgado N, Meheris H, González S. Orthodontic implications of protein undernutrition in mandibular growth: a cephalometric study in growing rats. *Acta Odontol Latinoam* 2007; 20:73-8.
19. Sakamoto Y, Takano Y. Morphological influence of ascorbic acid deficiency on endochondral ossification in osteogenic disorder Shinogoi Rat. *Anat Rec* 2002; 268:93-104.
20. Winter TA, O'Keefe SJ, Callanan M, Marks T. The effects of severe undernutrition and subsequent recovery refeeding on whole-body metabolism and protein synthesis in human subjects. *J Parenter Enteral Nutr* 2005; 29:221-8.
21. Golden MH, Waterlow JC, Picou D. Protein turnover, synthesis and breakdown before and after recovery from protein energy malnutrition. *Clin Sci Mol Med* 1997; 53:473-7.
22. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K. Targeted disruption a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89:755-64.
23. Meikle MC, Heath JK, Reynolds J. Advances in understanding cell interactions in tissue resorption: Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. *J Oral Pathol* 1986; 15: 239-50.
24. Vaes G. Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. *Clin Orthop* 1988; 231: 239-71.
25. Hagel-Bradwey S, Dziak R. Regulation of bone cells metabolism. *J Oral Pathol* 1989; 18:344-51.
26. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martín TJ. Modulation of osteoclasts differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrinol Rev* 1999; 20:345-57.
27. Yan T, Riggs BL, Boyle WJ, Khosla S. Regulation of osteoclastogenesis and RANK expression by TGF β_1 . *J Cell Biochem* 2001; 83:320-5.
28. Engström C, Linde A, Thilander B. Craniofacial morphology and growth in the rat. Cephalometric analysis of the effects of a low calcium and vitamin D-deficient diet. *J Anat* 1982; 134:299-314.
29. Ten Cate AR, Nancy A. Ten Cate's Oral Histology: Structure and Function. 6th ed. Toronto, Canada: Mosby; 2003, p 31-44.
30. Stockly PW, Teuscher U. Orthopaedy combined with activator and skullcup. In Graber, Swain, eds. Orthodontics current principles and techniques. St St Louis, MO: CV Mosby Co; 1992, p 464-551.
31. Rabie AB, She TT, Hagg U. Functional appliance therapy accelerates and enhances condylar growth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 123:40-8.



ACTUALIZACIONES / Reviews

COOPERACIÓN BIOFÍSICO-BIOQUÍMICA EN EL CONTROL DIRECCIONAL DE LA “CALIDAD ESTRUCTURAL” ÓSEA (RESISTENCIA A LA FRACTURA)

Ricardo Francisco Capozza, Laura Marcela Nocciolino, Gustavo Roberto Cointry, José Luis Ferretti *

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFoC), Universidad Nacional de Rosario/CONICET.

Resumen

Parece natural que el desarrollo de la estructura resistiva de los huesos resulte de simples procesos aditivos/sustractivos de material duro, con balances positivos o negativos dependientes de una adecuada nutrición/insolación, sin necesidad de aludir a mecanismos que orienten esos procesos en el espacio. La misma explicación se aplicó a los efectos de todos los agentes osteoactivos. Esta concepción errónea ha afectado la interpretación, el diagnóstico y el tratamiento de las osteopatías fragilizantes durante más de 4 décadas. Los procesos referidos resultan todos de reacciones *bioquímicas* (sistémicas, no direccionales), pero también están orientados en el espacio por otros factores, *biofísicos* (vectoriales, direccionales), que determinan la eficacia mecánica de los huesos, cuya comprensión es fundamental para el clínico. Cuatro factores han contribuido, entre otros, a esta confusión: el sentido común, la sucesión de algunas novedades osteológicas trascendentes, la dificultad para analizar la organización biológica de los esqueletos respetando los “niveles de complejidad estructural” clásicos en Biología, y determinantes de orden económico. Este artículo pretende contribuir a vencer esas dificultades interpretativas, apoyado por algunos avances recientes que evidencian la participación de los osteocitos como elementos “primarios” de la transducción biofísico-bioquímica en el control biomecánico *direccional* de las propiedades mecánicas óseas.

Palabras clave: biomecánica ósea, osteocitos, mecanostato óseo, osteoporosis, osteopatías fragilizantes.

Summary

BIOPHYSICAL-BIOCHEMICAL COOPERATION IN THE DIRECTIONAL CONTROL OF BONE “STRUCTURAL QUALITY”

The development of bones' structural properties has been conceived traditionally as resulting from mere additions or losses of mineralized tissue, with negative/positive balances determined by biochemical (systemic) factors, regardless of any biophysical (directional) factor that could orient spatially those processes as required for achieving a stiff/strong structure. That misleading conception has disturbed the interpretation of bone-weakening diseases by clinicians during more than 4 decades, as determined by diverse confounders, chiefly, 1. common sense, 2. a particular historical order in knowledge acquisition in Osteology, 3. the difficult interpretation of abstract concepts like the biological “levels of complexity”, and 4. economical factors. This article aims to cope with those difficulties, in a didactical way. The exposed arguments are supported by some recent developments in Osteology that are affording growing evidence of the crucial role of osteocytes as “primary” elements in the process of biophysical-biochemical transduc-

* Correo electrónico: jlferretti@arnet.com.ar

tion involved in the directional (biomechanical) control of the mechanical properties of bones.

Key words: *bone biomechanics, osteocytes, bone mechanostat, osteoporosis, bone-weakening diseases.*

Recuerdo haberle preguntado una vez a mi maestra cómo se las compone el esqueleto de un nene para crecer dentro del cuerpo, hasta la adultez. Me contestó: "Igual que una plantita crece regándola diariamente, un niño también crece, si come lo que necesita, junto con su esqueleto, que lo sostiene como una percha". Todavía recuerdo esa respuesta como una "gran verdad", de esas que permiten comprenderlo todo. Luego, tras estudiar algo de Biología Sistemática,¹⁻⁷ advertí que habría sido imaginada por la maestra para disimular una inocente ignorancia.

J. L. F.

Esa clase de ignorancia, compartida por muchos profesionales, puede considerarse "inocente", porque está inducida por cuatro cómplices poderosos: 1) el sentido común; 2) la novedad; 3) el concepto de "niveles de complejidad" y 4) la Economía. Este artículo analizará cómo esos factores han obstaculizado el conocimiento osteológico moderno, y cómo el control de la "calidad ósea" integra estímulos biofísicos y respuestas bioquímicas.

A. LOS "CUATRO CÓMPLICES" DE LA IGNORANCIA

1. El sentido común

En un almácigo de cebada, bien regado e iluminado artificialmente desde arriba, las plantitas crecerán verticalmente, simulando un felpudo. Pero, moviendo la iluminación a un costado, se desviarán todas, como "peinadas" hacia allí. Iluminándolas luego desde otro lado, las plantitas ya anguladas se doblarán nuevamente, pero hacia el nuevo costado, como dibujando un símbolo de "camino sinuoso". ¿Tenía razón la maestra?

En nuestra Patagonia, donde sopla viento

fuerte predominantemente del Sudoeste, muchos árboles crecen desviados en ese sentido, y su tallo tiene una sección elíptica, con el diámetro mayor igualmente orientado, "oponiéndose" a esa deformación. Además, las nervaduras de cualquier hoja están dispuestas según lo requiere el sostén de su estructura fotosensible para exponerse óptimamente al sol. Aquí no intervienen la lluvia ni los nutrientes del terreno, sino la aptitud competitiva del árbol por la luz. El trazado de una trama trabecular, o el diseño diafisario de un hueso, ejemplifican el mismo caso con referencia a las cargas que deben soportar, *independientemente* de la nutrición o del metabolismo. Esta aparente contradicción al sentido común es fácil de aclarar.

"Direccionalidad": esa es la cuestión. Sin direccionalidad no hay orden,⁷ ni crecimiento "efectivo" de ninguna estructura biológica que soporte esfuerzos, como los meniscos, ligamentos, fascias y huesos. "Esfuerzo" significa *estrés* (= carga soportada por una estructura por unidad de área *transversal a su dirección*). Y el estrés soportado por cualquier estructura biológica portante, que cuantifica su eficacia mecánica, está biológicamente controlado en forma direccional, según fenómenos *biofísicos* y *bioquímicos*. Todas las manifestaciones vitales resultan exclusivamente de reacciones *bioquímicas*. Pero la determinación de la *direccionalidad* que otorga "utilidad" a esas estructuras depende críticamente de estímulos *físicos* (cargas, gradientes, campos, etc.) vehiculizados por vectores con puntos de aplicación, intensidad, *dirección* y *sentido*.

Ciertos procesos bioquímicos, como la formación de apatita a partir de P y Ca, o la cadena de reacciones que inicia el *Wnt*,⁸ igual que la glucogenólisis o la lipogénesis, *no* proceden hacia la izquierda o la derecha, ni hacia arriba o abajo, del sitio en el que ocurren. En cambio, la formación y la destrucción de hueso en una trama trabecular o en una corteza diafisaria, que constantemente adaptan su diseño al uso mecánico, *sí* ocurren predominantemente hacia la derecha o la izquierda, o hacia ade-



lante o atrás, orientadas naturalmente según las direcciones y los sentidos de los gradientes locales *biofísicos* de estrés. Técnicamente: los fenómenos *bioquímicos*, *no direccionales* (representables por magnitudes escalares, que no conllevan direccionalidad), *respetan la simetría del espacio*, en tanto los fenómenos *biofísicos*, *direccionales* (representables por magnitudes vectoriales, que implican necesariamente una direccionalidad), *rompen* esa simetría.⁷ Normalmente, los estímulos *biofísicos* son los únicos que pueden otorgarle direccionalidad a una estructura viviente resistiva a *niveles supramoleculares* de complejidad. En Osteología, esto constituye el determinante principal de la “calidad” ósea (propiedad eminentemente *direccional*), tanto para el *individuo* portador del esqueleto frágil, como para el osteólogo que debe reforzarlo. Concretamente: *solo la Biofísica es capaz de orientar espacialmente a la Bioquímica, según lo requiera la Biología, a altos niveles de complejidad estructural*. Esta dualidad biofísica-bioquímica es importante, aunque un tanto ambigua, porque la (bio)química podría reducirse a la (bio)física de los intercambios electrónicos moleculares. Por todo esto, la adquisición aparentemente “automática” de la direccionalidad estructural de los huesos *no siempre resulta intuitiva*, y a veces corresponde dispensar la “ignorancia inocente” de los mecanismos subyacentes. De hecho, las siguientes situaciones evidencian que la *determinación biológica de esa direccionalidad* está siempre *mecánicamente orientada*:

a) La diferenciación de una célula mesenquimática embrionaria hacia una generadora de un tejido “duro” en particular, y no otro, depende de la forma de estimulación mecánica predominante en su entorno: si esta consiste en compresión, la célula diferenciada originará cartílago hialino, precursor de osificación endocondral; si el esfuerzo es de deslizamiento (*shear stress*), se originará tejido conectivo fibroso, precursor de osificación membranosa, mientras que la falta de estímulos mecánicos, o de una orientación preferencial de ellos, *in-*

hibirá la diferenciación celular hacia la producción de cualquier clase de cartílago/hueso.⁹

b) Durante la formación ósea, la direccionalidad de las fibras colágenas segregadas por los osteoblastos siempre respeta la orientación del estrés local predominante.^{10,11} Gracias a esta “orientación funcional interna”, el tejido “sólido” resiste mejor las cargas a lo largo que al través de sus fibras (“an-iso-tropía” - comportamiento desigual en distintas direcciones *a nivel de tejido*).⁷

c) En los centros de osificación de los huesos embrionarios, la velocidad de la sustitución de espongirosa primaria tramada por espongirosa secundaria lamelar, y la eficacia mecánica de su revestimiento concéntrico por tejido compacto lamelar durante el crecimiento en largo (modelación embrionaria del cortical), dependen de las direcciones y las intensidades de las deformaciones locales inducidas por el entorno mecánico.

d) En el esqueleto en crecimiento y adulto, el rediseño de las tramas trabeculares (remodelación en lagunas de Howship) y de las secciones diafisarias (“drifts” modelatorios) está orientado por vectores locales de deformación dependientes del uso mecánico.¹² Esto otorga un *segundo grado de direccionalidad mecánica* (*más compleja que la del tejido*), propio de la estructura macroscópica de tramas y cortezas, que también resisten mejor a lo largo que al través de su trazado -“anisotropía del diseño” del hueso.³

e) En cualquier tipo de hueso móvil, la falta de estimulación mecánica por el uso determina la remoción del tejido mineralizado local por remodelación con balance negativo¹² (hueso que no trabaja, se orina).

f) Huesos de distintas partes del cuerpo (peroné, cráneo, mandíbula) tienen osteocitos morfológicamente adaptados a las clases de deformaciones usuales que sensan,¹³ con sus membranas dispuestas tendiendo a homogeneizar la magnitud de esos estímulos, minimizando su dependencia del sitio y del modo de deformación involucrado.

g) Los beneficios de la actividad física sobre la estructura ósea (casi siempre mejoras arquitectónicas, no de calidad material)^{14,15} difieren según el sitio y la variable afectada,^{16,17} y los efectos de la inactividad *no son* simétricamente opuestos a ellos.¹⁸

h) La evaluación no invasiva de la resistencia ósea basada en indicadores de distribución del tejido mineralizado (sensibles a la estimulación mecánica) es más exacta que la basada en su grado de mineralización (in-

sensible a ella).^{19,20} Todos estos fenómenos reflejan una doble “direccionalidad funcional”, microestructural/macroestructural de los huesos, producto de la *localización diferencial biomecánicamente determinada* de las reacciones bioquímicas que forman/destruyen el tejido duro.

En el nivel *macroestructural* (tramas, cortezas; el más importante en este caso), esa direccionalidad resulta del trabajo regulatorio orientado del “*mecanostato* óseo”¹² (Figura 1).

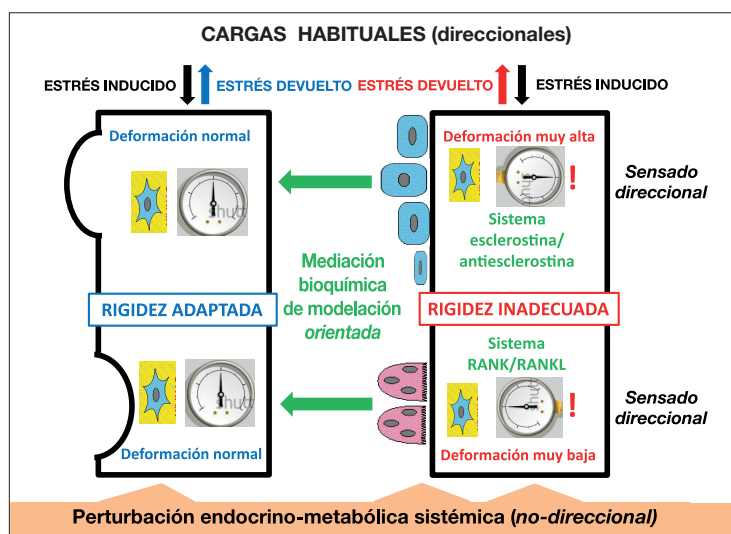


Figura 1. Esquema didáctico propuesto para representar la nueva concepción referida en el artículo, en forma integrada a nivel de tejido, que describe la cooperación biofísico-bioquímica naturalmente dispuesta para coordinar tanto las respuestas mecánicamente positivas (arriba) como las negativas (abajo) del *mecanostato*, en congruencia con nuestro reporte previo⁶⁰ de la proyección del trabajo osteocítico a niveles de complejidad más altos. La gráfica comprende: 1) la fuente natural del estrés cotidianamente *inducido* a la estructura ósea por la carga del peso, las contracciones musculares, etc., que produce las deformaciones sensadas por los osteocitos (células estrelladas; estímulo *biofísico*, en negro); 2) la estructura ósea misma, circunstancialmente inadecuada para resistir esa clase de estimulación (derecha), tanto por manifestar una rigidez demasiado baja (arriba) como demasiado alta (abajo); 3) los osteocitos contenidos en ella, con los valores anormales de deformación sensados (señales de error alta y baja, respectivamente), y la consiguiente anomalía del estrés *devuelto* por el hueso como reacción newtoniana

a la carga, que expresa su *resistencia a la deformación* (las inadecuaciones están marcadas todas en rojo); 4) los osteoblastos (células azules) y osteoclastos (células rojas) indican las formas como se propone que reaccionarían a la anomalía referida, respondiendo (entre otros no indicados) a los sistemas esclerostina/antiesclerostina y RANK/RANKL/OPG (mediación *bioquímica*, en verde); 5) las modificaciones producidas en el diseño de la estructura por el trabajo modelatorio formativo o destructivo inducido (izquierda), sin variar la calidad del tejido, que adecuarían su rigidez a las situaciones planteadas, normalizando la magnitud de las deformaciones sensadas por los osteocitos; 6) la consiguiente normalización del estrés *devuelto* por la estructura (resistencia del hueso), gracias a la *direccionalidad* que el sistema respeta a partir de la orientación del estímulo *biofísico* inicial, supuesto un comportamiento no perturbado del mismo (todas las readecuaciones están indicadas en azul) y 7) la posible intervención perturbadora sistémica, *no direccional*, del entorno endocrino-metabólico del esqueleto (en color pardo, abajo).



Este sistema tiende a controlar la *rigidez estructural* de los huesos integrados como órganos (una propiedad direccional), adaptando su diseño por orientación local de la modelación/remodelación en función de la dirección predominante de las minideformaciones provocadas por el trabajo esquelético, y en relación inversa con la rigidez intrínseca local del tejido mineralizado.^{12,21} Esa *rigidez estructural* (resistencia a la deformación) junto con la *tenacidad estructural* (resistencia a la formación de resquebrajaduras) del hueso-órgano determinan su *resistencia estructural* a la fractura (“calidad” *estructural* ósea), que es la que nos ocupa aquí.^{19,22} Gracias al *mecanostato*, las deformaciones óseas usuales tienden a respetar un máximo de 0,2% de la longitud de reposo, 10 veces menor que la que determinaría su fractura (que es del 2% de esa longitud), asegurando un “factor de seguridad” (FS) de 10, bastante constante para todos los vertebrados. Este concepto es fundamental, porque no conocemos otro “objetivo” biomecánico filogenéticamente determinado para interpretar el comportamiento esquelético, que la adquisición y el mantenimiento de ese FS en todas sus regiones.²³ Muy importante, entonces: el “objetivo” de cualquier tratamiento que pretenda mejorar la resistencia de cualquier hueso chocará siempre con el poder regulatorio del *mecanostato* que el mismo hueso le opondrá, orientado a mantener su rigidez respetando ese FS. La mayoría de las osteoporosis, en cuanto “fragilidades osteopénicas” (NIH²⁴), están determinadas, precisamente, por “corrimientos” de los puntos de referencia (*setpoints*) del *mecanostato* óseo, que le dificultan alcanzar ese objetivo. Dichos puntos corresponden a los valores mínimos/máximos de deformación sensada (estímulo *biofísico*), que limitan un rango, por fuera del cual el sistema reconoce “señales de error” que disparan localmente la producción/destrucción *orientada* de hueso, según el caso (Figura 1). En las osteopenias metabólicas (no por desuso), el corrimiento de los *setpoints* del

mecanostato obedece a efectos *no direccionales* (no mecánicos: endocrinometabólicos, “sistémicos”) sobre sus sensores (osteocitos) o efectores (blastos, clastos), que determinan la producción de huesos inadecuadamente rígidos, porque el sistema recibe o maneja información falsa.^{12,25}

2. La novedad

La *sorpres*a es el principal condicionante de la calidad periodística de cualquier noticia, y también del atractivo de cualquier novedad científica, y del consiguiente entusiasmo por su posible aplicación clínico-terapéutica. Esta propiedad de la “novedad” puede tanto favorecer como entorpecer el avance del conocimiento, dependiendo de su verosimilitud. Lamentablemente, muchos pretendidos avances del conocimiento osteológico sonaron promisorios cuando fueron comunicados, pero luego resultaron frustrantes. Ejemplos: la fluoroterapia, que hiperrigidiza el tejido mineralizado, reduciendo su tenacidad e induciendo un comportamiento “quebradizo” del hueso; los suplementos cálcicos o calciferólicos, que no inducen efectos estructurales óseos directos, salvo en individuos deficitarios; la calcitonina, por su baja relación costo/beneficio y su escaso efecto estructural sobre la resistencia ósea, y los primeros bifosfonatos, por sus efectos colaterales indeseables sobre la mineralización y el metabolismo calciferólico.

Esta relación engañosa entre “novedad llamativa” y “aplicabilidad inmediata” ha afectado también los descubrimientos de muchos mecanismos bioquímicos novedosos, que fueron erróneamente interpretados por desconocerse sus derivaciones a niveles superiores de complejidad biológica, como los de **a)** la remodelación ósea; **b)** los sistemas bioquímicos “SOST/esclerostina/antiesclerostina” y “RANK/RANKL/OPG”, **c)** la apoptosis y **d)** algunos conjuntos de relaciones funcionales asociadas, a los que se atribuyeron características de sistemas regulatorios de propiedades óseas direccionales. Veámoslos por separado:

a. La remodelación. Descubierta por Frost hace décadas,²⁶ la remodelación fue considerada por otros como una simple "adición/sustracción" de tejido mineralizado, expresión del trabajo acoplado de osteoclastos/osteoblastos destructores/reponedores, "endocrinamente regulado" (curiosa concepción, experimentalmente infundada). Hasta hace poco se supuso que no existiría otra forma de arreglo funcional de las células óseas fuera de la remodelación, y que todas las osteopenias y osteoporosis resultarían de un simple desequilibrio (metabólico) entre formación y destrucción *remodelatorias* de hueso, con sus respectivas *consecuencias sobre la eficacia mecánica* de la estructura ósea (imaginables, pero nunca demostradas *causalmente*). Esta falsa idea, que evoca reminiscencias de cebada, vientos sureños y consultas de un futuro investigador a su maestra, determinó una errónea asimilación de "masa" y "resistencia" óseas, de corte esencialmente metabólico (no mecánico), que tuvo tres derivaciones poco afortunadas: **1)** la evaluación densitométrica de la resistencia ósea,²⁷ **2)** la estimación del riesgo de fractura empleando indicadores del *turnover* óseo,²⁸ y **3)** la indicación de productos "anti-remodelatorios" como "reforzadores biomecánicos" óseos, ignorando la modelación, el anabolismo, el *mecanostato* y la "natividad biomecánica" de los huesos.

b. Los sistemas "SOST/esclerostina/antiesclerostina" y "RANK/RANKL/OPG". El reciente descubrimiento de estos sistemas, asociados con la formación y la destrucción ósea, respectivamente, fue automáticamente adscrito al concepto "metabólico" de remodelación -> balance de masa -> *repercusión mecánica*, con intervención exclusiva osteoblástica/osteoclástica. Esto fue especialmente notable respecto del sistema RANK/RANKL/OPG.^{29,30}

Al comienzo, los efectos terapéuticos sobre ese sistema se adscribieron "intuitivamente" a estimulaciones/inhibiciones de solamente blastos y clastos, sin otros elementos operan-

tes de corte "direccional". Es decir: se volvió a considerar erróneamente a la remodelación como un proceso exclusivamente dependiente de factores sistémicos, y con efectos sistémicos, que podía inhibirse/estimularse en cualquiera de sus dos sentidos por recursos farmacológicos *también sistémicos*. Concurrentemente, se ignoraron todas las interrelaciones biomecánicas que vinculan a blastos y clastos con las respuestas *bioquímicas* de los *osteocitos* a la direccionalidad de los estímulos *biofísicos* (deformaciones = relaciones adimensionales entre un cambio de longitud y la longitud inicial, con magnitud, dirección, sentido y signo) que ellos detectan y cuantifican en forma de *shear stress* de sus membranas (esfuerzo de deslizamiento producido a nivel molecular en los canales iónicos mecánicamente afectados)³⁰⁻³⁴ (Figura 1).

c. La apoptosis. Antes de descubrirse la apoptosis, la muerte celular no explicaba la determinación de ninguna propiedad ósea. Luego de su advenimiento, todo pareció explicarse por ella, incluso los efectos beneficiosos de agentes protectores de osteocitos y osteoblastos contra esa eventualidad, como estrógenos, bifosfonatos modernos y PTH.³⁵ Hoy es posible, sin desechar la importancia de esos efectos *no direccionales* sobre células *direccionadoras*, contemplar también *el grado de participación* (no la apoptosis) osteocítica en la producción de mediadores bioquímicos de sus respuestas a *estímulos mecánicos direccionales*, como un determinante fundamental de los efectos mecánicos de esas drogas.

d. Relaciones funcionales incorrectamente asociadas. En un nivel de complejidad sistémico, se han descubierto distintos *conjuntos de relaciones funcionales asociadas*, que modulan o regulan diferentes variables extraesqueléticas. A varios de ellos se les ha atribuido erróneamente un papel "regulador" ("regular" = "someter a reglas") de la masa ósea mineralizada, a través de factores humorales no direccionales,³⁶⁻⁴⁸ vías y mediadores nerviosos,⁴⁹ e interacciones músculo-hueso que



pueden involucrar desde *cross-talks* moleculares⁵⁰⁻⁵³ hasta factores genéticos pleiotrópicos.⁵⁴ Esas asociaciones funcionales pueden contribuir a la regulación homeostática de muchas variables endocrinometabólicas, constituyendo sistemas que hasta podrían integrarse con el “esqueleto endocrino”, al nivel de individuo.⁵⁵ Sin embargo, y pese a la propuesta participación de algunas de esas relaciones como eslabones de un “control humoral, o central” de la masa ósea mineralizada, esos mecanismos (*bioquímicos*, *sistémicos*, *no direccionales*) *no tienen nada que ver* con ningún control retroalimentado de la masa ni de la eficacia mecánica de la estructura ósea o muscular. De hecho, aparte de su falta de direccionalidad, ninguno de ellos comprende ningún vector de información a punto de partida óseo o muscular (*realmente, no los hay*) que reporte al sistema el estado de la masa o la resistencia de huesos y músculos (variables que no se pueden medir biológicamente), ni el posible resultado de sus efectos propuestamente “regulatorios”. Aun si esos vectores existieran, deberían corresponder necesariamente a estímulos y/o indicadores *biofísicos*, condición excluyente para determinar su *direccionalidad*.

3. Los niveles de complejidad biológica

Todas las respuestas de las estructuras vivientes a estímulos biológicos (*bioquímicos* o *biofísicos*) resultan de reacciones *bioquímicas* desarrolladas a nivel *molecular*. Sin embargo, sus *manifestaciones visibles* pueden expresarse en cualquier *nivel de complejidad* supracelular (tisular, orgánico, sistémico, individual, poblacional, comunitario, ecosistémico). Dos clases particulares de estas manifestaciones que trascienden niveles de complejidad son importantes aquí:

- *La generación de propiedades “emergentes”*, que tienen lugar en un determinado nivel de complejidad, sin manifestarse en su nivel inmediato inferior. Por ejemplo: la adquisición de rigidez por el *tejido* óseo, resultante

de la mineralización y la disposición espacial de las *moléculas* de colágeno calcificadas; o el desarrollo de resistencia por el hueso-órgano por combinación de la rigidez y la tenacidad del *tejido* con su distribución espacial.

- *Asociaciones funcionales específicas entre variables*, producto del manejo de la información circulante entre diversas partes del sistema. Por ejemplo: cambios del diseño diafisario resultantes de una respuesta modeladora cortical a las cargas, cuya magnitud resulta inversa a la rigidez local del tejido mineralizado (relaciones de “distribución/calidad”).^{21,56-59}

Estos dos tipos de respuestas “integradas” expresan meras *interpretaciones de observadores*, antes que propiedades específicas de estructuras definidas.⁶⁰ Pero ambos son importantes, porque determinan o explican la mayoría de los fenómenos manifestados a nivel individual (el paciente) que interesan a los clínicos. Por ejemplo: la determinación biológica de la resistencia ósea, que integra fenómenos bioquímicos y biofísicos dentro del esquema de vida de relación del individuo.

Veámoslo ordenadamente (Figura 1): partiendo de un estímulo *biofísico* a nivel molecular (deformación *direccional*, sensada como estrés de deslizamiento por las membranas osteocíticas), se inducen múltiples respuestas *bioquímicas* (*no direccionales*, pero sí *posicionadas* preferentemente en determinados sitios del hueso, conforme ese sensado), que originan cambios modelatorios (constructivos) o remodelatorios (destructivos) en el tejido cercano. Ese *posicionamiento diferencial* de la formación/destrucción local de tejido, manifestado con especificidad de sitio, configura una modulación *biomecánicamente orientada* de la modelación/remodelación local. De esto surge un cambio en la *geometría* ósea trabecular o cortical (diseño), que modifica *direccionalmente* la rigidez y la resistencia del hueso-órgano.^{21,22,61} La resistencia ósea *direccionalmente* determinada condiciona, a su vez, la aptitud del individuo como competidor específico para aportar su genoma a la población.

Prácticamente, y por la negativa: nunca podríamos generar un fémur de conejo dentro de una placa de Petri, aun colocando en ella fragmentos de tejido óseo vivo de fémur de conejo. Sin embargo, bien podríamos obtener ese fémur sin matar al conejo, simplemente permitiendo que los esbozos embrionarios de su fémur se desarrollen naturalmente *in situ*, respondiendo en forma integrada a los estímulos del entorno metabólico (“formador/destructor”) y mecánico (“orientador”) de su organismo en el sitio esquelético correspondiente. La diferencia entre la miserable capacidad integradora de la placa y la maravillosa aptitud biogeneradora del conejo entero, radica en que, en la placa, nunca se podrían desarrollar las necesarias *propiedades emergentes* de la estructura, que determinarían el acceso a los crecientes niveles de complejidad que ella debería alcanzar para manifestarse como un hueso-órgano.⁶² Esta restricción fatal afecta tanto a las *reacciones bioquímicas* como a la *direccionalidad* de los estímulos *biofísicos* que deberían orientar sus resultados.

La jerarquización de la direccionalidad como determinante de la “calidad” ósea es una cuestión *no menor*, teniendo en cuenta **1)** que la resistencia ósea depende únicamente de la calidad mecánica (rigidez, tenacidad) y del *arreglo espacial* (diseño) del tejido mineralizado,^{22,61} **2)** que, de esas dos propiedades, *el diseño es naturalmente muchísimo más variable* (y más sensible a los tratamientos, físicos o farmacológicos) que la calidad del material ²⁰ y **3)** que las osteoporosis no son otra cosa que deterioros osteopénicos mecánicamente significativos del *diseño óseo*.²⁴ Entonces, en todo estudio de fragilidad ósea *debe analizarse la direccionalidad del diseño*.

Lamentablemente, existen tantas formas metodológicas de modelizar experimentalmente los diferentes comportamientos descriptos, como niveles de complejidad reconocen los referidos fenómenos. Y las modelizaciones que debe seleccionar el investigador para cada estudio limitan la interpretación de sus resultados

y su extrapolación a niveles de complejidad más altos o más bajos que los analizados. Técnicamente: *las conclusiones de un estudio jamás pueden trascender los límites impuestos por su modelo y su diseño*.

Existen dos extremos metodológicos al respecto: modelos *reduccionistas*, que estudian los niveles de complejidad más bajos posibles, y modelos *holísticos*, focalizados en los más altos. Es fácil reconocer las ventajas y desventajas de estos dos estilos en Osteología:

- *Los modelos reduccionistas* permiten identificar las moléculas, organelas o células responsables de la producción de un efecto formativo/destructivo, o de un cambio del sensado esteocítico de deformaciones. Pero no pueden establecer cómo impactarán finalmente esos efectos sobre la eficiencia de la estructura del hueso, a menos que también comprendan un estudio *direccional* de la fenomenología investigada. Esto ocurre no solo porque los cambios son difíciles de estudiar al mismo tiempo en niveles de complejidad molecular/celular y también tisular o más alto, sino también porque, a nivel tisular/orgánico, el *mecanostato* siempre tenderá a “recomponer” la estructura ósea afectada en función del control *direccional* de su deformabilidad,¹² para lo cual puede tanto neutralizar como exagerar los efectos producidos a niveles bajos. Además, a nivel de complejidad individual, los mecanismos de homeostasis mineral del medio interno, no asociados a la estructura ósea, podrían perturbar en forma sistémica (*no direccional*) el control *direccional* de la resistencia ósea por el mismo *mecanostato*^{23,25,58} (Figura 1).

- *Los modelos holísticos* (tipo “caja negra”), al contrario, evalúan la repercusión del mecanismo analizado, en términos de calidad mecánica (rigidez, tenacidad) del tejido; de eficacia estructural del diseño del hueso; de resistencia a la fractura, etc., con posible aplicación práctica. Pero esta ventaja exige resignar el análisis mecanístico de los procesos



moleculares/celulares determinantes de los fenómenos observados.

Una de las falsas interpretaciones más difundidas es el aludido abuso del término “regulación”. Muchas publicaciones refieren supuestas “regulaciones” de osteoblastos u osteoclastos, de la formación o la destrucción de hueso, de la modelación o la remodelación, de la masa ósea, y de otras variables, propiedades o procesos óseos que *no se pueden medir o cuantificar biológicamente* y, por lo tanto, *no pueden ser regulados*. Lo que clásicamente se mide y evalúa son simples “modulaciones” de la capacidad sensora (osteocítica) o de la aptitud efectora (blastos, clastos) del *mecanostato* (Figura 1) involucradas en la regulación de “lo único controlable” (que se puede medir biológicamente) en cualquier hueso, que es su rigidez estructural, sobre la base de las deformaciones sensadas.

4. La economía

Las investigaciones “utilitarias” en Osteología deberían utilizar modelos holísticos, que comprendan los niveles de mayor interés clínico: orgánico, sistémico, individual, poblacional. Sin embargo, muchos de los trabajos publicados hasta hace poco han sido reduccionistas, como si hubiera resultado más interesante establecer la cadena de reacciones bioquímicas determinantes de fenómenos a nivel celular, que describir su repercusión a niveles más altos. La explicación de esta aparente paradoja no fue biológica, ni metodológica; es económico-financiera. Últimamente, sin embargo, luego de 4 décadas de divagaciones, está ocurriendo un “vuelco a la holística”: aparte de estudiarse cada vez más profundamente los determinantes biofísicos de la resistencia ósea a la fractura, están también investigándose las interrelaciones músculo-hueso, sus correlaciones clínico-terapéuticas, así como los métodos para evaluarlas no invasivamente. Esto ha motivado la creciente proporción de las respectivas presentaciones en las reuniones de la ASBMR, documentada en

un relato del último encuentro. ¿Por qué esto no ocurrió antes? Igualmente, por simples cuestiones de mercado. De todos modos, aun respetando esa tendencia, el atractivo de los modelos reduccionistas sigue firme en ciertos ámbitos específicos, porque estos permiten el *desarrollo de medicamentos* estimulantes/inhibitorios de los procesos moleculares o celulares estudiados. Y esos medicamentos, cuando se prueban exitosos, se venden en cantidades muy abundantes. Razonablemente, nadie vende *mecanostatos*, mientras millones compran, o compraron, flúor, calcio, vitaminas D, calcitonina, bifosfonatos de primera generación, y datos densitométricos o de indicadores del *turnover* óseo, para diagnosticar o tratar fragilidades óseas osteopénicas.

Al menos, podemos esperar que pronto comiencen a venderse nuevos agentes estimulantes/inhibidores de procesos molecularmente más “cercanos” al *mecanostato*, preferentemente focalizados en los osteocitos. Esto constituiría un espectacular primer paso para lograr el gran objetivo biomecánico: atender las cuestiones derivadas de la asociación terapéutico-fisiátrica coordinada y regionalizada, que permita “orientar” los efectos de los tratamientos para optimizar la *direccionalidad* de las estructuras cuya resistencia se pretende mejorar. Esta alternativa seguramente ofrecería mejores expectativas para lo que finalmente importa: ¡que no se fracturen los huesos de forma evitable!

B. LA EVIDENCIA RECIENTE

Lo antedicho permite comprender mejor algunos aspectos de la determinación biológica de la resistencia ósea, que han integrado factores biofísicos y bioquímicos a nivel de tejido.

En nuestra revisión de la proyección del trabajo osteocítico a niveles supracelulares de complejidad, publicada en esta revista,⁶⁰ jerarquizamos la transducción de los estímulos biofísicos direccionales que afectan a los osteocitos (deformaciones que inducen *shear*-

stress a los canales iónicos) a respuestas bioquímicas (producción de mediadores celulares) estimulantes/inhedoras de la producción/destrucción de hueso, según los casos, por osteoblastos u osteoclastos vecinos.

La Figura 1 esquematiza la participación del sistema SOST/esclerostina/antiesclerostina en la inhibición/activación de la rama osteoblástica del sistema (que también involucra al sistema Wnt/ β -catenina)³⁰ y la del sistema RANK/RANKL/OPG en la rama osteoclástica (también inhibido por otros factores, como PG-E₂, IGF, NO, etc.).³¹

De esos dos sistemas, el "SOST/esclerostina/antiesclerostina" fue descubierto originalmente asociado a la producción osteocítica del mediador, analizando esqueletos genéticamente hipermineralizados,^{29,63} de modo que el punto de arranque biomecánico del mecanismo quedó demostrado de entrada.⁶⁴

En cambio, el sistema "RANK/RANKL/OPG" fue originalmente adscripto a interrelaciones paracrinas entre osteoblastos y osteoclastos localizados "fuera" de la matriz mineralizada, sin la intervención osteocítica. En consecuencia, el sistema "bicelular" blasto/clasto descubierto fue interpretado, por algún tiempo, como un ejemplo de "control" de la masa esquelética ejercido por una modulación *no direccional* de la remodelación, mediada por factores medulares,⁶⁵ que fundamentó y explicó la acción de las drogas que lo afectan en forma directa.⁶⁶ Y solo más adelante se evidenció la *participación central de los osteocitos* en el proceso, quedando los blastos y clastos como meros "efectores" de los mensajes mecánicamente dependientes provenientes del interior del material duro.

Un trabajo fundamental de Xiong⁶⁷ desafió al referido paradigma del funcionamiento del sistema RANKL/RANKL/OPG, cambiando radicalmente su escenario, de "metabólico" (no direccional) a "biomecánico" (direccional). Se demostró que, en ratones seleccionados, los condrocitos hipertróficos o los osteocitos, embebidos en sus correspondientes matrices,

son fuentes esenciales del RANKL que modula (no controla), respectivamente, la reabsorción del cartílago mineralizado y la remodelación ósea, y que el RANKL osteocítico es causal de la pérdida ósea asociada al desuso. Y también, que el RANKL producido directamente por los osteoblastos o por sus progenitores *no* contribuye a la remodelación. Esto implica, necesariamente, que la *modulación* osteocítica de la producción de RANKL es un verdadero transductor-inductor *bioquímico* de los estímulos *biofísicos* sentidos por esas células hacia los osteoclastos vecinos que participan *bioquímicamente* de la modelación (orientada) del hueso. Eso constituiría la verdadera "rama destructora" del sistema *regulatorio* que optimiza la rigidez estructural del hueso-órgano como una "propiedad emergente" de su diseño, espacialmente orientado en función del uso mecánico (Figura 1).

Esos resultados son llamativamente *contrarios* al paradigma en curso hasta hace poco, que sostenía que la remodelación ósea *era* un juego de interacciones "metabólicas" (*no direccionales*) entre blastos y clastos; es decir, células que juegan "fuera" del material mineralizado. ¿Cuántas veces hemos visto -¡hasta hoy mismo!- el colorido esquema de interacciones RANK/RANKL/OPG, en relatos de investigaciones bioquímicas reduccionistas, de excelente factura, pero describiendo solo la parte "extra-matrical" del proceso, hasta lo permitido por el modelo aplicado?^{29,65,68-70} ¿Quién había visto, antes de trabajos como el de Xiong, y de las excelentes revisiones de otros autores,^{32-34,71-74} un osteocito "intercalado" en el sistema de intercambios blasto-clasto, actuando como *factor primario* en la producción de RANKL, ubicado funcionalmente *por encima* de las relaciones entre las otras células?. En síntesis: las nuevas investigaciones reduccionistas, extendiendo su dominio al *nivel tisular*, han evidenciado que el paso limitante de la reabsorción de la matriz está *controlado* por células embebidas en ella, que son las "verdaderas protagonistas" del "pro-



ceso RANKL”, a punto de partida de estímulos... *biofísicos* (Figura 1). El notable “cambio de paradigma” implicado consiste en sustituir el esquema “metabólico” de interacción *bioquímica* “RANK/RANKL/OPG” entre blastos y clastos “ajenos” a la matriz mineralizada (Figura 2, izquierda) por el esquema *biomecánico* que comprende la intervención *primaria* osteocítica en la producción de RANKL, orientada *biofísicamente* a blastos y/o clastos específicos del sitio... obviamente, en función de las deformaciones estructurales provocadas por el uso habitual del hueso (Figura 2, derecha). Un esquema análogo quedaría también propuesto para el sistema “SOST/esclerostina/antiesclerostina” del lado “constructivo” osteoblástico del *mecanostato*³⁰ (Figura 1). Obviamente, en ambas ramas del sistema participan otros factores, algunos ya descubiertos, y otros aun por descubrir; es decir, expuestos al “efecto novedad”, según algún día se verá. Estos avances en la interpretación de qué es lo que realmente “se puede controlar”, y cómo, en los esqueletos, dan al traste con la “vieja” propuesta de control puramente bioquímico, *no direccional*, local (de blasto a clasto o viceversa) o “sistémico” (sistemas endocrinometabólicos que controlan otras variables) de la remodelación, entendida en el sentido metabólico tradicional, como simple generadora de “balances de masa”. Ese mecanismo ha sido reemplazado ahora por un propuesto control local *direccional* de ambas, modelación y remodelación, mediado, desde osteocitos “orientados”, a blastos y clastos vecinos, e independiente de todo sistema de control del equilibrio del medio interno, salvo que actúe como un eventual perturbador. El progreso logrado en la interpretación de estos fenómenos estimula la investigación de fármacos capaces de *modular bioquímicamente* la actividad de una, otra, o ambas ramas (formativa y destructiva) del proceso *regulatorio* de la rigidez estructural (y, colateralmente, de la resistencia) de los huesos a cargo del *mecanostato*, a punto de partida de estímulos *biofísicos* naturales.

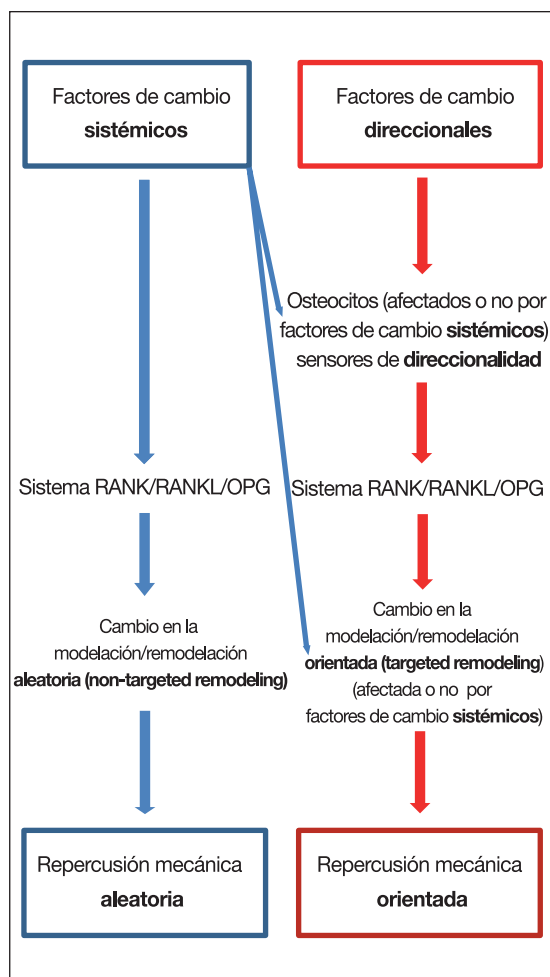


Figura 2. Representación esquemática del proceso de estimulación/inhibición de la destrucción local de hueso representado en la Figura 1 (abajo) en respuesta a estímulos endocrinometabólicos (sistémicos, no direccionales) y mecánicos (direccionales), dependiente del sistema de mediadores RANK/RANKL/OPG, con participación del mecanostato óseo como sistema optimizador de la redistribución del material óseo (diseño del hueso) en función del uso mecánico. Un esquema similar podría también esbozarse para el proceso de formación ósea representado en la Figura 1 (arriba), dependiente de sistema de mediadores esclerostina/antiesclerostina. Se destaca, a la izquierda, la participación de estímulos no direccionales (metabólicos) en la determinación de respuestas modulatorias/remodelatorias no orientadas, y, a la derecha, la de estímulos direccionales (mecánicos), en la determinación de respuestas orientadas (arquitectónicamente significativas), que puede ser modulada (perturbada) por los estímulos metabólicos no direccionales.

Volvamos ahora al planteo implícito en el título: los huesos, ¿son estructuras "bioquímicas" o "biofísicas"?

Lo expuesto sugiere que los huesos funcionan *bioquímicamente*, pero muy influidos en forma direccional por estímulos *biofísicos*, y con resultados relevantes expresables en forma significativa para la vida de relación de

cualquier individuo *en todos los niveles de complejidad juntos*.

Esta interpretación neutraliza la estéril confrontación "bioquímica" vs. "biofísica" para el médico práctico.

Para él, los huesos deben considerarse estructuras simplemente "biológicas", aunque nativa y clínicamente "biomecánicas".

Los médicos se preocupan mucho por las respuestas que la Naturaleza pudiera brindarles a sus preguntas.

A la Naturaleza no le preocupa para nada que los médicos le formulen preguntas incomprendibles.

Conflicto de intereses: Los autores no presentan conflicto de intereses.

(Recibido: noviembre 2014.
Aceptado: enero 2015).

Referencias

1. Thompson DA. On Growth and Form. Cambridge: Cambridge Univ Press, 1948.
2. Varela FG, Maturana HR, Uribe R. Autopoiesis: the organization of living systems. *Curr Mod Biol* 1974; 5:187-96.
3. Wainwright SA, Biggs WD, Currey JD, Gosline JM. Mechanical Design in Organisms. Londres: Arnold, 1976.
4. Riedl R. Order in Living Organisms. Chichester: Wiley, 1978.
5. Ideker T, Galitski T, Hood L. A new approach to decoding life: Systems Biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001; 2:343-72.
6. Trüssel A, Müller R, Webster D. Toward Mechanical Systems Biology in bone. *Ann Biomed Eng* 2012; 40:2475-87.
7. Mainzer K. Symmetry and Complexity. Nueva Jersey: World Scientific, 2005.
8. Bonewald L, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* 2008; 42:606-15.
9. Carter DR, Orr TE, Fyhrie DP, Schurman DJ. Influences of mechanical stress on prenatal and postnatal skeletal development. *Clin Orthop Relat Res* 1987; 219:237-50.
10. Ascenzi A, Bonucci E. An investigation of the mechanical anisotropy of the alternately-structured osteons. *Calcif Tissue Int* 1977; 22(Suppl):553-5.
11. Ascenzi A, Improta S, Portigliatti Barbos M, et al. Distribution of lamellae in human femoral shafts deformed by bending with inferences on mechanical properties. *Bone* 1987; 8:319-25.
12. Frost HM. Bone's mechanostat: a 2003 update. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2003; 275:1081-101.
13. Vatsa A, Breuls RG, Semeins CM, et al. Osteocyte morphology in fibula and calvaria. *Bone* 2008; 43:452-8.



14. Frost HM, Ferretti JL, Jee WSS. Some roles of mechanical usage, muscle strength, and the mechanostat in skeletal physiology, disease, and research. *Calcif Tissue Int* 1998; 62:1-7.
15. Khan K, McKay H, Kannus P, Bailey D, et al. Physical Activity and Bone Health. Champaign (IL): Human Kinetics, 2001.
16. Wilks DC, Winwood K, Gilliver SF, et al. Bone mass and geometry of the tibia and the radius of runners and sedentary control participants: a pQCT study. *Bone* 2009; 45:91-7.
17. Feldman S, Capozza RF, Mortarino P, et al. Site and sex effects on tibia structure in distance runners and untrained people. *Med Sci Sports Exerc* 2012; 44:1580-8.
18. Rittweger J, Goosey-Tolfrey VL, Cointy GR, Ferretti JL. Structural analysis of the human tibia in men with spinal cord injury by tomographic (pQCT) serial scans. *Bone* 2010; 47:511-8.
19. Ferretti JL, Capozza RF, Zanchetta JR. Mechanical validation of a tomographic (pQCT) index for noninvasive estimation of rat femur bending strength. *Bone* 1996; 18:97-102.
20. Cointy GR, Ferretti JL, Reina PS, Nocciolino LM, Rittweger J, Capozza RF. The pQCT “Bone Strength Indices”. *J Musculoskel Neuron Interact* 2014; 14:29-40.
21. Capozza RF, Rittweger J, Reina P, et al. pQCT-assessed relationships between diaphyseal design and cortical bone mass and density in the tibiae of healthy sedentary and trained men and women. *J Musculoskel Neuron Interact* 2013; 13:195-205.
22. Martin RB, Burr DB, Sharkey NA. Skeletal Tissue Mechanics. New York: Springer, 1998.
23. Ferretti JL, Frost HM. Osteopenias and osteoporoses. In: An YH (ed). Orthopaedic Issues in Osteoporosis. Boca Raton: CRC Press, 2002.
24. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* 2001; 285:785-91.
25. Ferretti JL, Cointy GR, Capozza RF, Frost HM. Bone mass, bone strength, muscle-bone interactions, osteopenias and osteoporoses. *Mech Ageing Devel* 2003; 124:269-79.
26. Frost HM. Dynamics of bone remodeling. In: Frost HM (ed). Bone Biodynamics. Boston: Little-Brown, 1964.
27. Kanis JA, Johnell O, Olden A, Jonsson B, De Laet C, Dawson A. Risk of hip fracture according to the WHO criteria for osteopenia and osteoporosis. *Bone* 2000; 27:585-90.
28. Garnero P, Delmas PD. Contribution of BMD and bone turnover markers to the estimation of risk of osteoporotic fracture in postmenopausal women. *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; 4:50-63.
29. Janssens K, Van Hul W. Molecular genetics of too much bone. *Hum Mol Genet* 2002; 11:2385-93.
30. Paszty C, Turner C, Robinson MK. Sclerostin: a gem from the genome leads to bone-building antibodies. *J Bone Miner Res* 2010; 25:1897-904.
31. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011; 26:229-38.
32. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell... and more. *Endocr Rev* 2013; 34:658-90.
33. Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, et al. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bone* 2013; 54:182-90.
34. Bellido T. Osteocyte-driven bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 2014; 94:25-34.
35. Bonewald L. Osteocytes. In: Marcus DF, Nelson R, Rosen C (eds). Osteoporosis. New York: Elsevier, 2007; pp.169-90.
36. Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002; 111:305-17.
37. Takeda S, Eleftheriou F, Karsenty G. Common endocrine control of body weight, reproduction, and bone mass. *Annu Rev Nutr* 2003; 23:403-11.
38. Kondo H, Nifuji A, Takeda S, et al. Unloading induces osteoblastic cell suppression and osteoclastic cell activation to lead to bone loss via sympathetic nervous system. *J Biol Chem* 2005; 30192-200.
39. Wet J, Ducy P. Co-dependence of bone and energy metabolisms. *Arch Biochem Biophys* 2010; 503:35-40.
40. Ducy P, Karsenty G. The two faces of serotonin

- in bone biology. *J Cell Biol* 2010; 191:7-13.
41. Bliziotis M. Update in serotonin and bone. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:4124-32.
 42. Nagao M, Feinstein TN, Ezura Y et al. Sympathetic control of bone mass regulated by osteopontin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108:17767-72.
 43. Karsenty G, Oury F. The central regulation of bone mass, the first link between bone remodeling and energy metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:4795-801.
 44. Karsenty G, Gershon MD. The importance of the gastrointestinal tract in the control of bone mass accrual. *Gastroenterology* 2011;141:439-42.
 45. Karsenty G. The mutual dependence between bone and gonads. *J Endocrinol* 2012; 213:107-14.
 46. Hanyu R, Wehbi VL, Hayata T, et al. Anabolic action of parathyroid hormone regulated by the β_2 -adrenergic receptor. *Proc Nat Acad Sci USA* 2012; 109:7433-8.
 47. Di Girolamo DJ, Clemens TL, Kousteni S. The skeleton as an endocrine organ. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8:674-83.
 48. Amstrup AK, Sikjaer T, Mosekilde L, Rejnmark L. Melatonin and the skeleton. *Osteopor Int* 2013; 24:2919-27.
 49. Wong IP, Zengin A, Herzog H, Baldock PA. Central regulation of bone mass. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19:452-8.
 50. Hamrick MW. The skeletal muscle secretome: an emerging player in muscle-bone crosstalk. *BoneKey Rep* 2012:Art.Nr.60.
 51. Brotto M, Johnson ML. Endocrine crosstalk between muscle and bone. *Curr Osteopor Rep* 2014; 12:135-41.
 52. Cianferotti L, Brandi ML. Muscle-bone interactions: basic and clinical aspects. *Endocrine* 2014; 45:165-77.
 53. Lai X, Price C, Lu XL, Wang L. Imaging and quantifying solute transport across periosteum. *Bone* 2014; 66:82-9.
 54. Karasik D, Kiel DP. Evidence for pleiotropic factors in genetics of the musculoskeletal system. *Bone* 2010; 46:1226-37.
 55. Karsenty G, Ferron M. The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature* 2012; 481:314-20.
 56. Ferretti JL, Spiaggi EP, Capozza RF, Cointy GR, Zanchetta JR. Interrelationships between geometric and mechanical properties of long bones from three rodent species with very different biomass. *J Bone Miner Res* 2001; 16:S423-5.
 57. Ferretti JL, Capozza RF, Mondelo N, Zanchetta JR. Interrelationships between densitometric, geometric, and mechanical properties of rat femora. *J Bone Miner Res* 1993; 8:1389-96.
 58. Ferretti JL, Cointy GR, Capozza RF. Non-invasive analysis of bone mass, structure, and strength. In: An YH (ed). *Orthopaedic Issues in Osteoporosis*. Boca Raton: CRC Press, 2002.
 59. Cointy GR, Capozza RF, Negri AL, Roldán EJA, Ferretti JL. Biomechanical background for a noninvasive assessment of bone strength and muscle-bone interactions. *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; 4:1-11.
 60. Ferretti JL, Cointy GR, Capozza RF. Osteocitos mirando hacia arriba (o "La estructura ósea vista desde abajo"). *Actual Osteol* 2014; 10:45-82 (y Comentario al Editor+Respuesta, *Actual Osteol* 2014; 10:211-15).
 61. Ferretti JL. Biomechanical properties of bone. In: Genant HK, Guglielmi G, Jergas M (eds). *Bone Densitometry and Osteoporosis*. Berlin: Springer, 1998.
 62. Hall BK. *Bones and Cartilage. Development and Evolutionary Skeletal Biology*. New York: Elsevier, 2005.
 63. Semenov MV, He X. LRP5 mutations linked to high bone mass diseases cause reduced LRP5 binding and inhibition by SOST. *J Biol Chem* 2006; 281:38276-84.
 64. Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J* 2003; 23:6267-76.
 65. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003; 111:1221-30.
 66. Body JJ, Bergmann P, Boonen S, et al. Evidence-based guidelines for the pharmacological treatment of postmenopausal osteoporosis.



- Osteopor Int* 2010; 1657-80.
67. Xiong J, Onal M, Jilka RL, et al. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat Med* 2012; 17:1235-41.
68. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23:279-302.
69. Boyle WJ, Simonet WES, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423:337-42.
70. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANK/RANKL system for bone and vascular disease. *JAMA* 2003; 292:490-5.
71. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med* 2011; 10:1231-4.
72. Xiong J, O'Brien CA. Osteocyte RANKL: new insight into the control of bone remodeling. *J Bone Miner Res* 2012; 27:499-505.
73. O'Brien CA, Nakashima T, Takayanagi H. Osteocyte control of osteoclastogenesis. *Bone* 2013; 54:258-63.
74. Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, Kennedy O. Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcif Tissue Int* 2014; 94:5-24.

CONSENSOS Y EDUCACIÓN EN OSTEOLOGÍA / Consense Documents and Osteology Education

GUÍA DE LA FEDERACIÓN ARGENTINA DE SOCIEDADES DE ENDOCRINOLOGÍA SOBRE DIAGNÓSTICO, PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA HIPOVITAMINOSIS D *

Coordinador: Ariel Sánchez.¹

Expertos: Ariel Sánchez,¹ Beatriz Oliveri,² José Luis Mansur,³ Erich Fradinger.⁴

Colaboradora: Silvina Mastaglia.⁵

1. Centro de Endocrinología, Rosario. Expresidente de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral. 2. Investigadora del Consejo Nacional de Ciencia y Técnica (CONICET); Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET-UBA; a cargo de la Sección Osteopatías Médicas. Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, 3. Centro de Endocrinología y Osteoporosis, La Plata. 4. Laboratorio del Instituto de Investigaciones Metabólicas, Buenos Aires. 5. Investigadora Asistente del CONICET, Laboratorio de Enfermedades Metabólicas Óseas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET-UBA; y Médica de Planta Honoraria de la Sección Osteopatías Médicas, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

Las recomendaciones hechas en la presente Guía se basan en el sistema GRADE usado por la Sociedad de Endocrinología de los Estados Unidos para sus consensos y guías de práctica clínica (Swiglo y col., *J Clin Endocrinol Metab* 2008; doi: 10.1210/jc.2007-1907).

La calidad de la evidencia se clasifica en cuatro niveles: ⊕ (muy baja), ⊕⊕ (baja), ⊕⊕⊕ (moderada) y ⊕⊕⊕⊕ (alta).

Las recomendaciones que hace el panel de expertos redactores de esta Guía se dividen en “fuertes” y “débiles”. Una recomendación fuerte (simbolizada con 1) significa que hay evidencia de alta calidad que la respalda y que la mayor parte de los pacientes implicados se beneficiarán con la indicación sugerida, con mínimos efectos indeseables. Una recomendación débil o sugerencia (simbolizada con 2) denota que no hay evidencia de alta calidad que la respalde, que la posibilidad de obtener un beneficio de la indicación es varia-

ble en los sujetos que la siguen, y que esta indicación deberá discutirse entre el médico y el paciente, evaluando los riesgos y beneficios.

Introducción

La vitamina D tiene un amplio papel en la salud, y no sólo en lo relacionado con el metabolismo óseo, sino también en lo referente al sistema cardiovascular, el desarrollo neurológico, la inmunomodulación, y la regulación del crecimiento celular.

Hay más de 900 genes (aproximadamente 10% del genoma) que responden a la vitamina D; 80% de esos genes son estimulados por ella; los demás son inhibidos.¹

Metabolismo de la vitamina D

La vitamina D₃ o colecalciferol se genera en la piel de animales superiores por efecto de los rayos ultravioletas de la luz solar, a partir

*Artículo publicado en *Rev Argent Endocrinol Metab* 50(2), 2013. Se reproduce en Actualizaciones en Osteología por cortesía de la publicación original.



del 7-deshidrocolesterol. Un proceso parecido ocurre en los vegetales, generándose vitamina D₂ o ergocalciferol. Hay pocos alimentos ricos en vitamina D (huevos, algunos pescados marinos como la sardina, el atún y la caballa, leche, manteca, hongos). Sea cual sea el origen de la vitamina D circulante (alimentario, cutáneo o farmacológico), durante su paso por hígado es hidroxilada en posición 25.

La 25-hidroxivitamina D, 25OHD o calcidiol es el sustrato de la 1-alfa hidroxilasa, enzima normalmente operante en el parénquima renal, que lo convierte en 1,25-dihidroxivitamina D, o calcitriol, que es el metabolito activo. Esta reacción resulta estimulada por la hormona paratiroidea (PTH), los estrógenos y la hipofosfatemia, entre otros factores, y resulta inhibida por su propio producto –el calcitriol–, la calcitonina, el fósforo y el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23).

El calcidiol se encuentra en suero en concentraciones del orden de ng/ml, mientras que el calcitriol está en cantidades de pg/ml. La proteína específicamente encargada del transporte plasmático de la vitamina D y sus metabolitos es la DBP (*D Binding Protein*), de la familia de la albúmina. Tiene alta capacidad (está saturada en menos del 5% en humanos) y alta afinidad por la vitamina, particularmente por los metabolitos 25-hidroxilados.² El metabolito que se usa para evaluar el estatus de vitamina D corporal es el calcidiol, sobre todo porque aun en situaciones de hipovitaminosis severa, el nivel de calcitriol se mantiene dentro del rango normal, a expensas de un hiperparatiroidismo secundario. La vitamina D se almacena en los tejidos, sobre todo en hígado, músculos y grasa. Las personas que se exponen poco al sol, las de piel oscura, las que habitan en latitudes elevadas y los obesos tienen mayor probabilidad de sufrir hipovitaminosis D. El receptor de vitamina D (VDR) y la 1-alfa hidroxilasa están expresados en casi todos los tejidos humanos, lo que plantea la probabilidad de efectos autocrinos y paracrinos de la hormona D.

Nuevas técnicas de investigación de la transcripción amplían nuestro conocimiento sobre las acciones moleculares de la vitamina D.

El VDR, activado por el ligando, forma en el núcleo celular un heterodímero con el receptor de retinoides (RXR) y se une directamente a regiones regulatorias del *locus* del gene blanco. El propio VDR y varias hidroxilasas (CYP24A1, CYP27B1) son también blancos directos del calcitriol. Luego se sintetiza ARNm y siguen luego las cascadas metabólicas para dar la respuesta biológica específica que lleva a la regulación del metabolismo fosfocálcico, entre muchos otros efectos. Ciertos cambios en la expresión de algunos genes blanco pueden resultar en modificaciones biológicas del mensaje hormonal.^{1,2}

Efectos de la vitamina D sobre el intestino

El sistema endocrino de la vitamina D tiene como actor principal –como se dijo más arriba– a una hormona esteroide, el calcitriol. Este actúa sobre el intestino por vía genómica y no genómica. La vía genómica sigue un mecanismo muy bien caracterizado, semejante al de otros esteroides. La hormona se liga a un receptor: una proteína intracelular de alta afinidad presente en el núcleo, que se activa por este fenómeno.

El complejo hormona-receptor se liga a secuencias reguladoras del ADN nuclear y controla la transcripción de ARN mensajeros específicos que a su vez controlan la síntesis de proteínas específicas (osteocalcina, fosfatasa alcalina, colágeno, calbindina-D, etc.). La calbindina-D promueve la absorción de calcio por difusión facilitada: ligamiento del calcio en el borde en cepillo o superficie luminal (que se incorpora por canales de calcio o por transportadores) y traslado del complejo calbindina-Ca a la membrana basal donde transfiere el ion a una bomba Ca-ATPasa que lo vuelca a la circulación. Mediante la modulación de la concentración citosólica de calcio y la síntesis de proto-oncogenes regula, además, la proli-

feración y diferenciación celular. Los efectos sobre la proliferación y diferenciación celular son evidentes 1-2 horas después de la unión de la hormona al receptor. El proceso de proliferación y diferenciación celular se manifiesta en el aumento del número y en el perfeccionamiento de las funciones de las células de las microvellosidades.

La vía no genómica modula un transporte rápido de calcio llamado "transcaltaquia", que involucra la apertura de canales de calcio operados por el voltaje a través de la membrana, transporte vesicular de calcio asociado a la polimerización de microtúbulos que marcan el camino tráfico entre membranas.

El receptor de membrana de la vía no genómica es peculiar porque es afín con el del citosol (ligan el mismo esteroide: 1,25-dihidroxitamina D), pero con diferente dominio proteico para la unión. Los procesos que participan en la absorción intestinal de calcio representan el primer paso para el ingreso del calcio de la dieta en los procesos fisiológicos que contribuyen tanto al crecimiento del esqueleto como a la homeostasis cálcica (intra y extracelular). Existe una gran variación en la ingesta cálcica del hombre (300-1.500 mg/día) y en las necesidades fisiológicas a través de la vida (crecimiento, pubertad, gestación, lactancia, menopausia y envejecimiento). Para asegurar la recuperación del calcio de la dieta diaria, es necesario que el intestino se adapte simultáneamente a las modificaciones fisiológicas y a la dieta. Estos procesos son perfeccionados por el sistema endocrino del colecalciferol.¹

Efectos óseos de la vitamina D

El calcitriol posee una acción similar a la parathormona al estimular la resorción ósea rápidamente ante una disminución de la calcemia iónica, para favorecer su normalización.

La vitamina D favorece la cantidad y calidad ósea, por los siguientes mecanismos: disminuye la reabsorción ósea inducida por PTH

y citokinas, aumenta la formación de hueso cortical, disminuye la porosidad cortical, aumenta el número y la función de osteoblastos a través de la inducción de factores de crecimiento óseo y de la síntesis de proteínas de la matriz ósea. Además, aumenta la resistencia ósea y promueve la reparación de microfracturas, ya que sostiene la vitalidad y la función de los osteocitos. Los osteoblastos expresan 1-alfa hidroxilasa y también 24-hidroxilasa; en cultivos de osteoblastos, la 25OHD permite la síntesis de osteocalcina, y sus niveles se correlacionan con los de calcitriol en el medio. La carencia de vitamina D disminuye la función de los osteoblastos, induce osteoclastogénesis mediada por el RANKL generando pérdida ósea. La deficiencia de vitamina D también se asocia con un mayor cociente RANKL/osteoprotegerina, el mecanismo humoral responsable de la mayor actividad resorptiva. El calcitriol es un inductor del VDR y de la fosfolipasa C (PLC) en células óseas en cultivo. Muy recientemente se ha demostrado en cultivos de osteoclastos que la 25OHD induce la expresión de 1-alfa hidroxilasa, sustentando la hipótesis de que la vitamina D tiene un efecto modulador sobre estas células. Otras células que reciben el mensaje de la vitamina D son los condrocitos, y es posible que entre las funciones de éstos esté controlar la actividad de los osteoclastos: los condrocitos estimulados por el calcitriol sintetizan el ligando del RANK (RANKL), y este estimula la osteoclastogénesis. La inactivación del VDR en condrocitos reduce la expresión del FGF-23, hormona expresada habitualmente por los osteoblastos (son conocidos la acción fosfatúrica del FGF-23, capaz de inhibir un transportador tubular renal de fósforo, y su efecto reductor de la síntesis de calcitriol). Se puede concluir que la señalización a través del VDR en condrocitos es importante para la función de los osteoclastos y para una correcta homeostasis del fósforo. Clásicamente se acepta que la hipovitaminosis D impide la normal mineralización del osteoide y lleva a una severa enfermedad ósea, la



osteomalacia o el raquitismo (este es la expresión clínica en niños del mismo proceso histopatológico conocido como osteomalacia).² La administración oral de vitamina D₂, D₃, o calcidiol cura la osteomalacia en humanos y animales. La administración de calcitriol aumenta la absorción intestinal de calcio, pero no es suficiente para normalizar los defectos de mineralización. Por otra parte, a mayor nivel de 25OHD en el suero de ratas raquílicas, menor la demora en la mineralización: la administración de pequeñas dosis de vitamina D resuelve la osteomalacia; se requieren niveles séricos >10 ng/ml para su curación, pero los animales persisten con osteopenia. Se requieren niveles séricos altos (>32 ng/ml) para mejorar la masa ósea. Hay buena correlación entre la concentración sérica de 25OHD y la masa ósea. Esto es consistente con las actuales recomendaciones de niveles de 25OHD sérico en seres humanos para prevenir fracturas. En ratones *knock out* para el VDR se produce osteomalacia. Si a estos ratones se les restaura el VDR humano en el duodeno por técnicas transgénicas, una dieta “de rescate” rica en Ca, P y vitamina D cura la osteomalacia. Por otro lado, la sobreexpresión del VDR en ratones transgénicos incrementa la masa ósea. En un modelo de rata castrada, el calcitriol acelera la reparación de la fractura femoral experimental y la remodelación ósea. En animales se ha visto que a niveles muy altos (160 ng/ml) la 25OHD puede activar directamente el VDR, lo que permite explicar los cuadros de intoxicación por vitamina D que pueden verse en la clínica.¹

Efectos renales de la vitamina D

El calcitriol potencia el efecto de la PTH para facilitar la reabsorción del calcio en el túbulo contorneado distal, aumentando el número de receptores a PTH y su afinidad por la hormona. Además la vitamina D aumenta la síntesis de calbindinas y del canal epitelial de calcio (TRPV5) en túbulos distales. Otro efec-

to renal importante del calcitriol es la inhibición de la 1 alfa-hidroxilasa y la inducción de la 24-hidroxilasa. Además, el calcitriol, estimulando el FGF-23, participa en la regulación del metabolismo del fósforo.³

EPIDEMIOLOGÍA Y PATOLOGÍA DE LA CARENCIA DE VITAMINA D

La hipovitaminosis D, definida por los bajos niveles circulantes de 25OHD, está ampliamente distribuida mundialmente en los 6 continentes y representa un problema de Salud Pública.⁴

Las clasificaciones del estado nutricional de vitamina D han variado en los últimos años; la más aceptada en la actualidad es la que considera como niveles de deficiencia de vitamina D a aquéllos de 25OHD <20 ng/ml,⁵ aclarando que muchos expertos opinan que los niveles óptimos de 25OHD son de ≥30 ng/ml, tanto por su acción sobre las acciones clásicas sobre el metabolismo mineral como sobre las no clásicas para la salud general.⁶ Si bien los estudios no son siempre comparables, ya que han utilizado diferentes técnicas de medición de 25OHD, y éste es un metabolito cuya cuantificación puede presentar variaciones según el método utilizado (ver más adelante en esta Guía), se analizará la prevalencia del déficit de vitamina D en los diferentes grupos de edad, tanto a nivel mundial como nacional, basados en la clasificación mencionada.

1.0 Estado nutricional de vitamina D en las diferentes etapas de la vida.

1.1 Hipovitaminosis en embarazadas y neonatos

- Evidencia

Se ha reportado que las embarazadas con un nivel menor de 15 ng/ml antes de la semana 22 tienen un riesgo de preeclampsia 5 veces mayor. A su vez, los neonatos de las mu-

jer con preeclampsia tuvieron un riesgo de tener niveles de 25OHD <15 ng/ml dos veces mayor. Así, el déficit de vitamina D materno puede ser un factor de riesgo independiente para preeclampsia.⁷ La suplementación con vitamina D en el embarazo temprano debe evaluarse para prevenirla.⁸

Los niveles de 25OHD del feto durante todo el embarazo dependen de los niveles maternos de 25OHD, que pasan a través de la placenta a la circulación fetal. Se estima que 60-80% del nivel circulante de 25OHD en el recién nacido es de origen materno. Al nacer el bebé, sus niveles circulantes son 60-80% de los maternos. Considerando que la vida media de la 25OHD es aproximadamente de tres semanas, los niveles de 25OHD comienzan a disminuir en el primer mes de vida si los bebés no reciben suplementación con vitamina D o comienzan a sintetizar vitamina D por exposición a la radiación solar.

En los últimos años se ha recomendado limitar en los menores de 6 meses la exposición solar por el posible daño cutáneo, con lo cual hay mayor riesgo de estado nutricional inadecuado en infantes. Los niños alimentados a pecho exclusivamente son un grupo de riesgo, ya que los niveles promedio en la leche materna son bajos: ~22 UI/l (rango 15-50 UI/l) incluso en madres que reciben dosis habituales de vitamina D.⁹ A nivel mundial (Europa, Estados Unidos, Asia, Medio Oriente, Oceanía) se han publicado en neonatos altas prevalencias de deficiencia de vitamina D, incluso utilizando niveles de corte de 25OHD muy bajos, entre 10 y 15 ng/ml. Dichos porcentajes varían entre 10 y 96%. Los mayores porcentajes se observaron en niños de piel oscura, especialmente de raza negra, en altas latitudes, nacidos en invierno o al final de primavera, hijos de madres con muy escasa exposición solar por razones religioso-culturales, con lactancia materna exclusiva y sin suplementación de vitamina D.¹⁰⁻¹⁶

Estudios efectuados en la Argentina en sangre de cordón de neonatos de Ushuaia

(55° S), Río Gallegos (52° S) y Buenos Aires (34° S) al final del invierno mostraron niveles promedio de 25OHD de 4,0±2,7, 8,9±5,7 y 11,3±6,0 ng/ml, respectivamente. Niveles de 25OHD ≤10 ng/ml se observaron en el 100% de los neonatos de Ushuaia, 78% de los de Río Gallegos y 28% de los de Buenos Aires. Niveles <20 ng/ml en todos los de Ushuaia, 96% de Río Gallegos y 90% de los de Buenos Aires. En esos mismos grupos los niveles maternos oscilaron entre 6,3±4,8, 15,1±8,1 y 14,4±8,7 ng/ml, con porcentajes de deficiencia severa (inferior a 10 ng/ml) en 81% de las madres de Ushuaia, 30% de las de Río Gallegos y el 43% de las de Buenos Aires. La prevalencia de niveles de 25OHD <20 ng/ml fue del 100% en las madres de Ushuaia, 96% en las de Río Gallegos y 81% de las de Buenos Aires.^{17,18} Un estudio posterior realizado en embarazadas de hospitales de la ciudad de Buenos Aires en primavera y verano mostró que 88% presentaban niveles de 25OHD < 30 ng/ml, siendo menores en aquellas mujeres de nivel socioeconómico bajo.¹⁹

- Comentarios

Una reciente revisión Cochrane determina que no hay evidencia de ventajas para la mujer embarazada con la suplementación de vitamina D, salvo para la prevención de la preeclampsia en mujeres de riesgo (hipertensas, o que ya han tenido preeclampsia en embarazos previos).²⁰ En los neonatos e infantes la deficiencia de vitamina D se asocia a menor crecimiento postnatal, mayor riesgo de hipocalcemia –que si es severa puede causar incluso síndrome convulsivo y cardiomiopatía–, y se ha asociado a mayor incidencia de otras patologías como diabetes tipo 1.²¹

- Recomendaciones

Idealmente, habría que determinar el nivel sérico de 25OHD en mujeres embarazadas. De no ser posible, nosotros recomendamos



suplementar con una dosis de 800-1.200 UI diarias (1/⊕⊕⊕).

Actualmente se carece de evidencia que muestre la inocuidad de dosis altas intermitentes (100.000 UI o más) en mujeres embarazadas. En neonatos e infantes de hasta 1 año de edad, la suplementación recomendada es de 400 UI diarias (1/⊕⊕⊕⊕).

1.2 Hipovitaminosis en niños y adolescentes

- Evidencia

Estudios en niños y adolescentes de EUA muestran también alta prevalencia de niveles inadecuados de vitamina D. En una población entre 6 y 21 años, 68% presentaban niveles inferiores a 30 ng/ml; la tasa ascendía al 94% en la población de raza negra *versus* el 51% en los de raza blanca. En otras ciudades norteamericanas más del 50% de los adolescentes hispanicos y de raza negra y 48% de preadolescentes presentaban niveles inferiores a 20 ng/ml.^{22, 23} En países del Medio Oriente las adolescentes presentan déficit severo (25OHD menos de 10 ng/ml) con tasas de 70% en Irán, 80% en Arabia Saudita, y 32% en el Líbano. Esto se atribuye principalmente a los hábitos culturales, de casi nula exposición solar de la piel, a pesar de poseer excelente heliofanía.²⁴

En Asia, el 89% de mujeres adolescentes de Pekín (China) presentaban niveles de 25OHD inferiores a 20 ng/ml, y en la India 73% de las adolescentes tenían niveles inferiores a 12 ng/ml.²⁵ En un reciente estudio que incluyó adolescentes de nueve países de Europa, 39% presentaban niveles de 25OHD entre 30 y 20 ng/ml, 27% entre 19 y 11 ng/ml y 15% inferiores a 11 ng/ml.²⁶

En la Argentina se han estudiado principalmente los niños de ciudades del sur del país: Ushuaia, Río Gallegos y Comodoro Rivadavia (55° a 42° S), y se han comparado con zonas centrales como Buenos Aires y Tucumán. En niños sin suplementación con vitamina D en las ciudades nombradas, con edades entre 9

meses y 13 años, los niveles de 25OHD promedio al final del invierno oscilaron entre 9,3 y 14,1 ng/ml. En Buenos Aires (34° S) en niños de 4 a 16 años los niveles fueron 20,2 ng/ml y en Tucumán (26° S), en niños de 5 a 9 años, 19,6 ng/ml.^{17, 27} En los neonatos e infantes la deficiencia de vitamina D se asocia a menor crecimiento postnatal, mayor riesgo de hipocalcemia –que si es severa puede causar incluso síndrome convulsivo y cardiomiopatía–, y se ha asociado a mayor incidencia de otras patologías como diabetes tipo 1. En la niñez y adolescencia, hasta completar el crecimiento longitudinal y el cierre de los cartílagos de crecimiento, la deficiencia severa de vitamina D aumenta el riesgo de raquitismo carencial con las consecuentes deformidades óseas.² Las presentes recomendaciones de suplementación en niños y adolescentes coinciden con las de la Academia Americana de Pediatría.²¹

- Recomendaciones

En niños mayores de 1 año y hasta la aparición de la pubertad, la dosis recomendada es de 600 UI diarias (1/⊕⊕⊕).

Desde la pubertad y hasta los 18 años de edad, la dosis recomendada es de 800-1.000 UI diarias (1/⊕⊕⊕⊕).

Raquitismo

El raquitismo carencial fue descripto por primera vez en el siglo XVII, observándose una alta incidencia con la revolución industrial, que disminuyó posteriormente mediante la suplementación con aceite de hígado de bacalao y el uso de alimentos suplementados. Sin embargo, en las últimas décadas han reaparecido casos de raquitismo tanto en Europa como en EUA, principalmente en grupos minoritarios de inmigrantes de piel oscura (de la India y del África) o en aquellas comunidades con dietas especiales (como las macrobióticas) o con hábitos de poca exposición al aire libre. En algunos países de Asia (Mongolia, Ti-

bet), Medio Oriente, y en ciertas regiones de África (Etiopía, Yemen) se ha observado una elevada prevalencia (entre 27 y 70%) de raquitismo carencial.^{24, 28, 29}

El cuadro clínico del raquitismo se caracteriza por retardo del crecimiento, ensanchamiento de las extremidades en zonas epifisarias, con tumefacción dolorosa. A veces se observa aumento de tamaño de los cartílagos costales ("rosario raquítico"). Cuando inician la deambulación, los niños comienzan a deformar sus piernas. El laboratorio muestra típicamente calcemia y fosfatemia bajas y aumento de la tasa sérica de fosfatasa alcalina. La PTH sérica está elevada, y al dosar la 25OHD se comprueba la deficiencia de mayor o menor severidad. La excreción urinaria de calcio disminuye, y la reabsorción tubular de fósforo es baja. Estos cambios reflejan la baja absorción intestinal de calcio y fósforo, y el aumento de la reabsorción tubular de calcio por el hiperparatiroidismo secundario. Los signos radiológicos son deficiente mineralización epifisaria, márgenes óseos difusos, menor contraste, y disminución de los centros de osificación. La histopatología ósea es característica (ver Osteomalacia, más adelante en esta sección).³⁰

Nota: existen otras formas de raquitismo no nutricional, cuya fisiopatología y tratamiento son diferentes, y sobre las que no nos podemos extender acá.

En nuestro país se realizó un estudio para evaluar la incidencia de raquitismo nutricional en la Argentina, evaluando la incidencia por 1.000 internaciones por año en la población de 0 a 14 años. Se observó que desde el nacimiento a los 14 años la incidencia de raquitismo nutricional era 2,7 veces mayor en la Patagonia (39° a 54° S) comparada con la de la región pampeana y 8,5 veces mayor que la del resto del país, y que a medida que la latitud aumentaba en la Patagonia la incidencia también, siendo 15 veces mayor en Santa Cruz que en el noreste. Esta mayor incidencia no se daba solo en los niños del primer año de vida sino también en niños mayores, proba-

blemente asociada a niveles bajos de 25OHD observados en todas las edades, como se ha descripto en el Sur del país.²⁷

Efecto del déficit de vitamina D sobre la masa ósea pico

El pico de masa ósea (masa ósea máxima alcanzada entre la 2ª y la 3ª décadas según el área esquelética evaluada) está determinado por factores endógenos (genéticos y hormonales) y exógenos (nutrición, actividad física). El efecto de la deficiencia de vitamina D y de la suplementación con vitamina D sobre la masa ósea ha sido escasamente estudiado a nivel mundial, y los resultados son controvertidos.³¹⁻³⁵ Con el objeto de investigar el efecto de los bajos niveles invernales de vitamina D sobre la masa ósea pico, se estudió un grupo de población adulta joven (18-30 años y de ambos sexos) que habían vivido en Ushuaia (55° S) durante su infancia, adolescencia y juventud, y que nunca recibieron suplementos de vitamina D (excepto algunos en el primer año de vida). Ushuaia se caracteriza por poseer radiación ultravioleta baja, incluso nula durante el invierno.³⁶ Este grupo se comparó con un grupo similar en edad y sexo de residentes habituales de Buenos Aires (34° S), que tiene todo el año una adecuada radiación ultravioleta. En ambas poblaciones se evaluó la densidad mineral ósea de radio distal y ultradistal y no se halló ninguna diferencia en la masa ósea entre ambas poblaciones. Sin embargo, se encontró una densidad mineral menor en radio distal en el subgrupo de mujeres de Ushuaia con ingesta habitual de calcio menor a 800 mg/día que en aquellas con ingesta mayor de 800 mg/día de calcio.³⁷

Osteomalacia

Las características clínicas de la osteomalacia en adultos incluyen dolor óseo, debilidad muscular, y dificultad para caminar.

La debilidad muscular es a predominio



proximal, y los pacientes no pueden incorporarse de una silla, subir escaleras, o quitarse una camiseta. El laboratorio muestra las mismas características que en el raquitismo. Radiológicamente hay osteopenia y menor nitidez en los márgenes óseos. Puede haber pseudofracturas (zonas de Looser): trazos radiolúcidos a través de la placa cortical, a veces con márgenes escleróticos. En la centelleografía ósea estas zonas aparecen como puntos hipercaptantes. La densitometría ósea indica valores bajos; como la cantidad de osteoide no mineralizado es alta, al instituir el tratamiento pueden documentarse notables aumentos (hasta del 50%) en la densidad mineral ósea. La histopatología, hecha en hueso sin descalcificar, muestra un volumen de osteoide no mineralizado superior al 5% –y generalmente superior al 10%– del volumen total del hueso; los osteoclastos son numerosos ya que la resorción está acelerada; cuando se hace marcación con tetraciclina las bandas dobles no son visibles o resultan difusas, de muy baja intensidad. Las fracturas por fragilidad son otra consecuencia clínica de la afección.³⁰

Nota: existen otras formas de osteomalacia no nutricional, cuya fisiopatología y tratamiento son diferentes, y sobre las que no nos podemos extender acá.

1.3 Adultos jóvenes, mujeres postmenopáusicas y adultos mayores

1.3.1 Hipovitaminosis en adultos jóvenes

- Evidencia

Este grupo etario es uno de los menos estudiados en cuanto a prevalencia de deficiencia de vitamina D.

El estudio NHANES III (1988-1994) evaluó varios grupos dentro de EUA. Uno de los evaluados fueron las mujeres de 15-49 años en edad reproductiva de diferentes razas, comunicando que el 42% de las afroamericanas y el

4,2% de las caucásicas tenían niveles inferiores a 15 ng/ml, siendo el color de la piel factor de riesgo para tener niveles disminuidos de vitamina D, además de residir en áreas urbanas y tener obesidad.³⁸ En el NHANES 2002-2004, 29% de los hombres de 20-49 años y 35% de las mujeres presentaban niveles de 25OHD <20 ng/ml, y 73% de los hombres y mujeres niveles <30 ng/ml, valores inferiores a los observados en el NHANES III 1988-1994, quizás por la tendencia a mayor uso de protectores solares, menor actividad al aire libre y mayor índice de masa corporal.³⁹

En Buenos Aires se evaluó un grupo de jóvenes de edad promedio 29,8 años, que al final del invierno presentaban niveles promedio de 25OHD de 17,1 ng/ml (70,6% <20 ng/ml) y en verano 32,5 ng/ml, con sólo el 15,6% por debajo de 20 ng/ml.⁴⁰ En un grupo de hombres y mujeres de 24 a 52 años de Buenos Aires los niveles invernales eran de 20,7 ng/ml (63% con <20 ng/ml).⁴¹

- Recomendaciones

Recomendamos suplementar con dosis de 1.000-2.000 UI diarias (1/⊕⊕⊕⊕).

1.3.2 Hipovitaminosis en mujeres postmenopáusicas

- Evidencia

Un estudio multicéntrico que incluyó 2.589 mujeres postmenopáusicas de 18 países de 5 continentes, la mayoría de ellas con fracturas (50%) o T-score inferior a -2,5, halló en promedio niveles inadecuados (≤ 30 ng/ml) en el 59%, con un rango entre 50,8 y 80,6%, correspondiendo este último a mujeres de Medio Oriente, debido principalmente a que a pesar de tener buena radiación UV, por razones culturales no se exponen al sol.⁴² Los factores de riesgo con mayor asociación con niveles inadecuados eran, entre otros: raza asiática, índice de masa corporal mayor de 30 kg/m²,

vivir en latitudes lejanas del Ecuador, tener una salud delicada, no haber conversado previamente con su médico la importancia de la suplementación con vitamina D, poseer piel más oscura, no haber recibido suplementación con vitamina D o tenerla en dosis menores a 400 UI diarias. En Asia y Medio Oriente se han publicado niveles promedio muy bajos de 25OHD (4-12 ng/ml) y en África los menores niveles corresponden a los países con mayoría de población musulmana (Argelia, Túnez, Etiopía), principalmente en mujeres que utilizan velos, o cobertura total (*niqab*).

En la Argentina diferentes trabajos –principalmente en mujeres que consultaban en servicios especializados para evaluar la presencia de osteoporosis– se estudiaron los niveles de 25OHD, reportándose en mujeres postmenopáusicas de 40-59 años niveles inferiores a 20 ng/ml en 35-43% al final del invierno y en 13-21% al final del verano.⁴³ En diferentes grupos de mujeres de 60 años de edad promedio con densidad ósea normal o disminuida, los niveles al final del invierno estaban entre 12 y 15 ng/ml.⁴⁴ Un estudio reciente determinó que hay una curva dosis/respuesta en mujeres postmenopáusicas suplementadas con vitamina D₃. Una dosis diaria de 800 UI pudo elevar el nivel sérico de 25OHD a más de 20 ng/ml en 97% de las pacientes.⁴⁵

- Recomendaciones

Recomendamos suplementar con dosis de 1.000-2.000 UI diarias (1/⊕⊕⊕⊕).

1.3.3 Hipovitaminosis en adultos mayores

- Evidencia

Con el envejecimiento se producen varias alteraciones en el metabolismo de la vitamina D y el metabolismo mineral en general. Existe una disminución de la formación de vitamina D por disminución del sustrato en la piel. Se ha demostrado que ante el mismo estímulo de

radiación ultravioleta el individuo mayor (entre 62-80 años) produce aproximadamente un 73% menos de vitamina D que el adulto joven, lo cual sumado a menor exposición a la radiación solar por disminución de la movilidad, y aún más por internación en geriátricos, lleva a tener menores niveles circulantes de 25OHD, con una alta incidencia de insuficiencia/deficiencia de vitamina D. Paralelamente los niveles del metabolito activo, calcitriol, disminuyen, así como el número de los receptores intestinales de vitamina D, por lo que cae la absorción de calcio.

Los niveles de PTH aumentan en respuesta a estos cambios, lo mismo que la resorción ósea, causando una disminución de la masa ósea. La insuficiencia/deficiencia tiene efecto sobre la función muscular observándose mayor número de caídas, las cuales favorecen (junto con los factores previamente nombrados) las fracturas osteoporóticas.² La prevalencia de deficiencia de vitamina D en ancianos varía entre 40 y 90% en Europa (Euronut-Seneca), siendo mayor en países con menor latitud que los escandinavos, probablemente por la mayor ingesta de vitamina D en estos últimos, tanto por la fortificación de sus alimentos como por la ingesta de pescados grasos.

También se ha descrito alta incidencia de deficiencia de vitamina D e hiperparatiroidismo secundario en pacientes con fracturas osteoporóticas.^{46,47}

Un estudio realizado por la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral en mayores ambulatorios sanos de 65 años de las zonas Norte, Central y Sur del país mostraron porcentajes de deficiencia de 25OHD (<20 ng/ml) en 52, 64 y 87%, respectivamente; y niveles inadecuados (<30 ng/ml) en 82, 90 y 98%, respectivamente.⁴⁸

En la ciudad de Buenos Aires los que tenían menores niveles de 25OHD eran los de menor ingreso, menor ingesta de alimentos ricos en vitamina D y menor exposición solar.⁴⁹

Otros estudios en ancianos ambulatorios



de edad promedio 71 años, hallaron niveles de 25OHD de 17 ng/ml en invierno, con <20 ng/ml en el 65%; en verano los niveles promediaron 28.6 ng/ml, con <20 ng/ml en 47%. Los institucionalizados mostraron niveles promedio muy bajos de 25OHD: 7-12 ng/ml en invierno y 14 ng/ml en verano.^{50,51}

- Recomendaciones

Recomendamos suplementar con dosis de 1.000-2.000 UI diarias (1/⊕⊕⊕⊕).

2.0 GRUPOS CON RIESGO DE PRESENTAR DÉFICIT DE VITAMINA D

La “Guía de Evaluación, Tratamiento y Prevención de la deficiencia de Vitamina D” elaborada por los expertos designados por la *Endocrine Society* y publicada en 2011 establece que no hay evidencia que justifique un tamizaje masivo de la población buscando el déficit.⁶

Agregan que éste debería investigarse en los grupos de riesgo.

Sin duda, la lista de enfermedades y fármacos asociados a hipovitaminosis D se fue incrementando en las últimas décadas:

- 1) Osteoporosis
- 2) Síndromes de malabsorción: enfermedad celíaca, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, cirugía bariátrica, enteritis postradiación⁴²
- 3) Enfermedad renal crónica^{53,54}
- 4) Insuficiencia hepática
- 5) Hiperparatiroidismo
- 6) Fármacos: anticonvulsivantes, glucocorticoides, ketoconazol, colestiramina, algunos tratamientos del SIDA
- 7) Adultos mayores con historia personal de caídas o de fracturas no traumáticas
- 8) Obesidad (definida por IMC >30 kg/m²)
- 9) Enfermedades neurológicas crónicas: parkinsonismos, esclerosis múltiple, etc.
- 10) Cáncer
- 11) Trasplantados

Osteoporosis: durante muchos años se ha medicado a los pacientes osteoporóticos sin realizar dosajes de vitamina D sérica, con las dosis que teóricamente estaban indicadas.

El aporte de calcio en la dieta (o mediante suplementos farmacológicos) para asegurar 1-1,5 g/día de ese elemento, y la suplementación con vitamina D (800-1.000 UI/día) es la recomendación corriente para pacientes con osteopenia u osteoporosis que deban iniciar o continuar un programa terapéutico o preventivo.^{56, 57} Sin embargo, la comprobación de que pacientes en teoría bien tratados tienen niveles de 25OHD inferiores a 30 ng/ml hace pensar que si el nivel basal previo es muy bajo, nunca se llegará al nivel objetivo con las dosis “usuales” de tratamiento. Por lo tanto, resulta conveniente el dosaje en estos pacientes, para permitir la adecuación de la dosis. Recordemos que los pacientes con osteoporosis posmenopáusica y senil son un grupo de riesgo: en ellos la deficiencia de vitamina D es común,⁵⁸ y debería procurarse su diagnóstico y tratamiento adecuado.^{2, 59-61} La suplementación con vitamina D contribuye a atenuar el hiperparatiroidismo secundario, tan frecuente en ancianos.

La administración de vitamina D en ancianos disminuye la frecuencia de caídas entre 13 y 22%.⁶² Se ha encontrado una asociación positiva entre los niveles de calcidiol y la función muscular (velocidad de marcha, rapidez en incorporarse desde la posición sentada, mejoría del balance corporal y de la función de los miembros inferiores).⁶³ La recomendación actual es favorable a la inclusión de vitamina D en cualquier plan terapéutico anti-osteoporótico, y sobre todo en pacientes de edad avanzada.^{64,65}

Insuficiencia hepática crónica: los niveles de 25OHD pueden ser bajos por alteración de su síntesis, pero sería necesario un compromiso severo de su función para que esto ocurra. La enfermedad hepática puede también producir disminución de su absorción por alteración de la producción de ácidos

biliares o por edema intestinal asociado a la hipertensión portal. Además, la hipovitaminosis D y la baja masa ósea son complicaciones conocidas de cualquier hepatopatía “colestásica” que altere la producción o el flujo de bilis (la cirrosis biliar primaria es el principal ejemplo).⁵⁵ Un estudio de 118 pacientes con enfermedad hepática mostró una prevalencia de hipovitaminosis de 92% en pacientes con hepatitis C (la mitad con cirrosis).^{66,67}

Se ha reportado que muy bajos niveles de vitamina D pueden aumentar los efectos colaterales del interferón, que se utiliza como tratamiento en algunos casos; incluso existen reportes de que pacientes con hepatitis C responden peor al tratamiento con interferón si existe déficit de vitamina D.⁶⁸

Antiepilépticos: los anticonvulsivantes fenitoína, fenobarbital y primidona tienen una clara asociación con densidad mineral ósea disminuida; la carbamazepina y el valproato tienen un efecto similar.

Todas estas drogas pueden inducir osteomalacia posiblemente por inducción del catabolismo de la vitamina D.⁶⁹

Glucocorticoides: un reciente estudio comparó el nivel de 25OHD entre usuarios de corticoides y no usuarios, encontrando un nivel menor de 10 ng/ml en 11% de los usuarios frente a un 5% de los no usuarios.⁷⁰

Obesidad: La grasa corporal “secuestra” la vitamina D. Wortsman y col. compararon hace ya una década a sujetos con IMC mayor de 30 con otros de menos de 25. Ante una exposición a rayos UV (UV-B) ambos grupos aumentaron su nivel de 25OHD a las 24 horas, pero en los obesos el aumento fue la mitad que en los controles. El contenido del precursor en la piel y su transformación en vitamina D fue similar en ambos grupos. También administraron vitamina D₂ en alta dosis, y el aumento observado en sangre no fue diferente, aunque fue menor en los obesos, concluyendo que éstos necesitan dosis mayores.⁷¹ Estudios en niños y adolescentes también confirmaron el déficit en la obesidad.⁷² Re-

cientemente se ha publicado un estudio nacional que mostró correlación negativa entre IMC y nivel de vitamina D.⁷³

Enfermedades granulomatosas, linfomas: El déficit de 25OHD se produce por aumento de la síntesis de calcitriol.

Enfermedades neurológicas crónicas: se ha descrito una alta prevalencia de hipovitaminosis D en pacientes con esclerosis múltiple⁷⁴ y con extrapiramidismo.⁷⁵

Trasplantes: todos los trasplantes de órganos han sido asociados a osteoporosis y fracturas. Cada uno de ellos presenta características especiales, ya que la fisiopatología por la que presentan este problema pretrasplante difiere según la falla sea cardíaca, renal, hepática, etc. Se agrega luego la pérdida inducida por los medicamentos inmunosupresores que acompañan al trasplante, y el reposo posterior. El déficit de vitamina D debe ser pesquisado y corregido previamente a la intervención.⁵²

3.0 SITUACIONES ESPECIALES

3.1 Sujetos que habitan en zonas con poca irradiación solar: esto ha sido expuesto en la Sección Epidemiología, que antecede. Pero conviene mencionar acá un particular grupo de riesgo: el constituido por los integrantes de las campañas antárticas, que (partiendo de zonas centrales del país) presentan adecuados niveles de 25OHD al comenzar las mismas, los que disminuyen un 50% durante su estadía en la Antártida.⁷⁶

3.2 Sujetos que requieren filtros solares altos por patología dermatológica: melanoma, lupus, entre otros.

4.0 NUEVAS ASOCIACIONES DE DÉFICIT DE VITAMINA D CON NUMEROSAS ENFERMEDADES

En los últimos tiempos se ha reportado asociación de distintas afecciones con el défi-



cit, tal el caso de hipertensión, diabetes tipo 2, cáncer (especialmente de mama y de colon), esquizofrenia, depresión, asma, enfermedades autoinmunes (diabetes tipo 1, artritis reumatoidea, lupus), infecciones, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, y otras.¹ No existen trabajos que muestren que la administración de vitamina D prevenga o mejore la evolución de estas enfermedades, aunque es posible que esto ocurra en el futuro. En algunas de ellas existen trabajos que muestran que los sujetos con los niveles más bajos de vitamina D, seguidos por años, desarrollan con más frecuencia esas afecciones que los que tienen los niveles más altos, que de esa manera parecerían prevenir la enfermedad. Esto se ha observado en cáncer de colon y otros cánceres, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, insulinoresistencia y diabetes tipo 2.

5.0 METODOLOGÍA DE DOSAJE DE 25 HIDROXIVITAMINA D

El primer ensayo de 25 hidroxivitamina D (25OHD) fue desarrollado por Haddad y col. en 1971.⁷⁷

Ese ensayo usaba como ligando a la proteína transportadora de vitamina D y requería de una purificación de la muestra con cromatografía a baja presión.

Belsey y col.⁷⁸ intentaron simplificarlo eliminando el paso cromatográfico, generando así los llamados ensayos “directos”. Con el tiempo se concluyó que estos ensayos tenían muchos problemas de matriz y que informaban resultados más elevados por interferencias de metabolitos que no eran purificados en el proceso cromatográfico.

El primer radioinmunoensayo utilizando un anticuerpo coespecífico para 25OHD₂ y 25OHD₃ fue publicado por Hollis y col. en 1985 usando como trazador 25OHD tritiado.⁷⁹ Luego este ensayo fue modificado en 1993 con la incorporación del 25OHD iodinado como trazador.⁸⁰

Este proceso de mejora continua fue acompañado por el desarrollo de técnicas como HPLC y cromatografía líquida-espectrometría de masa (LC-MS). Ambos métodos pueden cuantificar por separado la 25OHD₂ y la 25OHD₃ pero no separan el isómero 3-epi-25OHD₃ de la 25OHD₃. Requieren personal especializado, equipos que no están al alcance de todos los laboratorios, y en general la producción de resultados es más lenta. Durante más de una década se ha usado el radioinmunoensayo para reportar el estado nutricional de vitamina D en todo el mundo y para definir niveles de corte clínicos.⁸⁰ Actualmente se han desarrollado ensayos de 25OHD adaptables a varias plataformas automáticas de más fácil acceso para los laboratorios.

La mayoría de estos ensayos comerciales usan anticuerpos coespecíficos para 25OHD₂ y 25OHD₃. A la fecha de escritura de estos comentarios, se esperan mayores datos y experiencia internacional para evaluar el desempeño de los mismos y concluir si estos datos son comparables con ensayos anteriores.

Numerosos trabajos han sido publicados y podemos concluir que es imprescindible que cada método sea evaluado con precaución, ya que dos métodos pueden ser comparables en ciertos rangos de concentración de 25OHD y no en otros rangos.⁸¹

Las diferencias entre métodos publicados hasta la fecha ponen en duda el uso de un único valor de corte y sugieren que la prevalencia de déficit es ensayodependiente.

5.1 Método de referencia

Se ha propuesto a la LC-MS con dilución isotópica, con buena exactitud y precisión y baja susceptibilidad a la interferencia de otros metabolitos.⁸² Este método ha sido reconocido por el *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine* y puede proveer la base para que sean evaluados otros métodos. Más recientemente otro laboratorio ha publicado su propuesta como método de referencia.⁸³

5.2 Estandarización

Muchos trabajos publicados y comparaciones entre laboratorios han reportado enormes discrepancias entre los datos de 25OHD. Una de las razones (no la única) de estas discrepancias era la ausencia de un Estándar de Referencia Internacional de 25OHD que pudiera utilizarse en la calibración de los ensayos.⁸⁴ Se sabe que si distintos laboratorios con igual metodología (p. ej., LC-MS) utilizan un mismo estándar, mejora significativamente el desempeño de ese ensayo.⁸⁵ El Instituto Nacional de Estándares y Tecnología de los Estados Unidos (NIST) ha desarrollado un calibrador primario, el SRM 2972, que con-

siste en soluciones de calibradores (tanto de 25OHD₂ como de 25OHD₃) útiles para calibrar los instrumentos que dosan 25OHD. Estas soluciones están en altas concentraciones, con el fin de poder diluirlas y construir curvas de calibración.

El mencionado Instituto también ha desarrollado un material de referencia para la 25OHD. El SRM 972 consiste en cuatro *pools* de suero, cada uno con valores asignados de 25OHD₃, 25OHD₂, de ambos y de 3 epi-25OHD₃ con el objetivo de ofrecer un punto (reproducibile) de comparación y así validar la exactitud.⁸⁶ Cabe destacar que este material presenta problemas de conmutabilidad por lo que se está desarrollando otro (SRM 972a).

5.3 Listado de ensayos comerciales disponibles

Ensayo	Empresa	% reactividad cruzada 25OHD ₃	% reactividad cruzada 25OHD ₂	% reactividad cruzada 24,25OH ₂ D	% reactividad cruzada C3-epi-25OHD
RIA	Diasorin	100	100	100	–
Liaison	Diasorin	100 (100)	100 (100)	–	1,3 (100)
Advia Centaur	Siemens	97,4 (30)	106 (30)	–	1,0 (100)
Elecsys total vitamin D	Roche	98 (50)	81 (50)	121 (50)	93 (50)
Architect	Abbott	105 (100)	82	112 (20)	2,7 (100)
RIA coated tube	Diasource	100	100	95	–
ELISA	Diasource	100	83	100	0,2
ELISA	Inmunodiagnostik	100	23,4	–	–

Nota: los datos se extrajeron de los insertos de los equipos. Entre paréntesis figura la concentración en ng/ml del metabolito evaluado para reactividad cruzada. disponibles

5.3 Informe del laboratorio

Como en la República Argentina están aprobadas la vitamina D₂ (ergocalciferol) y la vitamina D₃ (colecalficerol) para prescripción farmacéutica, se aconseja utilizar métodos que cuantifiquen tanto la 25OHD₂ como la

25OHD₃; es decir, convendría que los laboratorios informaran la vitamina D total. Para los laboratorios que puedan cuantificar individualmente los dos metabolitos (25OHD₂ y 25OHD₃), no se recomienda informarlos por separado, ya que ello puede generar confusión en el médico clínico no especializado.



6.0 TRATAMIENTO

6.1 Niveles séricos adecuados de 25OHD

- Evidencia

La correlación inversa entre PTH y 25OHD ha sido observada en sujetos de toda edad, incluso niños y ancianos.^{87, 88}

Se han publicado diversos niveles de corte por debajo de los cuales se considera que se produce un hiperparatiroidismo secundario, pero la mayoría se concentra entre 28 y 32 ng/ml.^{89, 90}

No solo se ha considerado la concentración normal de PTH sérica para definir el nivel adecuado de calcidiol sérico, sino que también se ha tomado en cuenta la más efectiva absorción intestinal de calcio: comparando dos grupos de mujeres postmenopáusicas, Heaney y col. hallaron que la absorción de calcio era 65% mayor en las que tenían un nivel sérico de 35 ng/ml que en las que tenían 20 ng/ml.⁹¹

Otro indicador es la tasa de pérdida ósea, mayor en sujetos que tienen niveles de calcidiol inferiores a 30 ng/ml,¹ y la asociación de una mayor DMO con niveles superiores a 35-40 ng/ml.⁹² La suficiencia de vitamina D asegura además una buena función neuromuscular, y contribuiría a disminuir las caídas en población añosa,⁹³ la que por otra parte sufre una disminución en el número de VDR en el tejido muscular, mayor cuanto mayor la edad e independiente de los niveles séricos de calcidiol.⁹⁴

- Recomendaciones

Nosotros consideramos como óptimos los niveles superiores a 30 ng/ml, tanto para las acciones clásicas como para las no clásicas (1/⊕⊕⊕⊕).

- Los niveles séricos se consideran “normales” cuando superan los 30 ng/ml (1/⊕⊕⊕⊕).

- Se consideran “insuficientes” cuando están entre 20 y 29 ng/ml (1/⊕⊕⊕).
- Se consideran “deficientes” cuando están entre 10 y 19 ng/ml (1/⊕⊕⊕).
- La deficiencia se considera severa cuando los niveles están por debajo de 10 ng/ml (1/⊕⊕⊕).

6.2 Esquemas de administración de vitamina D

Los esquemas terapéuticos son varios y deben ser adecuados a cada paciente: la suplementación del calciferol puede ser diaria, semanal, quincenal, mensual o trimestral, y las dosis varían de acuerdo al intervalo de administración. El esquema semanal tiende a favorecer la adherencia en personas ancianas (p. ej., 5 gotas/semana de una solución que contiene 60.000 UI/ml aporta un promedio diario de 2.100 UI de vitamina D, y es fácil de recordar).

El aumento del calcidiol sérico parece ser inversamente proporcional al nivel basal del sujeto suplementado.⁹⁵ Deberían considerarse dos etapas en el tratamiento con vitamina D para un sujeto cuya concentración sérica de 25OHD es inferior a 30 ng/ml:

- Una fase de corrección del déficit, que durante un tiempo utiliza dosis altas de vitamina D;⁹⁶
- Una etapa de mantenimiento, donde las dosis administradas tienen como objetivo mantener la concentración sérica de 25OHD en el rango deseable.

Durante estas dos fases, con frecuencia es necesario administrar dosis mayores que las ingestas recomendadas (ver el **Apéndice 1**).

La ventana terapéutica de la vitamina D es amplia, y el riesgo de intoxicación es bajo; casi nunca ocurre con niveles de 25OHD inferiores a 150 ng/ml.⁹⁵

Diversos estudios han demostrado que dosis de hasta 4.000 UI/día no tienen consecuencias sobre la calcemia o la calciuria.⁹⁷

Las dosis para corregir el déficit serán 2.000-5.000 UI/día, 50.000 UI/semana, o 100.000 UI cada 15-30 días, hasta alcanzar niveles adecuados, lo que generalmente ocurre en un lapso cercano a 2-3 meses. (1/⊕⊕⊕⊕) Se sugiere controlar los niveles alcanzados a los 3 meses, por la variedad de repuesta individual.⁹⁸ En pacientes urémicos en hemodiálisis, una dosis eficaz es la de 100.000 UI mensuales, por tiempo indefinido.⁹⁹ (2/⊕⊕). Para mantener un nivel sérico de 25OHD superior a 30 ng/ml se puede administrar una dosis diaria (800-2.000 UI), o 1 frasco de 100.000 UI cada 1-3 meses (1/⊕⊕⊕) dependiendo de la preferencia del paciente y de lo que indiquen los análisis durante el seguimiento (1/3 de los pacientes logran el objetivo con la dosis mensual, 1/3 con la dosis bimestral, y 1/3 con la dosis trimestral).

⁹⁷ Algunos expertos consideran que 4.000 UI diarias es una dosis de mantenimiento aceptable.

Los niveles máximos de ingesta se han establecido según el grupo etario: 1.000 UI de 0 a 6 meses, 1.500 entre 6 y 12 meses, 2.500 de 1 a 3 años, 3.000 de 4 a 6 años y 4.000 de 9 años en adelante.¹⁰⁰

En mayores de 19 años pertenecientes a grupos de riesgo la dosis nunca debería superar las 10.000 UI diarias.⁶ (1/⊕⊕⊕⊕).

Estas recomendaciones se aplican también a hombres en riesgo de sufrir hipovitaminosis D o que probablemente la tengan.¹⁰¹

6.3 ¿Debe administrarse vitamina D₂ o D₃?

No hay ningún estudio que demuestre un efecto diferente de estos isómeros sobre el receptor de vitamina D. A los fines prácticos, tienen similar acción biológica. Desde el punto de vista del seguimiento con dosajes de 25OHD sérica, como hay una tendencia generalizada al uso de ensayos que miden vitamina D sérica "total" (D₂ + D₃), no debería haber problema en evaluar el impacto del tratamiento. En todo caso, cuando se indican intervalos largos entre dosis, conviene indicar vitamina D₃, ya que su vida media sérica es mayor que la de D₂.¹⁰²

El **Apéndice 2** enumera todas las especialidades farmacéuticas que se comercializan en el país, y que contienen vitamina D₂ (ergocalciferol) o vitamina D₃ (colecalfiferol) como monodroga.

Agradecimiento: Los autores agradecen al Dr. Claudio González por sus valiosas sugerencias sobre la calificación de la evidencia.

Conflictos de intereses: A. Sánchez ha recibido honorarios de Spedrog Caillon como disertante y de TRB Pharma como autor de una monografía; J. L. Mansur ha recibido honorarios de TRB Pharma como autor de una monografía; B. Oliveri ha recibido honorarios de TRB Pharma como disertante. Los demás autores no declaran conflicto de intereses.

APÉNDICE 1

CONTROVERSIA SOBRE NIVEL ÓPTIMO Y DOSIFICACIÓN

La *Endocrine Society* publicó en 2011 sus Guías de Práctica Clínica sobre Evaluación, Tratamiento y Prevención del Déficit de

Vitamina D.⁶ El *Institute of Medicine* (IOM) ya había publicado sus recomendaciones sobre ingesta dietaria de calcio y vitamina D.¹⁰⁰ Había discrepancias con respecto a los niveles séricos óptimos de 25OHD y a las dosis convenientes de la vitamina. Después la polémica continuó, y los expertos de ambas institucio-



nes han vuelto a exponer sus argumentos por escrito. En abril de 2012 el *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* publicó en el mismo número los artículos de ambos grupos, con puntos de vista contrapuestos.^{103, 104}

El IOM no está de acuerdo con el concepto de que un nivel sérico de 25OHD de 30 ng/ml sea más beneficioso para la salud que uno de 20 ng/ml, y menciona que considerar “en riesgo” a los grupos enumerados por la *Endocrine Society* ocasionaría estudiar a un número muy amplio de personas con costos económicos considerables para la salud pública.

Por su parte, los expertos de la *Endocrine Society* consideran que las opiniones del IOM son incorrectas, y además dirigidas sólo a políticas sanitarias y de fortificación de ali-

mentos, pero no aplicables para la atención de pacientes.

Considerando que el nivel “deseable” de 25OHD se ha establecido en base a los efectos biológicos sobre el metabolismo mineral y óseo (valor por debajo del cual la PTH se eleva para compensar el déficit, con consecuencias negativas para la DMO y el riesgo de fractura), y que cada vez más se ha asociado a la vitamina D con efectos “no clásicos” (prevención de enfermedad cardiovascular, hipertensión, cáncer, enfermedades autoinmunes, esclerosis múltiple, complicaciones del embarazo, infecciones, cáncer, etc.), es posible que en el futuro se establezcan dosis mayores de vitamina D para la prevención de algunas de estas enfermedades.

APÉNDICE 2

PRODUCTOS COMERCIALES EN EL MERCADO ARGENTINO QUE CONTIENEN VITAMINA D COMO MONODROGA

Vitamina D₃ (colecalfiferol)			
Nombre	Laboratorio	Presentación	Concentración
Oravil	TRB Pharma	Solución oleosa bebible 2 ml	50.000 UI/ml
Osteodyn	Montpellier	Solución oleosa bebible 2 ml	50.000 UI/ml
Sterogyl	Spedrog Caillon	Solución oleosa bebible 2 ml	50.000 UI/ml
Sterogyl 400	Spedrog Caillon	Gotas, frasco 10 ml	400 UI/gota
Sterogyl 1000	Spedrog Caillon	Gotas, frasco 10 ml	1.000 UI/gota
Sterogyl BC	Spedrog Caillon	Gotas, frasco 10 ml	100 UI/gota
Trevix 400	Roux Ocefa	Comprimidos x 30	400 UI/comp
Trevix 2800	Roux Ocefa	Comprimidos x 8	2.800 UI/comp

(Existen asociaciones de vitamina D3 con otras vitaminas, con calcio, con alendronato, etc.)

Vitamina D₂ (ergocalciferol)			
Nombre	Laboratorio	Presentación	Concentración
Ostelín Potencia 100	Roemmers	Gotas, frasco 10 ml	500 UI/gota
Raquiferol	Roemmers	Gotas, frasco 4 ml	2.400 UI/gota
Tanvimil D	Raymos	Gotas, frasco 10 ml	300 UI/gota

(Existen asociaciones de vitamina D2 con otras vitaminas, con calcio, con flúor, etc.)

Referencias

1. Sánchez A. Vitamina D. Actualización. *Rev Med Rosario* 2010; 76:70-87.
2. Sánchez A, Puche R, Zeni S, et al. Papel del calcio y la vitamina D en la salud ósea. *Rev Esp Enf Metab Óseas* 2002; 11:201-17 (Parte I); 2003; 12:14-29 (Parte II).
3. Bikle D, Adams J, Christakos S. Vitamin D: production, metabolism, mechanism of action, and clinical requirements. En: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, 7th edition (Rosen, C.J.; editor principal). Washington DC; American Society for Bone and Mineral Research, 2008. Págs 141-9.
4. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009; 20:1807-20.
5. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:53-8.
6. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:1911-30.
7. Bodnar LM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3517-22.
8. Hollis BW. Vitamin D supplementation during pregnancy: double blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2341-57.
9. Leerbeck E, Søndergaard H. The total content of vitamin D in human and cow's milk. *Br J Nutr* 1980; 44: 1276-86.
10. Molla AM, Al Badawi M, Hammoud MS, et al. Vitamin D status of mothers and their neonates in Kuwait. *Pediatr Int* 2005; 47:649-52.
11. Sachan A, Gupta R, Das V, Agarwal A, Awasthi PK, Bhatia V. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. *Am J Clin Nutrition* 2005; 81:1060-4.
12. Lee JM, Smith JR, Philipp BL, Chen TC, Mathieu J, Holick MF. Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Ped (Phila)* 2007; 46:42-4.
13. Bowyer L, Catling-Paull C, Diamond T, Homer C, Davis G, Craig ME. Vitamin D, PTH and calcium levels in pregnant women and their neonates. *Clin Endocrinol* 2009; 70:372-7.
14. Bodnar LM, Simhan HN, Powers RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin D insufficiency in black and white pregnant women residing in the northern United States and their neonates. *J Nutr* 2007; 137:447-52.
15. Bassir M, Laborie S, Iapillone A, et al. Vitamin D deficiency in Iranian mothers and their neonates: a pilot study. *Acta Paediatr* 2001; 90:577-9.
16. Nicolaidou P, Hatzistamatiou Z, Papadopoulou A, et al. Low vitamin D status in mother-newborn pairs in Greece. *Calcif Tissue Int* 2006; 78:337-42.
17. Tau C, Bonifacino MM, Scaiola E, et al. Niveles circulantes de 25-hidroxivitamina D en población materno infantil de zonas de riesgo del país: provincias de Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. *Med Inf* 2004; 9:199-204.
18. Oliveri MB, Mautalen C, Alonso A, et al. Estado nutricional de vitamina D en madres y neonatos de Ushuaia y Buenos Aires. *Medicina (B Aires)* 1993; 53:315-20.
19. Oliveri B, Parisi M, López L, Brito G, Zeni S, Fernández C. Calcium and vitamin D nutritional status during pregnancy (Abstract). *J Bone Miner Res* 2009; 24(Suppl 1). Disponible en: <http://www.asbmr.org/Meetings/AnnualMeeting/AbstractDetail.aspx?aid=51d4e88b-f79d-47e2-a15b-134f0c57b52e>.
20. De-Regil LM, Palacios C, Ansary A, Kulier R, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 2: CD008873.
21. Wagner CL, Greer FR; American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*



- 2008; 122:1142-52.
22. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, Grace E, Emans SJ. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004; 158:531-7.
 23. Sullivan SS, Rosen CJ, Halteman WA, Chen TC, Holick MF. Adolescent girls in Maine are at risk for vitamin D insufficiency. *J Am Diet Ass* 2005; 105:971-4.
 24. Fraser DR. Vitamin D-deficiency in Asia. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90(1-5):491-5.
 25. Foo LH, Zhang Q, Zhu K, et al. Relationship between vitamin D status, body composition and physical exercise of adolescent girls in Beijing. *Osteoporos Int* 2009; 20:417-25.
 26. González-Gross M, Valtueña J, Breidenassel C, et al. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *Br J Nutr* 2011; 17:1-10.
 27. Oliveri MB, Ladizesky M, Sotelo A, Griffo S, Ballesteros G, Mautalen C. Nutritional rickets in Argentina. En: Nestlé Nutrition Workshops: Rickets. Raven Press, New York, 1991; pp 233-45.
 28. Wondale Y, Shiferaw F, Lulseged S. A systematic review of nutritional rickets in Ethiopia: status and prospects. *Ethiop Med J* 2005; 43:203-10.
 29. Underwood P, Margetts B. High levels of childhood rickets in rural North Yemen. *Soc Sci Med* 1987; 24:37-41.
 30. Lips P, van Schoor NM, Braverboer N. Vitamin D-related disorders. En: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, 7th edition (Rosen, C.J.; editor principal). Washington DC; American Society for Bone and Mineral Research, 2008; pp 329-35.
 31. Winzenberg T, Powell S, Shaw KA, Jones G. Effects of vitamin D supplementation on bone density in healthy children: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011; 342:c7254.
 32. Outila TA, Kärkkäinen MU, Lamberg-Allardt CJ. Vitamin D status affects serum parathyroid hormone concentrations during winter in female adolescents: associations with forearm bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:206-10.
 33. Lehtonen-Veromaa MKM, Möttönen TT, Nuotio IO, Irjala KM, Leino AE, Viikari JS. Vitamin D attainment of peak bone mass among peripubertal Finnish girls: a 3-year prospective study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:1446-53.
 34. Kristinsson JO, Valdimarsson O, Sigurdsson G, Franzson L, Olafsson I, Steingrimsdottir L. Serum 25(OH)D levels and bone mineral density in 16-20 years-old girls: lack of association. *J Intern Med* 1998; 243:381-8.
 35. Välimäki VV, Alftan H, Lehmuskallio E, et al. Vitamin D status as a determinant of peak bone mass in young Finnish men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:76-80.
 36. Ladizesky M, Lu Z, Oliveri MB, San Román N, Holick M, Mautalen C. Solar ultraviolet-B radiation and photoproduction of vitamin D in Central and Southern areas of Argentina. *J Bone Min Res* 1995; 10:545-9.
 37. Oliveri MB, Wittich A, Mautalen C, Chaperón A, Kizlansky A. Peripheral bone mass is not affected by winter vitamin D deficiency in children and young adults from Ushuaia. *Calcif Tissue Int* 2000; 67: 220-4.
 38. Nesby-O'Dell S, Scalton KS, Cogswell ME, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: Third National and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:187-92.
 39. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988-1994 compared with 2000-2004. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:1519-27.
 40. Fassi J, Russo Picasso MF, Furci A, Sorroche P, Jáuregui R, Plantalech L. Variaciones estacionales de 25-hidroxivitamina D en jóvenes y ancianos de la ciudad de Buenos Aires. *Medicina (B Aires)* 2003; 63:215-20.
 41. Ladizesky M, Oliveri B, Mautalen CA. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the normal population of Buenos Aires: its seasonal variation. *Medicina (B Aires)* 1987; 47:268-72.
 42. Lips P. Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103(3-5): 620-5.
 43. Fradinger E, Zanchetta J. Niveles de vitamina

- D en mujeres de la ciudad de Buenos Aires. *Medicina (B Aires)* 1999; 59:449-52.
44. Seijo M, Mastaglia SR, Somoza J, Bagur A, Oliveri B. Efecto de la suplementación de diferentes dosis de vitamina D2 y D3 sobre los niveles de 25 hidroxivitamina D y el metabolismo óseo (resumen). *Actual Osteol* 2008; 4(Supl 1):S71.
 45. Gallagher JC, Sai A, Templin T II, Smith L. Dose response to vitamin D supplementation in postmenopausal women. A randomized trial. *Ann Intern Med* 2012; 156:425-37.
 46. van der Wielen RP, Lowl MRH, van der Berg H, et al. Serum 25OHD concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995; 346:207-10.
 47. Gloth FM, Gunberg CM, Hollis BW, Haddad JG, Tobin JD. Vitamin D deficiency in homebound elderly persons. *JAMA* 1995; 274:1683-6.
 48. Oliveri B, Plantalech L, Bagur A, et al. High prevalence of vitamin D insufficiency in healthy elderly people living at home in Argentina. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:337-42.
 49. Plantalech L, Fassi J, Pozzo MJ, et al. Hypovitaminosis D in elderly people living in an overpopulated city: Buenos Aires. En: Focus in Nutrition Research. Tony P. Starks, editor. New York; Nova Science Publishers, 2006; pp 149-63.
 50. Plantalech L, Knoblovits P, Cambiasso E, et al. Hipovitaminosis D en ancianos institucionalizados de Buenos Aires. *Medicina (B Aires)* 1997; 57:29-35.
 51. Portela ML, Mónico A, Barahona A, Dupraz H, Sol Gonzales-Chaves MM, Zeni SN. Comparative 25-OH-vitamin D level in institutionalized women older than 65 years from two cities in Spain and Argentina having a similar solar radiation index. *Nutrition* 2010; 26:283-9.
 52. Bikle DD. Vitamin D insufficiency/deficiency in gastrointestinal disorders. *J Bone Miner Res* 2007; 22(Suppl 2):V50-4.
 53. Holick MF. Vitamin D for health and in chronic kidney disease. *Semin Dial* 2005; 18:266-75.
 54. Del Valle E, Negri AL, Aguirre C, Fradinger E, Zanchetta JR. Prevalence of 25(OH) vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease stage 5 patients on hemodialysis. *Hemodial Int* 2007; 11:315-21.
 55. Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5:513-20.
 56. Schurman L, Bagur A, Claus-Hermberg H, Messina OD, Negri A, Sánchez A. Guías Argentinas para Diagnóstico, Prevención y Tratamiento de la Osteoporosis 2007. *Actual Osteol* 2007; 3:117-36; y *Rev Arg Osteol* 2007; 6:27-42 (doble publicación).
 57. Salica D, Buceta A, Palacios S, et al. Consenso Iberoamericano de Osteoporosis SIBOMM 2009. Osteoporosis: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. *Rev Argent Osteol* 2010; 9:4-44.
 58. Guardia G, Parikh N, Eskridge T, Phillips E, Divine G, Rao DS. Prevalence of vitamin D depletion among subjects seeking advice on osteoporosis: a five-year cross-sectional study with public health implications. *Osteoporos Int* 2008; 19:13-9.
 59. Geller JL, Adams JS. Vitamin D therapy. *Curr Osteoporos Rep* 2008; 6:5-11.
 60. de Paula FJA, Rosen CJ. Osteoporosis. En: Conn's Current Therapy, 1st ed. (Bope ET, Kellerman RD, eds). New York: Saunders, 2012; pp 583-7.
 61. Pérez-López F, Brincat M, Tamer Erel C, et al. EMAS position statement: Vitamin D and postmenopausal health. *Maturitas* 2012; 71: 83-8.
 62. Bolland MJ, Bacon CJ, Horne AM, et al. Vitamin D insufficiency and health outcomes over 5 y in older women. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:82-9.
 63. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone* 2002; 30:771-7.
 64. Rizzoli R, Bruyère O, Cannata-Andía JB, et al. Management of osteoporosis in the elderly. *Curr Med Res Opin* 2009; 25:2373-87.
 65. Dawson-Hughes B. Calcium and vitamin D. En: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, 7th edition (Rosen, CJ; editor). Washington DC; American Society for Bone and Mineral Research, 2008; pp 231-3.
 66. Nair S. Vitamin D deficiency and liver disease. *Gastroenterol Hepatol (NY)* 2010; 6:491-3.



67. Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 2010 ; 55:2624-8.
68. Petta S, Camma C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 51:1158-67.
69. Pack AM, Morrell MJ. Epilepsy and bone health in adults. *Epilepsy Behav* 2004; 5(Suppl 2):S24-9.
70. Skversky AL. Association of glucocorticoid use and low 25 hidroxyvitamin D levels: results from the Nacional Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2001-2006. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:3838-45.
71. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:690-3.
72. Alemzadeh R, Kichler J, Babar G, Calhoun M. Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism* 2008; 57:183-91.
73. Larroudé M, Moggia MS, Lichtcajer G, Pérez Sainz M, Man Z. Déficit de vitamina d en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas con sobrepeso / obesidad. *Actual Osteol* 2012; 8:150-7.
74. Nieves J, Cosman F, Herbert J, Shen V, Lindsay R. High prevalence of vitamin D deficiency and reduced bone mass in multiple sclerosis. *Neurology* 1994; 44:1687-92.
75. Van den Bos F, Speelman AD, van Nimwegen M, et al. Bone mineral density and vitamin D status in Parkinson's disease patients. *J Neurol* 2013; 260:754-60.
76. Oliveri MB, Mautalen CA, Bustamante I, Gómez García V. Serum levels of 25 hydroxyvitamin D in a year of residence in the Antarctic continent. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48:397-401.
77. Haddad JG, Chyu KJ. Competitive protein-binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33:992-5.
78. Belsey RE, DeLuca HF, Potts JT Jr. A rapid assay for 25OHvitamin D without preparative chromatography. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 38:1046-51.
79. Hollis B, Napoli JL. Improved radioimmunoassay for vitamin D and its use in assessing vitamin D status. *Clin Chem* 1985; 31:1815-9.
80. Hollis B, Kamerud JQ, Selvaag SR, Lorenz JD, Napoli JL. Determination of vitamin D status by radioimmunoassay with an ¹²⁵I-labeled tracer. *Clin Chem* 1993; 39:529-33.
81. Farrell CJ, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann M. State of the art Vitamin D assays. Comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods. *Clin Chem* 2012; 58:531-42.
82. Tai SS, Bedner M, Phinney KW. Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₂ in human serum using isotope-dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2010; 82:1942-8.
83. Stepman HC, Vanderroost A, Van Utylanghe K, Thienpont LM. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₂ by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2011; 57:441-8.
84. Fradinger E. 25-hidroxivitamina D: aspectos metodológicos y niveles óptimos. *Actual Osteol* 2005; 1:22-7.
85. Carter GD, Jones JC. Use of a common standard improves the performance of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for serum 25-hydroxyvitamin D. *Ann Clin Biochem* 2009; 46:79-81.
86. Phinney K. Development of a standard reference material for vitamin D in serum (review). *Am J Clin Nutr* 2008; 88:511-2S.
87. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone* 2002; 30:771-7.
88. Gordon CM, Feldman HA, Sinclair L, et al. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy infants and toddlers. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2008; 162:505-12.

89. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:18-28.
90. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16:713-6.
91. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr* 2003; 22:142-6.
92. Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res* 2009; 24:935-42.
93. Dhesi JK, Jackson SHD, Bearne LM, et al. Vitamin D supplementation improves neuromuscular function in older people who fall. *Age and Ageing* 2004; 33:589-95.
94. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Dürmüller U, Stähelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004; 19:265-9.
95. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 204-10, Erratum en: *Am J Clin Nutr* 2003; 78:1047.
96. Mastaglia SR, Mautalen CA, Parisi MS, Oliveri B. Vitamin D2 dose required to rapidly increase 25OHD levels in osteoporotic women. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60:1-7.
97. Souberbielle JC. Vitamina D. Buenos Aires: Anejo, 2012; pp 57-74.
98. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, et al. IOF position statement: Vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 2010; 21:1151-4.
99. Jean G, Souberbielle JC, Chazot C. Monthly cholecalciferol administration in haemodialysis patients: A simple and efficient strategy for vitamin D supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:3799-805.
100. IOM (Institute of Medicine). 2011 Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press 2011; pp 260-2.
101. Watts NB, Adler RA, Bilezikian JP, et al. Osteoporosis in men: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1802-22.
102. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, et al. IOM Committee members respond to Endocrine Society Vitamin D Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 1146-52.
103. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1153-8.



CASUÍSTICAS / Case Reports

IMÁGENES OSTEOCONDENSANTES: VALOR DE LA DENSITOMETRÍA ÓSEA EN UNA PRESENTACIÓN INUSUAL DE UN CARCINOMA DE MAMA

Francisco Rodolfo Spivacow,^{1*} María Carolina Spivacow²

1. Instituto de Investigaciones Metabólicas, Universidad del Salvador, Buenos Aires.

2. Fundación Científica del Sur, Universidad de Buenos Aires.

Resumen

Las lesiones osteoblásticas secundarias a una enfermedad maligna son fácilmente detectables. En los carcinomas de mama, en presencia de metástasis esqueléticas, la paciente suele estar muy comprometida clínicamente y los estudios complementarios aclaran rápidamente el diagnóstico. Sin embargo, existen casos en los cuales la presencia de éstas, no es tan fácil de diagnosticar.

Se presenta el caso de una paciente que presenta una recidiva de un carcinoma de mama, quién consulta 7 años después del diagnóstico por dolores inespecíficos y cambios en su densitometría ósea. Se observó con interés el aumento de los valores de la densitometría ósea 21% en columna lumbar y 2,2% en cuello femoral desde el año 2005 al 2012, sin mediar un tratamiento osteoactivo. Ante la sospecha de lesiones de tipo osteoarticular se solicita una Rx de columna y cadera que mostraron imágenes osteoblásticas dudosas. El centellograma óseo, no brindó información, y los estudios de laboratorio, fueron normales. En una Rx previa de pelvis se observaron las mismas imágenes osteocondensantes pero en menor magnitud. Por el aumento de los valores de su densitometría en forma inexplicable y los cambios en las

imágenes radiológicas se realiza una punción-biopsia de cresta ilíaca que confirmó metástasis de un carcinoma de mama. El valor de la presentación radica en la sospecha del diagnóstico final ante un aumento inesperado de los valores densitométricos.

Palabras clave: imágenes osteocondensantes, carcinoma de mama, DXA.

Summary

OSTEOBLASTIC LESIONS: UTILITY OF BONE DENSITOMETRY IN AN UNUSUAL PRESENTATION OF BREAST CARCINOMA

Osteoblastic lesions secondary to malignant disease are easily detectable. In breast cancers, when there are skeletal metastasis, the patient tends to be very compromised clinically and additional studies quickly clarify the diagnosis. However, there are cases in which metastases are not easy to diagnose. We report the case of a patient with recurrent breast carcinoma, consulting seven years later following changes in the DXA and nonspecific pain. It drew our attention the increase in densitometric values, 21% in lumbar spine and 2.2% in the femoral neck from

* Dirección postal: Instituto de Investigaciones Metabólicas. Libertad 836, 1er piso, 1012 Buenos Aires. República Argentina. Correo electrónico: secger@idim.com.ar

2005 to 2012, unusual data without osteoactive treatment. Suspecting alteration in osteoarticular system we requested Rx of spine and hip that showed suspicious osteoblastic images. We requested a bone scan that was negative and complete laboratory studies that were normal. The same osteocondensing images existed in a prior Rx of pelvis but in lesser magnitude. While oncologists and gynecologists ruled out secondaries, unexplained increases in DXA values and radiological changes in images led us to perform a needle biopsy of iliac crest that confirmed metastatic breast carcinoma. The value of the presentation is the suspicion of the final diagnosis due to an unexpected increase of densitometric values.

Key words: osteoblastic lesions, breast cancer, DXA.

Introducción

Las lesiones óseas originadas por un aumento de la densidad mineral se denominan lesiones osteoblásticas. Estas pueden ser benignas como las que se observan en la enfermedad de Paget,¹ sarcoidosis,² esclerosis tuberosa,³ osteopetrosis⁴ o en la osteopoiquiosis;⁵ mientras que entre las causas de lesiones osteoblásticas malignas se describen, entre las más importantes, las metástasis de cáncer de mama,⁶ de pulmón,⁷ de vejiga,⁸ de estómago,⁹ el neurofibroma,¹⁰ el meduloblastoma,¹¹ o el linfoma.¹² En el caso de las metástasis osteoblásticas por un carcinoma (Ca) de mama, este tipo de presentación representa alrededor del 10%.¹³ Las causas malignas, en general, se acompañan de un cuadro clínico sospechoso (dolor, anorexia, pérdida de peso) o bien de alteraciones de los parámetros bioquímicos (eritrosedimentación elevada, anemia, hipoalbuminemia, alteraciones en el proteinograma o marcadores tumorales alterados); en otros casos se sospechan por la hipercaptación centellográfica difusa. Son raros los casos en los cuales todos los parámetros

anteriores son normales y la sospecha diagnóstica de un carcinoma de mama con metástasis osteoblásticas surge por un aumento de los valores de la densitometría ósea (DXA).

El objetivo de este trabajo es presentar un caso en el cual los valores densitométricos desempeñaron un papel central en el diagnóstico.

Caso clínico

Una mujer de 61 años, consulta, en julio de 2011, por dolores leves osteoarticulares difusos y osteopenia. Este cuadro de dolores inespecíficos se presentó en la columna lumbar y cervical, las caderas y en la mano izquierda con leve rigidez en ésta, de solo algunos minutos de duración durante la mañana. Por DXA se detecta osteopenia y es derivada. Entre los antecedentes personales se jerarquiza un carcinoma de mama izquierda diagnosticado en 1997, por lo cual se le realiza una mastectomía parcial. Este tumor recidiva en 2004 y se completa el tratamiento con la mastectomía total, asociado a quimioterapia y radioterapia. Entre otros antecedentes se destacan: hepatitis B compensada, jaqueca crónica, menarca a los 13 años, ningún embarazo y menopausia a los 49 años. Consume lácteos abundantes (alrededor de 1,2 g/d), se expone poco al sol y realiza escasa actividad física. No tiene antecedentes de fracturas ni de litiasis renal. La abuela materna sufrió una fractura de cadera y sus únicas dos hermanas presentan osteoporosis. Como medicación, consumía ibuprofeno y anti-jaquecosos.

El examen físico mostraba: talla: 1,62 m, peso: 58 kg. Muy buen estado general, con leve dolor a la presión en columna cervical y lumbar, sin especificar un sitio preciso. FC: 72pp min. TA: 125/78. Se le realizaron tres DXA, en 2005, 2010 y 2012 respectivamente, todas en el mismo equipo Lunar donde se constata un incremento progresivo de la DMO del 21% en columna lumbar (L2-L4) y del 2,2% en cuello de fémur derecho (CFD), del 2005 al 2012, sin mediar ningún tratamiento osteoactivo (Tabla 1).



Tabla 1. Incremento de las densitometrías óseas lumbar y femoral sin mediar ningún tratamiento osteoactivo

DMO	L2- L4 g/cm ²	T score	CFD g/cm ²	T score
12/05	1,146	0,4	0,726	-2,1
08/10	1,227	0,2	0,731	-2,1
01/12	1,391	1,6	0,742	-2,0

Ante estos cambios densitométricos y sospechando alteraciones de tipo osteoartrósico en la columna lumbar que pudieran afectar los valores de su DXA, se le solicitan una radiografía de columna lumbar y otra de cadera, que mostraron imágenes osteocondensantes diseminadas de diferente tamaño, menores de 10 mm. En los análisis de laboratorio no se observaron alteraciones de interés; VSG 14, creatinina: 0,73 mg/dl, hepatograma y proteino-grama: normales. TSH: 2,5 mU/l. Se completó la evaluación mediante estudios realizados en nuestro laboratorio: calcemia: 9,6 mg/dl (VN: 8,8-10,5 mg/dl, método ISE), fosfatemia: 4,0 mg/dl (VN: 2,7-4,5 mg/dl, método cinético), crosslap sérico: 619 pg/ml (VN: 556±226 pg/ml, método electroquimioluminiscencia), osteocalcina: 42,4 ng/ml (VN: 11-43 ng/ml, método electroquimioluminiscencia), fosfatasa alcalina (FAL) 193 UI/L (VN: 90-280 UI/L,

método cinético), isoenzima ósea (FAIO): 56,5% (VN: 20-48% método precipitación con lectina), PTHi: 55,3 pg/ml (VN: 10-65 pg/ml, método electroquimioluminiscencia), 25(OH)D: 12,6 ng/ml (VN: mayor de 30 ng/dl, método radioinmunoensayo), calcio urinario: 177 mg/24 h. Se le indicó, como tratamiento, suplementos de calcio y ergocalciferol para corregir el déficit de vitamina D. Los diagnósticos iniciales fueron: osteopenia en cuello de fémur, jaqueca crónica, antecedente de carcinoma de mama con recidiva y un cuadro de imágenes osteocondensantes difusas, de etiología no aclarada.

Durante su evolución, la paciente se encontró en todo momento en muy buen estado general, con apetito y peso conservados y sin variantes en el examen físico. Los análisis realizados 2 meses después mostraron: hematocrito: 38%, hepatograma: normal, FAL: 254 UI/l, TSH: 1.0 mU/l, calcemia: 9,6 mg/dl, fosfatemia: 4,2 mg/dl, PTHi: 51 pg/ml, 25(OH)D: 30,3 ng/ml. Dado el buen estado general, los estudios bioquímicos normales y el control ginecológico de rutina negativo, se sospechó una enfermedad osteocondensante benigna. Una nueva radiografía de pelvis mostró diferencias con otra previa de 2009 (Figura 1), en donde se observa progresión marcada de las imágenes osteoblásticas.



Figura 1. Comparación de Rx de pelvis entre 2009 y 2012. Se advierte incremento de lesiones osteocondensantes.

La Rx de columna lumbar también presentó marcadas imágenes osteoblásticas (Figura 2).

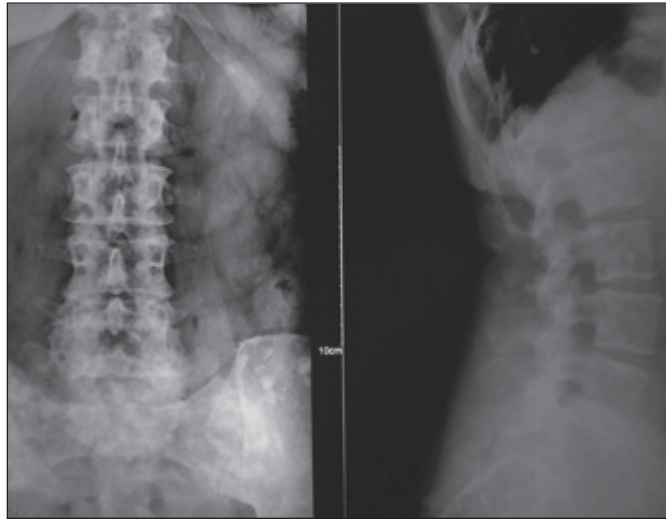


Figura 2. Radiografía de columna lumbar, frente y perfil. Se advierte en las vértebras lesiones osteocondensantes.

El centellograma óseo no mostró lesiones hipercaptantes, excepto una imagen en hueso supraclavicular derecho, no fácil de definir (Figura 3).

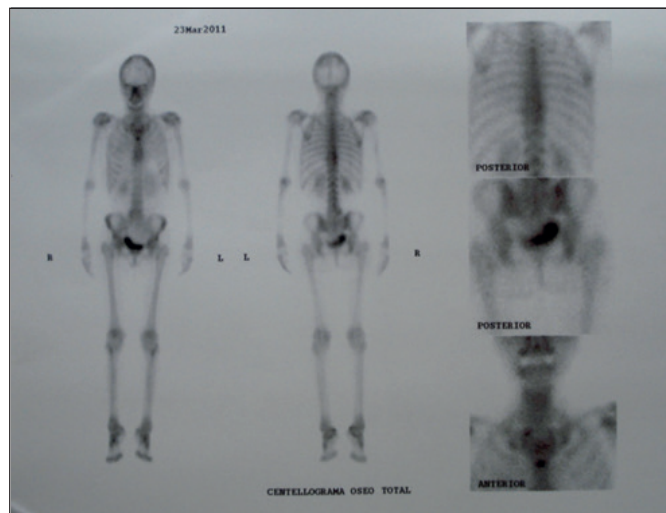


Figura 3. Centellograma óseo corporal total de una paciente con lesiones osteocondensantes y progresivas visibles en las radiografías convencionales.

Se repitieron los estudios de laboratorio de rutina y del metabolismo fosfocálcico, que persistieron normales. Finalmente se decide, ante la falta de diagnóstico, realizar una biopsia ósea de hueso ilíaco, que confirmó la presencia de células neoplásicas, compatibles

con metástasis de carcinoma de mama.

Posteriormente a la biopsia se realiza el estudio del marcador tumoral Ca15-3 cuyo valor de 31,5 (VN: <25) avala el diagnóstico. Se comienza tratamiento con anastrozol y pamidronato IV.



Discusión

El caso clínico de esta mujer de 61 años fue considerado en principio como una forma leve de osteopenia advertida en el cuello de fémur, asociado a deficiencia de vitamina D y con adecuado contenido de calcio en la dieta. Por tal motivo se decidió suplementar con vitamina D. Despertó nuestra atención, el aumento de la DMO en columna lumbar del 21% entre 2005 y 2012 y del 2,2% en cuello de fémur, sin mediar ningún tratamiento específico. En consecuencia, se pidieron radiografías de columna lumbar y cadera; se destacó la presencia de imágenes osteoblásticas en parches y difusas. Si bien se conocía el antecedente del carcinoma de mama y su recidiva, el buen estado general, el mantenimiento del peso, los análisis de laboratorio normales y la impresión de los ginecólogos y oncólogos de una enfermedad benigna, no relacionada con el tumor de mama, desconcertó a los médicos tratantes.

Se sospechó entonces la posibilidad de osteopoiquilosis, que es una rara enfermedad benigna, autosómica dominante, caracterizada por múltiples y discretas densidades redondeadas u ovoideas esparcidas por el esqueleto axial y apendicular.¹⁴ Esta enfermedad (en general) no produce síntomas significativos y el diagnóstico se realiza, en forma casual, por estudios radiográficos. Este diagnóstico fue considerado también, teniendo en cuenta los datos normales de laboratorio y del centellograma óseo. Sin embargo, el análisis comparativo de las radiografías actuales de columna y cadera realizada comparada con otras de cinco años previos-, en la cual no se observaban esas lesiones-, nos permitieron descartar esta entidad. Era de importancia el antecedente de las dos hermanas que presentaban osteoporosis y una abuela que sufrió una fractura de cadera- familia con osteoporosis- al relacionarlo con la progresiva mejoría de la DMO de la paciente. Se volvió a consultar con los ginecólogos tratantes

quienes no consideraron la presencia de extensión secundaria de su enfermedad de base. Entre los diagnósticos diferenciales se planteó la posibilidad de descartar una amplia gama de patologías, entre ellas tóxicos como el flúor y metales pesados; vitaminas A y D; la acción de radiaciones sobre el hueso; patologías hematológicas como el linfomas y la mielofibrosis, y otras como mastocitosis sistémica, enfermedad de Paget, esclerosis tuberosa o bien una condromatosis sinovial, pero la clínica de la paciente no cumplía con los criterios diagnósticos para dichas entidades.¹⁵⁻¹⁸ Finalmente y a pesar de la discrepancia entre los médicos tratantes y consultores, se planteó el diagnóstico de metástasis osteoblásticas producidas por el carcinoma de mama; se consideró, que estas lesiones tienen predilección por el esqueleto axial y suelen provocar destrucción ósea, dolores severos, reacción periósticas y generalmente son positivas en el centellograma óseo.¹⁹

Por tal motivo se decidió realizar una punción-biopsia ósea a nivel de la cresta ilíaca, cuyo resultado fue positivo para células neoplásicas de un carcinoma de mama. Si bien existen otros estudios de imágenes,^{20,21} que hubieran contribuido a aclarar la presencia de metástasis, la biopsia ósea confirmó el diagnóstico de múltiples metástasis en el esqueleto y comenzar el tratamiento acorde con esta grave complicación.

Considerando la forma infrecuente en la cual se llegó al diagnóstico, es importante aclarar como concepto que, en todo paciente con imágenes osteoblásticas y antecedentes de un carcinoma productor de lesiones osteoformativas, lo primero que debe descartar el médico asistente, es la existencia de metástasis esqueléticas.

El interesante valor que presenta este caso se adscribe a la sospecha diagnóstica sugerida por el aumento inexplicable de los valores de la DMO, y la progresión en poco tiempo de las lesiones osteoblásticas visibles en las radiografías, que determinaron la realización de una punción-biopsia ósea que aclaró el diagnóstico.

Referencias

1. Lentle BC, Russell AS, Heslip PG, Percy JS. The scintigraphic findings in Paget's disease of bone. *Clin Radiol* 1976; 27:129-35.
2. Marcove RC, Rooney R, Weis LD. Osteosclerotic lesions in sarcoidosis. Report of a case. *Clin Orthop Relat Res* 1977; 129:248-50.
3. Song L, Zhang Y, Zhang W. Bone scintigraphy may help differentiate bone sclerotic lesions from osteoblastic metastases in tuberculous sclerosis patients with concomitant pulmonary adenocarcinoma. *Clin Imagin* 2013; 37:382-5.
4. Landa J, Margolis N, Di Cesare P. Orthopaedic management of the patient with osteopetrosis. *J Am Acad Orthop Surg* 2007; 15:654-62.
5. Simoni P, Denut J, Ben Mustapha S, et al. Unusual presentation of osteopoikilosis. *JBR-BTR* 2013; 96:386-7.
6. Harvey HA, Cream LV. Biology of bone metastases: causes and consequences. *Clin Breast Cancer* 2007; Suppl 1:S7-S13. Review.
7. Dong Y, Zheng S, Machida H, et al. Differential diagnosis of osteoblastic metastases from bone islands in patients with lung cancer by single-source dual-energy CT: Advantages of spectral CT imaging. *Eur J Radiol* 2015; 84(5):901-7.
8. Mughal TI, Phillips RH, Robinson WA. Bladder carcinoma presenting as a solitary bony metastasis. *J Urol* 1983; 130: 973.
9. Amoroso V, Pittiani F, Grisanti S, et al. Osteoblastic flare in a patient with advanced gastric cancer after treatment with pemetrexed and oxaliplatin: implications for response assessment with RECIST criteria. *BMC Cancer* 2007; 7: 94.
10. Varyani N, Thukral A, Garg S, Gupta KK, Tandon R, Tripathi K. Atypical neurofibroma and osteosclerotic metastasis. *Case Rep Oncol Med* 2012; 2012:301437.
11. Donati E, Mazza C, Campostrini F, et al. Extracranial metastases from medulloblastoma: report of four cases. *Radiol Med* 1980; 66:959-66.
12. Recine M, Castellano-Sanchez AA, Sheldon J, Schwartz M, Cabello-Inchausti B. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma/leukemia presenting as osteoblastic bone lesions. *Ann Diagn Pathol* 2002; 6(4): 236-43.
13. Shen WW, Chen WG, Liu FZ, et al. Breast cancer cells promote osteoblastic differentiation via Sema 3A signaling pathway in vitro. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8:1584-93.
14. Ozdemirel AE, Cakit BD, Erdem HR, Koc B. A rare benign disorder mimicking metastasis on radiographic examination: a case report of osteopoikilosis. *Rheumatol Int* 2011; 31:1113-6.
15. Johansson C, Roupé G, Lindstedt G, Mellström D. Bone density, bone markers and bone radiological features in mastocytosis. *Age Ageing* 1996; 25:1-7.
16. Benli IT, Akalin S, Boysan E, Mumcu EF, Kis M, Türkoglu D. Epidemiological, clinical and radiological aspects of osteopoikilosis. *J Boiint Surg* 1992; 74:504-6.
17. Resnick D, Niwayama G. Enostosis, hyperostosis and periostitis. In: Resnick D, Niwayama G (eds). *Diagnosis of bone and joint disorders*. Philadelphia: W.B Saunders Company, 1998, p. 4084-8.
18. Siris E, Roodman GD. *Paget's disease of bone*. 7th ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research, 2008.
19. Seron MA, Yochum TR. *Essentials of skeletal radiology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996, p. 630-3.
20. Jansson T, Westlin JE, Ahlstrom H, Lilja A, Langstrom B, Bergh J. Positron emission tomography studies in patients with locally advanced and/or metastatic breast cancer: a method for early therapy evaluation? *J Clin Oncol* 1995; 13(6):1470-7.
21. Nakamoto Y, Cohade C, Tatsumi M, Hammoud D, Wahl RL. CT appearance of bone metastases detected with FDG PET as part of the same PET/CT examination. *Radiology* 2005; 237:627-34.



CONTROVERSIAS / Controversies

CONTROVERSIAS EN LA MEDICIÓN DE PARATHORMONA

Erich Fradinger*

Instituto de Investigaciones Metabólicas, Buenos Aires, República Argentina.

Resumen

La parathormona es una proteína de 84 aminoácidos, muy importante en el diagnóstico de hipocalcemia o hipercalcemia, hiperparatiroidismo e hipoparatiroidismo y en el seguimiento de la patología ósea en pacientes renales, etc. Si bien el primer ensayo fue publicado en 1963, aún hoy su medición en el laboratorio es un desafío parcialmente resuelto. Entre los tantos problemas podemos mencionar los fragmentos circulantes que son reconocidos por ensayos de segunda generación, la distinta especificidad de los anticuerpos ante estos fragmentos, la falta de un método de referencia, de estandarización de los ensayos y de definición de cuál debe ser la población ideal para definir un rango de referencia. Se requiere un avance en todos estos aspectos para que los ensayos sean comparables. A su vez, es muy importante que los médicos conozcan estos problemas y los usen como herramientas para la interpretación de un resultado. Es esencial que los laboratorios implementen estrictos procedimientos de control de calidad interno y su participación en un control de calidad externo para evaluar su *performance* con respecto a sus propias metodologías en relación a otras.

Palabras clave: controversias, medición, parathormona.

Summary

CONTROVERSIES IN MEASURING PARATHYROID HORMONE

Parathyroid hormone is a 84 aminoacid protein very important in the diagnosis of hypocalcemia and hypercalcemia, hyper and hypoparathyroidism and in the follow up of bone disorders in renal patients. Although the first assay was published in 1963, even today its measurement in the laboratory is a partially-resolved challenge. Common problems are circulating fragments that are recognized by second-generation assays, the different specificity of antibodies, the lack of a reference method, the lack of assay standardization and the lack of definition about which is the ideal population to define a normal reference range. Improvements in all of these aspects are required to make assays comparable. It is important that physicians know these aspects and use them as tools to interpret one results. It is essential that laboratories implement strict internal quality control procedures and participation in external quality assessment schemes to evaluate the performance among different methods.

Key words: controversies, measure, parathyroid hormone.

* Dirección postal: Instituto de Investigaciones Metabólicas, Libertad 836, 1er piso, 1012 Buenos Aires, República Argentina. Correo electrónico: efradinger@idim.com.ar

La parathormona (PTH) es una proteína de 84 aminoácidos codificada en el cromosoma 11p y producida por la glándula paratiroidea. Se sintetiza como una preproPTH (115 aminoácidos) que por enzimas específicas, se cliva a una proPTH y finalmente a PTH. Su vida media en circulación es muy corta (2-4 min) y su metabolismo es principalmente hepático, si bien el riñón también metaboliza la hormona intacta y algunos fragmentos.

Son bien conocidas las acciones sobre órganos clásicos del metabolismo fosfocálcico: en el riñón es hipocalciúrica, hiperfosfática y estimula la enzima 1-alfa-hidroxilasa (CYP27B1) que sintetiza la 1,25-dihidroxitamina D.

En el hueso es una hormona osteoclastogénica por aumento de expresión de RANKL osteoblástico y disminución de la síntesis de esclerostina en osteocito.

Ensayos de primera generación

El primer ensayo fue un radioinmunoensayo (RIA) y data de 1963. Desarrollado por Berson y Yallow,¹ usaron anticuerpos policlonales de cobayo y conejo dirigidos contra PTH bovina. En los siguientes años se desarrollaron otros ensayos con anticuerpos dirigidos principalmente a fragmentos carboxilo terminal y fragmentos medios de la molécula (Figura 1). Tenían como principal desventaja la inespecificidad (por el uso de un solo anticuerpo) y la retención de fragmentos en pacientes con filtrado glomerular bajo. En nuestro medio fue muy conocido el ensayo desarrollado por el Dr. Slatopolsky con un anticuerpo (CH9) cuya curva de calibración se realizaba con el fragmento “molécula media” y fue muy utilizado en la década de 1980 hasta la aparición de los ensayos de segunda generación.

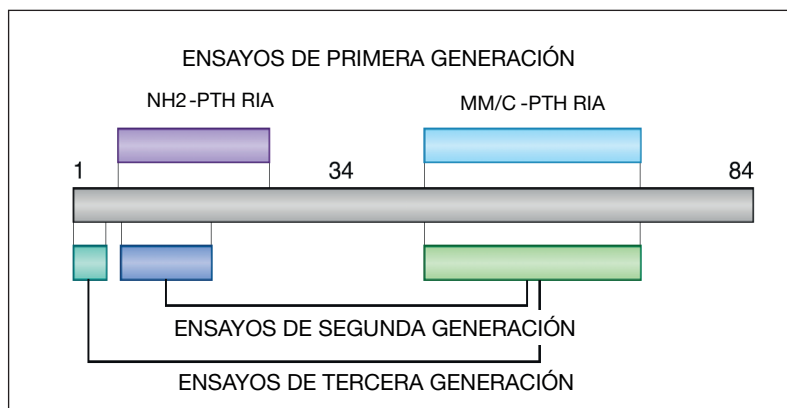


Figura 1. Los distintos anticuerpos dirigidos a la molécula de PTH en los ensayos de primera, segunda y tercera generación. Modificado de Garrett G, Sardiwal S, Lamb EJ, Goldsmith DJ. PTH- A particularly tricky hormone: why measure it at all in kidney patients? *Clin Am Soc Nephrol* 2013; 8:299-312.

Ensayos de segunda generación

Estos ensayos inmunoradiométricos (IRMA) incorporaron un segundo anticuerpo que confería mayor especificidad y sensibilidad. El primer anticuerpo (de captura) fue dirigido a la región C-terminal (entre aminoácidos 34-84) y el segundo anticuerpo (de detección) a la región N-terminal (entre

aminoácidos 15-32) (Figura 1). El primero de estos ensayos comerciales fue el Allegro PTH (*Nichol's Institute*)² y luego distintos proveedores desarrollaron sus anticuerpos y automatizaron sus plataformas con detección por quimioluminiscencia primero y luego por electroquimioluminiscencia. Es importante destacar que con el ensayo Allegro se publicó el rango de referencia de PTH (10-65 pg/ml)



más frecuentemente citado durante años y con el que también se desarrollaron las normas de la *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (KDOQI), hoy reemplazadas por las normas *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO).

Durante décadas se utilizaron y aún se utilizan los ensayos de segunda generación, comercializados con el argumento de mayor especificidad para PTH intacta (1-84). Pero en 1992 se publicó un importante trabajo que mostró que el nivel de PTH en pacientes con enfermedad renal crónica no se correlacionaba con la patología que la biopsia ósea revelaba en esos pacientes.³ Es decir que, en ciertos casos, la PTH de segunda generación sobrestimaba el problema óseo que realmente existía. Al poco tiempo, Lepage y cols.⁴ demostraron que estos ensayos, además de dosar PTH 1-84, también dosaban fragmentos (entre ellos un fragmento inactivo 7-84). Vale decir que los médicos recibían (y reciben actualmente) en los informes de laboratorio un valor numérico que representa PTH “intacta” sumada a otros fragmentos.

Ensayos de tercera generación

Para resolver el problema del cruzamiento con el fragmento 7-84 desarrollaron el segundo anticuerpo dirigido a la porción más distal del NH₂ terminal (entre aminoácidos 1-4). El primer ensayo fue comercializado por Scantibodies Lab Inc.^{5,6} Se lo llamó “whole” PTH (PTH bioactiva 1-84) y además con el kit se podía también medir PTH con un ensayo de segunda generación. La diferencia entre las PTH de ambos ensayos era aproximadamente la cantidad de fragmento 7-84 que el paciente tenía en circulación. Los resultados del primer ensayo de tercera generación mostraron que el cruzamiento con 7-84 oscilaba entre 40-60%, por lo que el rango de referencia de este ensayo cambió sustancialmente (rango 5-31 pg/ml). El cociente entre la PTH bioactiva/PTH de segunda generación en sujetos normales,

hemodializados, con hiperparatiroidismo primario, siempre resultó menor de 1, hasta que se descubrió una excepción a estos casos: los pacientes con carcinoma paratiroideo presentaban un cociente PTH bioactiva/PTH de segunda mayor de 1.⁷ Esto se debe a una forma molecular llamada “amino PTH” (modificada probablemente en serina 17) que se “sobreproduce” en estos pacientes. Los ensayos de tercera generación cruzan con esta forma molecular (no así los de segunda), por lo que la relación está invertida y es mayor de uno.⁸

Posteriormente, varias empresas desarrollaron sus anticuerpos propios y automatizaron sus plataformas, primero con detección por quimioluminiscencia y luego por electroquimioluminiscencia. Recientemente se ha publicado un trabajo donde se comparan los dos ensayos comerciales de tercera generación más conocidos, en el cual se observa en el gráfico Bland-Altman una clara diferencia entre ambos en distintas concentraciones. Hasta 200 pg/ml, el sesgo es en promedio 20 pg/ml, mientras que en concentraciones mayores de 200 pg/ml el “bias” aumenta significativamente.⁹ Si bien ambos ensayos son de tercera generación, estas diferencias pueden deberse a la calibración de los ensayos, los efectos de matriz o la especificidad de los anticuerpos, como se explica más adelante.

¿Ensayos de cuarta generación?

Es bien conocido el metabolismo de la PTH. Se sabe que se oxida en la metionina-8 y 18 y que la PTH oxidada es inactiva ya que no puede reconocer al receptor PTH1R. En un elegante diseño, Hocher y cols.¹⁰ desarrollaron un método para separar por cromatografía de afinidad la PTH oxidada (inactiva) de la PTH no oxidada (activa). Al medir la PTH no oxidada (posterior a su separación de la oxidada) con ensayos convencionales resultó que esta circula en concentraciones muy inferiores a las esperadas: $7,7 \pm 1,55$ pg/ml (media ± 1 desvío estándar) con rango de 5 a 14 pg/ml).

Quiere decir que la PTH activa circulante es en promedio 4 veces menor que lo que usualmente medimos en el laboratorio. Queda preguntarse si realmente será necesario medir PTH activa mediante este método (incómodo), ya que cada muestra debe ser pasada por una columna cromatográfica y después ensayada por inmunoensayo.

Ensayos por cromatografía líquida/espectrometría de masa (LC-MS/MS)

Se han publicado dos métodos que utilizan esta técnica, con el fin de alcanzar la posibilidad de desarrollar un método de referencia para PTH.^{11,12} Estos métodos realizan extracción por inmutafinidad y posterior digestión y cuantificación por LC-MS/MS. Son métodos muy promisorios desde lo analítico pero aún tienen algunos problemas: el tratamiento previo de cada muestra y las variantes moleculares de PTH (fosforilada en serina-17 y oxidada en metionina-18) no pueden ser distinguidas (separadas) con estos métodos.

Comparación entre métodos

Durante dos décadas se han publicado gran cantidad de trabajos en los cuales se comparan distintos ensayos de PTH.¹³⁻¹⁹ Las discrepancias entre los ensayos no difieren demasiado, independientemente del año de la publicación, y enfatizan la importancia de estas variaciones al evaluar pacientes con enfermedad renal crónica: un paciente podría ser evaluado de manera distinta con respecto a las guías KDIGO dependiendo del ensayo utilizado, y por ende recibir un tratamiento no adecuado.¹⁵ Los diferentes anticuerpos confieren distinta especificidad ya que tienen distinto cruzamiento con el 7-84 y otros fragmentos. Esto en pacientes renales se hace más evidente y los valores de un ensayo pueden duplicar al de otro. Un tema para considerar es la presencia de anticuerpos heterófilos. Los ensayos pueden interferir por presencia

de anticuerpos (anticobayo u otros) en el suero humano. En general, estos dan interferencias positivas y valores de PTH altos. Ante muestras sospechosas, tal problema puede resolverse con bloqueantes (comerciales) de esos anticuerpos.

Los estándares que usan los proveedores de reactivos difieren entre sí. Existe un Estándar de Referencia Internacional (IS 95/646) que podría mejorar la comparabilidad entre distintas marcas. Para esto es necesario que las empresas calibren sus inmunoensayos contra este estándar. Hasta la fecha de la escritura de este artículo, ninguna empresa tiene el ensayo calibrado contra este estándar, con excepción de un ensayo de 3ª generación.⁹

Participo del Programa de Control Externo NEQAS desde hace 10 años y regularmente se ven las diferencias entre los distintos ensayos, muy similares a las publicadas.¹⁵ Este Programa NEQAS envía rutinariamente pruebas de recuperación con PTH sintética y con el IS 95/646 y los resultados demuestran claramente los problemas de estandarización: se observan en algunos ensayos porcentajes de recuperación mayores de 200% (observación personal). Un estudio reciente compara dos ensayos de tercera generación antes y después de una recalibración con IS 95/646.²⁰ La variabilidad entre los ensayos disminuye significativamente y, más aún, los rangos de referencia entre ambos se hacen comparables.

Variabilidad biológica

La variabilidad intraindividual (CVi) cuando se utilizan ensayos de segunda generación promedia un 25%.²¹ En algunos estudios más recientes con ensayos de tercera generación, el CVi promedia un 30%.²² Estos valores son muy importantes ya que establecen un mínimo cambio significativo para la PTH de más del 70%, lo que dificulta la interpretación de una sola medición de PTH. En pacientes hemodializados, los valores de CVi son más elevados.



Rango de referencia

Es muy importante mencionar que al día de hoy no existe un consenso acerca de cuál debe ser la muestra poblacional ideal para establecer el rango de referencia de PTH. El rango de referencia del kit Allegro (*Nichol's Institute*) no tomó en consideración el estado nutricional de la vitamina D. Se ha sugerido que el límite superior normal de PTH es hasta un 35% menor si se excluyen los individuos con 25-hidroxivitamina D bajos.²³ En un trabajo más reciente se comparan los rangos de refe-

rencia propuestos en los insertos de 10 kits comerciales y los rangos de referencia obtenidos en una población de "referencia": 25-hidroxivitamina D mayor de 30 ng/ml, *clearance* mayor de 60 ml/min, calcio y fósforo normales.²⁴ Se demuestra de manera concluyente que, con algunas marcas comerciales, el límite superior normal de PTH es inferior al propuesto en el inserto pero en otros no (Tabla 1). A pesar de estas diferencias, usando el rango de referencia de la población repleta de vitamina D se mejora la clasificación de los pacientes hemodializados de acuerdo con las guías KDIGO.

Tabla 1. Rangos de referencia según el proveedor y obtenidos en población de referencia: vitamina D > 30 ng/ml, *clearance* mayor de 60 ml/min, calcio y fósforo normal. Adaptado de Ref. 24

Ensayo	Rango de referencia del proveedor (pg/ml)	Límites de referencia (95% de IC) en población de referencia (pg/ml)
1	15,0 - 68,3	16,3 (14,1 - 18,5) - 64,7 (62,5 - 67,0)
2	12 - 88	10,1 (8,4 - 11,8) - 47,4 (45,7 - 49,1)
3	13 - 54	7,2 (5,9 - 8,6) - 35,7 (34,3 - 37,0)
4	17,3 - 72,9	21,3 (19,4 - 23,2) - 68,2 (66,2 - 70,1)
5	7,5 - 53,5	10,8 (9,1 - 12,6) - 47,5 (45,8 - 49,2)
6	15 - 65	13,7 (12,0 - 15,4) - 50,2 (48,4 - 51,9)
7	14 - 66	7,8 (5,8 - 9,8) - 49,7 (47,8 - 51,7)
8	12 - 65	5,4 (3,0 - 8,1) - 57,1 (51,1 - 74,6)
9	5,5 - 38,4	4,6 (3,6 - 5,6) - 25,8 (24,8 - 26,8)
10	5 - 39	6,8 (5,7 - 7,9) - 30,8 (29,6 - 31,9)

Avances importantes

La *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) ha establecido un Grupo de Trabajo (*Working group*) con objetivos de corto y largo plazo: preparar recomendaciones óptimas en la fase preanalítica, recomendar las unidades en las que se debe expresar la PTH (pg/ml o pM), sugerir de manera urgente a la

industria la calibración de los ensayos contra el IS 95/646, desarrollar procedimientos de medición de referencia para la PTH y preparar un panel de muestras de referencia (en plasma), entre otros.²⁵ Luego de una muy importante revisión se sugiere como muestra óptima para PTH la sangre recolectada en tubos con EDTA ya que es más estable que en suero.²⁶ Se recomienda la separación del plasma dentro de las 24 horas de la extracción y guardarlo

a 4 °C con el proceso analítico dentro de las 72 horas de extraída la muestra. La gran desventaja de estas recomendaciones es que la muestra extraída con EDTA no sirve para medir calcio. Y hay que tener especial cuidado en el rango de referencia, ya que para algunos proveedores es distinto para plasma que para suero. Estas recomendaciones no implican que el suero no se pueda utilizar. La centrifugación en estos casos debe ser inmediata y no dejar el suero a temperatura ambiente por más de 2 horas.

Conclusiones

El proceso de mejora de los ensayos de PTH es más lento que el que se realiza para otros analitos con problemas analíticos similares, como por ejemplo la 25-hidroxivitamina D.²⁷ Es evidente y lógico pensar que en el futuro se medirá PTH solo con ensayos de tercera generación por el simple hecho de que en estos ensayos ya no estamos midiendo

el fragmento 7-84. Sin embargo, las últimas Guías para el manejo del hiperparatiroidismo asintomático sugieren claramente que los ensayos de segunda y tercera generación tienen la misma sensibilidad en el diagnóstico de hiperparatiroidismo primario, por lo cual los de segunda generación continuarán en uso hasta que las empresas proveedoras decidan no comercializarlos más.²⁸ Al evaluar un resultado de PTH es importante que el médico tenga en cuenta todas las variables que aquí se han descrito e intentar siempre hacer el seguimiento del paciente en el mismo laboratorio.

Sin embargo, ante un resultado dudoso, se sugiere establecer el diálogo con el bioquímico ya que se siempre se puede ensayar la PTH con otra metodología.

Conflicto de intereses: el autor no presenta conflicto de intereses.

(Recibido: junio 2015.

Aceptado: julio 2015).

Referencias

1. Berson SA, Yalow RS, Aurbach GD, Potts JT. Immunoassay of bovine and human parathyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1963; 49:613-7.
2. Nussbaum SR, Zahradnik RJ, Lavigne JR, et al. Highly sensitive two-site immunoradiometric assay of parathryn, and its clinical utility in evaluating patients with hypercalcemia. *Clin Chem* 1987; 33:1364-7.
3. Quarles LD, Lobaugh B, Murphy G. Intact parathyroid hormone overestimates the presence and severity of parathyroid-mediated osseous abnormalities in uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:145-50.
4. Lepage R, Roy L, Brossard JH, et al. A non-(1-84) parathyroid hormone circulating fragment interferes significantly with intact PTH commercial assay measurements in uremic patients. *Clin Chem* 1998; 44:805-9.
5. John MR, Coolman WG, Gao P, Cantor T, et al. A novel immuoradiometric assay detects full-length human PTH but not amino-terminally truncated fragments: implications for PTH measurements in renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:4287-90.
6. Gao P, Scheibel S, D'Amour P, et al. Development of a novel immunoradiometric assay exclusively for biologically active whole parathyroid hormone 1-84. Implications for improvement of accurate assessment of parathyroid function. *J Bone Miner Res* 2001; 16:605-14.
7. Cavalier E, Daly A, Betea D, et al. The ratio of parathyroid hormone as measured by third- and second-generation assays as a marker for parathyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:3745-49.
8. Rubin M, Silverberg S, D'Amour P, et al. An N-terminal molecular form of parathyroid hormone (PTH) distinct from hPTH (1-84) is overproduced in



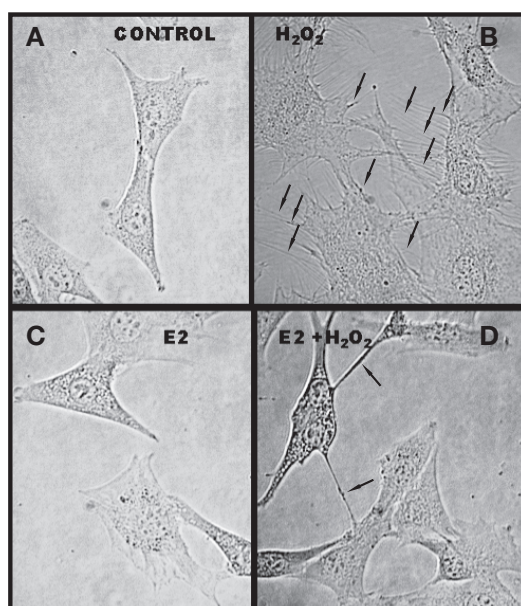
- parathyroid carcinoma. *Clin Chem* 2007; 53:1470-6.
9. Hecking M, Kainz A, Bielez B, et al. Clinical evaluation of two novel biointact PTH (1-84) assays in hemodialysis patients. *Clin Biochem* 2012; 45:1645-51.
 10. Hocher B, Oberthur D, Slowinski T, et al. Modeling of oxidized PTH (oxPTH) and non-oxidized PTH (non-oxPTH) receptor binding and relationship of oxidized to non-oxidized PTH in children with chronic renal failure, adult patients on hemodialysis and kidney transplant recipients. *Kidney Blood Press Res* 2013; 37:240-51.
 11. Kumar V, Barnidge DR, Chen LS, et al. Quantification of serum 1-84 parathyroid hormone in patients with hyperparathyroidism by immunocapture in situ digestion liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2010; 56:306-13.
 12. Lopez MF, Rezai T, Sarracino DA, et al. Selected reaction monitoring-mass spectrometric immunoassay responsive to parathyroid hormone and related variants. *Clin Chem* 2010; 56:281-90.
 13. Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int* 2006; 70:345-50.
 14. Cantor T, Yang Z, Caraianni N, Ilamathi E. Lack of comparability of intact parathyroid hormone measurements among commercial assays for end-stage renal disease patients: implications for treatment decisions. *Clin Chem* 2006; 52:1771-6.
 15. Almond A, Ellis A, Walker SW, et al. Current PTH immunoassays do not adequately meet the needs of patients with chronic kidney disease. *Ann Clin Biochem* 2011; 1-5.
 16. Sukumar D, Shapses S, Partridge C et al. Inter-variability among serum intact parathyroid hormone assays: a need for standardization. *Osteoporos Int* 2008; 12:1805-6.
 17. Joly D, Dueke T, Alberti C, et al. Variation in serum and plasma PTH levels in second-generation assays in hemodialysis patients: A cross-sectional study. *Am J Kidney Dis* 2008; 6:987-95.
 18. Eddington H, Hudson J, Oliver R, et al. Variability in parathyroid hormone assays confounds clinical practice in chronic kidney disease patients. *Ann Clin Biochem* 2014; 51:228-36.
 19. Tan K, Ong L, Seth S, et al. Comparison of the Elecsys PTH (1-84) assay with four contemporary second generation intact PTH assays and association with other biomarkers in chronic kidney disease patients. *Clin Biochem* 2013; 46:781-6.
 20. Cavalier E, Delanaye P, Lukas P, et al. Standardization of Diasorin and Roche automated third generation PTH assays with an International Standard. Impact on clinical populations. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52:1137-41.
 21. Vijoen A, Singh D, Patrick J, et al. Analytical quality goals for parathyroid hormone based on biological variation. *Clin Chem Lab Med* 2008; 10:1438-42.
 22. Gardham C, Stevens P, Delaney M, et al. Variability of parathyroid hormone and other markers of bone mineral metabolism in patients undergoing hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:1261-67.
 23. Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C, et al. Vitamin D status and redefining serum PTH reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:3086-90.
 24. Cavalier E, Delanaye P, Vranken L et al. Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:1950-6.
 25. Sturgeon C, Sprague S, Metcalfe W. Variation in parathyroid hormone immunoassay results: a critical governance issue in the management of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:3440-45.
 26. Hanon E, Sturgeon C, Lamb E. Sampling and storage conditions influencing the measurement of parathyroid hormone in blood samples: a systematic review. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:1925-41.
 27. Fradinger E. Controversias en la medición de vitamina D. *Actual. Osteol* 2014; 10:85-90.
 28. Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R, et al. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: Summary statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99:3561-9.

IMÁGENES EN OSTEOLOGÍA / *Imaging in Osteology*

17 β -ESTRADIOL DISMINUYE LAS CONEXIONES INTERCELULARES INDUCIDAS POR PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN CULTIVOS DE CÉLULAS DE MÚSCULO ESQUELÉTICO

Anabela La Colla, Lucía Pronsato, Lorena Milanesi, Andrea Vasconsuelo*

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur.
San Juan 670, 8000 Bahía Blanca, Argentina



La estructura del citoesqueleto es uno de los primeros target del estrés oxidativo. El tratamiento con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) promueve la polimerización/desorganización del citoesqueleto de actina induciendo la formación de conexiones de tipo nanotubular entre las células de músculo esquelético murino C2C12 (flechas, Figura B). Sin embargo, cuando las células son preincubadas con concentraciones fisiológicas de 17 β -estradiol

(E2) (Figura C) y luego tratadas con H_2O_2 estos cambios morfológicos se encuentran significativamente disminuidos (flechas, Figura D). (Microscopia campo claro. 63x).

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: julio 2015.
Aceptado: agosto 2015).

* Correo electrónico: avascon@criba.edu.ar



CARTAS AL COMITÉ DE REDACCIÓN / *Letters to the Editor*

MEDICINA BASADA EN LA EVIDENCIA Y LAS ENFERMEDADES RARAS

En relación con la editorial de Francisco Maglio sobre gerenciamientos de salud y medicina basada en la evidencia (MBE) y los aspectos críticos y problemas éticos que enlista,¹ a los que adhiero en principio, quisiera resaltar que en la especialidad que nos ocupa, la osteología, la problemática puede ser más acuciante aún. En efecto, la gran mayoría de las condiciones mórbidas del metabolismo fosfocálcico son de baja prevalencia y escaso interés para el desarrollo científico integral, es decir, el que termina en la disponibilidad de un producto diagnóstico o uno terapéutico para aliviarlas. Son entonces enfermedades raras y huérfanas de recursos específicos. Cuando los tienen, han sido consecuencia de un hallazgo fortuito, aislado, o porque los afectados han sido estudiados como escalón a fin de producir conocimientos intermedios para aplicar luego en enfermedades de mayor prevalencia. Esto hace casi imposible aprovechar la MBE en osteología, y la propuesta de Maglio se torna entonces más interesante.

La lista de críticas a la MBE para enfermedades raras es larga pero, entre las principales, se encuentra el origen monopólico u oligopólico de la información, que sesga cualquier intento de equilibrio de intereses, si solo existen 2 o 3 estudios pivotaes y estos provienen del mismo patrocinador o grupo de estudio pues no pueden considerarse como parte de una MBE balanceada.

Los diseños de los estudios clínicos, el tamaño de la muestra y la inferencia estadística de los datos idealmente deben ser discretos, es decir, ajustados a lo posible. Las autoridades regulatorias, salvo excepciones, no consideran aún normas para estudios discretos y no admiten estudios para enfermedades raras simplemente porque no se parecen o no se encuadran en las normas de los estudios de costumbre. Entonces, un valioso estudio discreto les parece calidad inferior a la de un mal diseñado estudio habitual. Pero no son sino las unidireccionales normas regulatorias las que conforman una barrera contra el desarrollo de investigaciones en enfermedades raras. La ciencia, por el contrario, es diversidad e ingenio.

En el otro extremo, los comités de ética aprueban, compasivamente quizás, muchos estudios incompletos, los que generalmente tienen destino de tesis de doctorado, publicaciones exóticas, o ensayos de técnicas arriesgadas en pacientes sin otras ofertas al alcance. Cada afectado por una enfermedad rara es una persona vulnerable y muy valiosa para la ciencia y no debería ser incluido en estudios que no tengan finalidad traslacional. Para aprobarlos, los comités deberían conocer si son parte de un programa integral o solo un ensayo ocasional y sin otro destino que el despilfarro de información.

La evidencia justa, en su punto justo, es lo que necesita la gran mayoría de las enfermedades del metabolismo óseo.

Emilio J. A. Roldán

Fundación GEISER

Cap. de Enfermedades Raras del Esqueleto-IOF.

Research Working Group-ICORD.

Conflicto de intereses:

Dirección Científica. Gador SA, Buenos Aires.

(Recibido: junio 2015.

Aceptado: junio 2015).

Referencias:

- 1) Maglio F. Qué paso en la medicina de los últimos diez años. *Actual. Osteol* 2015; 11:7-11.

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

THE *p38α* MAPK FUNCTION IN OSTEOPRECURSORS IS REQUIRED FOR BONE FORMATION AND BONE HOMEOSTASIS IN ADULT MICE

Rodríguez-Carballo E, Gámez B, Sedó-Cabezón L, et al. PLOS One 2014; 9:e102032

Valeria Andrea Rodríguez*

Laboratorio "Dr. Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, INICSA (CONICET-Universidad Nacional de Córdoba).

Durante el desarrollo, la osificación depende de la actividad de osteoblastos que derivan de las células madre mesenquimales. A lo largo de este proceso de diferenciación osteoblástica, los osteocondroprogenitores proliferan y pasan por una serie de etapas antes de convertirse en osteoblastos maduros.¹ Los osteocitos son derivados de los osteoblastos diferenciados que permanecen embebidos en la matriz ósea mineralizada. Muchos estímulos extracelulares tales como tensión mecánica, citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento, han sido descriptos como reguladores de la diferenciación de osteoblastos mediados por p38 MAP quinasas (MAPK).² En células de mamíferos, se han descripto cuatro isoformas de p38 MAPK: p38α (MAPK14), β (MAPK11), γ (MAPK12) y δ (MAPK13).³

La señalización de p38 en el desarrollo óseo temprano también se ha estudiado en modelos de ratón. Un estudio del desarrollo de los huesos largos de los ratones con la supresión específica de p38α en los osteoblastos mostró una progresiva disminución de la densidad mineral ósea en el hueso cortical y trabecular.⁴ Aunque los trabajos existentes indican la participación de la señalización de p38 en la formación ósea temprana y esquelotogénesis, su contribución específica para la remodelación ósea de adultos aún es desconocida. En el presente trabajo se evaluó la delección del p38α específico de osteoblastos para determinar si participa en la esquelotogénesis temprana, así como en la homeostasis ósea en el esqueleto adulto. La eliminación temprana de p38α reve-

ló una defectuosa osificación endocondral en calvarie y huesos largos. Los ratones *knockout* mostraron una reducción del volumen de hueso trabecular en el fémur distal, asociado con bajo espesor trabecular. Además, presentaron disminución del volumen de hueso cortical femoral y del espesor. La supresión de p38α deteriora la osteoblastogénesis, la maduración de los osteoblastos y la actividad a través de la disminución de la expresión de los factores de transcripción específicos de osteoblastos, pero no afecta la función de los osteoclastos.

La pérdida ósea en los ratones *knockout* se detectó a las 30 semanas de edad. Sin embargo, a las 60 semanas, el volumen del hueso cortical y el espesor fueron menores, mientras que no se observaron diferencias en volumen de hueso trabecular y el número de trabéculas con respecto al de los ratones controles. Este efecto refleja rasgos morfológicos de osteoporosis en seres humanos.⁵ En este modelo, p38α tiene un efecto significativo en la remodelación ósea después de 30 semanas de edad. Se puede especular que, más adelante, esos efectos podrían ser atenuados por la reducción dependiente de la edad en el hueso trabecular, para mantener algunas de las competencias biomecánicas (p. ej., disminuir la fuerza cortical). Algunos mecanismos similares de compensación en función de la edad en ratones han sugerido la pérdida ósea en roedores.⁶ Por lo tanto, además de su papel en la esquelotogénesis temprana y la mineralización, p38α también es esencial para la diferenciación de los osteoblastos y/o para mantener

* Correo electrónico: valerod2003@yahoo.com.ar



la función osteoblástica en el hueso adulto mineralizado. Como resultado de esto, los datos muestran también que la eficacia de la remodelación ósea durante toda la vida requiere la función de p38 y que la inhibición de esta vía de señalización se traduciría en un mal funcionamiento de los osteoblastos durante tratamientos crónicos. Varios inhibidores de p38 MAPK se han considerado como potenciales fármacos autoinmunes o antiinflamatorios, así como inhibidores de dolor neuropático.⁷ Por lo tanto se deben tomar en cuenta los inhibidores de p38 quinasa altamente selectivos en los efectos secundarios en la osteoporosis.

Del mismo modo, los efectos de señalización de p38 en la actividad de resorción ósea de los osteoclastos también deben ser analizados. La inhibición de la señalización de p38 en los osteoclastos reduce su actividad de resorción y previene la pérdida de hueso trabecular inducida por deficiencia de estrógenos.⁸

El remodelado óseo depende de un equilibrio altamente acoplado entre osteoblastos y osteoclastos. A pesar de que la función de los osteoblastos era defectuosa, no hay diferencias significativas en la relación Rankl/OPG. Estos resultados indican que la alteración de la función osteoblástica debido a la falta de p38 α no modificó severamente la función osteoclástica. Por otra parte, los efectos de la supresión

de p38 α también fueron marcados durante la diferenciación de cultivos de osteoblastos *in vitro* u osteoblastogénesis a partir de células madre mesenquimales, lo cual confirma que los osteoblastos son células autónomas. La activación de p38 α se asocia normalmente con funciones anti-proliferativas, ya que la regulación negativa de la proliferación se ha convertido en una función altamente conservada de p38 α en diversos tipos celulares.⁹

En resumen, este trabajo demuestra que p38 α es necesario tanto en la esquelotogénesis temprana, así como en el mantenimiento de osteoblastos, la diferenciación y la función durante la remodelación ósea en la vida adulta. La pérdida de p38 α en los osteoblastos afecta la expresión y la fosforilación de factores de transcripción específicos de osteoblastos, bloqueando aún más la maduración de los osteoblastos y la función. Estos datos también ponen en evidencia que el desarrollo clínico de los inhibidores de p38 debería tenerse en cuenta por sus posibles efectos sobre el hueso.

Conflicto de intereses: La autora no presenta conflicto de intereses.

(Recibido: noviembre 2014.

Aceptado: enero 2015).

Referencias

1. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2010; 285:25103-8.
2. Greenblatt MB, Shim JH, Glimcher LH. Mitogen-Activated protein Kinase pathways in osteoblasts. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2013; 29:63-79.
3. Cuadrado A, Nebreda AR. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling. *Biochem J* 2010; 429:403-17.
4. Thouverey C, Caverzasio J. The p38 alpha MAPK positively regulates osteoblast function and postnatal bone acquisition. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69:3115-25.
5. Seeman E. Unresolved issues in osteoporosis in men. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2:45-64.
6. Hamrick MW, Ding KH, Ponnala S, et al. Caloric restriction decreases cortical bone mass but spares trabecular bone in the mouse skeleton: implications for the regulation of bone mass by body weight. *J Bone Miner Res* 2008; 23:870-8.
7. Anand P, Shenoy R, Palmer JE, et al. Clinical trial of the p38 MAP kinase inhibitor diltapimod in neuropathic pain following nerve injury. *Eur J Pain* 2011; 15:1040-8.
8. Caverzasio J, Higgins L, Ammann P. Prevention of trabecular bone loss induced by estrogen deficiency by a selective p38alpha inhibitor. *J Bone Miner Res* 2008; 23:1389-97.
9. Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nat Rev Cancer* 2009; 9:537-49.

SECCIÓN CULTURAL / Cultural Section

LA BANDERA DE LOS PIRATAS

Ariel Sánchez*

Centro de Endocrinología, Rosario.

La bandera que identificaba a los barcos piratas tenía una calavera blanca sobre fondo negro, y debajo de la calavera había dos huesos largos cruzados en forma de equis. Una variante era la que tenía dos sables cruzados en vez de huesos (véase Figura). Los piratas ingleses llamaban a este símbolo *Jolly Roger*. El origen de este nombre es oscuro. *Old Roger* era el apelativo del diablo. Otros hacen remontar el nombre al primer hombre que presumiblemente izó la enseña, el rey Rogerio II de Sicilia (c. 1095-1154). Frente a la costa oriental de Madagascar hay una pequeña isla, Santa María, que ganó fama en el siglo XVII como refugio de piratas; el Capitán Kidd vivió en ella.

La isla era un punto estratégico para interceptar los navíos que volvían del Lejano Oriente hacia Europa cargados de valiosas mercancías. En las afueras de la capital de la isla, Ambodifotatra, hay un pequeño cementerio de corsarios, y sus tumbas se caracterizan por ostentar el famoso símbolo de la calavera y los huesos cruzados.

Fuentes:

- a) Wikipedia.
- b) O'Keeffe DT, Maraka S, Wermers R. The significance of bone mineral density in the depiction of Memento Mori. *J Bone Miner Res* 2014; 30: 747.



Dos variantes de la bandera que izaban los barcos piratas. Algunas tenían fondo rojo en vez de negro.

* Correo electrónico: asanchez@circulomedicorosario.org



FE DE ERRATAS

En el último número de Actualizaciones en Osteología, sobre la Figura 1C del artículo RETARDO DE CONSOLIDACIÓN DE FRACTURAS, de A. Sánchez y H. Salerni

(págs. 47-56), la flecha impresa tapa la fractura que debía marcar.

La imagen correcta de la Figura 1C es la siguiente:



Figura 1C. Tomografía computarizada de odontoides del axis, reconstrucción tridimensional, vista anterior

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

El artículo podrá ser redactado en **castellano** o en **inglés** y deberán ser enviados a: actualizaciones@osteologia.org.ar.

Los trabajos remitidos deben estar incluidos en alguna de las secciones de la revista: **Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Imágenes en Osteología, Editoriales, Cartas al Editor, Comentarios Bibliográficos, Consensos y Educación en Osteología, Controversias, Sección Cultural**.

GUÍA DE PRESENTACIÓN DE MANUSCRITOS

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 *Arial* 10. Las páginas deben numerarse en forma consecutiva.

Abreviaturas, siglas y símbolos: sólo se utilizarán 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 emplearán unidades del Sistema Internacional de Unidades (SI), empleando comas para los decimales. http://www.bipm.org/en/si/base_units/

La **primer página** deberá contener la siguiente información: (a) el título del trabajo en castellano e inglés; (b) un título abreviado para cabeza de página; (c) nombre y apellido de los autores; éste último debe estar subrayado; (d) nombre de las instituciones en que se desempeñan; (e) dirección postal y correo electrónico del autor con quien se deba mantener correspondencia; (f) sección de la revista a la cual corresponde el trabajo; (g) Conflicto de intereses.

Los **Artículos Originales** estarán divididos en *Introducción, Materiales y métodos, Resultados y Discusión*, sin incluir numeración de los mismos. Los títulos se escribirán en negrita. La extensión máxima recomendada del texto es de 5.000 palabras y se admitirán hasta 6 figuras y 6 tablas. Se sugiere no incluir más de 45 referencias bibliográficas. Se presentará también un **Resumen** en castellano y otro en inglés (**Summary**), precedido por el correspondiente título. Cada resumen no deberá exceder las 250 palabras, sin incluir tablas o figuras.

Las **Actualizaciones y Consensos y Educación en Osteología** tendrán una extensión máxima recomendada del texto de 6.000 palabras y se admitirán hasta 6 figuras y 6 tablas. Se sugiere no incluir más de 60 referencias bibliográficas. Se presentará también un Resumen en castellano y otro en inglés (**Summary**), precedido por el correspondiente título. Cada resumen no deberá exceder las 250 palabras

Las **Comunicaciones Breves, Controversias** y las **Casuísticas** tendrán una extensión máxima recomendada del texto de 3.000 palabras y se admitirán hasta 4 figuras y 4 tablas. Se sugiere no incluir más de 30 referencias bibliográficas.



En todos los casos previamente descriptos deberá presentarse un **Resumen** en castellano y otro en inglés (**Summary**), precedido por el correspondiente título. Cada resumen no deberá exceder las 250 palabras, sin incluir tablas o figuras. Se requieren de 3 a 6 **palabras clave** en inglés y en castellano; se sugiere incluir términos incluidos en la lista del Index Medicus (*Medical Subject Headings, MeSH*). Para comprobarlo ingrese a la dirección siguiente y compruebe si las palabras keywords existen: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/>

Las **Cartas al editor y Comentarios bibliográficos** tendrán una extensión máxima recomendada de 1000 palabras y se admitirán hasta 2 figuras o tablas. Se sugiere no incluir más de 10 referencias bibliográficas.

Las **Imágenes en Osteología** se enviarán en formato de imagen (.jpg o .tif) con una resolución no menor de 300 dpi. No se aceptarán imágenes en archivos de Word. Se deberán acompañar de un texto con una extensión máxima recomendada de 500 palabras. Se sugiere no incluir más de 5 referencias bibliográficas.

Agradecimiento. Cuando se considere necesario se citará a las personas, centros o entidades que hayan colaborado o financiado la realización del trabajo.

Conflicto de intereses. Los autores deberán indicar cualquier relación financiera que pudiera dar lugar a un conflicto de intereses en relación con el artículo publicado.

Las **Referencias bibliográficas.** Se limitarán a aquellos artículos directamente relacionados con el trabajo mismo, evitándose las revisiones bibliográficas extensas.

En el texto se numerarán consecutivamente mediante el formato "superíndice". Al final del manuscrito se colocarán en el orden en que se las menciona en el texto. 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* como *NLM Title Abbreviation* (la lista puede obtenerse en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>). Los nombres de las revistas deben ir en *bastardilla*.

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:

Revistas

Schroeder JS, Hunt SA. Chest pain in heart transplanted recipients. *N Engl J Med* 1991; 324:1805-7.

Libros

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.

Congresos

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.

Sitios de internet

World Health Organization (WHO). The Stop TB Web Alert. (2000 December 6- 12, week 48) <http://www.stoptb.org/updates/index.html>

Las **Tablas** se presentarán en hojas individuales al final del texto y numeradas con números arábigos; éstas deben ser indispensables y comprensibles por sí mismas y poseer un título claramente explicativo de su contenido. No se emplearán 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.

En el texto se indicará el lugar aproximado de ubicación con la leyenda "Inserte Tabla número xxx en este sitio".

Las **Figuras** deben enviarse en forma separada del parte del texto. Sólo se incluirá en el manuscrito una leyenda explicativa. El formato de imágenes requerido es ".jpg o .tif" con una resolución no menor de 300 dpi. No se aceptarán imágenes en archivos de Word. En las microfotografías se indicará la escala o el aumento utilizado. *Considerar que, si bien en la versión on line la imagen se muestra en color, en la versión impresa se presentará en escala de grises.* En el texto se indicará el lugar aproximado de ubicación con la leyenda "Inserte Figura número xxx en este sitio".

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 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. 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.

Acordamos con los lineamientos expuestos por el *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE, [http:// www.icmje.org](http://www.icmje.org)) éstos guiarán las resoluciones del Comité Editorial en lo referente a **Conflicto de intereses** de revisores, autores y editores, relaciones con la industria, apoyo financiero, confidencialidad de los manuscritos, relaciones entre revistas médicas, los medios populares de difusión y otros aspectos no mencionados en estas instrucciones.



POLÍTICA EDITORIAL

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 los autores la cual puede obtenerse del sitio web www.osteologia.org.ar. 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.

Actualizaciones en Osteología es una publicación de Acceso Abierto, sin embargo los derechos de propiedad intelectual deberán ser reconocidos. La transcripción por cualquier medio de los contenidos de la revista será **debidamente referenciado**, indicando la autoría y la fuente bibliográfica. Asimismo, para la reproducción escrita del material de la revista se solicitará la autorización pertinente.

Autoría: La lista de autores debe estar conformada únicamente por aquellas personas que hayan participado en la concepción y realización del trabajo, participado en la redacción del texto y que hayan aprobado la versión del texto que será publicada.

Responsabilidades éticas. Cuando se describen experimentos realizado en **seres humanos** se debe indicar si los procedimientos realizados siguieron las normas éticas del comité de experimentación humana (institucional o regional), y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki. Asimismo se debe enviar el modelo de consentimiento informado utilizado para la realización del estudio. Cuando se describen experimentos en **animales** se debe indicar si se han seguido las pautas de una institución o consejo de investigación sobre cuidado y la utilización de animales de laboratorio.

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.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Manuscripts may be written in Spanish or in English and should be sent to:
actualizaciones@osteologia.org.ar.

“Actualizaciones en Osteología” contributions for publication in the following categories: **Original Articles, Reviews, Brief Communications, Case Reports, Images in Osteology, Editorials, Letters to the Editor, Bibliographic Comments, Consensus and Education in Osteology, Controversies, Cultural Section.**

MANUSCRIPT SUBMISSION GUIDELINES

Manuscripts should be prepared in a word processor (preferably a recent version of Microsoft Word), on A4 paper size, with margins of at least 25 mm, double-spaced, in an Arial 10 font. Pages should be numbered consecutively.

Abbreviations, acronyms and symbols. Only standard abbreviations, acronyms and symbols must be used. Their use in the title and abstract should be avoided. The first time an abbreviation or acronym is used it will be preceded by the full name, except when it is a standard unit of measurement.

Measuring units: Units of the International System of Units (SI) http://www.bipm.org/en/si/base_units/ must be used; for decimals, use commas in Spanish, and periods in English.

The **first page** should contain the following information: (a) title of the work in Spanish and English, (b) abbreviated title for running head, (c) author/s' first and last name/s, the latter must be underlined; (d) name of the institutions in which they work, (e) address and email of the corresponding author, (f) section of the journal to which paper corresponds; (g) conflict of interest.

Original Articles will be divided into *Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion*, without numbering them. Titles must be written in bold type. The recommended maximum text length is 5,000 words and up to 6 figures and 6 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 45 references. A 250-word **Abstract** in Spanish and in English, not including tables or figures, preceded by an appropriate heading, must also be included.

Reviews and Consensus and Education in Osteology have a recommended maximum text length of 6,000 words and up to 6 figures and 6 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 60 references. A 250-word Abstract in Spanish and in English, preceded by an appropriate heading, must also be included.



Brief Communications, Controversies and **Case Reports** will have a recommended maximum of 3,000 words of text extension and up to 4 figures and 4 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 30 references.

In all these cases, an **Abstract** must also be submitted in Spanish and in English, preceded by an appropriate heading. Each abstract should not exceed 250 words, not including tables or figures. Also, 3 to 6 key words in English and Spanish are required as listed in *Medical Subject Headings, MeSH*. To check them go to the following link: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/>.

Letters to the editor and **Bibliographic Comments** have a recommended maximum of 1000 words and up to 2 figures or tables will be accepted. It is suggested not to include more than 10 references.

Images in Osteology must be submitted in image format (.jpg or .tif) with no less than 300 dpi resolution. Images in Word files will not be accepted. They must be accompanied by a text with a recommended maximum of 500 words length. It is suggested not to include more than 5 references.

Acknowledgments. When necessary, people, institutions or organizations that have collaborated or financed the work will be acknowledged.

Conflict of interest statement. Authors must disclose any financial relationship that could lead to a conflict of interest in relation to the published article.

References. These will be limited to items directly related to the work itself, avoiding extensive literature reviews. They will be consecutively numbered in the text using the “superscript” format. They will be placed at the end of the manuscript in the order they are mentioned in the text. All authors may be included when they are six or less; if there are more, the third name will be followed by *et al.* (et alia: and others). Titles of journals must be abbreviated according to the style used in *Index Medicus* as *NLM Title Abbreviation* (the list may be obtained at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>). The names of journals should be in italics.

In the list of references, journals, books and book chapters, and proceedings of scientific meetings should be submitted according to the following examples.

Journals

Schroeder JS, Hunt SA. Chest pain in heart transplanted recipients. *N Engl J Med* 1991; 324:1805-7.

Books

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.

Congresses

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.

Websites

World Health Organization (WHO). The Stop TB Web Alert. (2000 December 6- 12, week 48) <http://www.stoptb.org/updates/index.html>

Tables will be presented on separate pages at the end of the text and numbered in Arabic numerals; they must be essential and understandable by themselves and have a clear explanatory title of their content. No vertical lines between columns and horizontal lines will be used, except in general three lines: one separating the Table title, another for the headings of the rest, and the last one indicating the end of the Table.

The manuscript text will indicate the approximate location with the legend "Insert Table number xxx here."

Figures should be submitted separately from the text. The manuscript text will only include an explanatory legend. The required format of images is ".jpg or .tif" no less than 300 dpi resolution. Images in Word files will not be accepted. In the micrographs the scale or magnification used must be indicated. *Take into account that while in the online version the image is shown in color, in the printed version it will be presented in grayscale.* The manuscript text will indicate the approximate location with the legend "Insert Figure number xxx here."

All articles published in "**Actualizaciones en Osteología**" are subject to peer review. The review is made by the Editor and at least two reviewers with extensive experience in the subject. The identity of the authors and reviewers is kept confidential. The Editor will return to the authors, without going through the arbitration process, those manuscripts that do not conform to the standards of preparation or that do not match the purposes and orientation of "**Actualizaciones en Osteología**".

Evaluation time takes between 30 and 60 days. The corresponding author will be notified by email on the acceptance (with or without corrections) or rejection of the manuscript. This decision is final. The Editorial Committee reserves the right to introduce, to the authors' knowledge, all editorial changes required by grammatical rules and layout needs. Accepted papers will be returned with modifications to authors for any corrections and they will be granted a return period of not more than 30 days. After acceptance and layout, authors will be given a period of 72 hours to review the galley proof.

We agree with the guidelines set out by the *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE, <http://www.icmje.org>) to guide the resolutions of the Editorial Committee regarding **Conflict of interest** of reviewers, authors and publishers, relations with the industry, financial support, confidentiality of manuscripts, relationships between medical journals, popular media and other aspects not mentioned in these instructions.



PUBLISHING POLICY

Transfer of Copyright

Upon acceptance of the manuscript and prior to publication, a letter to the editor must be sent to grant copyright and publication consent, signed by the authors, which can be obtained from the **www.osteologia.org.ar** website. In case the authors certify that the above mentioned article is original work, it has not been previously published except in abstract form, and is accepted for publication in “**Actualizaciones en Osteología**”, copyright will be transferred to the Argentine Association of Osteology and Mineral Metabolism.

Actualizaciones en Osteología is an Open Access publication, however, intellectual property rights must be acknowledged. Transcription by any means of the contents of the journal will be **properly referenced**, indicating the author and the source. Also, for the written reproduction of material from the journal proper authorization will be requested.

Authorship: The list of authors should be made up only by those who have participated in the conception and realization of the work, been involved in drafting the text and have approved the text version to be published.

Ethical responsibilities. When experiments performed in humans are described, indicate whether the procedures performed followed ethical standards of the (institutional or regional) committee on human experimentation, and in accordance with the World Medical Association and the Declaration of Helsinki. You must also send the informed consent model used for the study. When animal experiments are described, indicate whether you followed the guidelines of an institution or research council on care and use of laboratory animals.

Actualizaciones en Osteología journal supports policies for registry of clinical trials of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), recognizing the importance of such initiatives for the registration and international dissemination of information on clinical studies in open access. Therefore, since 2007, it only accepts for publication clinical research articles that have received an identification number in one of the Clinical Trials Registry validated by the criteria established by WHO and ICMJE, whose addresses are available at the ICMJE site (www.icmje.org). The identification number must be recorded at the end of the abstract.

Impreso en Imagen Gráfica - Cuit. 20173184450 - imgrafica@fibertel.com.ar - Tirada 1000 ejemplares
Dirección Nacional de Derecho de Autor - Exp N° 5188076 (15/08/2014)