

1

ANÁLISIS DE SNPs Y HAPLOTIPOS DEL GEN DE LA OSTEOPROTEGERINA: ASOCIACIÓN CON BMD Y FRACTURA

S. Jurado^a, N. García-Giralt^a, G. Yuskovitz^a, L. Agueda^b, R. Urreiziti^b, P. Sarrion^b, A. Díez-Pérez^a, L. Mellibovsky^a, M. A. Cebca^a, L. Pérez-Edó^a, G. Saló^a, I. Aymar^a, M. Peña^a, D. Grinberg^a, S. Balcells^a y X. Nogués^a

^aMedicina Interna. URFOA-IMIM. PRBB. Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. RETICEF. ^bDepartamento de Genética. URFOA. Universitat de Barcelona. IBUB. CIBERER.

Introducción. Los estudios de asociación son la base para el análisis de enfermedades complejas como la osteoporosis. El gen de la osteoprotegerina (OPG) es un factor regulador fundamental de la reabsorción ósea dentro del sistema OPG/RANK/RANKL. Por este motivo es un gen muy importante en el estudio de los factores que pueden determinar la osteoporosis.

Material y métodos. Se ha genotipado una población de 964 mujeres posmenopáusicas del Hospital del Mar de Barcelona. La genotipación se llevó a cabo mediante SNPlex (CeGen, Barcelona). La selección de SNP y de los bloques haplotípicos se llevó a cabo mediante HapMap (www.hapmap.org). Se analizó la asociación entre estos y la densidad mineral ósea (BMD) y el carácter cualitativo fractura. El análisis estadístico se realizó mediante una ANCOVA para BMD y un análisis de regresión logística para fractura, considerando los modelos generales, dominantes y recesivos.

Resultados. Se genotiparon 24 SNP seleccionados a partir de HapMap y se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre 10 SNP y algunos de los fenotipos estudiados. Estos SNP se encuentran localizados entre la zona promotora y el intrón 1. En el análisis de haplotipos se observaron diferencias significativas entre DMO de columna y/o fémur y tres haplotipos. También se demostró la relación significativa entre un haplotipo y la presencia de fractura. El siguiente experimento a realizar son los ensayos EMSA con algunos de los SNP del estudio para comprobar la implicación funcional directa de estos con la enfermedad. Además de los ensayos de EMSA, será interesante la realización de ensayos luciferasa para determinar la repercusión de la zona promotora y de sus polimorfismos.

Conclusiones. Las variantes genéticas del gen de la OPG podrían explicar parte de la variabilidad de la DMO y/o fractura en mujeres posmenopáusicas.

Palabras clave: osteoprotegerina, asociación.

2

EL POLIMORFISMO ASOCIADO A LA DMO RS312009 SE HALLA EN UN LUGAR DE UNIÓN DEL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN Runx2

L. Agueda^a, D. Grinberg^a, R. Urreiziti^a, M. Bustamante^a, S. Jurado^b, N. García-Giralt^b, M. Ciria^b, G. Saló^b, R. Carreras^b, P. Sarrion^b, G. Yuskovitz^b, X. Nogués^b, L. Mellibovsky^b, A. Díez-Pérez^b y S. Balcells^b

^aDepartamento de Genética. URFOA. Universitat de Barcelona. IBUB. CIBERER. ^bMedicina Interna. URFOA-IMIM. PRBB. Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. RETICEF.

LRP5 es uno de los correceptores de la vía de Wnt y es un regulador de gran importancia para el crecimiento y diferenciación osteoblástica.

Numerosos estudios de asociación han demostrado la implicación de las variantes comunes (SNP) del gen *LRP5* en la distribución normal de los fenotipos óseos. El objetivo del presente trabajo fue determinar la funcionalidad de uno de los polimorfismos asociados con fenotipos óseos en un estudio basado en haplotipos, realizado en mujeres posmenopáusicas españolas.

Se analizaron 24 SNP de *LRP5*, en una cohorte de 964 mujeres. Se estudió su asociación con la densidad mineral ósea (DMO) lumbar, la DMO femoral y el riesgo de fractura (a nivel de SNP individual y de haplotipos). En los bloques con resultados de asociación significativos se buscaron posibles variantes funcionales mediante el uso de herramientas predictivas. La funcionalidad del SNP rs312009, localizado en el promotor de *LRP5*, se estudió mediante retardo en gel, usando extractos nucleares de células SAOS-2 y sondas para ambos alelos, marcadas radiactivamente.

El SNP rs312009 resultó asociado con la DMO lumbar ($p = 0,011$). El análisis de asociación del haplotipo que lo contenía dio resultados equivalentes. En presencia del alelo T del polimorfismo, se identificó un lugar de unión consensuado para el factor de transcripción Runx2. En los ensayos de retardo de gel se produjo un retardo de la banda correspondiente al alelo T, que se competía específicamente con cantidades crecientes de oligonucleótido no marcado. La participación de Runx2 se confirmó por la clara competición ejercida por un oligonucleótido que contenía el elemento OSE (sitio de unión a Runx2) del promotor de la osteocalcina y por el *super-shift* producido por el anticuerpo contra Runx2. Los resultados usando el alelo C fueron similares.

En conclusión, los experimentos de retardo en gel demostraron la existencia de un lugar de unión a Runx2 en el promotor de *LRP5*, incluyendo la posición del SNP rs312009. Este hecho sugiere un papel funcional para este polimorfismo y es el primer indicio de la interrelación entre Runx2 y *LRP5*. Sin embargo, la falta de diferencias entre los dos alelos puede cuestionar, parcialmente, la hipótesis de que rs312009 sea una variante funcional. Actualmente, se están llevando a cabo otras aproximaciones experimentales, como la inmunoprecipitación de cromatina y ensayos de gen reportero, para determinar la importancia de Runx2 en la regulación del gen *LRP5*.

Palabras clave: *LRP5*, Runx2.

3

ESTUDIO DEL CAMBIO -13910C>T EN EL PROMOTOR DEL GEN DE LA LACTASA EN POBLACIÓN ESPAÑOLA

R. Urreiziti^a, L. Agueda^a, S. Jurado^b, N. García-Giralt^b, P. Sarrion^b, G. Yuskovitz^b, X. Nogués^b, L. Mellibovsky^b, A. Díez-Pérez^b, S. Balcells^b y D. Grinberg^b

^aDepartamento de Genética. URFOA. Universitat de Barcelona. IBUB. CIBERER.

^bMedicina Interna. URFOA-IMIM. PRBB. Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. RETICEF.

La tolerancia a la lactosa es un rasgo autosómico dominante caracterizado por la persistencia de niveles elevados de la enzima intestinal lactasa-florizina hidrolasa (LPH), codificada por el gen *LCT*. La persistencia de esta enzima más allá de la lactancia permite el consumo de cantidades elevadas de leche durante la edad adulta. Este rasgo, especialmente frecuente en el norte de Europa y que decrece en una clina hacia el sur de Europa, ha sido escasamente estudiado en España. La mutación c se ha visto asociada con la persistencia de lactasa en población europea. Estudios previos han mostrado asociación entre la intolerancia a la lactosa y la densidad mineral ósea (DMO), lo que podría deberse a un menor consumo de leche y, por lo tanto, de calcio. El objetivo de este estudio es establecer las frecuencias alélicas para esta mutación en población española y analizar su relación con parámetros antropométricos así como con el fenotipo óseo.

La mutación -13910C>T fue genotipada en 964 mujeres españolas. Los parámetros categóricos se analizaron por χ^2 y regresión logística y las variables continuas por ANCOVA. En este estudio encontramos una frecuencia para el alelo T del 38,6%, lo que es significativamente menor ($p < 0,0001$) que la descrita en poblaciones noreuropeas. En nuestra cohorte no observamos asociación ni con los niveles de DMO ni con la frecuencia de fractura. En contra, sí observamos asociación entre este cambio y un incremento del peso corporal ($p = 0,037$, ajustado por la edad), siendo esta asociación más significativa cuando se compara a los homocigotos TT con los portadores del alelo C ($p = 0,015$, ajustado por edad). Además, los portadores del alelo T presentan mayor estatura ($p = 0,032$, ajustado por edad).

Nuestros resultados confirman las observaciones previas de que existe una clina en la tolerancia a la lactosa a través de Europa, ya que las frecuencias alélicas en la cohorte española estudiada son parecidas a las observadas en Francia (43,1%) o Italia (35,7%) y no a las de Suecia o Finlandia (81,5%) o a la población americana de origen europeo (77,2%). La falta de asociación entre la mutación estudiada y la DMO puede deberse a que el efecto sea pequeño y esté por debajo del poder estadístico del estudio. Alternativamente, en la población española, los individuos intolerantes podrían estar obteniendo niveles de calcio suficientes a partir de otras fuentes nutricionales sin lactosa.

Palabras clave: lactosa, lactasa-florizina hidrolasa.

4

EFFECTO DE BMP2 EN LA REGULACIÓN IN VITRO DEL PROMOTOR DEL GEN COL1A1 HUMANO

M. Bustamante^a, L. Agueda^a, N. García-Giralt^b, R. Urreiziti^b, S. Jurado^b, N. P. Sarrion^b, G. Yuskovitz^b, X. Nogués^b, L. Mellibovsky^b, D. Grinberg^b, S. Balcells^b y A. Díez-Pérez^b

^aDepartamento de Genética. URFOA. Universitat de Barcelona. IBUB. CIBERER.

^bMedicina Interna. URFOA-IMIM. PRBB. Hospital del Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. RETICEF.

El colágeno de tipo I es la proteína más abundante de la matriz ósea y está formado por dos cadenas $\alpha 1$ y una cadena $\alpha 2$, sintetizadas a partir de los genes *COL1A1* y *COL1A2*, respectivamente. Dos polimorfismos del promotor del gen *COL1A1* (-1997G/T y -1663indelT) se han encontrado repetidamente asociados al fenotipo osteoporótico. Además, se han observado diferencias entre los distintos alelos en su capacidad para unirse a factores nucleares y en su capacidad transcripcional. El factor de transcripción arquitectónico CIZ/NMP4 ha sido identificado como uno de los factores que se unen a la región del promotor que incluye el polimorfismo -1663indelT. Adicionalmente, el ratón *knock-out* para CIZ/NMP4 presenta mayor masa ósea debido al incremento en la formación ósea. En particular, se ha visto incrementada la diferenciación osteoblástica dependiente de BMP2, lo que sugiere una función supresora de los efectos de BMP2 por parte de CIZ/NMP4. Bajo estas premisas decidimos abordar el estudio del efecto de BMP2 sobre 2,5 kb de la región promotora de *COL1A1* mediante la transfección transitoria de distintas construcciones en células Saos2.

Nuestros resultados mostraron que la activación del promotor es máxima cuando la región comprendida entre -2178 y -1634, que incluye los dos polimorfismos, está presente. Aun así, las diferencias en la estimulación entre los cuatro haplotipos es pequeña. Esta región también incluye dos posibles regiones de unión a los factores Smad1 y Dlx5, elementos de respuesta a BMP2. Estudios preliminares muestran una reducción pequeña pero significativa en la estimulación al deleccionar una pequeña región que comprende el polimorfismo -1663indelT y el sitio Smad1, así como al mutagenizar el sitio Dlx5 (tanto sólo como en combinación con Smad1), pero no al mutagenizar el sitio Smad1 sólo.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que BMP2 estimula el promotor de *COL1A1* en células Saos2 y apuntan a un papel del lugar de unión a Dlx5 y de la región del polimorfismo -1663indelT en la mediación de esta estimulación.

Palabras clave: *COL1A1*, BMP2.

5

DIFERENCIAS EN LA ACTIVIDAD DE LA VÍA Wnt EN LA OSTEOPOROSIS Y LA ARTROSIS

J. A. Riancho^a, J. Velasco^a, M. T. Zarrabeitia^b, J. R. Prieto^c, M. D. Pérez-Aguilar^a, M. I. Pérez-Núñez^a, C. Sañudo^a, J. Hernández-Elena^a, I. Calvo^a y J. González-Macías^a
^aMedicina Interna, ^bMedicina Legal, ^cTraumatología y Ortopedia. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander.

Objetivos. Aunque en la artrosis la degeneración cartilaginosa representa la alteración fundamental, se producen también cambios en el hueso periarticular. Además, algunos estudios indican que la densidad mineral ósea (DMO) está globalmente aumentada en los pacientes con artrosis. Por tanto, osteoporosis y artrosis pueden considerarse procesos antagonísticos en cuanto a los cambios en la DMO. Ello nos ha llevado a analizar si existen diferencias en la expresión de moléculas de la vía Wnt, un importante modulador del remodelado esquelético, en el hueso de pacientes con artrosis y osteoporosis.

Material y métodos. Hemos analizado la expresión de 86 genes de la vía Wnt en muestras de hueso y en cultivos de osteoblastos, procedentes de 39 pacientes sometidos a cirugía por fractura de cadera o artrosis de cadera o rodilla, mediante PCR en tiempo real, utilizando «mini-arrays». Además hemos valorado la actividad Wnt global midiendo la expresión de axina 2 y mediante experimentos de transfección con un vector reportero con luciferasa que contiene sitios de unión para TCF/LEF, un mediador intranuclear de las señales Wnt.

Resultados. Tras ajuste de comparaciones múltiples (FDR<0,05), hallamos evidencia de expresión diferencial para 55 de los genes en el tejido óseo, con los valores más bajos en las fracturas, intermedios en la coxartrosis y máximos en la gonartrosis. Asimismo, 14 genes mostraban diferencias significativas en los cultivos. Así, 7 genes de la vía Wnt (*BCL9*, *FZD5*, *DVL2*, *EP300*, *FRZB*, *LRP5* y *TCF7L1*) se sobreexpresaban de manera consistente, tanto en el tejido óseo como en los cultivos procedentes de las muestras con gonartrosis. Paralelamente, se observó un aumento de la expresión de axina 2 (p=0,008), un gen cuya transcripción es estimulada por la activación de la vía Wnt. Los experimentos de transfección también indicaron una mayor actividad Wnt en los osteoblastos procedentes de los pacientes artrósicos (p=0,01).

Conclusión. Estos datos indican que existe una activación de la vía Wnt en el hueso artrósico, especialmente en la artrosis de rodilla. Ello puede contribuir al aumento de la formación ósea que se observa a nivel periarticular y al incremento general de la DMO.

Palabras clave: Wnt, artrosis.

6

EXPRESIÓN DE GENES ESPECÍFICOS DE LA LÍNEA OSTEOBLÁSTICA EN LA FRACTURA DE CADERA

J. Velasco^a, C. García-Ibarbia^a, C. Garcés^b, E. V. Fernández-Aldasoro^b, C. Valero^a, J. Arozamena^a, M. A. Alonso^b y J. A. Riancho^a
^aMedicina Interna, ^bTraumatología y Ortopedia. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander.

Objetivos. La esclerostina es producida por los osteocitos y ejerce un efecto inhibitorio sobre la transmisión de las señales de los ligandos Wnt, y en consecuencia sobre la actividad osteoblástica y la formación de hueso. Sin embargo, su papel en la patogenia de la osteoporosis senil es desconocido. Por ello nos hemos planteado analizar la posible existencia de anomalías en la expresión de esclerostina en pacientes con fractura de cadera.

Material y métodos. Se obtuvieron muestras de la zona central de la cabeza femoral de 38 pacientes sometidos a cirugía (19 por fractura de cadera y 19 por coxartrosis). Además, en 18 pacientes se generaron osteoblastos *in vitro* a partir del cultivo de los explantes. Tras extraer el ARN, de los fragmentos de tejido y de los cultivos, se sometió a una reacción de transcripción inversa. Posteriormente se analizó la expresión de tres genes derivados de la línea osteoblástica (esclerostina, fosfatasa alcalina y osteocalcina) mediante PCR en tiempo real con amplímeros específicos y sondas Taqman. Los resultados se normalizaron según la expresión del gen constitutivo TBP.

Resultados. La expresión de osteocalcina fue significativamente inferior en el tejido óseo de los pacientes con fractura, en comparación con los artrósicos (13 ± 31 frente a 42 ± 46 AU, p=0,002). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la expresión de fosfatasa alcalina (p=0,75) o de esclerostina (p=0,15). En los cultivos de osteoblastos no se detectó expresión de esclerostina y no se observaron diferencias entre fracturados y artrósicos respecto a los niveles de ARN de osteocalcina o de fosfatasa alcalina (p>0,11).

Conclusión. En este estudio no hemos hallado diferencias en la expresión de esclerostina entre el hueso artrósico y el osteoporótico, lo que no apoya que este mediador desempeñe un papel importante en la patogenia de esos procesos. La disminución de osteocalcina en el tejido óseo no fue confirmada en los cultivos de osteoblastos, lo que sugiere que sea consecuencia de la propia fractura, más que representar una característica intrínseca permanente de esas células.

Palabras clave: esclerostina, osteocalcina.

7

EFFECTO PROTECTOR DE LA PROTEÍNA RELACIONADA CON LA PARATHORMONA N- Y C-TERMINAL SOBRE LA DISMINUCIÓN DE LA VIABILIDAD OSTEOBLÁSTICA PROVOCADA POR LA ELEVADA GLUCOSA

I. Andrade-Zapata, D. Lozano, L. Fernández de Castro y P. Esbri

Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo. Fundación Jiménez Díaz (Grupo Capio). Madrid.

La diabetes mellitus tipo 1 se asocia a una pérdida de masa ósea por mecanismos que parecen afectar a la función osteoblástica. Recientemente, hemos encontrado una disminución de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) asociada a una reducción del número de osteoblastos en un modelo de regeneración ósea en ratones diabéticos (Calcif Tissue Int. 2008;82 Suppl 1:S110). Además, hemos demostrado que los fragmentos N- y C-terminal de la PTHrP aumentan la viabilidad osteoblástica (J Cell Physiol, en prensa). Por ello, hemos analizado el efecto de la PTHrP sobre la viabilidad osteoblástica en situación diabética. Células osteoblásticas MC3T3-E1 fueron cultivadas con una concentración normal (5,5 mM) o elevada (25 mM) de glucosa o manitol durante tiempos variables. Analizamos el número de células, la síntesis de ADN (incorporación de 5'-Br-2'-desoxiuridina), la viabilidad celular (azul de tripan) y la apoptosis (citometría de flujo), así como la fosforilación de las quinasas reguladas por señales extracelulares (pERK/ERK 1/2) y de Akt (implicadas en la viabilidad/proliferación celular). La elevada glucosa (pero no el manitol) de forma crónica (presencia continua durante el crecimiento celular) disminuyó un 20% (p<0,05) el número de células viables a los 5 días. Este efecto se asoció a una disminución similar en la síntesis de ADN (en la fase exponencial del crecimiento celular). Además, observamos un aumento de la muerte celular (por azul de tripan), del 1% (control de normoglucosa o manitol) al 4% con la alta glucosa; asociado a un aumento moderado (50%) de apoptosis (citometría de flujo). La estimulación de células confluentes con glucosa elevada (pero no el manitol) provocó una disminución (-60%) de pERK/ERK a 1 h, sin cambios en pAkt. La estimulación con ambos fragmentos de la PTHrP, (1-36) y (107-139), durante el crecimiento celular, recuperó el número de células viables a niveles basales, en parte a través de sus efectos antiapoptóticos. Además, ambos fragmentos aumentaron significativamente (50%) pERK a 1 h en presencia de la elevada glucosa; mientras estimularon pAkt (200%) durante este período de tiempo, tanto en presencia o ausencia de la elevada glucosa en estas células.

Conclusión. Los fragmentos N- y C-terminal de la PTHrP son capaces de revertir los efectos deletéreos de la alta glucosa sobre el crecimiento/viabilidad osteoblásticas a través de un mecanismo que parece implicar a las MAP quinasas y a la fosfatidil inositol-3 quinasa.

Palabras clave: glucosa, osteoblastos.

8

EFFECTOS DE LA PROTEÍNA RELACIONADA CON LA PARATHORMONA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA DIFERENCIACIÓN DE LOS OSTEOPROGENITORES DE LA MÉDULA ÓSEA DEL RATÓN DIABÉTICO

D. Lozano^a, L. Fernández de Castro^a, I. Andrade-Zapata^a, E. Gómez Barrena^b, S. Dapías^c y P. Esbri^a

^aLaboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo, ^bDepartamento de Traumatología. Fundación Jiménez Díaz (Grupo Capio) y Universidad Autónoma de Madrid. ^cTrabeculae[®], S.L. Orense.

La osteopenia relacionada con la diabetes mellitus tipo 1 se asocia a la pérdida de función osteoblástica. Estudios en líneas celulares osteoblásticas establecidas indican que la hiperglucemia induce alteraciones en la proliferación celular. La proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) ejerce efectos moduladores sobre la viabilidad y la diferenciación osteoblástica. En el presente trabajo, hemos evaluado el efecto de la diabetes sobre el crecimiento y la diferenciación de osteoprogenitores *ex vivo* de la tibia de ratón, así como las acciones osteogénicas de la PTHrP administrada *in vivo* a estos animales. Ratones CD-1 machos adultos con 2 semanas de diabetes tras inyecciones de estreptozotocina (glucemia >300 mg/dl) se trataron o no (controles) con PTHrP (1-36) o PTHrP (107-139) (100 µg/kg/cada 2 días) durante 2 semanas previas al sacrificio. La médula ósea de la tibia de ratón se cultivó durante 3 semanas para evaluar la formación de colonias totales (CFU; cristal de violeta), colonias con tinción positiva para fosfatasa alcalina (CFU-ALP), y la superficie mineralizada (rojo de alizarina). La diabetes indujo una pérdida de peso (<15%) y un aumento similar del porcentaje de grasa corporal frente a controles. En el fémur de los ratones diabéticos se observa una disminución de BMD/BMC (-40%), asociada a menor BV/TV (-80%), una reducción significativa de Tb.N, Tb.Th (p<0,01) y del grado de anisotropía, así como al aumento de Tb.Pf y SMI en el área trabecular (por µCT). En la médula ósea, la diabetes se relacionó con: una disminución (-60-80%) de CFU totales y CFU-ALP, con predominio de las de menor diámetro (1-3 mm, frente a 3-6 mm en los controles); así como en el número y la superficie de los nódulos mineralizados, en el mismo rango. La administración de cada uno de los péptidos de la PTHrP estudiados impidió de modo similar la caída de la BMD/BMC y revirtió el aumento de grasa corporal en los ratones diabéticos. La PTHrP (1-36) normalizó (o tendió a aumentar) las CFU totales, las CFU-ALP de mayor tamaño y la superficie mineralizada. Sin embargo, el fragmento C-terminal fue menos eficaz en general que el N-terminal, aumentando las CFU-ALP de menor tamaño.

Conclusión. La diabetes induce osteopenia asociada a una disminución del crecimiento celular y la diferenciación osteoblástica en la médula ósea del ratón. La PTHrP, a través de sus dominios N- y C-terminal, impide en parte la pérdida de masa ósea actuando sobre los osteoprogenitores en esta situación.

Palabras clave: diabetes, osteoblastos.

9

LA PROTEÍNA RELACIONADA CON LA PARATHORMONA REVIERTE LOS EFECTOS CATABÓLICOS ÓSEOS DE LA 3-METILPREDNISOLONA EN EL RATÓN

L. Fernández de Castro^a, D. Lozano^a, I. Andrade-Zapata^a, E. Gómez-Barrena^b, S. Dapías^c y P. Esbri^a

^aLaboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo ^bDepartamento de Traumatología. Fundación Jiménez Díaz (Grupo Capio) y Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. ^cTrabeculae[®], S.L., Orense.

Los glucocorticoides (GC) inhiben la proliferación y la función osteoblásticas. La proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) es un importante regulador de la diferenciación osteoblástica. En este trabajo hemos evaluado los efectos de la PTHrP en un modelo de osteopenia por GC en ratón. Se administró 3-metilprednisolona (10 mg/kg, vía subcutánea [sc], en días alternos), o vehículo a ratones C576j/BL macho adultos durante 16 d. Algunos ratones recibieron simultáneamente la PTHrP (1-36) o (107-139) (100 µg/kg, sc). A los 4 días de iniciar los tratamientos, se realizó una ablación de médula ósea en ambas tibias. A los 12 días, los ratones fueron sacrificados y se cultivó *ex vivo* la médula ósea de una de las tibias para evaluar la formación de colonias (CFU) totales (cristal violeta), las colonias positivas para fosfatasa alcalina (CFU-ALP) y la mineralización (rojo de alizarina). Se aisló el ARN total de esta tibia y de un fémur intacto para análisis de la expresión génica de marcadores de osteoblastogénesis (por PCR a tiempo real). Una de las tibias se descalcificó e incluyó en parafina para histología. El otro fémur se utilizó para analizar la microarquitectura ósea (por µCT). El tratamiento con el GC indujo una pérdida de peso (<10%) frente a controles, así como una disminución de BV/TV, del Tb.N y del grado de anisotropía (-15%) además de un aumento similar de Tb.Pf y SMI en el área trabecular del fémur. En el área cortical, el GC indujo una disminución (-30%) del espesor cortical y del momento de inercia, y un aumento de la porosidad. Esto se asoció a una disminución en la expresión de varios marcadores osteoblásticos en el fémur y en la tibia. La tibia de los ratones tratados con el GC mostró una disminución de la superficie osteoide (tinción de Masson) y del número de osteoblastos (-25%) en la metafisis; así como una disminución (-50%) de CFU-ALP y del número de nódulos mineralizados en la médula ósea. La PTHrP (1-36) normalizó o tendió a aumentar los parámetros histomorfométricos alterados por el GC en el hueso trabecular; mientras que ambos fragmentos de la PTHrP compensaron de modo similar la pérdida de espesor cortical y aumentaron o tendieron a normalizar los cambios histológicos y en la expresión génica observados.

Conclusión. La PTHrP, a través de sus dominios N- y C-terminal, restaura las alteraciones de la función osteoblástica provocadas por los GC en el hueso de ratón.

Palabras clave: PTHrP, glucocorticoides.

10

LA SUSTITUCIÓN DE LA ASPARAGINA 19 POR LISINA EN LA PROTEÍNA OCIL (OSTEOCLAST INHIBITORY LECTIN) SE ASOCIA CON UNA REDUCCIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS

B. Pineda^a, R. María Aliaga^b, E. Calap^b, P. Laporta^a, A. Cano^b y M.Á. García-Pérez^{a,c,d}

^aFundación para la Investigación. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ^bDepartamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. ^cServicio de Bioquímica Clínica. Hospital Clínico Universitario de Valencia. ^dDepartamento de Genética. Facultad de Ciencias Biológicas, Valencia. Hospital Clínico Universitario de Valencia (BP, PL, MAGP). Universidad de Valencia (RMA, EC, AC, MAGP).

Objetivo. El gen OCIL (*osteoclast inhibitory lectin*) codifica para una lectina tipo-C que inhibe la diferenciación y función de osteoclastos murinos y humanos. La expresión tisular de OCIL es similar a la de RANKL y, además, la interacción OCIL/CD161 aumenta la producción de IFN-gamma, una citoquina antirresorviva producida por las células T. El objetivo de este estudio ha sido analizar si polimorfismos de nucleótido simple (SNP) del gen OCIL se asocian a la densidad mineral ósea (DMO) en una población de mujeres posmenopáusicas.

Materiales y métodos. Hemos genotipado 2 SNP no-sinónimos (Asn19Lys y Leu23Val) en 500 mujeres posmenopáusicas y analizado su asociación con la DMO de cadera y columna obtenida mediante absorciometría dual de rayos-X. También hemos analizado los niveles séricos de CTx, fosfatasa alcalina total (ALP), FSH, estradiol, y en una muestra de 250 mujeres, los niveles séricos de PTH intacta, vitamina-D3, ALP ósea, OPG y RANKL.

Resultados. Ambos SNP estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg mostrando un débil desequilibrio de ligamiento (D: 0,82). Detectamos una débil asociación del SNP Asn19Lys con DMO de cadera (p = 0,108) y de columna (p = 0,057) para la población global. Las mujeres de genotipo CG/GG (Asn19Lys) mostraron menores niveles de OPG y de DMO de cadera (p < 0,05) que las de genotipo CC. Sin embargo, cuando la población se estratificó de acuerdo a la edad, esta asociación se consolidó en las mujeres ≥ 53 años (p < 0,01). Así, en este grupo, las mujeres de genotipo CG/GG mostraron una reducción de 5,6% y 6,7% en la DMO de cadera y columna, respectivamente, ajustado por edad e índice de masa corporal (IMC), comparado con las de genotipo CC. Los alelos del SNP Asn19Lys explicaron un 7% de la varianza total de DMO en mujeres ≥ 53 años, pero solo un 1,7-3,9% en la población global. Por último, el estudio de haplotipos mostró resultados similares a los de los SNP individuales.

Conclusión. En mujeres ≥ 53 años, la presencia de una lisina (alelo G) en la posición 19 de la proteína OCIL se asocia fuertemente a una menor DMO en cadera y columna que las mujeres con una asparagina (alelo C). El hecho de que esta asociación se dé en la segunda mitad de la vida, donde el remodelado óseo es la principal función de las células óseas, debe estar relacionada con la función inhibitoria de OCIL sobre la diferenciación y función osteoclástica.

Este trabajo ha sido patrocinado por las ayudas PI06/154 (Fondo de Investigación Sanitaria) y AP-024/07 (Conselleria de Sanitat, Generalitat Valenciana).

Palabras clave: proteína OCIL, posmenopausia.

11

EFFECTO DE DISTINTOS FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA ARTROSIS SOBRE LA SÍNTESIS DE MEDIADORES NEOANGIÓGENICOS EN CONDROCITOS ARTRÓTICOS EN CULTIVO

J. Moreno-Rubio, G. Herrero-Beaumont, L. Tardío, M. Bellido y R. Largo

Reumatología. Laboratorio de Patología Osteoarticular. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Antecedentes y objetivos. Mientras que el cartilago adulto sano es un tejido avascular, el deterioro de la articulación producido durante la artrosis conduce a la neovascularización del cartilago. En esta situación, la expresión de factores angiogénicos desempeña un papel fundamental no sólo en el control de la neoangiogénesis, sino también en el metabolismo del condrocito. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de diversos fármacos que se utilizan habitualmente en el tratamiento de la artrosis sobre la expresión génica y la síntesis proteica de mediadores neoangiogénicos en condrocitos artróticos humanos (CAH) en cultivo estimulados con interleuquina-1 β (IL-1 β).

Métodos. Los condrocitos artróticos se aislaron del cartilago articular de pacientes sometidos a una artroplastia total de rodilla. Utilizamos células quiescentes estimuladas con 1 U/ml de IL-1, y estudiamos los efectos de la glucosamina sulfato (GS, 5x10-5M), el condroitin sulfato (CS, 2x10-5M), el celecoxib (CBX, 10-6M), el diclofenaco (DCF, 10-6M), el meloxicam (MXC, 10-6M) y la indometacina (IND, 10-6M) en la expresión génica (PCR a tiempo real) y en la síntesis proteica (western-blot) del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), de dos de sus receptores (VEGFR1 y VEGFR2) y de HIF-1 α , un factor de transcripción que regula la neoangiogénesis. Todas las drogas fueron estudiadas a una concentración similar a la concentración máxima en plasma (Cmax) tras la administración de una dosis terapéutica habitual.

Resultados. La IL-1 β indujo un incremento en la expresión génica de HIF-1 α , VEGF y VEGFR2, de forma dosis y tiempo-dependiente en los CAH en cultivo, alcanzando un máximo a las 24 horas de incubación para VEGF y a las 4 horas para HIF-1 α y VEGFR2. La inducción de HIF-1 α producida por la IL-1 β en los condrocitos no se modificó con la presencia de ninguno de los fármacos estudiados. En cuanto a la síntesis proteica de VEGF, la IL-1 β aumentó de forma significativa la síntesis de la isoforma VEGF165, y dicho aumento fue significativamente inhibido por la GS y el CS (IL-1 β : 2,5 veces; GS: 1,5 veces*; CS: 1,3 veces*; $p < 0,05$ frente a IL-1 β). Sin embargo, ninguno de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) utilizados (CBX, MXC, DCF, IND) fueron capaces de modificar la síntesis de VEGF165 en las células estimuladas. Observamos además que la expresión del ARNm de VEGF no se correlacionó con la síntesis proteica en los condrocitos estimulados, ya que todos los fármacos utilizados inhibieron de forma estadísticamente significativa la inducción del ARNm de VEGF producida por la IL-1 β . Puesto que se conoce que el VEGF actúa como factor autocrino en los condrocitos, analizamos la regulación de VEGFR1 y de VEGFR2 en los CAH en cultivo. En los estudios de western blot no pudimos detectar señal para VEGFR1 en los CAH. La estimulación con IL-1 β incrementó de forma significativa la expresión génica de VEGFR2. Este incremento fue incluso mayor la presencia tanto de AINE como de GS y CS, los denominados fármacos de acción lenta modificadores de los síntomas de la OA (SYSADOA). Mediante estudios de western blot se demostró que la IL-1 β incrementa tanto la síntesis proteica de la forma inmadura de VEGFR2 como la de su forma glucosilada, aunque ninguno de los fármacos utilizados modificó de forma significativa la síntesis de VEGFR2 inducida por la IL-1.

Conclusiones. La presencia de IL-1 en el medio de cultivo de los condrocitos indujo un aumento de la síntesis proteica de VEGF165. Tanto la GS como el CS inhibieron el efecto de la IL-1 sobre esta proteína, mientras que ninguno de los AINE modificó la síntesis de VEGF165. Nuestros datos sugieren que los AINE y los SYSADOA parecen tener un perfil diferente en cuanto al control de la síntesis de mediadores angiogénicos en el cartilago artrótico.

Palabras clave: artrosis, condrocitos.

12

EXPRESIÓN GENÉTICA DE OPG, RANKL Y DE LAS CITOQUINAS IL-6, IL-1 β Y TNF- α EN CULTIVOS PRIMARIOS DE OSTEÓBLASTOS DE PACIENTES CON OSTEOPOROSIS Y OSTEoarTRITIS. ESTUDIO PRELIMINAR

M. J. Ríos, M. Giner, M. J. Montoya, L. Najib, M. A. Vázquez, R. Moruno, M. J. Miranda, I. Palacios y R. Pérez-Cano

^aDepartamento de Medicina. Universidad de Sevilla. ^bUnidad de Metabolismo Óseo. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Introducción. Se ha analizado la expresión génica de varias citoquinas proinflamatorias y moléculas del sistema RANKL/OPG en macerados de hueso trabecular de pacientes osteopóroticos, sin embargo este aspecto no ha sido estudiado en cultivos primarios humanos de osteoblastos (hOB).

Objetivo. Nuestro objetivo principal ha sido analizar la expresión génica de OPG, RANKL, y el ratio de RANKL/OPG, IL-6, IL-1 β y TNF- α en hOB de pacientes con fractura de cadera osteopórotica (OP) y comparar con los afectados de osteoartritis (OA).

Material y métodos. Estudiamos 15 cultivos de hOB, 6 del grupo OP y 9 del OA aislados de hueso trabecular de rodilla o cadera tras una artrodesis. Después de la confluencia celular de los cultivos cuantificamos la expresión génica de OPG, RANKL, IL-6, IL-1 β y TNF- α por RT-PCR en condiciones basales. Los resultados se analizaron mediante el programa estadístico SPSS 15.0.

Resultados. Se exponen en la tabla 1. (Los valores de expresión fueron ajustados por la edad y el tiempo de confluencia y son expresados como la media e intervalo de confianza al 95%. En el caso de la edad, como la media \pm desviación estándar).

Encontramos una correlación positiva entre la expresión de ARNm de IL-6 e IL-1 β en ambos grupos de estudio (OA; $r=0,951$; $p=0,049$ frente a OP; $r=0,900$; $p=0,037$).

Conclusiones. El tiempo de confluencia de cultivos de hOB de pacientes OP es mayor que el de pacientes OA lo cual puede estar en relación con la menor capacidad de adhesión de los osteoblastos descrita en esta patología. La expresión génica de IL-1 β es superior en hOB de OP, lo que es consistente con el papel patológico de esta citoquina en condiciones de una mayor resorción ósea.

Palabras clave: cultivos primarios de osteoblastos, sistema RANKL/OPG.

Tabla 1.

	OA	OP	p
Edad (años)	73 \pm 6	80 \pm 6	0006
Tiempo de confluencia (días)	20,74 (17,08-24,40)	28,39 (24,28-33,50)	0015
Expresión de ARNm de OPG(u.r)	0,93 (0,72-1,14)	0,69 (0,41-0,97)	-
Expresión de ARNm de IL-6(u.r)	0,71 (0,32-1,10)	0,69 (0,17-1,21)	-
Expresión de ARNm de RANKL(u.r)	0,15 (0,01-0,29)	0,41 (0,15-0,67)	-
Expresión de ARNm de IL-1 β (u.r)	0,16 (0,07-0,25)	0,38 (0,27-0,48)	0,016
Expresión de ARNm de TNF- α (u.r)	0,36 (0,03-0,68)	0,42 (0,06-0,78)	-
Expresión de ARNm de RANKL/OPG	0,16 (0,04-0,37)	0,56 (0,19-0,93)	-

13

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN INTERMITENTE DE PARATOHORMONA 1-34 RECOMBINANTE HUMANA (PTHrH) SOBRE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA MANDIBULAR EN UN MODELO DE OSTEOPOROSIS EN CONEJOS

M. Bellido, S. Castañeda, L. Lugo-García, R. Largo, J. Moreno-Rubio, L. Tardío y G. Herrero-Beaumont

Reumatología. Laboratorio de Patología Osteoarticular. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. Hospital de la Princesa. Madrid.

Antecedentes y objetivos. La afectación osteopórotica sobre el tejido óseo mandibular y la respuesta al tratamiento es poco conocida, incluso en modelos animales. Hemos desarrollado un nuevo modelo experimental de osteoporosis mandibular en conejos para lo cual se han validado las medidas de densidad mineral ósea (DMO) en la mandíbula y las consecuencias de una intervención terapéutica con un osteoformador, administración intermitente de PTHrH, al tiempo que se han validado las medidas de un nuevo densitómetro radiológico específico para animales pequeños.

Material y métodos. Se estudiaron 28 conejos hembra de raza NZ, de ocho meses de edad esqueléticamente maduros que se dividieron aleatoriamente en tres grupos. Diecinueve animales se sometieron a ooforectomía bilateral (OVX) y posterior administración de corticoides sistémicos para inducir una osteoporosis experimental. Diez de ellos recibieron además inyecciones de PTHrH (40 μ g/día, vía subcutánea) (grupo OP+PTH), mientras que los otros 9 animales no recibieron ningún tratamiento (grupo OP). Un tercer grupo de 9 conejos se utilizó como control sano (grupo control). Se determinó la DMO de columna lumbar, rodilla global y hueso subcondral de la rodilla antes y a las 22 semanas de la OVX mediante un densitómetro Hologic® QDR-1000. Tras el sacrificio de los animales, y tras disección de las mandíbulas, se determinó la DMO de las hemimandíbulas derechas mediante el densitómetro Hologic® QDR-1000 y otro PIXI (GE Medical Systems). Se dividieron las mandíbulas en 4 regiones diferentes: cuerpo (R1), rama (R2), gonion (R3) y mandíbula global (R4). El análisis estadístico para evaluar los cambios de la DMO entre los distintos grupos y la correlación entre la DMO mandibular y la de las otras regiones esqueléticas se realizó mediante las pruebas de Mann-Whitney y Spearman respectivamente (SPSS, vs. 10.0).

Resultados. La DMO mandibular (media \pm DE) de las diferentes zonas analizadas fue: 0,441 \pm 0,005 mg/cm² en R1; 0,122 \pm 0,004 en R2; 0,093 \pm 0,005 en R3 y 0,227 \pm 0,004 en R4 respectivamente en el grupo control. La DMO de los conejos OP fue: 0,414 \pm 0,007 mg/cm² en R1; 0,113 \pm 0,003 en R2; 0,085 \pm 0,002 en R3 y 0,213 \pm 0,003 en R4. Y en el grupo OP+PTH: 0,435 \pm 0,004 en R1; 0,124 \pm 0,003 en R2; 0,092 \pm 0,003 en R3 y 0,225 \pm 0,003 en R4. El descenso en la DMO en los conejos OP fue significativo en R1 y R4 ($p < 0,05$). El aumento de la DMO en los conejos tratados con PTH fue significativo en R1, R2 ($p < 0,05$) y R4 ($p = 0,097$). Se comprobó una correlación positiva entre la DMO de las regiones 2 y 3 y la DMO en la rodilla global, así como entre la R2 y el hueso subcondral. En las medidas con los distintos densitómetros se encontró una buena correlación de la DMO en R1 y R2.

Conclusiones. En nuestro modelo experimental, la OVX asociada al uso de corticoides provoca un descenso en la DMO a nivel del cuerpo mandibular y mandíbula global. El tratamiento intermitente con PTHrH aumentó de manera significativa la DMO del cuerpo mandibular. La DXA es un buen método para medir los cambios de DMO a nivel mandibular. Asimismo, encontramos buena correlación en la medición de la DMO mandibular con los dos densitómetros utilizados.

Palabras clave: osteoporosis mandibular, modelos animales.

14

EL ÁCIDO LITOCÓLICO DISMINUYE LA SUPERVIVENCIA CELULAR Y MODIFICA LOS EFECTOS DE LA VITAMINA D₃ EN OSTEÓBLASTOS HUMANOS PRIMARIOS

S. Ruiz-Gaspá, A. Enjuanes, Á. Martínez-Ferrer, P. Peris, M. J. Martínez de Osaba, L. Álvarez, A. Monegal, A. Combalá, B. González, N. Guañabens y A. Parés

Unidades de Patología Metabólica Ósea y de Hepatología. CIBERhd. Hospital Clinic-IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona.

La osteoporosis es una complicación frecuente en los pacientes con colestasis crónica, y generalmente está asociada a una reducida formación ósea. La patogenia de esta alteración ósea en la colestasis crónica es desconocida. La acumulación de ácidos biliares hidrofóbicos secundaria a la colestasis ocasiona un efecto pernicioso sobre el hígado y es, en parte, responsable de la progresión de la enfermedad. Presumiblemente esta acumulación de ácidos biliares podría producir efectos perjudiciales sobre los osteoblastos. El ácido litocólico (LCA) es un ácido biliar muy hidrofóbico con especial importancia por su potencial efecto tóxico y porque interactúa con el receptor de la vitamina D₃ (VitD₃).

Objetivo. Analizar el efecto del LCA sobre la vía metabólica de la VitD₃, la supervivencia y la maduración celular en osteoblastos humanos (hOB) primarios.

Material y métodos. Los hOB fueron obtenidos a partir de hueso trabecular de 10 pacientes intervenidos de una prótesis total de cadera por coxartrosis. Los hOB fueron cultivados en DMEM/HAM F-12 con 10 mg/ml de ácido ascórbico y 10% de suero bovino fetal (FBS). Los hOB se trataron 6, 24, 48 y 72 horas con LCA (10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ y 10⁻³ M), con y sin VitD₃ (10⁻⁸ M). Para determinar la viabilidad celular se utilizó un método colorimétrico (Kit WST-1 de Roche). La expresión génica de Vitamina D 24-hidroxisilasa (CYP24A), osteocalcina (BGLAP), RANKL (TNFSF11) y osteoprotegerina (TNFRSF11B), indicadores del metabolismo de la VitD₃, maduración osteoblástica, y diferenciación y activación osteoblástica, respectivamente, se cuantificó mediante PCR a tiempo real.

Resultados. El LCA (10⁻³ M) tiene un efecto tóxico manifestado por una marcada disminución de la supervivencia celular. Este efecto se redujo parcialmente en presencia de FBS o albúmina humana. Los siguientes experimentos fueron realizados a concentraciones de LCA inferiores a las letales (media 4-7 experimentos). Tal como se esperaba, la VitD₃ estimula la expresión génica de CYP24A, BGLAP y TNFSF11 en hOB. Este efecto se modificó por el LCA ya que su adición produjo una disminución significativa ($p < 0,02$) de la expresión génica de CYP24A, BGLAP y TNFSF11 del -72%, -74% y -56%, respectivamente. El tratamiento únicamente con LCA tuvo un efecto similar al de la VitD₃, produciendo un incremento parcial de la expresión génica de CYP24A y BGLAP pero sin cambios en TNFSF11B.

Conclusión. El LCA disminuye el efecto estimulador de la VitD₃ en la expresión génica de CYP24A, BGLAP y TNFSF11 en hOB. Estos resultados explicarían, en parte, el efecto nocivo de la retención de ácidos biliares sobre el remodelado óseo en los pacientes con colestasis crónica.

Palabras clave: cultivo de osteoblastos, ácido litocólico y colestasis crónica.

INFLUENCIA DEL CONSUMO DE FÁRMACOS ANTIOSTEOPORÓTICOS SOBRE LOS VALORES DE TELOPÉPTIDO-C DEL COLÁGENO (B-CTX) Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA. ESTUDIO POBLACIONAL EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS

E. Kanterewicz^a, P. Rosique^b, L. del Río^c, P. Peris^d y E. Puigoriol^e

^aUnidad de Reumatología, ^bLaboratorio de Bioquímica. Hospital General de Vic. ^cUnidad de Densitometría. Centre Centre Mèdic (Barcelona). ^dServicio de Reumatología. Hospital Clínic Provincial de Barcelona. ^eUnidad de Epidemiología. Hospital General de Vic.

Existe poca información en las mujeres españolas sobre los marcadores del recambio óseo y su asociación con las principales variables clínicas y diagnósticas de la osteoporosis.

Objetivos. Describir la distribución de los valores séricos de β -CTX, su relación con el consumo de fármacos antiosteoporóticos y su asociación con las categorías densitométricas en las participantes del estudio FRODOS, estudio de cohorte prospectivo de riesgo de fracturas osteoporóticas.

Metodología. Se han estudiado las primeras 1.495 mujeres (59-70 años). Se realizó una encuesta clinicoepidemiológica, densitometría con morfometría vertebral (GE-LUNAR Prodigy Advance®) y determinación en ayunas de β -CTX (Elecsys® β -CrossLaps-Roche Diagnostics).

Resultados. La edad media fue de $64,5 \pm 3,6$ y el índice de masa corporal (IMC) de $28,7 \pm 4,9$. En el 18,3 % de las mujeres se detectó menopausia precoz (<45 años), el 17,8% tenían diagnóstico previo de osteoporosis, el 17,5% antecedentes de fracturas y un 8,4% habían consumido esteroides en el último año. Tomaban fármacos contra la osteoporosis 260 participantes (17,4%); el 13,5% calcio y/o vitamina D, 7,4% bisfosfonatos, 1,7% raloxifeno, 0,5% ranelato de estroncio y el 0,3% calcitonina. La densitometría (criterios OMS) mostró normalidad en el 21,9%, osteopenia en el 52,0% y osteoporosis en el 26,1%. Mediante morfometría vertebral se observó un 5,2% (IC 95%: 4,7-6,3) de deformidades vertebrales compatibles con fractura. El valor medio de β -CTX de las participantes en tratamiento fue de $0,337 \pm 0,219$ ng/ml, frente a $0,435 \pm 0,219$ de aquellas que no recibían fármacos ($p < 0,001$). El valor de referencia en mujeres premenopáusicas fue de $0,305 \pm 0,150$.

Conclusiones. Los valores de β -CTX disminuyen significativamente en las mujeres en tratamiento antiosteoporótico. Al analizar los resultados según categorías densitométricas esta relación se mantiene únicamente en las mujeres con osteopenia u osteoporosis.

Estudio financiado por el FIS (PI05/1430).

Palabras clave: marcadores de recambio óseo, tratamiento de la osteoporosis.

Tabla 1. Valores de β -CTX según categorías densitométricas y consumo de fármacos antiosteoporóticos

Densitometría	Tratamiento	n	Media \pm DE	p
Normal	Sí	34	$0,327 \pm 0,23$	0,22
	No	293	$0,370 \pm 0,19$	
Osteopenia	Sí	124	$0,315 \pm 0,21$	<0,001
	No	653	$0,425 \pm 0,20$	
Osteoporosis	Sí	102	$0,367 \pm 0,22$	<0,001
	No	289	$0,523 \pm 0,26$	

16

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN SUERO HUMANO MEDIANTE CG-MS (TRAMPA DE IONES)

N. Sánchez-Ávila^a, J. M. Mata-Granados^b, J. M. Quesada Gómez^{b,c} y M. D. Luque de Castro

^aDepartamento de Química analítica. Anexo C-3. Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba. ^bSanyres I+D+i. Córdoba. ^cUnidad de Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

La relación entre el consumo de grasa y la salud ha sido objeto de múltiples estudios epidemiológicos y clínicos en la última década. Las dietas ricas en ácidos grasos omega-3 poliinsaturados se han asociado positivamente con el óptimo desarrollo del feto, la protección cardiovascular, la prevención de enfermedades neurodegenerativas y los desórdenes de comportamiento, así como con el aumento de la respuesta inmune. Además, durante los últimos años, el estudio del perfil de ácidos grasos en muestras biológicas ha ganado una gran importancia, especialmente por el descubrimiento de la relación entre la ingesta de lípidos y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes y osteoporosis. La determinación de ácidos grasos y nuevos metabolitos en suero mediante cromatografía de gases con mayor sensibilidad y selectividad es una herramienta básica para interpretar su importancia en la salud humana.

El método aquí propuesto para la determinación de ácidos grasos permite determinar hasta 42 ácidos grasos esterificados y libres; poliinsaturados, incluyendo omega 6 y omega 3, y saturados. Consta de tres etapas: 1) derivatización en medio básico y extracción de los ácidos grasos esterificados; 2) neutralización, derivatización y extracción de los ácidos grasos libres; 3) determinación de ácidos grasos mediante CG-MS utilizando la técnica de inyección de grandes volúmenes.

A partir de 0,05 ml de suero, el método propuesto proporciona unos límites de detección en torno a 1 ng/ml, unos coeficientes de correlación entre 0,992 y 0,999 y una precisión entre el 2 y el 11% y permite determinar ácidos grasos desde C12 hasta C28. El tiempo total de análisis es de 70 minutos.

Estas características hacen que el método propuesto sea óptimo para la determinación de estos analitos en estudios nutricionales, epidemiológicos y clínicos de intervención, especialmente en el ámbito de la osteoporosis, donde permitirá evaluar la influencia de los ácidos grasos poliinsaturados y la relación $\Omega6/\Omega3$ en la densidad mineral ósea y el riesgo de fractura osteoporótica.

Agradecimientos: Grupos CTS-413 y FQM-227 del Plan Andaluz de Investigación (PAI) de la Junta de Andalucía y a la Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad: RETICEF.

Palabras clave: ácidos grasos, omega 6/omega 3 ra.

17

ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS ACCIONES PRODUCIDAS POR LA CICLOSPORINA, TACROLIMUS Y RAPAMICINA SOBRE EL REMODELADO ÓSEO Y LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA

M. Rubert^a, M. Montero^a, M. Díaz-Curiel^b, M. J. Soldevilla^c y C. de la Piedra^{a,c}

^aLaboratorio de Patología Osteoarticular, ^bServicio de Medicina Interna, ^cLaboratorio de Bioquímica. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Un importante número de trabajos científicos describe el desarrollo de osteoporosis en pacientes que han recibido un trasplante de órgano como riñón, corazón e hígado. Este hecho afecta muy negativamente a la calidad de vida de los pacientes trasplantados. Uno de los factores que contribuye a la patogénesis de la osteoporosis posttrasplante es la propia acción de los inmunosupresores utilizados (ciclosporina [CsA], tacrolimus [FK-506] y rapamicina [sirolimus, RAPA]) sobre las células del hueso.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar los efectos producidos por CsA, FK-506 y sirolimus, RAPA sobre el remodelado óseo y la densidad mineral ósea en ratas.

Se han estudiado 48 ratas Wistar macho de 5 meses de edad, que se dividieron en 4 grupos de 12 animales a los que se administró diariamente, por sonda oral, durante 3 meses: 300 µl de agua destilada (SHAM); 2 mg/kg de CsA; 1,25 mg/kg de RAPA o 3 mg/kg de FK-506. Con estas dosis se obtenían, a las 2 horas desde la administración del fármaco: 670,4 ng/ml de CsA, 4,8 ng/ml de RAPA y 19,2 ng/ml de FK-506, circulantes en sangre.

Después de 3 meses de tratamiento diario, los animales fueron sacrificados y se determinaron en suero los niveles de marcadores de remodelado óseo: de formación, osteocalcina (BGP) (rat BGP ELISA, IDS, UK); y de resorción, la fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR-5b) (rat FATR-5b ELISA, IDS, UK) y la densidad mineral ósea (DMO) por DEXA en fémur y columna lumbar.

La administración de CsA produjo un descenso significativo en los niveles de BGP. El FK-506 aumentó muy significativamente los niveles de este marcador, y la RAPA no produjo variaciones con respecto del grupo SHAM. Los 3 inmunosupresores produjeron un descenso significativo en los niveles de FATR.

Los 3 inmunosupresores provocaron una disminución significativa de los niveles de DMO tanto en fémur como en columna lumbar, siendo la pérdida de masa ósea producida por el FK-506 la más intensa, y la menor la de la CsA.

La administración de CsA, FK-506 o RAPA a ratas sanas produjo en todos los casos alteraciones del remodelado óseo y una disminución significativa de la masa ósea femoral y lumbar, más intensa en el caso del FK-506 y menor en el caso de la CsA.

Ayuda FIS PI06/0025.

Palabras clave: inmunosupresores, osteopenia.

18

¿QUÉ RIESGO DE FRACTURA ESTAMOS TRATANDO?

D. Roig Vilaseca^a, C. Gómez Vaqueró^b, C. Hoces Otero^a y J. M. Nolla Solé^b

^aUnitat de Reumatologia. CAE Cornellà. ^bServei de Reumatologia. Hospital Universitari de Bellvitge.

Recientemente se ha puesto a disposición de la comunidad médica un método para calcular el riesgo de fractura a 10 años (FRAX). El objetivo del estudio es conocer el riesgo de fractura estimado con este aplicativo en pacientes tratados y no tratados según la práctica clínica habitual.

Material y métodos. Revisión de datos de pacientes consecutivos que cumplieran los siguientes criterios: 1) edad > 40 años; 2) disponer de densitometría por DXA de región femoral después de octubre de 2005; 3) conocer la intervención realizada después de la densitometría; 4) disponer de peso y talla; 5) no haber realizado tratamiento previo a la densitometría, y 6) no padecer enfermedad neoplásica metastásica. El riesgo de fractura se calculó con la aplicación disponible en la Web (<http://www.shef.ac.uk/FRAX/>) durante junio de 2008. Se realizó descripción de la muestra y comparación mediante pruebas no paramétricas.

Resultados. Se incluyeron 192 personas (45 hombres), con edad media de 63,8±10,5 años. Ochenta y uno habían recibido tratamiento después de la DXA. El peso y la talla medias fueron 68,7±12,0 (43-102) y 157,7±7,7 (134-184), respectivamente. Habían sufrido una fractura osteoporótica previa 62 pacientes (32,3%), tenían antecedentes familiares 15 (7,9%), 50 (23%) eran fumadores activos, 60 (31,3%) habían recibido glucocorticoides, 19 (9,9%) tenían artritis reumatoide, 27 (14,1%) osteoporosis secundaria, y 6 (3,2%) una ingesta de alcohol mayor de 3 unidades al día. El índice T medio en cuello de fémur fue -1,26±1,09 (-3,98 a 1,90). El riesgo fue mayor cuando no se utilizó el valor del índice T (7,00±6,66 frente a 6,39±6,16 para cualquier fractura, y 2,90±4,19 frente a 2,36±4,43 para fémur, con p<0,000 en ambos casos). La tabla resume el riesgo de fractura para los grupos tratados y no tratados.

Conclusión. El riesgo de fractura a 10 años calculado con el método FRAX es mayor en los pacientes que reciben tratamiento, aunque existe un solapamiento importante entre los grupos tratados y no tratados.

Palabras clave: osteoporosis, riesgo de fractura.

Tabla 1.

Media±DE (intervalo) mediana	Sin DMO		Con DMO		T cuello femoral
	Cualquier fractura	Fémur	Cualquier fractura	Fémur	
Sin tratamiento	4,4563,87 (0,99-24,00)	1,4262,07 (0,6-13,00)	3,6862,41 (1,10-13,00)	0,7861,14 (0,00-7,10)	-0,7260,96 (-2,83-1,90)
Con tratamiento	10,5067,99 (1,66-38,00)	4,9365,36 (0,23-24,00)	10,1167,65 (1,80-50,00)	4,5366,07 (0,10-45,00)	-1,9960,79 (-3,98-0,11)
P	8,61 0	3,36 0	8,4 0	2,8 0	-2 0

19

PROFILAXIS CON VITAMINA D EN LACTANTES SANOS. EVALUACIÓN DE SU NECESIDAD

^aM.^a A. Alonso, ^aI. Carvajal, ^aM.^a L. Prieto, ^aR. M.^a Rodríguez, ^aA. M.^a Pérez, ^aÁ. Cepeda, ^aF. A. Ordóñez, ^aF. Nuño, ^aI. González-Posada, ^aV. Martínez, ^aM.^a I. Carballo, ^aM. Fernández, ^aÁ. Cobo, ^aJ. Rodríguez, ^aM.^a T. Coto y ^aF. Santos ^bPediatría de Atención Primaria. Atención Primaria de Asturias. ^cPediatría, ^dBioquímica. ^dHospital Universitario Central de Asturias.

Objetivo. Evaluar la necesidad de profilaxis con vitamina D en lactantes sanos en nuestra Comunidad, mediante la determinación de las concentraciones plasmáticas de 25OHD y su correlación con marcadores bioquímicos de metabolismo óseo (PTH).

Diseño. Estudio prospectivo, aleatorizado, desarrollado en el ámbito de la Atención Primaria. Ha obtenido el informe favorable del Comité Ético Regional del Principado de Asturias. Población diana: recién nacidos en Asturias, sin criterios de exclusión, de las ocho Áreas Sanitarias de la Comunidad. El período de inclusión finalizó en marzo de 2008, con 105 niños, 12 de los cuales abandonaron el estudio.

Metodología. La propuesta de inclusión se realizó en cada caso en la primera visita del recién nacido al centro de salud (7-15 días de vida), y previo consentimiento informado, los lactantes fueron aleatoriamente asignados a un grupo A (que recibe 400 UI/día de vitamina D) o B (sin profilaxis). En este momento se recoge un protocolo de inclusión con datos básicos de filiación, somatometría al nacimiento, tipo de lactancia (materna, fórmula adaptada o mixta) y número de horas de exposición a la luz, así como datos de la madre si lacta. A los 3-6 y 12 meses se realiza control clínico, un protocolo de seguimiento (examen físico, somatometría, tipo de alimentación, incidencias en salud, ingesta de fármacos o vitaminas y hábito de exposición a la luz y datos relativos a la madre si procede), y se obtiene una muestra de sangre (1,5cc) para la determinación de 25OHD y PTH.

Resultados. Se presentan los resultados preliminares correspondientes a 175 analíticas. El estudio finalizará en marzo de 2009. Las medias de 25OHD y PTH se exponen en la tabla adjunta. Se ha encontrado diferencia significativa en la media de 25OHD a los 3 y 6 meses entre los niños que toman lactancia materna exclusiva y los que reciben fórmula adaptada (fortificada en nuestro medio). No hay diferencias en los niveles de PTH en ningún caso. No hemos objetivado niveles de 25OHD en rango de deficiencia ni elevación de PTH. No existen diferencias relacionadas con el sexo, ni tampoco dependientes de la estación del año, consideradas globalmente. No se ha encontrado correlación significativa entre los niveles de 25OHD y PTH, si bien a los 3 meses, en lactantes de pecho parece haber cierta tendencia a correlación inversa. **Conclusiones.** Los niveles de 25OHD son más bajos a los 3 y 6 meses en lactantes de pecho, sin profilaxis, pero en rango de normalidad, y aumentan espontáneamente independientemente de la estación del año. No hay diferencia significativa en la PTH en ningún grupo. Las analíticas efectuadas en otoño-invierno tienen medias de 25OHD más bajas. Los niños con profilaxis y fórmula adaptada tienen a veces niveles que superan el rango de normalidad. No hemos encontrado ningún caso de deficiencia bioquímica de vitamina D.

Palabras clave: vitamina D, profilaxis.

	3m		6m		12m	
	A	B	A	B	A	B
25OHD (ng/ml)	42,04	27,76	42,97	32,57	42,73	35,62
PTH (pg/ml)	20,97	25,39	24,30	25,67	28,90	26,93

20

ENFERMEDAD ÓSEA DE PAGET: ICONOGRAFÍA DE LA AFECTACIÓN AXIAL

A. Conesa Mateos, D. Rotés Sala y J. Carbonell Abelló

Servicio de Reumatología. Hospitales Universitarios del Mar y Esperanza (IMAS). Barcelona.

El hallazgo de signos gammagráficos sugestivos de enfermedad ósea de Paget (EOP) descritos en la literatura (imagen en «corazón» y en «trébol») aportan a la gammagrafía una alta especificidad en el diagnóstico de esta enfermedad^{1,4}. La existencia de dos imágenes gammagráficas vertebrales a priori distintas, en estructuras anatómicas adyacentes y en una misma enfermedad, y junto a que puedan coexistir en la misma localización vertebral, permite plantear la hipótesis de que se trate de una misma imagen en distintas fases evolutivas en el tiempo.

Objetivo. Evaluar la posible secuencia temporal de las citadas hiper captaciones gammagráficas («corazón» y «trébol») de los pacientes diagnosticados de EOP axial, teniendo en cuenta la localización vertebral, la fase radiológica inicial, la actividad de la enfermedad, las alteraciones de la estática vertebral, y la presencia o ausencia de terapia antirresortiva asociada.

Material y métodos. Estudio retrospectivo de pacientes procedentes del servicio de reumatología del IMAS. Se seleccionaron los pacientes con afectación del esqueleto axial secundario a EOP que habían sido previamente clasificados morfológicamente en trébol o corazón según la captación gammagráfica. Se realizó el análisis de concordancia intra e interobservador, para el estudio del diagnóstico y evolución de las imágenes. En el estudio estadístico se aplicó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 12.0, instalado en el Instituto Municipal de Investigación Médica de Barcelona.

Resultados. La concordancia fue absoluta en todas las observaciones inter e intraobservador (índice de Kappa = 1). De un total de 335 pacientes afectos de EOP, se seleccionaron 53 por presentar hiper captación gammagráfica con morfología en corazón o en trébol a nivel del esqueleto axial. De estos 53 pacientes, 45 mostraban una hiper captación en trébol, 6 en corazón y 2 pacientes presentaban las dos imágenes concomitantemente. En los pacientes con alteraciones estructurales vertebrales no se observó ninguna correlación con la localización vertebral afectada, ni a nivel radiológico ni gammagráfico. La distribución de los 53 pacientes afectos en cuanto a la localización radiológica vertebral fue: 30 pacientes afectación lumbar, en 7 dorsal, 10 mostraron una distribución dorso-lumbar y un paciente cérico y lumbar concomitantemente. En 5 pacientes no se evidenció alteración en el patrón radiológico a nivel vertebral y sí mostró una hiper captación a nivel gammagráfico. El patrón radiológico más frecuente fue el mixto, observado en 36 pacientes, con una localización predominantemente en columna lumbar, en cambio, a nivel dorsal fueron más prevalentes las formas esclerosas y líticas. En 4 pacientes se evidenció el patrón escleroso y el mixto de forma concomitante. La gammagrafía detectó hiper captación en todos los pacientes del estudio: 29 pacientes mostraron afectación lumbar, 11 localización dorsal, la afectación mixta dorso-lumbar y cervico-lumbar se observó en 12 pacientes y en 1, respectivamente. Aquellos pacientes con imagen gammagráfica en corazón, mostraron un patrón escleroso en la radiología convencional (100%), independientemente de la localización vertebral afectada y de la distribución gammagráfica, presentando una tendencia sistémica se evidenció en un 8%, siendo la localización más frecuente a nivel dorsal, a diferencia de la distribución fisiológica que se describe a nivel lumbar. En cuanto a la correlación entre la localización vertebral y la imagen gammagráfica, se observó que a nivel dorsal, la captación en corazón fue la predominante, presentando una tendencia significativa, a diferencia de la hiper captación en trébol siendo más prevalente a nivel lumbar. Fueron tratados 35/53 pacientes con diferentes terapias antirresortivas, durante un tiempo medio de 19,5 ± 7,9 meses. Los pacientes tratados que presentaban la hiper captación en corazón y mixta, no mostraron cambios en la intensidad, en cambio en aquellos con captación en trébol, sí que existió evolución gammagráfica. En 19 de ellos se objetivó una desaparición de la captación en trébol, seguido de una disminución de intensidad en 10 pacientes.

Conclusiones. A pesar de no evidenciar la existencia de una secuencia temporal de dichas hiper captaciones gammagráficas en los pacientes afectos de EOP axial, se ha constatado la presencia de correlación entre la imagen gammagráfica y el patrón radiológico, además de mostrar una localización preferencial para las diferentes fases radiológicas y distribuciones gammagráficas.

1. Resnick D, Niwayama G. Paget's disease: diagnosis of bone and joint disorders. En: Resnick D, Niwayama G, Editores. Philadelphia: WB Saunders Company; 1987. p.2127-70.
2. Rotés Sala D, et al. Diagnóstico por imágenes en la enfermedad de Paget. Rev Esp Reumatol.1992;19:119-9.
3. Carbonell Abelló J, Rotés Sala D. Diagnóstico por la imagen en la enfermedad ósea de Paget. En: Sociedad Española de Reumatología, editor. Enfermedades óseas. Barcelona: Masson;1997. p.277-84.
4. Rotés-Sala D, Monfort J, Solano A, Minalles E, Vila J, Carbonell J. The clover and heart signs in vertebral scintigraphic images are highly specific of Paget's disease of bone. Bone. 2004;34:605-8.

Palabras clave: enfermedad ósea de Paget, gammagrafía ósea.

21

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS DRÁSTICAS EN LA DIETA DE LOS CIERVOS Y SUS EFECTOS EN LA MASA, ESTRUCTURA ÓSEA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y PROPIEDADES BIOMECÁNICAS DE LAS CUERNAS

J. R. Caeiro^a, T. Landete-Castillejos^b, D. Guedé^c, J. D. Currey^d, S. Dapía^e, J. A. Estévez^f, A. J. García^g y L. Gallego^h

^aServicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (A Coruña). ^bInstituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC) Sección Alcabete. Instituto de Desarrollo Regional Departamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal, ETSI. ^cAgrónomos Universidad de Castilla La Mancha (Albacete). ^dTrabeculae® Empresa de Base Tecnológica S.L. Parque Tecnológico de Galicia, San Cibrao das Viñas (Ourense). ^eBiology Department University of York (York, Reino Unido).

La nutrición es un factor de gran relevancia para el óptimo desarrollo óseo. Para conocer su influencia sobre las características estructurales óseas, las cuernas de cérvidos son modelos ideales debido a su rápido crecimiento, renovación anual, ausencia de remodelado y naturaleza casi irrompible. En algunos años de inviernos excepcionalmente fríos, como el de 2005, se ha comprobado la rotura de cuernas de ciervos de toda España. Esta circunstancia probablemente esté mediada por la nutrición, debido a cambios en la composición mineral de las plantas que sirven como alimento a estos animales.

El objetivo de este estudio es determinar si existen diferencias en términos de densidad mineral ósea (DMO), estructura, composición mineral y propiedades biomecánicas entre 2 cohortes de cuernas de ciervo pertenecientes a mismos individuos, 15 crecidas tras un invierno normal (año 2004) y 15 crecidas tras las heladas del 2005.

Los resultados demuestran que las cuernas crecidas tras las heladas presentan con respecto a las cuernas crecidas en 2004 menor DMO (0,786±0,018 g/cm² frente a 0,847±0,012 g/cm², p=0,007), deterioro de la estructura ósea tanto a nivel cortical como trabecular, cambios en la composición mineral y una mayor fragilidad. Se ha comprobado que estas diferencias no se debieron a los efectos del frío sobre el animal, sino a circunstancias intrínsecamente relacionadas con la nutrición, ya que en 2005, un grupo de animales recibió una dieta controlada y sus cuernas no presentaban ningún tipo de diferencia con respecto a las de 2004. En las plantas, cualquier tipo de estrés produce un aumento del contenido de Si y, por lo tanto, una disminución del nivel de Mn. Por ello, en este caso, las heladas de 2005 aumentarían el contenido de Si y disminuirían el nivel de Mn de las plantas, aumentando consecuentemente el contenido de Si (de 51,59±4,31 mg/kg a 93,16±11,49 mg/kg, p=0,001) y reduciendo el de Mn en las cuernas (de 4,55±0,28 mg/kg a 2,71±0,32 mg/kg, p=0,000). Se sabe que dietas bajas en Mn reducen tanto el Mn como el Ca y el P en huesos, de modo que estos cambios pudieran impedir la fijación en la cuerna del Ca o P (las cuernas se forman a partir del Ca procedente de la resorción ósea del esqueleto).

Los resultados de este estudio podrían ser de gran importancia para dilucidar el efecto que ciertos oligoelementos tienen sobre las estructuras óseas, ya que demuestra que un cambio en la dieta de animales parece impedir la fijación del fosfato cálcico del esqueleto.

Palabras clave: cuernas, alimentación.

22

EL CAROTENOIDE BETA-CRIPTOXANTINA INDUCE LA EXPRESIÓN DE GENES OSTEOBLÁSTICOS EN CÉLULAS MADRE MESENOQUIMALES PRETRATADAS CON DEXAMETASONA

A. Olaya Abri^a, A. Casado Díaz^b, R. Santiago-Mora^a y J. M. Quesada^b^aUnidad de Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba. RETICEF.^bSanyres (Grupo PRASA). Córdoba. RETICEF.

La dexametasona a concentraciones entre 10⁷ y 10⁹ M es comúnmente utilizada para inducir la diferenciación de células madre mesenquimales (MSC) a osteoblastos. Aunque favorece la inducción de genes osteogénicos como *runx1* o fosfatasa alcalina (*fa*), también inhibe otros como la osteoprotegerina y la osteocalcina. Además este glucocorticoide a concentraciones más altas (10³-10⁶ M) induce diferenciación hacia adipocitos. Por otro lado, el β-criptoxantina, cuyo consumo se ha asociado a un aumento de la masa ósea en animales y en seres humanos, es un caroteno con capacidad de favorecer la osteogénesis de preosteoblastos *in vitro*.

Hemos tratado con 10⁶ y 10⁷ M de β-criptoxantina, cultivos de MSC inducidos a osteoblastos con 10⁸ M dexametasona, β-glicerofosfato y ácido ascórbico. De estos cultivos se tomaron muestras a los 7, 14 y 21 días del comienzo de la inducción osteoblástica, en las que se cuantificó la expresión génica mediante RT-PCR a tiempo real de los genes *runx1*, *fa* y *ostocalcina*; además del grado de mineralización de la matriz extracelular a los 21 días de cultivo mediante tinción histoquímica con «alizarín red» y posterior elución del colorante y su cuantificación espectrofotométrica. Los resultados no mostraron cambios significativos, tanto en la expresión génica como en la mineralización de la matriz, entre los cultivos tratados y no tratados con β-criptoxantina. Para comprobar si la presencia de la dexametasona podía influir sobre el efecto positivo esperado de la β-criptoxantina sobre las MSC inducidas a osteoblastos, se mantuvieron cultivos de MSC durante 10 días en presencia de 10⁸ M dexametasona, β-glicerofosfato y ácido ascórbico. En ese momento se retiró la dexametasona del medio de cultivo y una parte de esos cultivos se trataron con 10⁶ o 10⁷ M de β-criptoxantina, quedando el resto como controles. De esos cultivos se tomaron muestras a los 14 y 21 días en las que se cuantificó la expresión génica de los genes citados anteriormente y la mineralización de la matriz a los 21 días. En esas muestras, se observó un aumento de la expresión de los genes osteogénicos en las muestras tratadas con β-criptoxantina, principalmente con la concentración 10⁷ M y a los 21 días, momento en que la expresión génica aumentó aproximadamente el doble para los genes *runx1* y *fa* y el triple para el gen de la *ostocalcina*, en estos cultivos, respecto a los no tratados con el carotenoide. Además, se observó en los cultivos tratados con β-criptoxantina un aumento del 19% en la mineralización de la matriz extracelular.

Estos datos indican que la β-criptoxantina favorece la osteogénesis en células preinducidas a osteoblastos. La presencia de dexametasona de manera continua en el medio puede enmascarar el efecto que este antioxidante pudiera ejercer sobre la diferenciación osteoblástica de las MSC, por lo cual, deberá tenerse en consideración al evaluar la diferenciación de las MSC a osteoblastos.

Grupo CTS-413 del Plan Andaluz de Investigación (PAI) de la Junta de Andalucía. Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad: RETICEF.

Palabras clave: criptoxantina, células madre mesenquimales.

23

EFECTO DE LA OLEUROPEÍNA SOBRE LA ADIPOGÉNESIS, REPERCUSIÓN SOBRE LA FORMACIÓN DE HUESO

R. Santiago-Mora^a, A. Casado-Díaz^b, I. Herrera^a, A. Torres^b, M. D. Luque de Castro^c y J. M. Quesada^d^aUnidad de Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Reina Sofía e Sanyres (Grupo PRASA).^bRETICEF. ^cServicio de Hematología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. RETICEF.^dDepartamento de Química Analítica. Campus Rabanales. Universidad de Córdoba. RETICEF.

Entre las enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento por su prevalencia y morbimortalidad tiene gran relevancia la osteoporosis. Una de las causas de la disminución de la densidad y calidad ósea que se observa con la edad es la relación inversa existente entre formación de hueso y grasa, donde la adipogénesis se ve favorecida en detrimento de la osteogénesis. El estrés oxidativo puede desempeñar un papel crucial a la hora de comprometer la diferenciación de las células madre mesenquimales (MSC), precursoras de los osteoblastos y adipocitos. Los antioxidantes naturales podrían ser relevantes para revertir ese proceso. Estudios previos de nuestro grupo indicaban que la oleuropeína, biofenol presente en hoja y producto de olivo, inducía un aumento en la formación de osteoblastos a partir de MSC, por ello nos propusimos dilucidar el efecto de la oleuropeína en la diferenciación de MSC de médula ósea humana en adipocitos.

Se trataron MSC que estaban induciéndose a adipocitos con 5x10⁻⁷ M dexametasona, 0,5 mM isobutilmetaxantina y 50 μM indometacina con concentraciones de oleuropeína entre 1 y 100 μM.

El análisis de expresión génica de marcadores adipogénicos, como PPARγ y LPL, así como el análisis de las vesículas de grasas formadas durante la diferenciación pone de manifiesto que la oleuropeína provoca una inhibición de la adipogénesis, que se hace más notable a medida que va aumentando el tiempo de diferenciación, y por tanto de tratamiento, y cuando la concentración de oleuropeína utilizada es de 1 y 10 μM. Además, estudios de expresión génica de enzimas involucradas en el estrés oxidativo celular como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) o glutatión sintetasa (GSS), parecen señalar que la inhibición de la adipogénesis provocada por la oleuropeína puede producirse por una disminución del estrés oxidativo mediado por un aumento en la expresión de las enzimas antioxidantes.

Grupos CTS-413 y FQM-227 del Plan Andaluz de Investigación (PAI) de la Junta de Andalucía. Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad: RETICEF.

Palabras clave: oleuropeína, osteoblasto.

EFFECTO DEL ANTIOXIDANTE QUERCETINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES MARCADORES OSTEOBLÁSTICOS Y ADIPOGÉNICOS EN CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES INDUCIDAS A DIFERENCIARSE A OSTEOBLASTOS Y ADIPOCITOS

A. Casado-Díaz^{a,b}, J. Anter^c, R. Santiago-Mora^b, G. Dorado^d, M. D. Luque^e
y J. M. Quesada^{a,b}

^aSANYRES XXI (G. PRASA). Córdoba. RETICEF ^bUnidad Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. RETICEF. ^cDepartamento de Genética, Universidad de Córdoba.

^dDepartamento de Bioquímica. Universidad de Córdoba. ^eDepartamento de Química Analítica. Universidad de Córdoba. RETICEF.

El aumento del estrés oxidativo con la edad se asocia con los procesos del envejecimiento, en los que se incluye la pérdida de masa ósea. Ello hace atractiva la hipótesis de empleo de compuestos antioxidantes para disminuir los efectos del mismo sobre el hueso. Sin embargo, se ha propuesto que un exceso de algunos de estos compuestos puede tener efectos no deseados.

Analizamos cómo diferentes concentraciones de quercetina, antioxidante de origen vegetal, pueden afectar a la diferenciación de células madre mesenquimales (MSC). Para ello las MSC fueron inducidas a diferenciarse a osteoblastos con dexametasona 10^{-8} M, ácido ascórbico 0,2 mM y β -glicerolfosfato 10 mM, o a adipocitos con dexametasona 5×10^{-7} M, sobutilmetaxantina 0,5 mM i e indometacina 50 μ M. Para el estudio del efecto de la quercetina, los medios se suplementaron con 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} o 10^{-8} M del compuesto. Los cultivos se mantuvieron hasta 14 días y se tomaron muestras a los 7 y 14 días, en las que se analizó la expresión génica mediante QRT-PCR del gen *runxII* en las células inducidas a osteoblastos; y de los genes *ppar- γ 2* y *lpl* en las inducidas a adipocitos.

Las concentraciones de 10^{-5} y 10^{-6} M de quercetina incrementan la expresión de los genes *ppar- γ 2* y *lpl* en los cultivos inducidos a adipocitos, mientras que las otras dos concentraciones probadas (10^{-7} y 10^{-8} M) la disminuye a los 7 días, con un ligero incremento a los 14 días. En las células inducidas a osteoblastos no se detectaron cambios significativos en la expresión del gen *runxII* cuando los cultivos fueron tratados con las distintas concentraciones de quercetina, salvo con la concentración de 10^{-8} , con la que se observó un incremento a los 14 días de inducción osteogénica.

Estos datos indican que concentraciones altas de determinados compuestos antioxidantes pueden favorecer la adipogénesis, mientras que concentraciones bajas favorecerían la osteogénesis de las MSC. La respuesta de estas células y el sentido de la misma a compuestos antioxidantes dependen de la dosis y probablemente del tiempo en que las MSC son tratadas con ellos.

Grupo CTS-413 del Plan Andaluz de Investigación (PAI) de la Junta de Andalucía. Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad: RETICEF.

Palabras clave: quercetina, osteoblastos.

25

PAPEL DE LOS NIVELES CIRCULANTES DE VITAMINA D SOBRE LA PROGRESIÓN DE CALCIFICACIÓN AÓRTICA EN POBLACIÓN NO SELECCIONADA

M. Naves Díaz^a, C. Gómez Alonso^a, J. B. Díaz López^a, M. Rodríguez García^a, T. Fernández Coto^b y J. B. Cannata Andía^a

^aServicio de Metabolismo Óseo y Mineral, Instituto Reina Sofía de Investigación, REDinREN del ISCIII. ^bServicio de Bioquímica, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo.

Estudios epidemiológicos y experimentales apoyan la existencia de una estrecha asociación entre las pérdidas óseas y la presencia de calcificaciones vasculares. Niveles bajos de 25-hidroxivitamina D₃ (25OHD) se han considerado valor pronóstico del deterioro óseo y podrían igualmente serlo de la aparición de calcificación vascular. Por tanto, el objetivo de este estudio epidemiológico fue evaluar la capacidad predictiva de los niveles de vitamina D sobre la progresión de calcificación aórtica en una cohorte de población no seleccionada.

Se estudiaron 280 hombres y mujeres mayores de 50 años que fueron seguidos de forma prospectiva durante un periodo de 4 años con el fin de conocer la prevalencia e incidencia de fractura vertebral y de calcificación vascular. Solo se consideraron aquellos sujetos que no habían recibido durante el período de estudio tratamiento para la osteoporosis. A todos los sujetos se les realizaron dos radiografías laterales de columna dorso-lumbar, así como un estudio densitométrico al inicio y final de los 4 años de seguimiento y determinaciones bioquímicas como Ca, P, 25OHD, calcitriol, PTH y osteocalcina, entre otras.

Al momento basal se objetivó que aquellos sujetos con fracturas vertebrales prevalentes tenían un riesgo mayor de tener calcificación aórtica tras ajustar por distintas variables confusoras (*odds ratio* [OR] = 2,45; intervalo de confianza del 95% [IC del 95%] = 1,23 a 4,87). Además, las personas que durante los 4 años de seguimiento presentaban una nueva calcificación aórtica o los que habían progresado en su gravedad tenían de forma significativa mayores pérdidas óseas a nivel lumbar.

Aquellos con progresión de calcificación aórtica tenían valores menores de 25OHD, respecto a los que no habían desarrollado calcificación (15,5±7,7 ng/ml frente a 17,6±9,9 ng/ml, p=0,048). El análisis de regresión logística tras ajustar por edad, sexo, fracturas vertebrales prevalentes, hábito tabáquico, Ca y PTH en suero, mostró que por cada aumento en 10 ng/ml de 25OHD, se reducía de forma significativa la progresión de calcificación aórtica en un 33%, similar al efecto que tiene un envejecimiento de 10 años, incrementando su progresión (32%). Mientras que un 30,8% de los sujetos con 25OHD, por encima de 30 ng/ml desarrollaron calcificaciones aórticas, este porcentaje fue del 49,3% en aquellos con valores de 25OHD, menores de 10 ng/ml. Tras ajustar por variables confusoras, aquellos sujetos con valores de deficiencia de vitamina D (25OHD, < 10 ng/ml) tenían un riesgo de desarrollar una calcificación aórtica casi 3 veces superior a los que tenían valores adecuados (25OHD, > 30 ng/ml) (OR=2,89; IC del 95% = 1,01 a 8,33).

En resumen, el déficit de 25OHD, se asoció con una mayor progresión de calcificación aórtica, sugiriendo que el mantenimiento de unos niveles adecuados de 25OHD, podría implicar una mejor salud vascular como consecuencia de los efectos pleiotrópicos que la vitamina D tiene a ese nivel.

Palabras clave: niveles de vitamina D, calcificaciones aórticas.

26

TRASPLANTE HEPÁTICO Y OSTEOPENIA: RESULTADOS PRELIMINARES TRAS UN AÑO DE TRATAMIENTO CONTROLADO CON RISEDRONATO

S. Guadalupe^a, B. Cobaleda^a, G. Martínez^a, C. Vargas^b, E. Jódar^a, D. Lora^a, M. Calatayud^a, E. Moreno^a y F. Hawkins^a

^aServicio de Endocrinología, ^bServicio de Bioquímica, ^cUnidad de Epidemiología, ^dServicio de Cirugía, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Introducción. La osteoporosis es una patología frecuente en los pacientes con trasplante hepático, especialmente en la fase precoz postrasplante (3-6 meses). A pesar de su elevada prevalencia aún no se ha establecido el tratamiento más adecuado.

Objetivos. Evaluar los efectos del tratamiento durante 12 meses con risedronato (RSN) en la densidad mineral ósea (DMO) y marcadores de remodelado óseo (MRO) en pacientes con baja masa ósea tras recibir un trasplante hepático.

Pacientes y métodos. Hasta ahora han sido incluidos 90 pacientes receptores de trasplante hepático con baja DMO (*T-score* lumbar y/o femoral <-1 DE). Se muestran resultados de los primeros 50 pacientes (38 hombres y 12 mujeres; edad media 54±11 años) que han completado 1 año de tratamiento. Al inicio del mismo, los pacientes fueron aleatorizados en dos grupos. El grupo 1 (n=24) recibió RSN 35 mg por vía oral en administración única semanal, 1.000 mg de calcio y 800 UI de vitamina D diariamente. El grupo 2 (n=26) recibió 1.000 mg de calcio y 800 UI de vitamina D. El tratamiento se inició antes de transcurridos 30 días desde el trasplante. La DMO en columna lumbar (CL) y fémur total (FT) se midió basalmente, a los 6 y a los 12 meses (densitómetro DXA Hologic QDR 4500). Se determinaron niveles de marcadores óseos (P1NP y β-CTX en suero, Dpyr en orina), PTH y 25-OH vitamina D y el resto de parámetros bioquímicos basalmente, a los 3, 6 y 12 meses.

Resultados. Al inicio, el 40% de los pacientes presentaban *T-score* lumbar y/o femoral ≤-2,5 DE. A los 12 meses, la DMO se incrementó en ambos grupos a nivel lumbar y femoral, aunque sin diferencias significativas. Grupo 1: CL 3,9 ± 5,9%, FT 4,7 ± 8,3%. Grupo 2: CL 2,2 ± 5,5%, FT 0,9 ± 10,1%. No se encontró correlación entre DMO y dosis de prednisona o tacrolimus recibida. Al inicio del estudio 94% de los pacientes tenían niveles insuficientes de 25-OH vitamina D, que aumentaron significativamente en ambos grupos desde los 3 meses de tratamiento (p<0,001). En el grupo 2, P1NP aumentó de forma significativa a los 12 meses (basal: 62,0 ± 28,8 ng/ml; 12 meses: 113,1 ± 66,7 ng/ml; p=0,021). En los dos grupos se produjo un descenso en los niveles de β-CTX a los 3 y 12 meses, que fue significativamente mayor en el grupo 1. Tres meses (grupo 1: 50 ± 35%, grupo 2: 22 ± 37%, p=0,025). Doce meses (grupo 1: 63 ± 23%, grupo 2: 35 ± 33%, p=0,01).

Conclusión. El tratamiento durante 12 meses con RSN, calcio y vitamina D en trasplantados hepáticos con DMO baja produce una mayor disminución de la resorción ósea que el tratamiento con calcio y vitamina D. El incremento observado de DMO es mayor en el grupo tratado con RSN, aunque sin diferencias significativas en el periodo de tiempo estudiado.

Palabras clave: trasplante hepático, osteopenia.

27

AUMENTO DE LOS VALORES DE PTH EN MUJERES CON OSTEOPOROSIS POSMENOPÁUSICA. PREVALENCIA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

D. Cerdá^a, P. Peris^b, A. Monegal^b, C. Albaladejo^b, M. A. Martínez^b, A. Muxí^b, M. J. Martínez de Osaba^b, X. Suris^c y N. Guañabens^b

^aServicio de Reumatología, Medicina Nuclear, Laboratorio Hormonal. ^bHospital General de Granollers, Barcelona. ^cHospital Clínic de Barcelona. ^dCAP Manso, Barcelona.

El desarrollo de osteoporosis en la mujer posmenopáusica se atribuye en líneas generales a esta situación hormonal. Sin embargo, pueden coexistir otros procesos asociados que contribuyan a la pérdida de masa ósea y que pasan desapercibidos si no se realiza un estudio completo del metabolismo mineral. El hallazgo de valores séricos elevados de PTH en estas pacientes no es infrecuente.

Objetivo. Analizar la prevalencia de valores elevados de PTH en las mujeres con osteoporosis posmenopáusica y sus características clínicas.

Pacientes y métodos. Estudio prospectivo transversal realizado en una consulta de Reumatología en la que se analizaron de forma consecutiva a 204 mujeres posmenopáusicas con osteoporosis, con una edad media de 64,9±10 años (rango 43-88), sin causa evidente de osteoporosis ni enfermedad inflamatoria articular asociada y que no recibían tratamiento para su patología ósea. A todas las pacientes se les realizó una anamnesis completa con especial referencia a factores de riesgo de osteoporosis, una densitometría ósea en columna lumbar y fémur (DXA), Rx de columna dorsal y lumbar para valorar la presencia de fracturas vertebrales, analítica básica y estudio hormonal que incluía determinaciones de PTH, 25-OH vitamina D (25-OHD), NTx en orina, calcio en orina de 24 horas y filtrado glomerular (FG) (estimado mediante la fórmula de Cockcroft-Gault).

Resultados. El 55% tenían un aumento de los valores de PTH (> 65 pg/ml), 5 de ellas tenían un hiperparatiroidismo primario. Al comparar las pacientes con y sin valores altos de PTH se observó que las pacientes con aumento de PTH tenían mayor edad (67±9 frente a 63±11 años; p=0,03) y mayor índice de masa corporal (IMC) (26,1±4 frente a 24,8±4 años; p=0,03). Al comparar los parámetros de laboratorio entre ambos grupos de pacientes no se observaron diferencias significativas con relación a los valores de 25-OHD, NTx y FG, sin embargo, la calcitriol fue menor en las pacientes con aumento de PTH (153,6±99 frente a 192,5±130; p=0,03). Aunque los valores de densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar y fémur fueron similares en ambos grupos de pacientes, las mujeres con escala Z <-2 en cuello de fémur tenían valores de PTH más altos (80,3±32 frente a 57,5±22; p=0,01). No se observaron diferencias significativas con relación a la presencia de fracturas vertebrales y/o periféricas entre ambos grupos de pacientes. Los valores de PTH se relacionaron con la edad (r=0,19; p=0,01), P sérico (r=-0,2; p<0,05), calciuria (r=-0,17; p=0,02) y DMO en cuello de fémur (r=-0,19; p=0,01). En el análisis de regresión múltiple la edad fue el principal factor relacionado con la PTH.

Conclusión. Los valores de PTH con frecuencia están aumentados en las mujeres posmenopáusicas con osteoporosis, pero sólo un 10% de estas pacientes cumplen criterios de hiperparatiroidismo primario. La PTH se relaciona con la edad y con la disminución de la masa ósea en cuello de fémur. Estos datos sugieren la conveniencia de determinar PTH en este grupo de población así como controlar su evolución.

Palabras clave: osteoporosis, PTH.

28

PREVALENCIA DE FRACTURAS EN LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA. RELACIÓN CON LA OSTEOPOROSIS Y EL GRADO DE INSUFICIENCIA HEPÁTICA

N. Guañabens, D. Cerdá, A. Monegal, F. Pons, L. Caballería, P. Peris y A. Parés
^aUnidades de Patología Metabólica Ósea y de Hepatología, Hospital Clínic, CIBERehb, IDIBAPS, Universidad de Barcelona.

La osteoporosis es una de las complicaciones frecuentes en los pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP), y se relaciona con el grado de insuficiencia hepática. La presencia de fracturas es una de las consecuencias de la osteoporosis, y representa un factor de comorbilidad en esta enfermedad. La prevalencia de fracturas en la CBP es poco conocida, básicamente porque los datos reportados se han obtenido en series con un número reducido de pacientes.

Objetivo. Analizar la prevalencia de fracturas y la asociación con las alteraciones de la densidad mineral ósea (DMO) y la intensidad de la insuficiencia hepática en la CBP.

Pacientes. Se han estudiado 185 mujeres con CBP (edad: 55,7 ± 0,7 años, intervalo: 28-79, con un promedio de duración de la enfermedad antes de la evaluación ósea de 3,2 ± 0,3 años (intervalo: 0-19,5 años).

Métodos. Además de las variables demográficas y de las pruebas rutinarias de función hepatocelular se evaluó el estado posmenopáusico, la presencia de fracturas vertebrales mediante radiología (170 pacientes) y de fracturas periféricas (172 pacientes). En 180 pacientes se disponía de DMO lumbar y en 140 de DMO de cuello de fémur.

Resultados. La prevalencia de fracturas vertebrales, periféricas y totales fue del 11,2%, 12,2% y 20,8%, respectivamente. Según criterios densitométricos el 30,6% de los pacientes tenía osteoporosis lumbar y el 12,9% osteoporosis femoral, tasas significativamente superiores a las observadas en la población estándar de mujeres españolas, que es del 11,2% y 4,3%, respectivamente (p<0,001). La presencia de fracturas se relacionó con la osteoporosis lumbar y femoral, con el estado posmenopáusico, con la edad y con la talla, al igual que la presencia de fracturas vertebrales. No se observó relación entre la presencia de fracturas y el grado de insuficiencia hepática. Sin embargo, la existencia de osteoporosis se relacionó con la edad, el peso, la talla, la duración de la enfermedad, el estadio histológico y la magnitud de la colestasis. La presencia de osteoporosis comportó un factor de riesgo para fractura vertebral de 8,48 (95% IC: 2,67-26,95), y este factor de riesgo fue ya muy elevado en los pacientes con osteopenia lumbar con escala-T <-1,5 (8,50; 95% IC 1,89-38,09) y osteopenia femoral con escala-T <-1,5 (6,83; 95% IC: 1,48-31,63). Así, 17 de los 19 pacientes (89,5%) con fractura vertebral tenía una escala-T lumbar <-1,5 y 15 de ellos (86,7%) tenían una escala-T en cuello femoral <-1,5.

Conclusiones. En la CBP, las fracturas, particularmente las vertebrales, se relacionan con la presencia de osteoporosis y con una escala-T lumbar y/o femoral <-1,5, mientras que la existencia de osteoporosis y osteopenia de relaciona con la intensidad de la colestasis. La concordancia entre la fractura vertebral y la escala-T <-1,5 permite establecer un criterio para recomendar tratamiento específico para la pérdida de masa ósea en la CBP.

Palabras clave: osteoporosis, colestasis.

29

APLICACIÓN DE LA HERRAMIENTA FRAX EN PACIENTES CON CARCINOMA DE PRÓSTATA

M. Varsavsky^a, S. Quiros Flores^b, G. Alonso^c, I. Luque Fernández^d,
A. R. González Ramírez^e, J. L. Mijan Ortiz^f y M. Muñoz-Torres^g

^aUnidad de Metabolismo Óseo, ^bServicio de Reumatología, ^cFIBAO, ^dServicio de Urología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada.

La herramienta FRAX calcula la probabilidad de fractura de cadera (FC) y del conjunto de fracturas osteoporóticas mayores (FOM) a 10 años. El rendimiento de este modelo no ha sido evaluado en pacientes con carcinoma de próstata (CP).

Pacientes y métodos. Aplicamos FRAX en 50 pacientes con CP. Habían recibido terapia de privación androgénica (TDA) 27 pacientes (edad media 73,44±5,08 años) y no recibieron TDA 23 pacientes (edad media 67,74±5,34 años). El tiempo medio de tratamiento con TDA fue 33,88 meses (4-96). Diez pacientes (37%) recibieron TDA menos de 12 meses. El tipo de TDA fue: 16 con agonistas de GnRH, 7 con antiandrogénos y 4 con agonistas de GnRH + antiandrogénos.

Resultados. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en densidad mineral ósea (DMO) de cadera o columna lumbar, ni en factores clínicos como índice de masa corporal, antecedente familiar de fractura osteoporótica, antecedente de fractura por fragilidad, hábito tabáquico u otra causa de osteoporosis secundaria entre pacientes con y sin TDA. Se observaron diferencias en la edad (p<0,002) y en la ingesta diaria de calcio (p<0,013), siendo mayor en ambos casos en el grupo con TDA. Existió una correlación lineal significativa entre los meses de TDA y los valores de DXA en: DMO de cuello femoral (r=-0,5; p<0,013), T-score cuello femoral (r=-0,52; p<0,01), Z-score cuello femoral (r=-0,42; p<0,04), DMO cadera total (r=-0,427; p<0,037) y T-score cadera total (r=-0,38; p<0,026). En columna lumbar se observó una tendencia a la significación estadística. El FRAX en el grupo con TDA fue de 4,73% para FOM y 2,61% para FC, en los casos sin TDA fue de 2,47% para FOM y 0,86% para FC, observándose una diferencia significativa entre ambos grupos (p<0,008 para FOM y p<0,007 para FC).

Conclusiones. La herramienta FRAX podría ser de utilidad para valorar la decisión de iniciar tratamiento en pacientes con alto riesgo de fractura osteoporótica y sin cumplir criterios densitométricos de osteoporosis en pacientes con CP.

Palabras clave: carcinoma de próstata, terapia de privación androgénica.

30

ALTERACIONES DEL CALCIO E HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA METASTÁSICO

S. Quiros^a, M. Varsavsky^b, F. Valle^c, J. L. Miján^d, G. M. Ábalos^e, M. Muñoz^b,
E. Raya^f y A. Zuluaga^g

^aServicio de Reumatología, ^bServicio de Endocrinología, ^cServicio de Urología, Hospital Clínico San Cecilio, Granada.

Introducción. La PTH como hormona reguladora de la calcemia y el metabolismo del hueso parece desempeñar un papel fundamental en la fisiología de las metástasis osteoblásticas en los pacientes con carcinoma de próstata avanzado, sin embargo su importancia aún no está bien definida.

Objetivos. Analizar las diferencias en las determinaciones de PTH, calcio, fósforo y 25 (OH) vitamina D en el suero de los pacientes con carcinoma prostático con y sin metástasis óseas.

Material y métodos. Estudio descriptivo retrospectivo de 60 pacientes diagnosticados de cáncer de próstata mediante PSA, tacto rectal y/o biopsia. En todos los casos se hicieron determinaciones en suero de PTH, calcio, fósforo, 25 (OH) vitamina D así como PSA. Se les realizó también una gammagrafía ósea para determinar el grado de extensión tumoral. El programa estadístico utilizado para el contraste de datos fue el SPSS versión 15.

Resultados. De los pacientes estudiados el 73,3% no presentaban metástasis óseas, con una edad media de 70,3 años, frente a un 26,7% que las presentaban y cuya edad media era de 72,5 años. Los resultados analíticos se resumen en la tabla.

Los pacientes con cáncer de próstata y metástasis óseas presentaron niveles de PTH superiores a los no metastásicos de forma estadísticamente significativa (p=0,03). Los niveles de vitamina D también fueron significativamente menores en este grupo (p=0,05). No se apreciaron diferencias de interés en el resto de los valores. Se aplicó test de correlación de Pearson en busca de relaciones entre las variables. Encontramos una relación inversa en los pacientes sin metástasis, al aumentar el PSA disminuye el valor de vitamina D (p=0,02). Dentro del grupo de pacientes con metástasis se han analizado los resultados según presentaran foco metastásico único o múltiple en la gammagrafía, sin embargo no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Conclusión. Los niveles de PTH están elevados en los pacientes con cáncer de próstata avanzado, posiblemente en relación con hiperparatiroidismo secundario a la neoformación ósea, lo que podría implicar valores pronósticos en cuanto a la evolución de la enfermedad.

Palabras clave: hiperparatiroidismo, cáncer de próstata.

Tabla 1.

	Sí metástasis	No metástasis
Calcio	9,19 mg/dl	9,39 mg/dl
Fósforo	3,47 mg/dl	3,38 mg/dl
Vit D	13,85 ng/ml	20,5 ng/ml
PTH	66,8 pg/ml	52,23 pg/ml
PSA	101,27 ng/ml	2,52 ng/ml

31

ÁCIDO ZOLEDRÓNICO EN OSTEOPOROSIS. EXPERIENCIA CLÍNICA DE 5 AÑOS

M. Ciria^a, L. Pérez-Edo^b, J. Blanc^c, I. Padró^d, M. J. Robles^e, A. Díez-Pérez^f y P. Benito^g

^aReumatología, ^bMedicina Interna, Hospital del Mar, Barcelona.

El ácido zoledrónico ha sido autorizado recientemente para su utilización en mujeres con osteoporosis posmenopáusia. Anteriormente, había sido autorizado como tratamiento de la enfermedad de Paget. Varios estudios avalan su efectividad anti-fractura, pero diversos aspectos de seguridad están en discusión.

Objetivo. Presentar la experiencia de nuestro Servicio en la utilización de zoledronato por vía intravenosa (iv) para pacientes osteoporóticos.

Material y métodos. Se incluyen en el análisis los pacientes que han recibido al menos una dosificación de zoledronato iv. Todos ellos recibieron este fármaco por osteoporosis, como medicación de uso compasivo, previa firma de consentimiento informado, tras fracaso terapéutico de diferentes fármacos indicados. Se recogen datos de efectividad, tanto en niveles de marcadores de remodelado óseo (fosfatasa alcalina ósea [FAO] y n-telopéptidos en orina de 2ª hora [NTX]), como densitométricos (columna lumbar y cuello femoral). Asimismo, se recogen los efectos secundarios comunicados por los pacientes, en las visitas de control.

Resultados. Se han incluido en el estudio 305 pacientes que recibieron zoledronato iv desde 2003 hasta la actualidad, con la indicación de osteoporosis. El 75% fueron mujeres. El porcentaje de osteoporosis secundaria fue elevado (70%). La edad fue de 69±11 años. Todos ellos recibieron, previamente, al menos dos fármacos antiresortores (bisfosfonatos orales, raloxifeno, calcitonina), u otros fármacos (ranelato de estroncio, fluoruro sódico), presentando mala evolución clínica o intolerancia.

En total, se han realizado 612 administraciones del fármaco. Veintiséis pacientes han recibido cuatro perfusiones hasta el momento. Los valores basales de FAO fueron de 14,2±8, y de NTX de 50±28. La DMO en columna lumbar fue de 0,757±0,134, y en cuello femoral total fue de 0,679±0,129.

Los valores de FAO y de NTX disminuyeron significativamente tras la primera administración de zoledronato (35% y 50%, respectivamente). La densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar aumentó significativamente el primer año un 3,4% (siguientes años sin datos valorables), y en cuello femoral en dos años un 3,4%.

Los efectos secundarios comunicados, tras 612 dosis de zoledronato, fueron artromialgias: 4,11%, hipertensión arterial durante la administración: 0,5%, uveítis: 0,33%. No se comunicaron arritmias cardíacas ni osteonecrosis.

Conclusiones. El zoledronato iv, en nuestra experiencia, se ha mostrado como un fármaco efectivo para disminuir el remodelado óseo y aumentar la DMO de pacientes con osteoporosis tras varios fracasos terapéuticos. Asimismo, se ha mostrado como un fármaco seguro, en nuestra experiencia.

Palabras clave: osteoporosis, tratamiento.

32

EFFECTO DEL ÁCIDO ZOLEDRÓNICO SOBRE LOS MARCADORES DEL REMODELADO ÓSEO EN LA ENFERMEDAD DE PAGET

R. Serrano Morales, J. Espinoza Pineda, M. Andrade y M. Díaz Curriel
Servicio de Medicina Interna/Enfermedades Metabólicas Óseas. Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

Introducción. Los bisfosfonatos han representado un importante avance en el tratamiento de la enfermedad de Paget, aunque se necesitan agentes más potentes y sobre todo más convenientes para mejorar la respuesta terapéutica de estos fármacos y la adherencia a los mismos. El ácido zoledrónico, bisfosfonato que se administra en una única dosis por vía intravenosa (iv), puede satisfacer estas necesidades.

Material y métodos. Hemos tratado 15 pacientes (7 varones y 8 mujeres) diagnosticados de enfermedad de Paget mediante métodos tradicionales (gammagrafía ósea más datos bioquímicos) con ácido zoledrónico 5 mg en una sola infusión iv. La edad media de los pacientes era de 76,8 (rango de 61-91 años). Cuatro pacientes (27%) presentaban una forma monostótica y 11 pacientes (73%) correspondían a forma poliostótica.

Se determinaron basalmente, a los 6 meses y a los 12 meses, mediante autoanálizador, las cifras de creatinina, fosfatasa alcalina (FA) (modular Roche DDPP), péptido aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP) (ELISA) como marcadores de formación y el telopéptido carboxi-terminal del colágeno tipo I (CTX) (ELISA) como marcador de reabsorción.

Resultados. Todos los pacientes al inicio tenían cifras elevadas de FA (media: 224,7 UI/l, normal hasta 129 UI/l) y de PINP (media: 169,2 µg/l, normal hasta 62 µg/l). Trece de los 15 pacientes tenían valores elevados de CTX (media: 0,895 ng/ml, normal hasta 0,548 ng/ml).

La respuesta a los 6 meses, tras la infusión de ácido zoledrónico, fue de normalización de las cifras de FA, PINP y CTX en todos los pacientes, con una disminución de la FA del 68,6%, del CTX del 77,8% y del PINP del 87,6%.

La respuesta a los 12 meses fue muy similar, manteniendo la normalidad de estos parámetros el 100% de nuestros pacientes. La reducción de la FA fue del 66,7%, del CTX del 70,3% y del PINP del 80%.

Todos los pacientes tuvieron una respuesta clínica aceptable sin efectos secundarios llamativos, ni con otras alteraciones bioquímicas destacables excepto un paciente que desarrolló hipocalcemia tras la infusión.

Conclusiones. El ácido zoledrónico en infusión única consigue una excelente respuesta bioquímica a los 6 meses, logrando normalizar las cifras elevadas de los marcadores del remodelado óseo, normalización que se mantiene a los 12 meses. El PINP es el marcador que mejor responde a la administración de este compuesto y puede servir como marcador destacado en el diagnóstico y seguimiento del tratamiento de la enfermedad de Paget.

Palabras clave: enfermedad de Paget, ácido zoledrónico.

OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES (ONM) EN RELACIÓN CON LA ADMINISTRACIÓN DE BISFOSFONATOS

M. Angelina^a, R. Arsuaga^a, D. Martínez^b, R. Serrano^a y M. Díaz Curiel^b

^aServicio de Medicina Interna. ^bServicio de Cirugía Máxilo-Facial. Fundación Jiménez Díaz. Cátedra de Enfermedades Metabólicas Óseas. Universidad Autónoma. Madrid.

Introducción. La osteonecrosis de los maxilares (ONM) es una forma particular de osteomielitis crónica, muchas de ellas asociadas al tratamiento con radioterapia. Recientemente se ha descrito una nueva forma de ONM que afecta principalmente a pacientes, usualmente con cáncer, que habían recibido tratamiento con bisfosfonatos (BF). La incidencia de esta complicación varía entre el 3 y el 11% de los pacientes oncológicos tratados con BF intravenoso (iv).

En España no son muchos los casos publicados (alrededor de 40 casos). Reportamos los enfermos diagnosticados de ONM en nuestro Hospital, analizados en un estudio retrospectivo de los últimos años, y que habían recibido BF para su enfermedad de base.

Pacientes. Describimos 12 pacientes diagnosticados de ONM que habían recibido BF en alguna ocasión previa a su aparición.

Resultados. Nueve pacientes eran mujeres (75%) y 3 varones (25%). La edad media de los pacientes era de 66,8 años. Las patologías de base eran: 9 neoplasias (6 cáncer (Ca) de mama, 1 Ca de próstata, 1 Ca de ovario y 1 Ca de vejiga), 4 mieloma múltiple y una enfermedad de Paget. Dos pacientes tenían simultáneamente dos procesos: 1 Ca de vejiga y mieloma y otro Ca de mama y mieloma. Diez de los pacientes habían recibido poliquimioterapia (PQT), incluyendo en 9 de ellos la toma de esteroides. Siete pacientes recibieron a su vez radioterapia (RT) y uno de ellos recibió RT y esteroides dentro de su terapia anticancerígena.

Cuatro pacientes padecían hipertensión arterial, uno hipotiroidismo y dos fractura por fragilidad. La enferma con Paget padecía a su vez diabetes mellitus en tratamiento con antidiabéticos orales.

A 9 pacientes se les había realizado algún tipo de intervención en la cavidad bucal previa a la aparición de la ONM (4 implantes, 3 extracciones, y 4 empastes). Dos de ellos tenían más de una intervención.

La mayoría de los pacientes (11) habían recibido ácido zoledrónico iv antes de la aparición de su ONM, aunque 7 de ellos habían recibido previamente otros BF (4 clodronato iv, 3 pamidronato iv y 1 risedronato oral). Uno de ellos había recibido dos fármacos (clodronato y pamidronato). La paciente diagnosticada de enfermedad de Paget sólo había recibido tiludronato vía oral antes de la aparición de ONM.

La ONM evolucionó de manera desfavorable en un 58% de los pacientes y en un 42% las lesiones se mantuvieron estables, no habiendo ningún caso en el que mejoraran.

Conclusión. En nuestra experiencia, la ONM es una complicación que ocurre en pacientes la mayoría de ellos con patología maligna y que han recibido BF por vía iv. Solo en un caso, con enfermedad de Paget, se puede relacionar la ONM con la toma de BF oral.

Palabras clave: osteonecrosis de los maxilares, bisfosfonatos.