



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

Departamento: Ciencias de la Salud

Programa de acreditación:

PROINCE

Programa de Investigación:

Código del Proyecto: E- 017

Título del proyecto

Rol ejercido por la osteocalcina (OCN) en el control de la homeostasis de la glucosa. Diferencias por sexo. Efecto de la reducción del peso corporal.

PIDC:

Elija un elemento.

PII:

Elija un elemento.

Director:

Director externo: Zeni Susana Noemí

Codirector: Brito Graciela Mabel

Integrantes:

Pukas Silvia Virginia del Carmen

Watson Dana Zoe

Investigador Externo, Asesor- Especialista, Graduado UNLaM:

Oliveri María Beatriz

Bonanno Marina Soledad

Alumnos de grado: (Aclarar si tiene Beca UNLaM/CIN)

Delgadillo Andrea Analía (Beca CIN)

Alumnos de posgrado:

Resolución Rectoral de acreditación: Nro. 446/2019

Fecha de inicio: 1/1/2019

Fecha de finalización: 30/12/2020- Prórroga 31/12/2022



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

A. Desarrollo del proyecto (adjuntar el protocolo)

A.1. Grado de ejecución de los objetivos inicialmente planteados, modificaciones o ampliaciones u obstáculos encontrados para su realización (desarrolle en no más de dos (2) páginas)

Es de público conocimiento que en marzo de 2020 se decretó la pandemia COVID-19. La pandemia imposibilitó el reclutamiento de nuevos pacientes sanos. En Abril de 2022 el Hospital de Clínicas “José de San Martín”, donde realizamos los reclutamientos, recién permitió el reclutamiento de personas voluntarios sanos a concurrir al Hospital. Esta situación, complico muchísimo la continuidad de los estudios, al no poder incluir sujetos nuevos al estudio. Por lo que se decidió, que durante este periodo, se analizarían las muestras de 200 mujeres normoglucémicas con distintos grados de obesidad divididos según su índice de masa corporal (IMC) de las cuales ya contábamos con datos y muestras. A estas mujeres se les completaron determinaciones de rutina (colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos) para poder incluirlas en este estudio y poder comparar sus datos a los obtenidos previamente con los hombres.

Además del inconveniente descripto, se sumó que durante este periodo fue imposible importar reactivos para estudios no relacionados a COVID-19 y el alto precio de estos reactivos.

En este momento hemos adquirido los kits elisa correspondiente para poder realizar las determinaciones relacionadas al metabolismo óseo (osteocalcina total y osteocalcina no carboxilada). Asimismo, se ha escrito el artículo: “In the search for associations between bone and fat tissues in the control of glucose homeostasis: role of osteocalcin, bone resorption and leptin, in normoglycemic nondiabetic women”, que se envió para publicación al European Journal of Clinical Nutrition.

B. Principales resultados de la investigación

B.1. Publicaciones en revistas (informar cada producción por separado)

Artículo 1:	
Autores:	<i>Bonanno MS, Rey Saravia M, Seijo M, Zeni SN</i>
Título del artículo:	Rol de la osteocalcina más allá del hueso
N° de fascículo	2
N° de Volumen	15
Revista	Actualizaciones en Osteología
Año	2019
Institución editora de la revista	<i>Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral</i>
País de procedencia de institución editora	<i>Argentina</i>
Arbitraje	SI
ISSN:	1669-8983
URL de descarga del artículo	http://www.osteologia.org.ar/?s=ver_articulo&id=3091
N° DOI	



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

B.4. Trabajos presentados a congresos y/o seminarios

Autores	<i>Lugones C, Bonanno M, Brito GM, Watson DZ, Rey Saravia M, Zago L, Gonzalez Infantino JC, Zeni SN</i>
Título	<i>Body mass index effect on total and undercarboxylated osteocalcin in normoglycemic adult men</i>
Año	2019
Evento	<i>46Th. European Calcified Tissue Society Congress (ECTS2019)</i>
Lugar de realización	<i>Budapest, Hungría</i>
Fecha de presentación de la ponencia	<i>11 a 14 de Mayo 2019</i>
Entidad que organiza	<i>European Calcified Tissue Society</i>
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://doi.org/10.1007/s00223-019-00541-0 <i>Publicado en: Calcif Tissue Int 104: S1-151 (Abstract 156).</i>

Autores	<i>Bonanno MS, Brito GM, Watson DZ, Rey Saravia M, Zago L, González Infantino JC, Oliveri MB, Zeni SN</i>
Título	<i>Efecto del índice de masa corporal sobre los valores de osteocalcina total y subcarboxilada en hombres adultos normoglicémicos resumen</i>
Año	2019
Evento	<i>XXXVI Reunión Anual de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.</i>
Lugar de realización	<i>Buenos Aires, Argentina</i>
Fecha de presentación de la ponencia	<i>30 de Octubre al 1 de Noviembre de 2019</i>
Entidad que organiza	<i>Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral</i>
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	http://www.osteologia.org.ar/?s=ver_articulo&id=3087&t=Comunicaciones%20libres#detalle <i>Publicado en Actualizaciones en Osteología VOL. 15 - Nº 2 : pag134-135, 2019- CL N°24</i>

Autores	<i>Zeni SN</i>
Título	<i>Conferencia: osteocalcina más allá del hueso</i>
Año	2020
Evento	<i>3er CONGRESO ARGENTINO DE OSTEOLOGIA 2020</i>
Lugar de realización	<i>Online</i>
Fecha de presentación de la ponencia	<i>Jueves 26 de noviembre 2020</i>
Entidad que organiza	<i>AAOMM</i>



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://osteologia.org.ar/files/pdf/rid65_programa-cientifico.pdf

Autores	<i>Bonanno MS, Brito G, Watson D, Zago L, González Infantino CA, Zeni SN</i>
Título	Comparative body mass index effect on total and under-carboxylated osteocalcina between normogluceemic premenopausal women and men
Año	2020
Evento	ECTS Congress 2020 47th European Calcified Tissue Society Congress
Lugar de realización	Digital Congress
Fecha de presentación de la ponencia	22 - 24 October 2020
Entidad que organiza	European Calcified Tissue Society
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	Publicado: https://www.ects2020.org/wp-content/uploads/2020/10/Abstracts-of-the-ECTS-Congress-2020_highres.pdf

Autores	<i>Bonanno MS, Brito G, Watson D, Zago L, González Infantino CA, Zeni SN</i>
Título	Efecto comparativo del índice de masa corporal sobre la osteocalcina total y decarboxilada entre hombres mujeres premenopáusicas normoglucémicos
Año	2021
Evento	IV Jornadas de Investigadores en Formación en CyT. Departamento de Ciencia y Tecnología
Lugar de realización	<i>Evento Online</i>
Fecha de presentación de la ponencia	25, 26 y 27 de marzo
Entidad que organiza	Universidad Nacional de Quilmes
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://drive.google.com/file/d/1Qfk-_AeoBQeJXqSst8u07r5D2heH_TCI/view

Autores	Coordinadora: Dra. Susana Zeni
Título	<i>CONFERENCIA Cross talk between adipose tissue, muscles and bone. Dr. Gerard Karsenty (USA)</i>
Año	2021
Evento	4º CONGRESO ARGENTINO DE OSTEOLOGIA 2021
Lugar de realización	Online
Fecha de presentación de la ponencia	27 de octubre 2021



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

Entidad que organiza	AAOMM
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://osteologia.org.ar//files/pdf/rid70_programa-cient-fico.pdf

Autores	Bonanno MS; Brito G; Watson D; Zeni Coronel EM; Zago L; González Infantino C; Zeni SN.
Título	<i>Efecto del síndrome metabólico sobre los valores de osteocalcina (OCN) total y subcarboxilada en mujeres adultas normoglucémicas.</i>
Año	2021
Evento	4º CONGRESO ARGENTINO DE OSTEOLOGIA 2021
Lugar de realización	Online
Fecha de presentación de la ponencia	26-29 de octubre 2021
Entidad que organiza	AAOMM
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://osteologia.org.ar//files/pdf/rid70_comunicaciones-libres.pdf

Autores	Bonanno MS; Brito G; Watson D; Zeni Coronel EM; Zago L; González Infantino C; Zeni SN.
Título	<i>Total and undercarboxylated osteocalcin (OCN) in non-diabetic women having or not metabolic syndrome (MS).</i>
Año	2021
Evento	Reunión conjunta SAIC-SAI-AAFE-NANOMED
Lugar de realización	Online
Fecha de presentación de la ponencia	27-20 de noviembre 2021
Entidad que organiza	SAIC
URL de descarga del trabajo (especificar solo si es la descarga del trabajo; formatos pdf, e-pub, etc.)	https://www.reunionbiociencias.com.ar/ Medicina (Buenos Aires), 2021;81:162

B.5. Otras publicaciones

Autores	Marotte C, Bonanno MS, Zeni Coronel M, Avendaño ME, Pita Martín de Portela ML, Zeni SN
Año	2019
Título	Calcium Intake is Associated to Changes in the Interplay between Bone, Pancreas and Fat Tissue in the Control of Glucose Homeostasis- Experimental Study.
Medio de Publicación	Austin J Nutr Metabol 6 (1): 1-8 id 1063, 2019



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

C. Otros resultados. Indicar aquellos resultados pasibles de ser protegidos a través de instrumentos de propiedad intelectual, como patentes, derechos de autor, derechos de obtentor, etc. y desarrollos que no pueden ser protegidos por instrumentos de propiedad intelectual, como las tecnologías organizacionales y otros. Complete un cuadro por cada uno de estos dos tipos de productos.

C.1. Títulos de propiedad intelectual. Indicar: Tipo (marcas, patentes, modelos y diseños, la transferencia tecnológica) de desarrollo o producto, Titular, Fecha de solicitud, Fecha de otorgamiento

Tipo	Titular	Fecha de Solicitud	Fecha de Emisión

C.2. Otros desarrollos no pasibles de ser protegidos por títulos de propiedad intelectual. Indicar: Producto y Descripción.

Producto	Descripción

D. Formación de recursos humanos. Trabajos finales de graduación, tesis de grado y posgrado. Completar un cuadro por cada uno de los trabajos generados en el marco del proyecto.

Fue presentada en la convocatoria Becas CIN para estudiantes Alumnos la estudiante de la Lic. en Nutrición de la UNLaM Delgadillo Andrea. La postulación fue aprobada por el periodo julio 2020- julio 2021

D.1. Tesis de grado

Director (apellido y nombre)	Autor (apellido y nombre)	Institución	Calificación	Fecha /En curso	Título de la tesis

D.2 Trabajo Final de Especialización

Director (apellido y nombre)	Autor (apellido y nombre)	Institución	Calificación	Fecha /En curso	Título del Trabajo Final

D.2. Tesis de posgrado: Maestría

Director (apellido y nombre)	Tesista (apellido y nombre)	Institución	Calificación	Fecha /En curso	Título de la tesis



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLAM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

D.3. Tesis de posgrado: Doctorado

Director (apellido y nombre)	Tesista (apellido y nombre)	Institución	Calificación	Fecha /En curso	Título de la tesis
Zeni, Susana	Bonanno, Marina	UNQ		Ingreso: 2019	Osteocalcina como hormona de origen óseo en el hombre.

D.4. Trabajos de Posdoctorado

Director (apellido y nombre)	Posdoctorando (apellido y nombre)	Institución	Calificación	Fecha /En curso	Título del trabajo	Publicación

E. Otros recursos humanos en formación: estudiantes/ investigadores (grado/posgrado/ posdoctorado)

Apellido y nombre del Recurso Humano	Tipo	Institución	Período (desde/hasta)	Actividad asignada ¹
Delgadillo Andrea Analía	Beca CIN	Universidad Nacional de la Matanza 2022	07/2020-07/2021	Debido a la pandemia se realizaron actividades de formación en análisis de bases de datos simuladas, formación en el uso de SPSS y taller de escritura científica

F. Vinculación²: Indicar conformación de redes, intercambio científico, etc. con otros grupos de investigación; con el ámbito productivo o con entidades públicas. Desarrolle en no más de dos (2) páginas.

El presente proyecto posibilita el intercambio entre profesionales que forman parte del Laboratorio de Osteopatías Metabólicas del Hospital de Clínicas (INIGEM-UBA/CONICET) y docentes de la Lic. en Nutrición, Departamento de Ciencias de La Salud, UNLAM lo que estimula la formación de equipos de investigación en la Universidad y permite generar vínculos que retroalimentan y potencian el crecimiento de los integrantes de ambas instituciones.

G. Otra información. Incluir toda otra información que se considere pertinente.

Los resultados obtenidos en hombres están siendo escritos para una futura publicación de los mismos.

H. Cuerpo de anexos:

- Anexo I: Copia de cada uno de los trabajos mencionados en los puntos B, C y D, y certificaciones cuando corresponda.³

¹ Descripción de la/s actividad/es a cargo (máximo 30 palabras)

² Entendemos por acciones de “vinculación” aquellas que tienen por objetivo dar respuesta a problemas, generando la creación de productos o servicios innovadores y confeccionados “a medida” de sus contrapartes.

³ En caso de libros, podrá presentarse una fotocopia de la primera hoja significativa o su equivalente y el índice.



Código	FPI-009
Objeto	Guía de elaboración de Informe de avance de proyecto
Usuario	Director de proyecto de investigación
Autor	Secretaría de Ciencia y Tecnología de la UNLaM
Versión	5
Vigencia	03/9/2019

- Anexo II:
 - FPI-013: Evaluación de alumnos integrantes. (si corresponde)
 - FPI-014: Comprobante de liquidación y rendición de viáticos. (si corresponde)
 - FPI-015: Rendición de gastos del proyecto de investigación acompañado de las hojas foliadas con los comprobantes de gastos.
 - FPI-035: Formulario de reasignación de fondos en Presupuesto.

Prof. Dra. Zeni Susana Noemí
Investigadora Principal del CONICET
Laboratorio de Osteopatías Metabólicas-INIGEM-CONICET-UBA
Hospital de Clínicas

Firma y aclaración
del director del proyecto.

Lugar y fecha: CABA, 18 de Abril de 2022

significantly lower. Physical fitness and activity status showed that sit and reach and sit up were significantly lower in obese group. The intake of carbohydrates was higher in the obese group than in the normal group, and the intake of vitamin C and vitamin D was significantly lower. Factors affecting serum vitamin D were analyzed as percent body fat, bone mineral density, triglyceride, and carbohydrate intake.

Conclusions: Regular activities, balanced nutrition, and weight management are important for normal maintenance of vitamin D level in young adult women.

Keywords: vitamin D, bone mineral density, obesity, nutrition, young women

P156

Body mass index effect on total and undercarboxylated osteocalcin in normoglycemic adult men

Carlos Lugones¹, Marina Soledad Bonanno¹, Graciela M Brito², Dana Watson², Mariana Rey Saravia¹, Liliana Zago³, Carlos Alfredo Gonzalez Infantino⁴, Susana Noemi Zeni¹

¹*Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas, Caba, Argentina,*

²*Departamento de Nutrición de la Universidad Nacional de La Matanza, La Matanza, Argentina,* ³*Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Caba, Argentina,*

⁴*Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina, Caba, Argentina*

Obesity and osteoporosis, two of the main common chronic diseases are interconnected. Regarding, both pathologies come from the deregulation of a common mesenchymal precursor. Moreover, bone through osteocalcin (OCN) and fat tissue through leptin appear to contribute to glucose homeostasis. The objective of this study was to evaluate the effect of BMI on serum levels of total OCN and undercarboxylated OCN (ucOCN), in non-diabetic overweight and obese adult men who were divided according to quartiles of BMI (range 29.0 to 47 kg/m²). We determined ucOCN, OCN, leptin and insulin, in 54 adult non-diabetic men, having normal levels of glucose (80 to 110 mg/dL) and hemoglobin A1c (HbA1c < 5.7%). The presence of overweight (OW) or obesity (OB) types I, II or III degree was determined according to BMI index. Glucose, HbA1c levels were measured by standard laboratory methods; OCN (ng/mL), ucOCN (ng/mL), leptin (ng/mL), insulin (uUI/L) levels by ELISA and 25hydroxyvitamin D (25OHD) (ng/mL) levels by a competitive protein-binding method.

Results: The results (mean ± SD) are summarized in Table 1.

	Glucose	ucOCN	OCN	CTX	25OHD	Leptin	Insulin
Overweight	97 ± 9	3.98 ± 0.73	25.8 ± 15.4	355 ± 30	21.2 ± 2.4	21 ± 19	12.1 ± 3.2
T1 Obesity	99 ± 8	4.49 ± 1.09	18.8 ± 6.7	313 ± 101	20.7 ± 6.9	19 ± 11	12.4 ± 4.1
T2 Obesity	102 ± 7	4.81 ± 1.22	15.3 ± 4.2	318 ± 54	22.3 ± 7.9	27 ± 11	24.2 ± 8.8
T3 Obesity	106 ± 3	4.31 ± 0.59	8.3 ± 4.1	344 ± 8	16.8 ± 2.8	41 ± 22	23.4 ± 4.1

There was an increase in ucOCN and a decrease in CTX levels between OW and the three types of OB ($P < 0.01$). OCN levels decreased and Leptin increased with the increase in BMI ($p < 0.01$). Insulin increased in OBII and OBIII vs. OW and OBTI ($p < 0.05$). The lowest 25OHD levels were observed in TIII obesity.

Conclusions: The present results suggested that BMI through leptin affects OCN concentration, which in turn influences insulin levels and glucose homeostasis.

P157

Association between global cardiac calcification (GCCS) and osteoporosis

Stefano Gonnelli¹, Paolo Carrai¹, Tommaso Picchioni¹, Mario Alessandri¹, Carla Caffarelli¹, Luigi Gennari¹, Ranuccio Nuti¹

¹*Department of Medicine, Surgery and Neurosciences, University of Siena, Siena, Italy*

Epidemiologic and clinical data have suggested the existence of a biologic linkage between bone and vascular system. Osteoporosis and atherosclerosis are two prevalent major healthcare concerns that frequently coexist. Several studies reported correlation between lower values of Bone Mineral Density (BMD) and cardiovascular events. Furthermore literature suggests that cardiac calcification (measured with Global Cardiac Calcium Score, GCCS) is associated with cardiovascular events and mortality.

This study aimed to evaluate if cardiac calcium deposit was correlated with BMD.

In 36 subjects assessed for bone fracture risk (mean age 72 ± 5,7 years) we measured Bone Mineral Density (BMD) at lumbar spine (BMD-LS) at femur (Neck: BMD-FN; Total: BMD-FT) and we assessed with echocardiography a global cardiac calcium score (GCCS).

GCCS is a semi-quantitative score, that was applied assigning points for calcification in the aortic root and valve, mitral annulus and valve and sub-mitral apparatus, and points for restricted leaflets mobility.

The results show that there is a significant inverse correlation between BMD-FN and BMD-FT with GCCS ($r = -0,285$, $p < 0,05$ and $r = -0,376$, $p < 0,05$ respectively). No significant correlation was found between BMD-LS and GCCS. Dividing patients into two groups based on presence of bone fragility fractures we observed that the value of GCCS was higher in patients with bone fragility fractures (2,54 ± 1,3 vs 2,30 ± 1,5) but not statistically significant. Moreover, dividing patients on the basis of presence of sarcopenia we found that the values of GCCS was higher in patients with sarcopenia (3,0 ± 1,4 vs 2,1 ± 1,4) even though the difference didn't reach statistical significance.

Our data suggest link between osteoporosis and cardiac calcification. The burden of cardiac calcium seems to be higher in patients with fragility fractures. These findings confirm that osteoporotic patients have an higher risk of cardiac and vascular calcification and this confirm the greater risk of cardiovascular events in osteoporotic patients.

P159

Cardio-metabolic health and bone mineral density in postmenopausal women: a Korean population-based study

Hoon Kim¹, Seung-Yup Ku¹, Chang Suk Suh¹, Seok Hyun Kim¹, Young Min Choi¹, Jung Gu Kim¹

¹*Department of Obstetrics and Gynecology, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea, Republic of*



2,4 en relación con la población en general. En este contexto, es de interés investigar si hay coincidencia en el tipo de ambas fracturas (cervical o transtrocanterica), pues podría sugerir dos mecanismos básicos en la etiología de las mismas. En el caso de no ser coincidentes podría interpretarse que, en el contexto de la predisposición a la fractura de cadera, esta ocurre en forma aleatoria en el tiempo (estocástica). Por el contrario, una coincidencia estadísticamente significativa indicaría que, además de la predisposición general, la competencia mecánica de la cadera o la configuración de la caída contribuirían a determinar el tipo de fractura. Objetivo: determinar la coincidencia o no del tipo de fractura, cervical (FC) o transtrocanterica (FTT), en pacientes que sufrieron fractura de ambas caderas. Materiales y métodos: entre las pacientes mujeres con fractura de cadera atendidas en el servicio de Ortopedia y Traumatología del Hospital Alemán entre enero de 2015 y mayo de 2019, se identificaron 22 que tuvieron previamente una fractura de cadera contralateral. En 18 casos se tuvo acceso a la imagen de la primera fractura. En los cuatro restantes se consideraron válidos el informe radiológico o los datos consignados en historia clínica. La evaluación de las imágenes y clasificación del tipo de fractura estuvo a cargo de 2 ortopedistas, especialistas en cirugía de cadera, de manera ciega. Hubo coincidencia en el 100% de las 110 imágenes evaluadas. Estadística: se calculó la proporción de fracturas coincidentes en su tipo y su intervalo de confianza (para una sola proporción). Además se determinó la mediana del intervalo entre ambas fracturas en meses. Resultados: 18 de 22 pacientes incurrieron en el mismo tipo de fractura que en la primera; proporción $p=0,812$, IC (95%): 0,657-0,979, $p=0,0014$ (estadística z, rechaza la hipótesis de nulidad de proporción = 0,5). Nueve pacientes sufrieron la secuencia FTT/FTT, 9 pacientes la secuencia FC/FC, 2 pacientes la secuencia FTT/FC y 2 pacientes la secuencia FC/FTT. La mediana del intervalo entre fracturas fue 19,5 meses (rango: 3-118 meses). La mediana de edad de la primera fractura fue 83,5 años (rango: 68-91 años) y la mediana de edad de la segunda fractura fue 87 años (rango: 73-95 años). No hubo diferencias en la edad de las distintas secuencias de fractura. Conclusión: los pacientes que sufren dos fracturas de cadera tienden a repetir el tipo de la misma, lo que significa que no se producen en forma estocástica. Esto sugeriría que presentan ciertas características predisponentes para la repetición del tipo de fractura, relacionadas con la competencia mecánica de la cadera o la configuración de la caída.

CL24. Efecto del índice de masa corporal sobre los valores de osteocalcina total y subcarboxilada en hombres adultos normoglucémicos

Bonanno MS,¹ Brito GM,² Watson DZ,² Rey Saravia M,¹ Zago L,³ González Infantino JC,⁴ Oliveri MB,¹ Zeni SN¹
1. Laboratorio Osteopatías Metabólicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CO-NICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Hospital de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires. 2. Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de La Matanza (UNLAM), Buenos Aires. 3. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. 4. Facultad de Medicina, UBA. Buenos Aires. Argentina.

Obesidad y osteoporosis son dos enfermedades crónicas ampliamente distribuidas que se encuentran interconectadas, ya que provienen de la desregulación de un precursor mesenquimal común. Ambas afectan la homeostasis de la glucosa dependiente de insulina, a través de osteocalcina (OCN) y leptina, mediante distintos mecanismos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia del índice de masa corporal (IMC) sobre los niveles de OCN total (OCNt) y OCN subcarboxilada (OCNsc) en hombres adultos no diabéticos con sobrepeso y distintos grados de obesidad. Se incluyeron 33 hombres adultos no diabéticos con niveles normales de glucosa (80 a 110 mg/dl) y de hemoglobina A1c (HbA1c <5,7%), determinados por métodos de laboratorio habituales. Los hombres se dividieron según el IMC (29,6 a 49,4 kg/m²) en: sobrepeso (SP) y obesidad (OB) tipo(T) I, II o III. Los niveles de OCNt (ng/ml), OCNsc (ng/ml), leptina (ng/ml), insulina (μ U/l) y CTX (ng/ml) fueron analizados por ELISA y los de 25 hidroxivitamina D (25OHD)

(ng/ml) por ensayo de competición proteica. Resultados (SP, OB TI, OB TII, OB TIII, respectivamente) (media±DE) letras diferentes indican diferencias significativas. Como se esperaba, los niveles séricos de leptina (21±19c, 19±11c, 27±11b, 41±22a) se incrementaron con el aumento del IMC (p<0,01). La insulina (12,10±3,20b; 12,40±4,10b; 24,20±8,80a; 23,40±4,10a) fue mayor en OBTII y OBTIII respecto de SP y OBTI (p<0,05). Dicho aumento fue acompañado por una tendencia al aumento en los niveles de glucemia, sugiriendo resistencia a la insulina, confirmada por el aumento en el HOMA-IR (datos no mostrados). Los niveles de OCNt (25,8±15,40a; 18,80±6,70b; 15,30±4,20c; 8,30±4,10d) disminuyeron con el aumento en el IMC. La OCNsc (3,98±0,73b; 4,49±1,09a; 4,81±1,22a; 4,31±0,59a) fue menor en SP que en obesos OB (p<0,01). Este resultado podría interpretarse en forma similar a la leptina como presencia de resistencia a la OCNsc. El CTX (355±30a; 313±101b; 318±54b; 344±8b) fue mayor en SP respecto de obesidad (p<0,01), sin encontrar diferencias en el CTX entre los tres grados de obesidad. Los menores niveles de 25OHD (21,20±2,40a; 20,70±6,80a; 22,30±7,90a; 16,80±2,80b) se observaron en la OBTIII, mientras que los tres grupos restantes no presentaron diferencias entre ellos. Conclusión: aunque los estudios deberán ampliarse para llegar a una conclusión definitiva, los resultados del presente estudio evidencian la influencia negativa del IMC sobre el remodelado óseo (OCNt y CTX), lo cual contribuiría a una alteración en la homeostasis de la glucosa ejercida por factores proteicos sintetizados por las células formadoras del tejido óseo (OCNsc), liberadas durante el proceso de resorción. Parcialmente financiado por los UBACyTs 20720130100006BA y 20020170100011BA; PROINCE E006UNLAM.

CL25. Tratamiento crónico de hipercalcemia producida por granulomas inducidos por metacrilato

Vera ME,¹ Diehl M,¹ Varela CF,² Plantalech LC¹

1. *Servicios de Endocrinología Metabolismo y Medicina Nuclear.* 2. *Servicios de Nefrología. Hospital Italiano de Buenos Aires.*

Las enfermedades granulomatosas pueden producir hipercalcemia mediada por 1,25(OH)₂-vitamina D por aumento de la actividad de 1α-hidroxilasa, asociada en algunos casos a hipercalcemia, litiasis, nefrocalcinosis e insuficiencia renal. En los últimos años se han reportado granulomatosis por reacción a cuerpo extraño luego del uso de metacrilato con fines estéticos. El glucocorticoide es la terapia de primera línea, ya que inhibe la actividad de las células mononucleares, modula citoquinas inflamatorias e inhibe la 1α-hidroxilasa. Los fármacos antirresortivos son parte del tratamiento habitual de la hipercalcemia. Otras opciones terapéuticas propuestas son la hidroxycloquina, el ketoconazol y los anticuerpos anti TNF-alfa. El objetivo de esta presentación es comunicar el tratamiento a largo plazo de una paciente con granulomas inducidos por metacrilato e hipercalcemia de difícil manejo. Caso clínico: mujer de 43 años que consulta en 2014 por hipercalcemia, litiasis e insuficiencia renal. Presenta como antecedente la colocación de metacrilato en miembros inferiores con fines estéticos. El laboratorio objetiva: calcemia 13 mg/dl (VR 8,5-10,5), fosfatemia 3,5 mg/dl (VR 2,5-4,5), creatinina 2,58 mg/dl (VR 0,5-1,20), fosfatasa alcalina 63 UI/l (VR 31-100), CTX 2,75 ng/ml (VR hasta 0,573), PTH <3 pg/ml (VR 8,7-77,1), 25OH-vitamina D 18,8 ng/ml (VR >30), 1,25(OH)₂-vitamina D 180 pg/ml (VR 18-60). El PET-CT muestra imágenes nodulares hipermetabólicas en ambos glúteos y muslos. Se realiza biopsia renal con hallazgo de nefrocalcinosis y necrosis tubular aguda y de la región glútea que evidencia reacción granulomatosa de tipo cuerpo extraño. Se diagnostica hipercalcemia asociada a granulomas posaplicación de metacrilato. Requiere por esta causa múltiples internaciones por hipercalcemia. Recibe tratamiento con hidratación, corticoterapia, bifosfonatos (ibandronato e.v.) e hidroxycloquina, que se suspende por intolerancia. Se inicia tratamiento con ketoconazol 400 mg/día, meprednisona 6 mg/día y alendronato 70 mg/semanal con descenso de la calcemia (9,6 mg/dl) y mejoría de la función renal (creatinina a 1,49 mg/dl). Continúa en la actualidad normocalcémica con este esquema

P167**Comparative body mass index effect on total and undercarboxylated osteocalcin between normoglycemic premenopausal women and men**

Marina Soledad Bonanno^a, Graciela Brito^b, Dana Watson^b, Lilitana Zago^c, Carlos Alfredo Gonzalez Infantino^d, Susana Noemí Zeni^a
^aMetabolic Bone Disease Laboratory, INIGEM (UBA/CONICET), Buenos Aires, Argentina

^bNutrition Department, University of La Matanza (UNLaM), La Matanza, Argentina

^cNutrition Department, Biochemistry and Pharmacology School, University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^dNutrition Department, Medical School, University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

We found that body mass index (BMI) through leptin affected osteocalcin (OCN), which in turn influences insulin and glucose homeostasis in men. Now we evaluated such effect in 35 premenopausal women (PMW) comparing the results obtained in these 45 men. All subjects were non-diabetic having normal glucose (80 to 110 mg/dL) and HbA1c (< 5.7%) and were divided according to BMI index in overweight (OW) or type I, II, III obesity (OB) degree. Glucose, HbA1c were measured by standard methods; undercarboxylated OCN (ucOCN) (ng/mL), total OCN (ng/mL), leptin (ng/mL), insulin (uIU/L) and CTX (ng/L) by ELISA, and 25hydroxyvitaminD (25OHD) (ng/mL) by a competitive protein-binding method.

Results: The results (mean ± SD) are summarized in Table 1.

In both genders, ucOCN increased and OCN decreased with BMI increase ($P < 0.01$) although with some differences by sex: in women OB TIII vs. the remaining groups ($P < 0.01$); men; ucOCN in OW vs. the three OB types and OCN from OW to OB TIII ($p < 0.01$). In both genders, leptin increased with BMI increase ($p < 0.01$) while insulin increased in OB TII and OB TIII vs. OW and OB TI ($p < 0.05$); and the lowest 25OHD was observed in OB TIII.

Conclusions: The results suggested that BMI effect on ucOCN and OCN present some differences between women and men; although in both genders OCN changes appears to influence insulin levels and glucose homeostasis.

Supported by CONICET/UBA and PROINCE E006 grant of UnLaM.

Table 1

	Glucose	ucOCN	OCN	CTX
OW: M PMW	97.0± 9.0 82.0±6.0	3.9±0.7 1.9±1.4	25.8±15.4 36.1±4 3.8	355±30 160±49
OB TI: M PMW	99.0±8.0 93.0±7.0	4.5±1.1 1.9±1.1	18.8±6.7 35.9±2.7	313±101 294±143
OB TII: M PMW	102 ± 7 91.0±.09	4.8±1.2 2.4±1.8	15.3±4.2 33.9±11.4	318±54 319±150
OB TIII: M PMW	106.0±3.0 95.0±11.0	4.3±0.6 4.0±0.8	8.3±4.1 17.9±6.5	344±8 291±145
	25OHD	Leptin	Insulin	
OW: M PMW	21.2±2.4 22.5±2.8	21.0±19.0 9.8±2.5	12.1±3.2 8.0±3.0	
OB TI: M PMW	20.7±6.9 24.6±10.6	19.0±11.0 11.1±3.3	12.4±4.1 9.0±4.0	
OB TII: M PMW	22.3±7.9 20.6±4.1	27.0±11.0 17.8±4.3	24.2±8.8 12.0±2.0	
OB TIII: M PMW	16.8±2.8 19.9±13.9	41.0±22.0 43.7±8.8	23.4±4.1 16.0±6.0	

doi:10.1016/j.bonr.2020.100490

P168**The effectiveness of vitamin D supplementation in functional outcome and quality of life of lumbar spinal stenosis requiring surgery Sangbong Ko**

Orthopaedic Surgery, Daegu Catholic University Medical Center, Daegu, Republic of Korea

Study design: Retrospective cohort comparative study

Objective: To identify the prevalence of vitamin D deficiency in patients with lumbar spinal stenosis (LSS) requiring surgery, and to compare the differences between the cases whether vitamin D is supplemented and vitamin D is not supplemented in terms of a quality of life during postoperative two year.

Summary of Background Data: Vitamin D supplementation is considered to be associated with good functional outcome. Thus, a few studies have proposed vitamin D supplementation is benefit to the functional outcome in lumbar spinal stenosis requiring surgery.

Methods: All patients with LSS who underwent surgery from March 1, 2015 to August 31, 2016 were enrolled. Among them, 61 patients with vitamin D deficiency were divided into two groups (supplemented group (A) and non-supplemented group (B)). Functional outcomes using Oswestry Disability Index (ODI) and Rolland Morris Disability Index (RMDQ) and quality of life using SF-36 were evaluated at 12month, and 24month follow up periods. Differences in functional score and SF-36 between the vitamin D supplemented and non-supplemented group were compared.

Results: Among the total 102 patients, 78 patients (76.5%) had vitamin D deficiency. Of the 78 patients, 61 patients were included, 27 patients were group A and 27 patients were group B. There was no difference in age and 25-OHD level between the two groups (all $p > 0.05$). Group A were better functional outcomes at two years after surgery ($p < 0.05$). On the quality of life, group A were higher score than group B from twelve month later after surgery ($p < 0.05$).

Conclusions: Vitamin D deficiency was highly prevalent in LSS patients (76.5%). Assessment of serum 25-OHD are recommended in LSS needing surgical intervention and active treatment vitamin D supplementation and maintenance of normal range should be considered for better postoperative functional outcome and quality of life.

doi:10.1016/j.bonr.2020.100491

P169**Vitamin D deficiency and postoperative complications in patients with hip dysplasia undergoing periacetabular osteotomy and the effect of native or active vitamin D supplementation**

Taro Mawatari, Misa Osako, Kazuki Kitada, Satoshi Hagio, Takahiro Iguchi, Hiroaki Mitsuyasu, Gen Matsui
 Orthopaedic Surgery, Hamanomachi Hospital, Fukuoka, Japan

Purpose: Vitamin D is an important factor for bone health and mineralization, while high prevalence of vitamin D deficiency is reported worldwide. Periacetabular osteotomy (PAO) is accepted as an effective treatment for hip dysplasia in young to middle-aged patients. The purpose of our study was to retrospectively examine the influence of vitamin D deficiency and the effect of vitamin D supplementation on postoperative complications after PAO.

Methods: PAO was performed by a transtrochanteric approach on 81 hips in 62 patients (4 male, 61 female, ave 40.6 years old) with symptomatic hip dysplasia and followed for more than 12 months after surgery. A correlation between postoperative complications and age at surgery, BMI, smoking, preoperative center-edge angle, and serum 25(OH)D levels as well as the effect of native or active vitamin D supplementation were explored.

Results: Average serum 25(OH)D level of 62 patients was 12.8 ng/mL, and none of them were vitamin D sufficient. After the baseline measurement, 13 cases took active vitamin D (0.5 - 2.0 µg/day of alfacalcidol) and 16 cases took varying dose (1,000IU - 5,000IU/day) of native vitamin D (cholecalciferol) supplements. Without vitamin D supplementation, patients whose serum 25(OH)D level was ≤ 11 ng/mL presented delayed union of the greater trochanter osteotomy site (DU) and ischio-pubic stress fracture (SF) occurred in 20.0% and 13.3% of the



EFFECTO COMPARATIVO DEL ÍNDICE DE MASA CORPORAL SOBRE LA OSTEOCALCINA TOTAL Y DECARBOXILADA ENTRE HOMBRES Y MUJERES PREMENOPÁUSICAS NORMOGLUCÉMICOS

Marina S. Bonanno¹, Graciela Brito², Dana Z. Watson², Liliana Zago³, Carlos A. González Infantino⁴, Susana N. Zeni¹.

¹Laboratorio de Osteopatías Metabólicas, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) CONICET, FFyB-UBA, Hospital de Clínicas, CABA, 1120, Argentina, osteologia@hospitaldeclinicas.uba.ar.

²Depto. de Ciencias de la Salud, Licenciatura en Nutrición, UNLaM, San Justo, 1754, Argentina.

³Depto. de Nutrición, FFyB-UBA, CABA, 1120, Argentina. ⁴Depto. de Nutrición, FMed-UBA, CABA, 1120, Argentina.

Palabras claves: Osteocalcina, Obesidad, Metabolismo de la glucosa.

La osteocalcina (OCN) es un péptido sintetizado, principalmente, por los osteoblastos. Contiene 3 residuos de ácido glutámico (17, 21 y 24)¹. Estos sufren una carboxilación dependiente de vitamina K a ácido carboxiglutámico, aumentando su afinidad por el calcio (Ca) de los cristales de hidroxapatita quedando retenida en la matriz extracelular ósea¹. El ambiente ácido que se genera durante la resorción ósea, promueve la decarboxilación de sus residuos y su liberación a circulación sistémica. En plasma OCN existe: total, parcial y completamente decarboxilada; siendo la forma decarboxilada en el residuo 17 la que posee efectos biológicos (GluOCN) y la resorción ósea el mecanismo clave para su bioactivación¹. A la fecha, se reporta que GluOCN se encontraría involucrada en la regulación del metabolismo energético¹, la fertilidad masculina¹, la función muscular¹ y el desarrollo cerebral y la cognición².

En este trabajo evaluamos el efecto del índice de masa corporal (IMC) sobre los niveles séricos de OCN y distintos parámetros representativos del metabolismo de la glucosa y óseo, en 35 mujeres premenopáusicas (M) y 45 hombres (H). Se dividieron según el IMC en sobrepeso (SP) u obesidad (OB) tipo I, II, III.

Los resultados se expresan como SP, OB tipo I, II y III respectivamente (x±DE). Distintas letras indican diferencia significativa entre los grupos analizados (p<0,05).

Metabolismo de la glucosa: Leptina (ng/mL): **H:** 21±19^c, 19±11^c, 27±11^b, 41±22^a; **M:** 10±3^d, 11±3^d, 18±4^c, 44±9^a. Glucosa (mg/dL): **H:** 97±9, 99±8, 102±7, 106±3; **M:** 82±6, 93±7, 91±9, 95±11. Insulina (μUI/L): **H:** 12±3^b, 12±4^b, 24±9^a, 23±4^a; **M:** 8±3^b, 9±4^b, 12±2^b, 16±6^{ab}.

Los resultados muestran que los niveles séricos de glucosa en ambos sexos aumentan con el incremento del IMC sin presentar significancia estadística, leptina e insulina también muestran el mismo comportamiento pero este aumento es estadísticamente significativo.

Metabolismo óseo: GluOCN (ng/mL): **H:** 3,9±0,7^b, 4,5±1,1^a, 4,8±1,2^a, 4,3±0,8^{ab}; **M:** 1,9±1,4^c, 1,9±1,1^c, 2,4±1,8^c, 4,1±0,8^{ab}. OCN total (ng/mL): **H:** 25,8±1,5^b, 18,8±6,7^c, 15,3±4,2^c, 8,3±4,1^d; **M:** 36,1±3,8^a, 35,9±2,7^a, 33,9±11,4^a, 17,9±6,5^c. CTX (ng/mL): **H:** 355±30^a, 313±101^b, 318±54^b, 344±80^a; **M:** 160±49^c, 294±143^b, 319±150^b, 291±145^b. 25OHD (ng/mL): **H:** 21±2^a, 21±7^a, 22±8^a, 17±3^b; **M:** 23±3^a, 25±11^a, 21±4^a, 20±14^{ab}.

Con respecto al metabolismo óseo los resultados muestran que los niveles séricos de GluOCN aumentan y, en cambio, los de OCN total disminuyen al incrementar el IMC en ambos sexos. CTX aumenta al incrementar el IMC en ambos sexos. Los niveles séricos más bajos de 25OHD se observaron en la obesidad TIII también en ambos sexos.

En nuestra cohorte, los resultados sugieren que, si bien hay diferencias en los niveles séricos de las variables medidas entre ambos sexos, tanto OCN total como de GluOCN varían dependiendo el IMC y, estos cambios, influenciarían en los niveles séricos de insulina y en la homeostasis de la glucosa. El estudio fue realizado con el apoyo de CONICET-UBA y el subsidio PROINCE E006 de la UnLaM.

Referencias:

1. De Toni, L; Di Nisio, A; Rocca, MS; et al. *Andrology*. 2017, **5**, 664–670.
2. Obri, A; Khirman, L; Karsenty, G; Oury, F. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2018, **14**, 174-182.

CL09. Medicina regenerativa: biocompatibilidad y osteoregeneración en lesión crítica de calota con matriz de poli-L-Láctico

Vitelo Xavier M,^{1,2} Farez N,¹ Lembo IM,¹ Santiago O,¹ Gatti D,³ Stur M,³ Salvatierra PL,⁴ Jardini Munhos A,² Kharmandayan P,² Feldman S^{1,5}

1. *Laboratorio de Biología Osteoarticular, Ing. Tisular y Terapias Emergentes (LABOATEM) Facultad Cs. Médicas, UNR.* 2. *INCT-Biofabris Fac Engenharia Química, UNICAMP.* 3. *Cátedra Diag. Imágenes, Fac. Cs. Médicas, UNR.* 4. *Inst. de Cs. Básicas y Aplicadas, Univ. Nac. Villa María.* 5. *CIUNR-CONICET.*

La capacidad de reparar o sustituir tejidos dañados ha dado a la medicina la oportunidad de ofrecer tratamientos novedos. El ácido poli-láctico PLLA es producido a partir del ácido láctico, un producto natural, obtenido por fermentación de fuentes renovables. Hemos desarrollado una ruta de síntesis, polimerización por apertura de anillos, la cual no presenta efectos citotóxicos en cultivos celulares y puede sintetizarse en forma y tamaño deseado. Nos propusimos investigar si, en una lesión crítica de calota, el implante de PLLA sintetizado por nosotros era biocompatible y promovía la osteoregeneración. Doce (12) conejos *New Zealand* (4 meses) fueron sometidos a lesión ósea crítica de calota Ø 15 mm, bajo técnicas de anestias, tratamientos para dolor y antibióticos previamente publicados, y aprobados por comité de bioética de Fac. Cs. Médicas UNR, y se dividieron aleatoriamente en dos grupos: 1: recibió implante de PLLA específicamente sintetizada en tamaño y 2: no recibió implante. Se realizó seguimiento clínico de los animales (Clin: estado general, respuesta a estímulos y marcha), y se obtuvieron muestras de sangre con y sin EDTA, para estudios bioquímicos respectivos (Bioq: hemograma y transaminasas [estas últimas estudiadas en muestras de suero]), todos ellos a los 1, 15 días y previo a los respectivos sacrificios. Los datos para observar si existían diferencias intergrupales para c/ tiempo fueron procesados por test de Wilcoxon. Los sacrificios se realizaron en un 50% de c/grupo a los 6 meses, y 50% a los 9 meses. Postsacrificio, las calotas se estudiaron tomográficamente (To) y, previa descalcificación, se realizaron estudios histológicos (H) y estudios histomorfométricos (HM)w mediante programa ImageJ®. Para detectar potenciales diferencias significativas, intergrupales de regeneración ósea, se ajustaron modelos lineales mixtos y se utilizó la prueba de Fisher con nivel de significancia de 0,05. Resultados: Clin, y Bioq.; sin diferencias intergrupales para ninguna variable en ninguno de los tiempos estudiados. Mediante To se observó aumento de la radiodensidad del borde de la lesión en grupo 1, sin observarse zonas de retracción frente al implante. La radiodensidad fue muy leve en borde de la lesión en grupo 2. H, grupo 1: células características de tejido óseo sintetizado *de novo* y presencia de células inflamatorias alrededor de PLLA, sugestivo de proceso de biodegradación y reparación, y H grupo 2: se visualizó formación abundante tejido conectivo y escaso tejido mineralizó *de novo*, para ambos tiempos estudiados. HM: Grupo 1 presentó 62% de regeneración ósea vs. Grupo 2, 30% de regeneración ósea, con diferencias intergrupales significativas para tiempo 6 meses. A los 9 meses, grupo 1 mostró 66% de regeneración ósea vs. grupo 2, 31% de regeneración ósea, con diferencias significativas intergrupales. Conclusiones: el biopolímero producido por polimerización del lactideo vía apertura de anillo cíclico se ha mostrado con características que permiten ser sintetizado según tamaño y forma de la lesión, es biocompatible y con potencialidad osteoregeneradora.

CL10. Efecto del síndrome metabólico sobre los valores de osteocalcina (OCN) total y subcarboxilada en mujeres adultas normoglucémicas

Bonanno M,¹ Brito G,² Watson D,² Zago L,³ González Infantino C,⁴ Oliveri B,¹ Zeni SN¹

1. *Laboratorio de Osteopatías Metabólicas, INIGEM-CONICET, FFyB-UBA.* Depto Nutrición: 2. *UNLaM,* 3. *FFyB-UBA,* 4. *FMed-UBA.*

El hueso, tejido adiposo y páncreas se relacionan entre sí para controlar la homeostasis de la glucosa. Cualquier alteración en alguno de ellos afectará la interrelación. La obesidad central y el síndrome metabólico



(SM) se asocian con insulinoresistencia, inflamación crónica de bajo grado y altos niveles de adipocitoquinas que desregulan el metabolismo energético. Además, se asocian con bajos niveles de 25OHD y de marcadores de remodelamiento óseo, todos factores negativos para la homeostasis ósea. El hueso regula el metabolismo energético a través de la actividad de las células óseas. Los osteoblastos secretan OCN, que se decarboxila durante la resorción ósea a OCN subcarboxilada (OCNsc), proceso parcialmente regulado por la leptina. OCNsc actúa en el páncreas, promoviendo la proliferación de células β y la producción y secreción de insulina. En el presente trabajo se evaluó si la presencia de SM ejercería algún efecto diferencial respecto de la ausencia de SM en los niveles de OCNsc y OCN total (OCNt), en mujeres adultas no diabéticas con sobrepeso y distintos grados de obesidad. Las 95 mujeres presentaban glucosa (80 a 110 mg/dL) y hemoglobina glicosilada (HbA1c < 5,7%) normales y fueron subdivididas según el IMC (29,6 a 49,4 kg/m²) en: sobrepeso (SP) u obesidad (OB) tipo (T) I, II o III. OCNt (ng/mL), OCNsc (ng/mL), leptina (ng/mL), insulina (μ U/L), CTX (ng/mL) fueron analizados por ELISA y 25OHD (ng/mL) por ensayo de competición proteica. Resultados: (media \pm DE); letras diferentes indican $p < 0,05$ entre diferentes niveles de IMC en cada subgrupo (ANOVA de una vía); * indica $p < 0,05$ Sin vs. Con SM (prueba t de Student).

	Sin SM				Con SM			
	SP	OBTI	OBTII	OBTIII	SP	OBTI	OBTII	OBTIII
OCNt	32,0 \pm 14,5 ^b	22,3 \pm 13,1 ^a	36,5 \pm 3,0 ^b	10,7 \pm 4,5 ^a	28,5 \pm 12,5	24,3 \pm 12,1	21,2 \pm 14,9*	27,3 \pm 12,9*
OCNsc	2,2 \pm 1,8 ^b	2,5 \pm 1,7 ^{ab}	3,1 \pm 2,1 ^b	4,5 \pm 0,3 ^a	1,0 \pm 0,4 ^{at}	3,7 \pm 2,4 ^b	3,6 \pm 1,6 ^b	3,9 \pm 1,1 ^b
Insulina	6,9 \pm 2,6	8,6 \pm 3	9,0 \pm 1,6	7,9 \pm 3,6	11,1 \pm 4,6*	12,5 \pm 4,0*	12,7 \pm 4,9*	13,9 \pm 5,6*
Leptina	10,3 \pm 5,5 ^a	17,9 \pm 11,9 ^b	23,9 \pm 6,5 ^b	38,8 \pm 17,6 ^c	9,9 \pm 6,3 ^a	12,8 \pm 2,1 ^{ab*}	22,2 \pm 10,7 ^{bc}	27,5 \pm 6,9 ^c
CTX	433 \pm 203 ^a	417 \pm 166 ^a	562 \pm 13 ^b	380 \pm 201 ^a	355 \pm 177	411 \pm 172	360,7 \pm 197*	436 \pm 147
25OHD	22,9 \pm 8,1	21,4 \pm 7,9	20,0 \pm 7,3	18,2 \pm 6,5	22,4 \pm 8,0	22,2 \pm 10,1	16,4 \pm 2,9	17,5 \pm 6,0

En mujeres con SM, la OCNt y el CTX no se modificaron. La OCNsc y leptina aumentaron, mientras 25OHD e insulina tendieron a disminuir y aumentar, respectivamente, a mayor IMC. Las mujeres sin SM mostraron cambios similares, a excepción de que OCNt y CTX disminuyeron a mayor IMC. En OBTIII sin SM, el remodelamiento óseo disminuye con aumento relativo de la OCNsc, lo cual modificaría la relación OCNsc/OCNt [0,03(0,17)^a; 0,10(0,26)^{ab}; 0,07(0,12)^{ab}; 0,52(0,34)^b] para controlar la homeostasis de la glucosa. En presencia de SM, a mayor IMC existirían efectos contrapuestos ejercidos sobre osteoblastos y osteoclastos, por mayores niveles de leptina y la presencia de insulinoresistencia. Independientemente del IMC, estos efectos contrapuestos compensarían cambios en el remodelamiento óseo y, en los niveles OCNsc, evitando cambios en la relación OCNsc/OCNt [0,04(0,04)^a; 0,17(0,34)^b; 0,26(0,26)^b; 0,10(0,20)^{b*}]. Conclusión: la interrelación entre hueso, tejido adiposo y páncreas para controlar la homeostasis de la glucosa variaría ante la presencia de SM. Parcialmente financiado por PICT 2018-01252 y PROINCE E006 UNLaM.

CL11. Consolidación de fractura por estrés después de la administración de teriparatida en un paciente con osteogénesis imperfecta

Lauretta de Santis P,¹ Aguilar G,² Mastaglia S¹

1. Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET. Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires. 2. Centro de Diagnóstico Dr. Enrique Rossi, Buenos Aires, Argentina.

La osteogénesis imperfecta (OI) es una enfermedad hereditaria del tejido conectivo, causada por mutaciones de los genes responsables de codificar el colágeno tipo 1 (COL1A1 y COL1A2) que se asocia a fragilidad ósea. Teriparatida (TPTD) [PTH 1-34 recombinante humana] es un medicamento

Osteosarcoma (OS), the most common malignant bone tumor, has a 20% five-year survival rate for metastatic disease and treatment-resistant patients. Rapid lung dissemination and acquired chemotherapy resistance remain as major clinical challenges. Mesenchymal stem cells (MSC) may contribute directly or indirectly to OS origin and progression. To identify potential metastasis biomarkers, we made a proteomic screening of non-metastatic SAOS2, metastatic LM7 OS cells and BM-MSC using a shotgun approach by a tandem nanocapillary liquid chromatography-mass spectrometry system. We identified 1049 proteins for BM-MSC, 1567 for SAOS2, and 1424 for LM7. To obtain gene ontology terms of the identified proteins, an enrichment analysis of the gene groups was carried out. The three cell populations shared 661 proteins corresponding to protein metabolism, metabolism, and energy-related pathways (25.72%, 22.37%, and 22.37% respectively). Individually, SAOS2 and LM7 cells showed the same number of shared proteins with BM-MSC, but the 64-shared proteins were not the same. Most relevant differences were that VEGF and PDGF signaling pathways were 2.25 fold-increased in LM7-MSC vs. SAOS2-MSC shared proteins. Further, citric acid and electron transport pathways were upregulated in SAOS2-MSC shared proteins. A comparison between SAOS2 and LM7 also shows upregulation of VEGF/PDGF signaling and other metastatic-related pathways in LM7 cells. Our results on the comparison of both OS cells to MSC, suggest that MSC may have a relevant role in OS progression, dictating not only tumor initiation but also metastatic dissemination. Further, LM7 cells had higher expression levels of proteins related to a mesenchymal phenotype and stem-related genes, suggesting a closer relation with MSC. Lung disease remains a major mortality factor in OS. Identification of mechanisms and differentially expressed genes associated with metastasis would help in discovering promising markers and therapeutic targets.

305. (482) STUDY OF NON-CO-LINEAR EVENTS IN HUMAN PLURIPOTENT STEM CELL

Carolina Colli | Guadalupe Amin | María Agustina Scarafía | Alan Miqueas Möbs | Lucia Natalia Moro | Ariel Waisman | Carlos Daniel Luzzanil | Alejandro Damian La Greca | Santiago Gabriel Miriuka
Laboratorio de Investigación Aplicada d La Neurociencia, FLENI - CONICET

RNA sequences topologically inconsistent with the correspondent DNA sequence in the reference genome are known as "non-co-linear events" (NCLe). These events can be linear (trans-splicing) or circular (circRNA) and both are post-transcriptional events. In human pluripotent stem cells (iPSC), NCLe were described to contribute to the regulation of early lineage differentiation; in particular circRNAs formed by quaking protein (QKI) 5 were described as necessary for cardiac differentiation. Trans-splicing events are formed by separate pre-mRNA with inverted and repeated sequences (Alu) while circRNA originate from a backspliced junction in a pre-mRNA. The aim of this work was to characterize NCLe and the role of QKI 5/6/7 in circRNA formation in iPSC. RNAseq data from an iPSC line was analyzed with NCLscan pipeline, revealing 1109 NCLe, among which 3 occurred between different genes. To validate these intergenic junctional events, we amplified them by RTq-PCR with specific primers and sequenced the product, corroborating that these alternative junctional organizations were not informative artifacts. PCR on purified DNA showed they are not genomic rearrangements. Furthermore, using magnetic oligo dT beads we also demonstrated that the 3 events are polyadenylated and they are sensitive to degradation with RNase R, thus linearly conformed. In parallel, we designed RNA guides to knock out QKI in FN2.1 and H9 using CRISPR/Cas9. PCR and immunofluorescence analysis revealed the absence of the target, indicating that the strategy was successful. In conclusion, we identified NCLe in an iPSC line and characterized 3 different trans-splicing. We were also successful in preparing knockout lines for QKI to assess its role in differentiation as well as the circRNAs dependent on its function. In the future we plan to assess these knockout lines by RNAseq and functionality of the trans-splicing with CRISPR/Cas13 and characterize using northern blot.

METABOLISMO Y NUTRICIÓN

306. (001) EFFECTS OF METFORMIN AND LOSARTAN ON NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE ASSOCIATED WITH MESENTERIC ADIPOSITY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF METABOLIC SYNDROME IN THE RAT

Hyun Jin Lee^{1,2}, Silvana M. Cantú^{1,2}, Adriana S. Donoso^{1,2}, Gabriel Kim¹, Marcelo R. Choi^{1,3}, Ana M. Puyó^{1,2}
¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de Ciencias Biológicas, Cátedra de Anatomía e Histología. Buenos Aires, Argentina. ²Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). Buenos Aires, Argentina. ³CONICET – Universidad de Buenos Aires. Instituto Alberto C. Taquini de Investigaciones en Medicina Translacional (IATIMET). Buenos Aires, Argentina.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has been described as a histological manifestation of metabolic syndrome (MS). Mesenteric fat that drains into the portal circulation is the largest contributor to visceral adiposity. There is great interest in the pleiotropic effects of metformin (M) and losartan (L) in the treatment of risk factors for MS. We studied the effects of M (500 mg/kg/day) and L (30 mg/kg/day) on NAFLD and its relationship with mesenteric vascular bed (MVB) adiposity, insulin resistance (IR) and systolic blood pressure (SBP) in an experimental model of MS for 9 weeks. Six groups of Sprague-Dawley rats were used: control (C, standard diet), high-fat plus fructose-overload (HFF, 50% w/w bovine fat plus 10% w/v fructose solution), M-treated (CM), L-treated (CL), M-treated HFF diet (HFFM) and L-treated HFF diet (HFFL). Adiposity index was calculated as MVB adipose tissue weight/body weight x 100. Homeostasis model of assessment of IR (HOMA-IR), SBP, hepatic steatosis and perivascular fibrosis (hematoxylin-eosin and Sirius Red techniques) were measured.

HFF diet produced significant ($p < 0.001$) increments on MVB adiposity index (%), 1.75 ± 0.07 vs C: 0.81 ± 0.04), HOMA-IR (0.50 ± 0.06 vs C: 0.11 ± 0.003), SBP (mmHg, 154 ± 2 vs C: 120 ± 2), hepatic steatosis (%), 81.5 ± 2.5 vs C: 1.3 ± 0.3) and perivascular fibrosis (%), 52.0 ± 3.3 vs C: 12.3 ± 1.1). Compared with HFF rats, M and L treatments (HFFM and HFFL respectively), significantly ($p < 0.001$) ameliorated MVB adiposity index (%), 1.23 ± 0.02 and 1.18 ± 0.08), HOMA-IR (0.13 ± 0.01 and 0.20 ± 0.03), SBP (mmHg, 127 ± 1 and 116 ± 3), hepatic steatosis (%), 51.6 ± 3.2 and 56.5 ± 5.2) and perivascular fibrosis (%), 33.4 ± 3.4 and 31.0 ± 2.8). Moreover, we found that both steatosis and perivascular fibrosis positively correlated with MVB adiposity index, HOMA-IR and SBP.

Both M and L prevented MVB adiposity increase and consequently exhibited beneficial effects on the stages of NAFLD in a context of IR and hypertension.

307. (016) TOTAL AND UNDERCARBOXYLATED OSTEOCALCIN (OCN) IN NON-DIABETIC WOMEN HAVING OR NOT METABOLIC SYNDROME (MS)

Marina Soledad Bonanno¹, Graciela Brito², Dana Watson², Estefanía Magalí Zeni Coronel¹, Liliana Zago³, Carlos González Infantino⁴, Susana Noemí Zeni¹.
¹Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Universidad de Buenos Aires (UBA), Hospital de Clínicas "José de San Martín"; ²Departamento de Nutrición, Universidad de La Matanza (UNLaM); ³Departamento de Nutrición, FFyB-UBA; ⁴Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina (FMed), UBA.

Bone controls glucose homeostasis and insulin resistance through OCN. We wanted to know if body mass index (BMI) and the presence of MS could influence total and/or undercarboxylated OCN (tOCN and uOCN, respectively) levels.

We compared uOCN and total tOCN levels in 95 non-diabetic normoglycemic women (52.7 ± 13.2 years) having or not metabolic syndrome (MS and nMS, respectively) and different degree of obesity. ELISA was used except for 25OHD where an immune-competitive

method was used. Different letters indicate statistical differences (one-way ANOVA) and (*) $p < 0.05$: Ms vs. nMS (Student *t* test).

Results (mean \pm SD): Overweight (OW), type I, II, III obesity (OB) in nMS and MS, respectively. tOCN(ng/mL): 32.0 \pm 14.5^b, 22.3 \pm 13.1^b, 36.5 \pm 3.0^b, 10.7 \pm 4.5^a; 28.5 \pm 12.5, 24.3 \pm 12.1, 21.2 \pm 14.9, 27.3 \pm 12.9^c ucOCN(ng/mL): 2.2 \pm 1.8^a, 2.5 \pm 1.7^a, 3.1 \pm 2.1^{ab}, 4.5 \pm 0.3^b; 1.0 \pm 0.4^a, 3.7 \pm 2.4^b, 3.6 \pm 1.6^b, 3.9 \pm 1.1^b Insulin(μ UI/L): 6.9 \pm 2.6, 8.6 \pm 3, 9.0 \pm 1.6, 7.9 \pm 3.6; 11.1 \pm 4.6^b, 12.5 \pm 4.0^b, 12.7 \pm 4.9^b, 13.9 \pm 5.6^c Leptin(ng/mL): 10.3 \pm 5.5^a, 17.9 \pm 11.9^b, 23.9 \pm 6.5^b, 38.8 \pm 17.6^c; 9.9 \pm 6.3^a, 12.8 \pm 2.1^a, 22.2 \pm 10.7^b, 27.5 \pm 6.9^b

CTX (ng/L): 433 \pm 203, 417 \pm 166, 562 \pm 13, 380 \pm 201; 355 \pm 177, 411 \pm 172, 361 \pm 197, 436 \pm 147 25OHD (ng/mL): 22.9 \pm 8.1, 21.4 \pm 7.9, 20.0 \pm 7.3, 18.2 \pm 6.5; 22.4 \pm 8.0, 22.2 \pm 10.1, 16.4 \pm 2.9, 17.5 \pm 6.0.

Levels of tOCN were similar, CTX decreased and ucOCN, insulin and leptin increased with in the degree of OB in MS group.

Instead, in nMS women tOCN decreased and ucOCN increased with OB degree; while OB type III presented the lowest CTX levels. In both groups, leptin increased and 25OHD showed a tendency to decrease with the degree of OB.

Conclusion: ucOCN levels appear to be directly associated with the degree of OB in both MS and nMS women, while tOCN did not change with OB in MS women but showed a high reduction in nMS women associated to the decrease in CTX levels i.e bone turnover. Grants of PICT 2018-01252 and PROINCE E006 UNLaM.

308. (017) EFFECT OF FEEDING A LOW LACTOSE YOGURT-BASE DIET HAVING GALACTOOLIGOSACCHARIDES (GOS) ON BONE HEALTH: PRECLINICAL MODEL OF NORMAL GROWTH

Mariana Seijo¹, Marina Soledad Bonanno¹, Estefanía Magalí Zeni Coronel¹, Claudia Inés Vénica², María Luz Pita Martín de Portela³, Clarisa Bozzini⁴, Carina Viviana Bergamini², Irma Verónica Wolf², María Cristina Perotti², Susana Noemí Zeni¹.

¹Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Universidad de Buenos Aires (UBA), Hospital de Clínicas "José de San Martín"; ²Instituto de Lactología Industrial, Universidad Nacional del Litoral (UNL), CONICET, Ingeniería Química; ³Cátedra de Nutrición, FFyB-UBA; ⁴Cátedra de Fisiología, FOUBA.

GOS are natural prebiotics of human milk that could have positive actions in calcium (Ca) absorption and bone health. They can be incorporated in fermented dairy products by enzymatic action on milk lactose, resulting in a low lactose-containing food.

We evaluated and compared the effect of feeding a low lactose-yogurt containing GOS (EY) in bone health during normal growth of weaning rats. Rats (n=10/group) fed 3 diets: control AIN'93-G (C); GOS-free yogurt (Y) or EY during 30 days.

We evaluated food consumption; body weight (BW); Ca absorption (% AbsCa) by balance methods; in cecum Lactobacilli growth (LB) by microbiological culture, pH by a pHmeter and short chain fatty acids (SCFA) by HPLC-IR; total skeleton (Et), lumbar spine (Ls) and proximal tibia (Pt) bone mineral density (BMD) and Et bone mineral content (BMC) by densitometry; bone volume (%BV) and intestinal crypt depth (ICD) (μ m) by histology; maximal load, fracture strength and elastic modulus by biomechanical test. ANOVA and Bonferroni *post hoc* test were used to evaluate statistical significances.

Food consumption and BW were similar thought out the study. EY showed higher %AbsCa ($p < 0.05$), LB colonies ($p < 0.05$); SCFA concentration ($p < 0.001$) and lower cecal pH ($p < 0.01$) than Y and C. EY had the highest Ls and PtBMDs ($p < 0.05$), %BV ($p < 0.01$), ICD ($p < 0.0001$) than YC and C without differences in EtBMC vs C. EY had higher biomechanical parameters than Y ($p < 0.01$) without differences vs. C.

Conclusion: YE could be a useful tool to ensure an optimal bone growth in lactose intolerance conditions.

Grants of CONICET (PIP11220100100004) and UBA (UBACyT 20020130100091BA).

309. (022) PREBIOTICS GALACTOOLIGOSACCHARIDES/FRUCTOOLIGOSACCHARIDES (GOS/FOS®) MIXTURE, CALCIUM (Ca) ABSORPTION AND RESORPTION; AND

INSUFFICIENCY OF Ca AND VITAMIN D (VD)

Mariana Seijo¹, Marina Soledad Bonanno¹, Gabriel Bryk¹, Estefanía Magalí Zeni Coronel¹, María Luz Pita Martín de Portela ML², Susana Noemí Zeni¹.

¹Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), Universidad de Buenos Aires (UBA), Hospital de Clínicas "José de San Martín"; ²Cátedra de Nutrición, FFyB-UBA.

Prebiotics favors Ca absorption (CaAbs) and retention in bone. VD positively affects both processes. We evaluated if the prebiotic mixture assayed here exert similar effects under conditions of VD insufficiency and low Ca intake, using a preclinical model of post-menopausal bone loss.

Adult ovariectomized rats fed a commercial diet during 15 days post-surgery. Then, for an additional 45-days period, 16 rats fed a VD-free (0 IU%) diet (-D groups) and 16 a normal VD diet (100 IU%) (+D groups). Both isocaloric diets content 0.3% of Ca (0.3%). At day-60, each group was subdivided into 2 groups which continuing feeding the same diet, having or not 0.25% of prebiotic mixture: +DPM and +D or -DPM and -D, respectively. We evaluated zoometric measurements, lactobacilli (LS) growth in feces by culture; activity of 4 fecal enzymes; cecal pH; CaAbs% by balance; femur Ca content (biochemically), bone volume fraction (BV/TV), epiphyseal cartilage total length (GPC.Th) and intestinal crypts depth (CD) by histology; total skeleton (TS) bone mineral content (TSBMC) and bone mineral density (TSBMD), lumbar spine (LS), proximal tibia (PrT) BMDs by densitometry. ANOVA and Bonferroni *post hoc* test were used to determine statistical significances.

No differences in cecal pH, lactobacillus colonies, β -glucuronidase, urease and tryptophanase and β -glucosidase; CD; LS and PrTBMDs were observed between +DPM and -DPM; CaAbs, femur Ca content, TSBMC, TSBMD, TF BMD, BV/TV and GPC.Th were significantly higher in +DPM vs. -DPM ($p < 0.05$). Results showed that hypovitaminosis D negatively affected the prebiotic GOS/FOS® action on Ca Abs and bone retention.

Conclusion: Although prebiotics would a beneficial tool to improve Ca bioavailability, especially when requirements are not met, it is important to monitor VD nutritional status to avoid the least effect in Ca absorption and retention.

Grants of CONICET (PIP 11220100100004) and UBA (UBACyT 20020130100091BA).

310. (026) EFFECTS OF CANNABIS OIL ON LIVER INJURE AND OXIDATIVE STRESS IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF METABOLIC SYNDROME

María Eugenia Oliva¹, Michelle Vega Joubert¹, Cristian Vaccarini², Daniela Sedan², Darío Andrinolo², María Eugenia D'Alessandro¹.

¹Laboratorio de Estudio de Enfermedades Metabólicas Relacionadas con la Nutrición-FBCB-UNL - CONICET. ²Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM) / CONICET - UNLP

Liver damage and oxidative stress are closely related to the alterations present in Metabolic Syndrome (MS). Interest in the beneficial effects of Cannabis sativa L. has increased in recent years. Cannabinoids such as tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) have been found to be potent antioxidants. The aim of this study was to evaluate the effects of cannabis oil on liver injury and oxidative stress in insulin-resistant dyslipidemic rats fed a sucrose-rich diet (SRD). Male Wistar rats were fed the following diets for 21 days: Reference Diet (RD): standard commercial laboratory diet, Sucrose rich diet (SRD) and SRD+Cannabis oil (SRD+Ca); the oral administration of 1 mg/kg of body weight of cannabis oil daily. The cannabis oil presented a ratio of total cannabinoids THC:CBD of 1:2. We analyzed: a) Serum: triglycerides, cholesterol, glucose, transaminases (AST and ALT), alkaline phosphatase (AP) and non-enzymatic antioxidant capacity (FRAP). b) liver: triglyceride content, transaminases AST and ALT, AP, reactive oxygen species (ROS), substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS), FRAP and Catalase activity. Results: In the SRD+Ca group, serum triglyceride and

Research Article

Calcium Intake is Associated to Changes in the Interplay between Bone, Pancreas and Fat Tissue in the Control of Glucose Homeostasis- Experimental Study

Marotte C¹, Bonanno MS¹, Zeni Coronel M¹, Avendaño ME², Pita Martín de Portela ML³ and Zeni SN^{1*}

¹Metabolic Bone Diseases Laboratory, Immunology, Genetic and Metabolism Institute (INIGEM), School of Pharmacy and Biochemistry, Clinical Hospital "José de San Martín", Buenos Aires University (UBA)/ National Council for Scientific and Technologic Research (CONICET), Argentina

²Department of Images Diagnostic I, School of Dentistry, Cuyo National University, Rio Negro, Argentina

³Food Science and Nutrition Department, School of Pharmacy and Biochemistry, Buenos Aires University (UBA), Buenos Aires, Argentina

*Corresponding author: Prof. Dr. Zeni SN, Metabolic Bone Diseases Laboratory, INIGEM CONICET-UBA, Clinical Hospital "José de San Martín", Av. Córdoba 2351 8° piso, CP 1120, CABA, Buenos Aires, Argentina; TEL/ FAX: 541159508972; Email: snzeni@hotmail.com

Received: September 09, 2019; Accepted: October 10, 2019; Published: October 17, 2019

Abstract

Background: Bone remodeling, insulin levels and fat mass interrelationship in glucose homeostasis control was evaluated in Weaning Normal (W) and Obese (O) rats fed High (H), Normal (N) or Low (L) Ca intakes.

Methods: Glucose, Cholesterol (Chol), HDL-Chol, Triglyceride (TGL), Ca, P, insulin, Osteocalcin (OCN) and collagen C-telopeptide (CTX), body composition, BMD, BMC, body Ca and P content, perigonadal plus retroperitoneal fat (PG+RP) and liver weight were determined and HOMA-IR calculated.

Results: WHCa reached the highest body fat, PG+RP and the highest CTX levels ($p < 0.05$); WNCa had the lowest liver weight. WLCa reached the lowest body protein content ($p < 0.05$) and the highest glucose, insulin and HOMA-IR ($p < 0.05$). WLCa and WHCa had similar Chol levels but higher than WNCa; TGL increased and OCN decreased as dietary Ca content increased ($p < 0.05$). OLCa presented the highest body fat, Chol and OCN levels but the lowest HDL-Chol levels ($p < 0.05$); ONCa had the highest body protein percentage ($p < 0.05$). OHCa had the lowest CTX levels ($p < 0.05$). PG+RP, liver weight, glucose, insulin and HOMA-IR decreased as dietary Ca content increased ($p < 0.05$). O groups reached higher adipose PG+RP fat, liver weight, glucose, insulin, Chol, TGL and HOMA-IR and lower OCN, CTX and body protein content than their matched-W groups ($p < 0.05$).

Conclusion: The relative amount of dietary Ca to P may regulate energy metabolism and bone turnover, insulin and body fat interplay in glucose homeostasis control. However, the mechanisms differ in physiological conditions or in the presence of metabolic abnormalities of energy dysregulation such as obesity and T2-diabetes.

Keywords: Osteocalcin; Bone Resorption; Insulin; Body Fat

Abbreviations

OCN: Osteocalcin; BGP: Gamma-Carboxyglutamic Acid-Containing Protein; GLA: Gamma-carboxyglutamic acid; Ca: Calcium; InsR: Osteoblastic Insulin Receptor; OPG: Osteoprotegerin; RANK: Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B; RANKL: Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand; CNS: Central Nervous System; T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus; BMD: Bone Mineral Density; Cal: Ca Intake; NCa: Normal Ca Diet; HCa: High Ca Diet; LCa: Low Ca Diet; BW: Body Weight; PG: Perigonadal Fat; RP: Retroperitoneal Fat; Pi: Inorganic Phosphorus; Chol: Total Cholesterol; HDL Chol: High Density Lipoprotein Cholesterol; TGL: Triglyceride; 25OHD: 25 hydroxyvitamin D; b-ALP: Serum Bone Alkaline Phosphatase; CTX: C-Terminal Telopeptide of Type I Collagen; tsBMC: Total Skeleton Bone Mineral Content; tsBMD: Total Skeleton Bone Mineral Density; BMD: Bone Mineral Content, SE: Standard Error; W: Wistar Rats; O: IIMb/ β Obese Rats; PTH: Parathormone; 2°HPT: Secondary Hyperparathyroidism; MS: Metabolic Syndrome).

Introduction

One of the energy metabolism regulations appears to occur

through the interplay between bone, fat tissue and pancreas. According to literature, these organs maintain glucose homeostasis through the interaction between bone turnover markers, insulin and leptin levels.

Osteocalcin (OCN) is a non-collagenous protein secreted by osteoblasts/osteocytes. The negative charge of Gamma-carboxyglutamic acid (GLA) residues increases OCN Calcium (Ca)-binding properties, resulting in an association with hydroxyapatite in bone extracellular matrix. In clinical practice, OCN used to be used as a bone formation marker and more broadly, of bone remodeling. Bone matrix acidification performed by osteoclasts resorbing activity induces OCN bioactivation, which loses Ca affinity and is released into bloodstream. OCN bioactive form may regulate energy metabolism stimulating insulin synthesis and secretion by the pancreatic β cells, and insulin sensitivity and glucose utilization in peripheral tissues [1]. Transgenic OCN-deficient mice are fat, insulin resistant, glucose intolerant, and hyperlipidemic [2]. Ferron et al. demonstrated that OCN production and bioavailability are under insulin control [3].

Osteoblastic Insulin Receptor (InsR) is required for osteoblast survival, proliferation, and differentiation. Insulin signalling in

osteoblasts regulates Runx2 expression, OCN production and decreases the expression of Osteoprotegerin (OPG). The latter increases osteoclastic activity. The acidic environment in the resorption lacuna increases OCN bioavailability [3]. Many factors regulate the positive feedback loop between the osteoblastic insulin signalling and OCN in pancreatic β cells.

Leptin plays an essential role on energy metabolism. Leptin secretion correlates positively with adipose tissue mass, and thereby it monitors overall energy availability. Leptin inhibits insulin secretion through a direct effect on pancreatic β cells and induces the indirect suppression of insulin signalling in osteoblasts *via* Central Nervous System (CNS) [4]. These observations establish the tight metabolic link between osteoblasts, pancreatic β cells and adipocytes Falta el punto.

Energy metabolism dysregulation is associated with intracellular lipid accumulation and excess of body adipose tissue storage that results in several comorbidities [5]. Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is the most significant obesity-associated metabolic disorder, characterized by insulin resistance, hyperglycemia, dyslipidemia and alterations in hormonal signalling systems both, in CNS and peripheral nervous system [6]. Moreover, T2DM patients have an increased risk of bone fragility and fractures, regardless of having Bone Mineral Density (BMD) increase [7]. One of the main factors involved in T2DM-derived bone fragility would be bone quality deterioration due to bone turnover suppression [8].

There is no doubt about the negative effect of low Ca Intake (CaI) on bone mass. Furthermore, according to literature, it also appears to induce energy dysregulation by affecting insulin secretion and lipogenesis [9,10]. Our group evidenced the obesogenic effect of Ca insufficiency in rats fed a low Ca diet, which presented an increase in fat mass accumulation and a negative effect in lipid profile, but these alterations were more evident when animals were prone to obesity [11]. Moreover, epidemiological studies determined that obesity and T2DM incidence was likely to be inversely associated with the increase in dietary Ca [12].

The results of our previous paper led us to postulate that Ca amount supplied by the diet may mediate, at least in part, glucose homeostasis through changes in bone, pancreas and fat mass interplay. Besides, abnormalities in insulin secretion, fat mass accumulation and bone remodeling because of T2DM could additionally affect the possible effect of CaI on energy metabolism. On these bases, the present experimental report evaluated *in vivo* the interaction of bone remodeling, insulin levels and fat mass in glucose homeostasis in normal Wistar rats and in obese/T2DM rats fed three different dietary Ca contents. The results of this interrelationship were also compared between the two strains of rats.

Materials and Methods

Diets

Three experimental isocaloric diets were prepared according to American Institute of Nutrition Rodent Diets Recommendations settled in 1993 (AIN-93G) [13]. Diet composition was identical, except for Ca content. Normal Ca diet (NCa) contained 0.5% Ca, providing Ca requirement for rodents; High Ca diet (HCa) contained 0.9% Ca, exceeding Ca recommendations by 50% and Low Ca diet (LCa)

Table 1: Centesimal composition of the experimental diets (g/100g).

Diet	LCa	NCa	HCa
Energy (Kcal)	395	395	395
Proteins (g) ^a	17	17	17
Lipids (g) ^b	7	7	7
Ca-free salts mixture (g) ^c	3.5	3.5	3.5
Vitamins(g) ^d	1	1	1
Choline (g) ^e	0.25	0.25	0.25
Cellulose (g)	5	5	5
Dextrin ^f	to complete 100 g		
Calcium (Ca) (g) ^g	0.2	0.5	0.9
Inorganic phosphorus (g) ^h	0.4	0.4	0.4
Magnesium (g) ^h	0.051	0.051	0.051

All diets were prepared according to AIN93-G and they only varied in calcium content.

^aSodium caseinate (Lactoprot GMBH, Germany) containing 85.1% of protein and 0.095g% of Ca.

^bCommercial soy oil. Molinos Rio de la Plata, Argentina.

^cCa-free salts mixture was prepared according to AIN93-G, except for Ca content.

^dVitamins was prepared according to AIN-93G that meet rat requirements during growth. Manufactured by the Department of Food Science School of Biochemistry, University of Buenos Aires (individual components from Sigma, Missouri, USA).

^eCholine citrate 0.71% (food grade, Anedra, Argentina).

^fCorn dextrin from corn refinery, provided by Food SA Argentina was added as carbohydrate (fibre) source to achieve 100 g of diet.

^gCaCO₃ (food grade individual components, Anedra, Argentina), was added to obtain the required Ca concentration.

^hPotassium phosphate monobasic and magnesium oxide (food grade individual components, Anedra, Argentina), were added to obtain the required P and Mg concentration, respectively.

contained 0.2% Ca, contributing by 40% of Ca recommendations (Table 1).

Animals

Twenty-four male weaning IIMb/ β rats were obtained from Lipid and Lipoprotein Laboratory, Clinical Biochemistry Department, Rosario National University, Argentina. IIMb/ β rats develop obesity and T2DM from puberty onwards. They were obtained by genetic and environmental maladjustment and a high degree of inbreeding. Obese rats also develop hypertryacylglyceridemia without hypercholesterolemia, and their glucose intolerance progresses to T2DM and obesity-related hypertension [14,15]. Twenty-four male weaning Wistar rats were obtained from Nutrition and Food Sciences Laboratory Department, Pharmacy and Biochemistry Faculty, Buenos Aires University, Argentina.

All rats were housed in individual stainless steel cages and were maintained on a 12-h-light/-dark cycle in a temperature and humidity-controlled room (21 \pm 1°C and 55 \pm 10%, respectively).

Rats were maintained in keeping with National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Bioethics Committees of Universities of Buenos Aires and Rosario approved the protocol.

Experimental design

The experimental design was previously published [11]. In brief, mothers were fed one of the three experimental diets from pregnancy

Table 2:

	OLCa	ONCa	OHCa	WLCa	WNCa	WHCa
BW T=21 (g)	50.1±5.5	48.7±6.2	49.0±5.3	44.5±5.8	44.2±3.4	45.5±5.8
BW T=60 (g)	284.6±8.7	235.1±9.1*	243.6±14.1*	197.6±2.6#	192.9±9.0#	199.3±21.8#
Food efficiency (g/g)	3.10±0.30	3.00±0.50	3.30±0.30	3.10±0.30	3.00±0.40	3.00±0.03
Total skeleton BMC (g/100g BW)	0.64±0.20	1.44±0.30*	1.27±0.30***	0.71±0.30#	1.54±0.30*#	1.34±0.20*,**,#
Body Ca content %	394±39	640.±20*	720±34***	494±34#	850±25*#	917±55***,#
Body Pi content %	310±13	520±27*	532±22*	561±22#	728±30*#	823±43***,#
Body Ca/Pi ratio	1.37±0.03	1.24±0.04*	1.35±0.03**	0.87±0.04#	1.17±0.03*#	1.13±0.05*#

Results were expressed as mean±SD (n=8).

Data were analyzed by ANOVA and Bonferroni as a post hoc test.

*p<0.05 O or W groups compared to LCa diet.

**p<0.05 O or W groups compared to NCa.

#p<0.05 W groups vs. O groups fed the same diet Ca content.

to weaning. Weanig male IIMb/β and Wistar pups (n=8 per group) continued feeding their maternal diet until post-natal day 50 (T=50).

Throughout the experimental period, rats were allowed to access deionized water and food ad libitum. Food consumption was recorded 3 times per week, until the end of the study.

Body Weight (BW) was registered at birth, at weaning (21 days) and thereafter twice a week until T=50. Relative capacity of a food source to contribute to weight gain, named food efficiency (g/g) was calculated according to the equation:

$$\text{Food efficiency} = \text{Total food intake (g)}/\text{increase in BW (g)}.$$

At T=50, all animals were subjected to a whole-body densitometry *in vivo* under light anesthesia (ketamine hydrochloride 0.1 mg/100g BW and acetopromazine maleate 0.1mg/100g BW). Then, fasting blood samples were collected from tail vein, followed by sacrifice under CO₂ inhalation. Perigonadal (PG) and Retroperitoneal (RP) fat, and liver were removed and weighed, and body composition was determined.

Analytical procedures

Body fat and body protein contains were determined according to Association of Official Analytical Chemists methods as previously described [16].

Ca in diets, serum and body ashes was determined by atomic absorption spectrophotometry. Inorganic Phosphorus (Pi) in serum, diets and body ashes were evaluated according to Gomori's method. Glucose, total Cholesterol (Chol), High Density Lipoprotein Cholesterol (HDL Chol), and Triglyceride (TGL) levels were determined by conventional enzymatic methods. Insulin was determined by Enzyme Immunoassay (ELISA) (Rat/Mouse Insulin Kit, Millipore, Billerica, MA, USA). Insulin resistance degree was determined by Insulin Resistance index [HOMA-IR = (insulin × glucose)/22.5] [17]. 25 hydroxyvitamin D (25OHD) was assayed by a competitive protein binding method (Diasorin, Stillwater, MN, USA), 9% intra-assay coefficient of variation. Bone alkaline phosphatase (b-ALP) was measured by a colorimetric method (Boehringer Mannheim, Germany) after bone enzyme isoform precipitation with wheat-germ lectin. OCN (ng/mL) and C-terminal Telopeptide of type I collagen (CTX) (ng/mL) were measured by ELISA (Rat-osteocalcin and Rat-laps, respectively Osteometer BioTech, Herlev, Denmark),

6% intra-assay variation coefficient. OCN/b-ALP ratio was calculated.

Densitometry

Total skeleton Bone Mineral Content (tsBMC) and Bone Mineral Density (tsBMD) were evaluated using a whole body scanner with a specifically designed software for small animals (DPX Alpha, Small Animal Software, Lunar Radiation Corp. Madison WI), as previously described. In brief, all rats were scanned using an identical scan procedure. Precision was assessed by measuring one rat five times with repositioning between scans, on the same day and on different days [18]. Bone Mineral Content (BMC) and BMD coefficients of variation were 3.0 and 0.9% respectively.

Statistical methods

Results were expressed as mean ± Standard Error (SE). Data were analyzed using 2-way analysis of variance ANOVA, and Bonferroni multiple comparisons. The linear association was analyzed by Pearson's correlation coefficients r and multivariate linear regression. Statistical analyses were performed using SPSS for Windows 19.0 (SPSS, Inc. Chicago, IL). A value of P below 0.05 (p<0.05) was considered significant.

Results

Effect of feeding different dietary Ca content

Wistar (W) rats: Independently of dietary Ca content, no significant differences were observed in BW among W groups, neither at weaning nor throughout the experiment. Food efficiency showed similar results in the three W groups (Table 2).

WHCa presented the significantly highest BW-adjusted body fat and PG+RP (p<0.05), while no significant differences were observed between WLCa and WNCa. WNCa presented the significant lowest liver weight (p<0.05), while no differences were observed between WLCa and WHCa. WLCa presented the lowest BW-adjusted body protein content, but only reached statistical significance versus WNCa (p<0.05); no significant differences were observed between WNCa and WHCa (Table 3).

WLCa presented the significant highest glucose, insulin and HOMA-IR levels (p<0.05). These parameters were also significantly higher in WHCa vs. WNCa (p<0.05). WLCa and WHCa reached similar Chol levels, which were significantly higher than in WNCa (p<0.05). No differences in HDL-Chol were observed among groups.

Table 3:

	OLCa	ONCa	OHCa	WLCa	WNCa	WHCa
Glucose (g)	252±28	170±15*	148±12***	139±9 [#]	97±12* [#]	105±7*** [#]
Insulin (mg/dL)	6.87±2.37	4.07±0.81*	1.92±0.7***	1.30±0.54 [#]	0.14±0.01* [#]	0.44±0.05*** [#]
HOMA-IR	77.6±14.1	32.0±7.5*	10.3±6.1***	4.1±0.5 [#]	0.6±0.4* [#]	1.3±0.8*** [#]
Chol (mg/dL)	115±11	88±9*	86±11*	68±4 [#]	52±7* [#]	71±4*** [#]
HDL-Chol (mg/dL)	15.1±0.9	28.5±0.3*	27.3±1.8*	28.0±3.4 [#]	27.9±4.6	28.3±3.1
TGL (mg/dL)	287±54	241±35*	332±29***	75±4 [#]	86±8* [#]	112±10*** [#]
Body protein % of BW	14.8±0.9	17.3±0.5*	15.8±0.5**	18.9±0.4 [#]	20.4±0.7* [#]	19.1±0.8 [#]
Body fat % of BW	15.9±0.6	13.7±0.8*	14.2±0.8*	11.7±0.7 [#]	10.8±0.5 [#]	14.3±0.7***
PG+RP/BW	4.81±0.04	4.33±0.07*	3.12±0.01***	1.16±0.03 [#]	1.24±0.09 [#]	2.70±0.15*** [#]
Liver weight % of BW	5.48±0.04	5.21±0.05*	4.81±0.07***	4.21±0.01 [#]	4.09±0.05* [#]	4.35±0.11*** [#]

Results were expressed as mean±SD (n=8).

Data were analyzed by ANOVA and Bonferroni as a post hoc test.

*p<0.05 O or W groups compared to LCa diet.

**p<0.05 O or W groups compared to Nca.

[#]p<0.05 W groups vs. O groups fed the same diet Ca content.

Table 4:

	OLCa	ONCa	OHCa	WLCa	WNCa	WHCa
sCa (mg/dL)	10.8±0.8	10.5±0.3	9.7±0.2***	8.3±0.3 [#]	8.6±0.2 [#]	8.9±0.6 [#]
sPi (mg/dL)	8.7±0.2	8.8±0.2	8.8±0.1	8.7±0.1	8.2±0.3	7.7±0.4* [#]
b-ALP (IU/L)	107±14	160±4*	115±15**	85.5±7.3 [#]	70.8±2.2* [#]	79.7±4.0*** [#]
Total ALP	895±58	775±53*	750±66*	619±67 [#]	333±38* [#]	442±43*** [#]
OCN (µg/mL)	582±44	399±16*	368±26*	917±29 [#]	800±49* [#]	730±56*** [#]
sCTX (mg/mL)	82.1±3.6	79.7±6.1	69.6±7.4***	105.9±7.8 [#]	94.0±6.0 [#]	122.8±12.9*** [#]
OCN/b-ALP	5.65±1.12	3.06±0.60*	4.62±1.39***	12.8±0.85 [#]	11.72±1.12 [#]	8.01±0.86*** [#]
25OHD (ng/mL)	21.8±2.4	19.0±2.7	20.5±1.1	13.9±2.2 [#]	12.4±2.8 [#]	14.5±1.7 [#]

Results were expressed as mean±SD (n=8).

Data were analyzed by ANOVA and Bonferroni as a post hoc test.

*p<0.05 O or W groups compared to LCa diet.

**p<0.05 O or W groups compared to NCa.

[#]p<0.05 W groups vs. O groups fed the same diet Ca content.

WHCa reached the significantly highest TGL levels (p<0.05), while WNCa had levels significantly higher than WLCa (p<0.05) (Table 3). WNCa presented the significant lowest ALP levels, while WHCa presented a significant lower level than WLCa (p<0.05) (Table 4).

Regardless of the dietary Ca content, no significant differences in 25OHD (ng/dL) were observed among the three W groups. WLCa showed the lowest Ca level and WHCa showed the significant lowest Pi level (p<0.05). WNCa presented the significant lowest b-ALP levels (p<0.05), while WLCa only showed a tendency to have higher levels than WHCa (p=0.055). OCN decreased significantly with the increase in dietary Ca content (p<0.05). The OCN/b-ALP ratio decreased as dietary Ca content increased, but only WHCa reached statistical significance as compared to the other two W groups (p<0.05). WHCa had the significant highest CTX (p<0.05), while WLCa only showed a tendency to have higher levels than WNCa (p=0.061) (Table 4).

Body Ca and Pi contents increased significantly with the increase in dietary Ca content (p<0.05). WLCa showed the significant lowest body Ca/Pi ratio and tsBMC (p<0.05), while no significant differences were observed between WNCa and WHCa (Table 2).

WNCa showed a significant correlation between OCN and

glucose levels (r=0.77; p<0.0001); however, this correlation was not observed in WLCa or WHCa groups.

IIMb/β obese (O) and diabetic rats: No differences in BW were observed at weaning. Thereafter, OLCa presented the significant highest BW throughout the entire study (p<0.05), while OHCa group presented a tendency to reach higher values than ONCa, at the end of the experience (p=0.067). Irrespectively of the dietary Ca content, no differences in food efficiency were observed among the three O groups studied here (Table 2).

OLCa presented the significant highest BW-adjusted body fat (p<0.05), while no differences were observed between ONCa and OLCa. PG+RP/BW and liver weight percentage decreased significantly as the dietary Ca content increased (p<0.05). OLCa and OHCa had similar body protein percentages, which was lower as compared to ONCa (p<0.05) (Table 2).

Glucose, insulin and HOMA-IR levels decreased significantly as the dietary Ca content increased (p<0.05). OLCa presented the significant highest Chol and the significant lowest HDL Chol (p<0.05); no significant differences were observed between ONCa and OHCa. OHCa presented the significant highest TGL levels (p<0.05), and

OLCa had a significant higher level than ONCa ($p < 0.05$) (Table 3).

No differences in 25OHD or Pi levels were observed, independently of the dietary Ca content. OHCa showed the significant lowest serum Ca ($p < 0.05$), while no significant differences were observed between the remaining two groups. OLCa had the significant highest b-ALP and ONCa the significant highest b-ALP level ($p < 0.05$); no significant differences in both parameters were observed between the two remaining groups. OLCa presented the significant highest OCN, while ONCa and OHCa showed similar concentrations. ONCa presented the significant lowest OCN/b-ALP ratio ($p < 0.05$), while OHCa presented a significant lower ratio than OLCa ($p < 0.05$). OHCa presented the significant lowest CTX levels ($p < 0.05$), while no significant differences were found between OLCa and ONCa (Table 4).

Body Ca content increased significantly as the dietary Ca content increased ($p < 0.05$). OLCa presented the significant lowest body Pi content ($p < 0.05$); no significant differences were observed between ONCa and OHCa. ONCa had the significant lowest body Ca/Pi ratio ($p < 0.05$), while no significant differences were observed between OLCa and OHCa. OLCa presented the significantly lowest tsBMD ($p < 0.05$) while ONCa reached a value significantly higher than OHCa ($p < 0.05$) (Table 2).

Independently of the dietary Ca content, OCN and glucose levels did not correlate in the three groups of O rats.

Comparative effect of the diet Ca content between both strains of rats: Independently of the dietary Ca content, O rats presented a higher BW than W rats, but only OLCa vs. WLCa reached statistical significance at weaning. At the end of the study, O groups reached a significant higher BW than their non-obese counterparts ($p < 0.05$). No significant differences in food efficiency were observed between O and W groups, in spite of the dietary Ca content (Table 2).

OLCa and ONCa reached a significantly higher BW-adjusted body fat than WLCa and WNCa, respectively ($p < 0.05$), while no differences were observed between OHCa and WHCa. Independently of the dietary Ca content, O groups presented significant higher adipose PG plus RP fat pads and liver weight and a significant lower body protein content than their matched-W groups ($p < 0.05$) (Table 3).

Independent of the diet Ca content, O groups presented significant higher glucose, insulin, Chol, TGL and HOMA-IR than their matching part in WCa groups ($p < 0.05$). OLCa had HDL-Chol significantly lower than WLCa, while no differences were found between the other two remaining Ca groups (Table 3).

Independently of the dietary Ca content, O rats presented significantly higher Ca, 25OHD, total ALP and b-ALP levels than their W-counterparts ($p < 0.05$). OHCa presented significantly higher Pi levels than WHCa ($p < 0.05$), while no differences were observed between the other two remaining groups. Obese rats presented significantly lower levels of OCN, CTX and, OCN/b-ALP ratio than their corresponding WCa groups ($p < 0.05$) (Table 4).

Irrespectively of the dietary Ca content, total body Ca and Pi content were significantly lower and body Ca/Pi ratio was significantly higher in O rats than in their corresponding WCa groups ($p < 0.05$). WNCa and WHCa presented a tsBMC significantly higher than

ONCa and OHCa, while OLCa presented a significantly higher value than WLCa ($p < 0.05$) (Table 2).

Discussion

The results of the present report strongly suggest that the relative amount of dietary Ca and Pi (different Ca/Pi ratio) regulates both, energy metabolism and relationship between bone turnover, insulin levels and body fat accumulation in glucose homeostasis control. However, the impact of diets appears to differ in diabetes and obesity versus normal physiological conditions. Such differences were determined by comparing ordinary Wistar rats with genetically modified rats. The IIMb/ β rats were obtained from a high degree of inbreeding of Wistar rats [14,15]. For this reason, obese and diabetic rats appear to be an optimal energy metabolism dysregulation model to evaluate Ca intake effect in the interplay between bone, pancreas and fat tissue in glucose homeostasis.

Effect of the normal Ca diet in the interplay between bone and body fat for glucose homeostasis regulation

Recent studies suggested that Ca might be important for activity of various non-skeletal tissues. Ca modulates fat metabolism and many physiological functions related to glucose homeostasis, including insulin resistance [9].

WNCa was control group related to physiological conditions and nutritional requirements adequacy. Results of this group showed a strong association between glucose and OCN levels, suggesting a close linkage between bone remodeling, insulin levels and body fat mass in glucose homeostatic control. The mechanism responsible includes effect of insulin signalling in regulation of glucose uptake and osteoblast proliferation rate. Insulin stimulates collagen, b-ALP and OCN production and inhibits OPG synthesis, which decreases OPG/RANKL ratio stimulating osteoclastic activity [19]. Bone resorption induces OCN bioactivation and its release into serum from bone extracellular matrix [20]. Bioactive OCN, as osteoblastic hormone, stimulates pancreas β -cell proliferation, insulin secretion and insulin sensitivity, both, in mice and humans [21]. To avoid hypoglycemia, fat tissue produces leptin, which blocks osteoblastic insulin signalling through CNS [22].

Genetically modified strain of rats used here spontaneously develops obesity and insulin resistance. Obese growing rats fed normal Ca diet presented hyperglycemia, hyperinsulinemia and signs of fatty liver such as an increase in total ALP levels, liver weight and abdominal fat [23]. ONCa also showed a low OCN/b-ALP ratio, that along with abdominal fat excess and lower BMC as compared to WNCa rats might account for impairment in osteoblast differentiation. Adipose tissue secretes cytokines and fatty acids that may have induced differentiation of mesenchymal precursor cells to adipocytes, in detriment of osteoblast differentiation [24]. Early stages of osteoblast differentiation express b-ALP, while OCN is expressed in mature osteoblasts. Then, changes in OCN/b-ALP ratio indicate osteoblast maturation disorders that, according to literature, may be involved in diabetic fracture risk [25].

Previous studies reported that bone turnover correlates inversely with fasting insulin and visceral adiposity [26, 27]. In addition, it was also suggested that in presence of adiposity, low OCN impairs insulin tolerance [28, 29]. These metabolic disarrays were observed in

obese rats fed normal Ca diet studied here. Indeed, ONCa presented insulin resistance and low bone turnover rate; the latter evidenced by lower OCN and CTX than control. Obesity was also associated to high Parathormone (PTH) levels, main regulator of bone turnover [30]. In the present report, PTH was not evaluated; however, ONCa showed higher calcemia than control, suggesting certain degree of secondary hyperparathyroidism (2^oHPT) that, in presence of low bone turnover, seems contradictory. Nonetheless, ONCa also showed hyperlipidemia that according to a previous report, could induce PTH resistance, independently of 25OHD levels [31]. In this regard, excess of fat tissue increases the release of certain cytokines, such as resistin which links obesity to T2DM. Resistin is involved in development of other resistances than insulin resistance, including leptin and PTH resistances [32]. The latter might also contribute to bone turnover decrease in ONCa group.

According to the present results, we hypothesized that obesity along with insulin resistance and the possible presence of other resistances may affect whole-body glucose homeostasis, inducing changes in the interplay between bone, pancreas and fat mass. This mechanism may explain the lack of association between OCN and glycemia levels in ONCa rats.

Effect of the low Ca diet in the interplay between bone and body fat in the control of glucose homeostasis

WLCa rats showed a typically pre-diabetic condition, i.e., elevated levels of insulin and slight hyperglycemia. They also showed a high HOMA-IR index and high hypercholesterolemia without hypertriglyceridemia. These signs strongly suggest glucose homeostasis impairment, presence of insulin resistance and a certain degree of dyslipidemia. The mechanism responsible for these findings is thought to be related to low dietary Ca without changes in Pi contain that led to low Ca/Pi ratio, which affects Ca absorption [33]. Relative excess of Pi, especially in combination with low Ca intakes, may reduce passive shift of Ca by forming insoluble salts in intestinal lumen [34]. Low Ca absorption negatively affects bone metabolism as evidenced in the present report. Increase in bone turnover could be responsible for the bone mass decrease observed in WLCa. In addition, low Ca availability may decrease Ca²⁺ influx to β -cell, affecting insulin secretion and signalling, and GLUT-4 activity [35]. Insulin secretion impairment leads to hyperglycemia and eventually causes diabetes, while glucose transport disability into adipocytes, along with inability to suppress cell lipolysis, place hepatocytes under great metabolic stresses and favor insulin resistance and T2DM development over time [36]. In this regard, some observational and control studies have shown an inverse association between Ca status and insulin resistance as well as risk of T2DM or Metabolic Syndrome (MS) [10]. These changes induced by low Ca intake may explain the loss of association between OCN and glucose levels.

WLCa also showed a small accumulation of abdominal and body fat and a quite important decrease in lean body mass, suggesting the onset of a possible shift in energy away from fat stores. A longer period of study would have possibly evidenced higher alterations in fat metabolism and obesity, at expenses of impairing protein synthesis. It is important to take into account that presence of insulin resistance affects carbohydrates, lipids and proteins metabolism. Defects in intracellular signalling result in several metabolic

abnormalities. Muscle is a major site of insulin resistance and changes in intracellular signalling pathway-depending on insulin initiate body protein loss [37]. Insulin resistance in skeletal muscle has been linked to fat accumulation, which could be significant in long term and could explain the fact that Ca inadequacy in early life may be most remarkable and predispose to and/or program individuals to an increased susceptibility to obesity and MS later in life [38,39].

Low Ca intake exacerbated established diabetic condition of obese strain of rats. It had been previously reported that rate of fatty acid uptake in muscle is markedly increased, while ability to oxidize fatty acids is decreased, in insulin-resistant skeletal muscle of animals with obesity and/or T2DM [40]. Both factors appear to be causal for accumulation of intracellular lipid intermediates, indicating that insulin resistance not only increases risk but also severity of T2DM. In this regard, the present report showed that all parameters of glucose and energy metabolism dysregulation, i.e., glucose and insulin levels, insulin resistance, dyslipidemia, liver weight and excess of abdominal fat accumulation were higher in OLCa than in the other O rats. This effect may account for the great lean body mass reduction of OLCa [41]. Moreover, insulin resistance and obesity decreased HDL-Chol, which is associated with increased risk of atherosclerosis [42].

As mentioned, presence of obesity and insulin resistance could have produced certain degree of PTH resistance [43] that may be responsible for bone remodeling decrease as compared to control rats. However, among obese groups, low Ca availability led to OLCa rats to have a slight increase in bone turnover and subsequent decrease in bone mass.

Effect of the high ca diet in the interplay between bone and body fat in the regulation of glucose homeostasis

High Ca intake also affected glucose homeostasis in both strains of rats. WHCa evidenced signs of insulin resistance, i.e., hyperglycemia, elevated insulin levels and elevated HOMA-IR, but to a lesser degree than those observed in WLCa.

WHCa presented reduced Pi that may indicate a relative insufficiency of P intake. In this regard, it was previously suggested that an increase in Ca intake without the corresponding increase in P could increase risk of P insufficiency [44]. Several reports suggested that low bioavailability of P might affect glucose metabolism. *In vitro* studies demonstrated that pancreatic islets of phosphate-depleted rats had low ATP levels, elevated cytosolic Ca and impaired insulin secretion capacity [45]. The imbalance between extracellular and intracellular β cell Ca²⁺ pools results in diminished cellular responsiveness to insulin, increasing insulin resistance and glucose levels [35]. Clinical studies showed that low serum Pi were associated to insulin resistance and elevated blood glucose levels in healthy non-diabetic conditions, independently of body fat percentage [46]. Glucose intolerance and insulin resistance have been also documented in several diseases characterized for hypophosphatemia (hypophosphatemia rickets, adult-onset hypophosphatemia osteomalacia and renal Pi leak) [47].

Conversely, other authors have suggested that hyperglycemia *per se* could affect Pi status, directly or indirectly. High glucose levels induce depolarization of renal brush border membrane for Pi, leading to a decrease in intracellular Pi levels and hyperphosphaturia. However, hyperglycemia could also affect Pi status stimulating

peripheral Pi uptake by insulin [46,48]. Indeed, during hyperglycemic-hyperinsulinemic conditions, high amounts of glucose enter into muscle and fat tissues (insulin-sensitive tissues); high Pi amount is required because glucose is metabolized by phosphorylation. This mechanism may lower serum Pi levels. Many investigators have found decreased concentrations of serum Pi in poorly regulated diabetic patients [49].

Adiposity was also reported to be inversely related to plasma Pi levels [45]. Low availability of Pi may hinder insulin phosphorylation having deleterious effects in phospholipids and hepatic fat accumulation [50]. A positive association was observed between low Pi levels and BW increase, which was largely attributed to increase in adipose tissue and impairment of nitrogen retention [45]. The WHCa showed dyslipemia, *i.e.*, hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia, along with more severe changes in energy metabolism than those observed in WLCa, including increase in liver weight. These findings suggest the increase in lipid storage *via* concerted modulation of lipogenic and lipolytic processes (upregulation of lipogenesis). This effect could be responsible for the increased accumulation of body fat mass, especially abdominal fat pads, at expenses of a poor reduction in lean mass.

WHCa rats showed low Pi levels that along with high CTX levels, suggest a certain degree of 2^oHPT. High levels of PTH promote Ca influx into adipocytes and enhances lipogenesis and obesity [51], associated to impairment in glucose tolerance and to decrease in insulin sensitivity [52]. Low availability of Pi could also affect energy metabolism *via* CNS through ATP production, in particular hepatic ATP [53].

Despite high CTX levels, WHCa showed low OCN and a decrease in OCN/b-ALP ratio that in presence of fat mass excess may account for impairment of osteoblast differentiation, which is reinforced by the lower bone mineral mass as compared to WNCa.

As mentioned before, Ca is important for insulin synthesis, secretion and functionality while P is important for insulin phosphorylation capacity and signalling. Insulin increases glucose uptake in muscle and fat, and inhibits lipolysis, contributing to the drop in glucose and insulin levels [54]. The OHCa presented Ca and Pi levels between reference range, suggesting a better control of Pi-Ca homeostasis that may account for the improvement in glycemic indexes and fat metabolism. Indeed, according to literature lower liver weight and decrease in visceral fat mass accumulation without changes in lean mass may be the result of a better control of glucose metabolism and a low hepatic fat accumulation [55]. In spite, OHCa showed a low bone remodeling and low OCN release, which may explain the lack of association between glucose and OCN levels.

The weaknesses of this study using a growing rodent model would be relatively short duration of the experience. Further studies should be conducted to confirm whether same results are observed in adult animals. Another limitation might be that PTH and leptin, which could clarify presence of PTH and leptin resistance, were not measured. However, the strength was to evaluate and compare effect of habitual Ca intake on interrelationship between bone, pancreas and fat tissue in glucose homeostasis control, in normal physiological conditions and *versus* animals with a predisposition to develop obesity and T2DM.

Conclusion

These evidence that bioavailability of Ca and/or Pi is associated to the relationship between bone turnover, adiposity and insulin resistance in glucose homeostasis control. However, effects on glucose homeostasis appear to differ in physiological conditions and in presence of metabolic abnormalities of energy dysregulation such as obesity and T2DM.

Acknowledgment

Authors thank Ms. Julia Somoza and Mr. Ricardo Orzuza for they technical support and for taking care of the animals. This study was funded by the Buenos Aires University and CONICET.

References

- Sabek OM, Nishimoto SK, Fraga D, Tejal N, Ricordi C, Gaber AO. Osteocalcin effect on human β -cells mass and function. *Endocrinology*. 2015; 156: 3137-3146.
- Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007; 130: 456-469.
- Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010; 142: 296-308.
- Hamrick MW, Ferrari SL. Leptin and the sympathetic connection of fat to bone. *Osteoporos Int*. 2008; 19: 905-912.
- Shin JH, Nam MH, Lee H, Lee JS, Kim H, Chung MJ, et al. Amelioration of obesity-related characteristics by a probiotic formulation in a high-fat diet-induced obese rat model. *Eur J Nutr*. 2017; 1-10.
- Shpakov AO, Derkach KV, Berstein LM. Brain signaling systems in the type 2 diabetes and metabolic syndrome: promising target to treat and prevent these diseases. *Future Sci OA*. 2015; 1FSO25.
- Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Kaji H, Sugimoto T. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J Bone Miner Res*. 2009; 24: 702-709.
- Kanazawa I. Interaction between bone and glucose metabolism. *Endocr J*. 2017; 64: 1043-1053.
- Villarreal P, Villalobos E, Reyes M, Cifuentes M. Calcium, obesity, and the role of the calcium-sensing receptor. *Nutr Rev*. 2014; 72: 627-637.
- Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 2017-2029.
- Marotte C, Bryk G, Chaves MMG, Lifshitz F, de Portela MLP, Zeni SN. Low dietary calcium and obesity: a comparative study in genetically obese and normal rats during early growth. *Eur J Nutr*. 2014; 53: 769-778.
- Keast DR, Hill Gallant KM, Albertson AM, Gugger CK, Holschuh NM. Associations between yogurt, dairy, calcium, and vitamin D intake and obesity among US children aged 8-18 years: NHANES, 2005-2008. *Nutrients*. 2015; 7: 1577-1593.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993; 123: 1939-1951.
- Calderari SA, González AC, Gayol MD. Spontaneous hypertriglyceridemic obesity and hyperglycemia in an inbred line of rats. *Int J Obes*. 1987; 11: 571-579.
- Festing M, Greenhouse D. Abbreviated list of inbred strains of rats. *Int Index Lab Anim Carshalton Surrey Lion Litho Ltd*. 1993; 51-67.
- Horowitz W, Latimer GW. AOAC official methods of analysis. Gaithersburg MD Assoc Off Anal Chem Int Sect. 2000; 50: 992-1205.

17. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and Abuse of HOMA Modeling. *Diabetes Care*. 2004; 27: 1487-1495.
18. Zeni S, Gomez-Acotto C, Di Gregorio S, Mautalen C. Differences in bone turnover and skeletal response to thyroid hormone treatment between estrogen-depleted and repleted rats. *Calcif Tissue Int*. 2000; 67: 173-177.
19. Conte C, Epstein S, Napoli N. Insulin resistance and bone: a biological partnership. *Acta Diabetol*. 2018; 1-10.
20. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015; 16: 93-98.
21. Fernandes TA, Gonçalves LM, Brito JA. Relationships between bone turnover and energy metabolism. *J Diabetes Res*. 2017; 9021314.
22. Whipple T, Sharkey N, Demers L, Williams N. Leptin and the skeleton. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002; 57: 701-711.
23. Kim MK, Reaven GM, Chen Y-DI, Kim E, Kim SH. Hyperinsulinemia in individuals with obesity: Role of insulin clearance. *Obesity*. 2015; 23: 2430-2434.
24. Bermeo S, Gunaratnam K, Duque G. Fat and bone interactions. *Curr Osteoporos Rep*. 2014; 12: 235-242.
25. Yeap BB, Alfonso H, Chubb SP, Gauci R, Byrnes E, Beilby JP, et al. Higher serum undercarboxylated osteocalcin and other bone turnover markers are associated with reduced diabetes risk and lower estradiol concentrations in older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100: 63-71.
26. Wei J, Ferron M, Clarke CJ, Hannun YA, Jiang H, Blauer WS, et al. Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation. *J Clin Invest*. 2014; 124: 1781-1793.
27. Tonks KT, White CP, Center JR, Samocha-Bonet D, Greenfield JR. Bone turnover is suppressed in insulin resistance, independent of adiposity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017; 102: 1112-1121.
28. Iglesias P, Arrieta F, Pinera M, Botella-Carretero JI, Balsa JA, Zamarron I, et al. Serum concentrations of osteocalcin, procollagen type 1 N-terminal propeptide and beta-CrossLaps in obese subjects with varying degrees of glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011; 75: 184-188.
29. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, López-Gallardo G, García-Martín A, Varsavsky M, Avilés-Perez MD, et al. Serum levels of bone resorption markers are decreased in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol*. 2013; 50: 47-52.
30. Marwaha RK, Garg MK, Mahalle N, Bhadra K, Tandon N. Role of parathyroid hormone in determination of fat mass in patients with Vitamin D deficiency. *Indian J Endocrinol Metab*. 2017; 21: 848-853.
31. Sage AP, Lu J, Atti E, Tetradis S, Ascenzi M-G, Adams DJ, et al. Hyperlipidemia induces resistance to PTH bone anabolism in mice via oxidized lipids. *J Bone Miner Res*. 2011; 26: 1197-1206.
32. Moscovitch SD, Kang HC, Rubens Filho AC, Mesquita ET, Neto HC, Rosa ML. Comparison of adipokines in a cross-sectional study with healthy overweight, insulin-sensitive and healthy lean, insulin-resistant subjects, assisted by a family doctor primary care program. *Diabetol Metab Syndr*. 2016; 8: 9.
33. Jones G. Early life nutrition and bone development in children. En: *Early Nutrition: Impact on Short-and Long-Term Health*. Karger Publishers. 2011; 227-236.
34. Masuyama R, Nakaya Y, Katsumata S, Kajita Y, Uehara M, Tanaka S, et al. Dietary calcium and phosphorus ratio regulates bone mineralization and turnover in vitamin D receptor knockout mice by affecting intestinal calcium and phosphorus absorption. *J Bone Miner Res*. 2003; 18: 1217-1226.
35. Boland BB, Rhodes CJ, Grimsby JS. The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. *Mol Metab*. 2017; 6: 958-973.
36. Collins KH, Herzog W, MacDonald GZ, Reimer RA, Rios JL, Smith IC, et al. Obesity, metabolic syndrome, and musculoskeletal disease: common inflammatory pathways suggest a central role for loss of muscle integrity. *Front Physiol*. 2018; 9: 112.
37. Thomas SS, Zhang L, Mitch WE. Molecular mechanisms of insulin resistance in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2015; 88: 1233-1239.
38. Janesick A, Blumberg B. Obesogens, stem cells and the developmental programming of obesity. *Int J Androl*. 2012; 35: 437-448.
39. Symonds ME, Gardner DS. Experimental evidence for early nutritional programming of later health in animals. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006; 9: 278-283.
40. Turcotte LP, Fisher JS. Skeletal muscle insulin resistance: roles of fatty acid metabolism and exercise. *Phys Ther*. 2008; 88: 1279-1296.
41. Siddiqui SM, Chang E, Li J, Burlage C, Zou M, Buhman KK, et al. Dietary intervention with vitamin D, calcium, and whey protein reduced fat mass and increased lean mass in rats. *Nutr Res*. 2008; 28: 783-790.
42. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1793-1801.
43. Kemi VE, Kärkkäinen MU, Rita HJ, Laaksonen MM, Outila TA, Lamberg-Allardt CJ. Low calcium: phosphorus ratio in habitual diets affects serum parathyroid hormone concentration and calcium metabolism in healthy women with adequate calcium intake. *Br J Nutr*. 2010; 103: 561-568.
44. Heaney RP, Nordin BEC. Calcium effects on phosphorus absorption: implications for the prevention and co-therapy of osteoporosis. *J Am Coll Nutr*. 2002; 21: 239-244.
45. Haap M, Heller E, Thamer C, Tschirter O, Stefan N, Fritsche A. Association of serum phosphate levels with glucose tolerance, insulin sensitivity and insulin secretion in non-diabetic subjects. *Eur J Clin Nutr*. 2006; 60: 734-739.
46. Khattab M, Abi-Rashed C, Ghattas H, Hlais S, Obeid O. Phosphorus ingestion improves oral glucose tolerance of healthy male subjects: a crossover experiment. *Nutr J*. 2015; 14: 112.
47. Wensheng Xie, Tran TI, Finegood Dt, Van De Werve G. Dietary Pi deprivation in rats affects liver CAMP, glycogen, key steps of gluconeogenesis and glucose production. *Biochem J*. 2000; 352: 227-232.
48. Park W, Kim BS, Lee JE, Huh JK, Kim BJ, Sung KC, et al. Serum phosphate levels and the risk of cardiovascular disease and metabolic syndrome: a double-edged sword. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009; 83: 119-125.
49. Ditzel J, Lervang HH. Disturbance of inorganic phosphate metabolism in diabetes mellitus: temporary therapeutic intervention trials. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2009; 2: 173-177.
50. Tanaka S, Yamamoto H, Nakahashi O, Kagawa T, Ishiguro M, Masuda M, et al. Dietary phosphate restriction induces hepatic lipid accumulation through dysregulation of cholesterol metabolism in mice. *Nutr Res*. 2013; 33: 586-593.
51. McCarty MF, Thomas CA. PTH excess may promote weight gain by impeding catecholamine-induced lipolysis-implications for the impact of calcium, vitamin D, and alcohol on body weight. *Med Hypotheses*. 2003; 61: 535-542.
52. Taylor W, Khaleeli AA. Coincident diabetes mellitus and primary hyperparathyroidism. *Diabetes Metab Res Rev*. 2001; 17: 175-180.
53. Ayoub JJ, Samra MJA, Hlais SA, Bassil MS, Obeid OA. Effect of phosphorus supplementation on weight gain and waist circumference of overweight/obese adults: a randomized clinical trial. *Nutr Diabetes*. 2015; 5: e189.
54. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001; 414: 799.
55. Abuduli M, Ohminami H, Otani T, Kubo H, Ueda H, Kawai Y, et al. Effects of dietary phosphate on glucose and lipid metabolism. *Am J Physiol-Endocrinol Metab*. 2016; 310: E526-E538.



ACTUALIZACIONES / Review

ROL DE LA OSTEOCALCINA MÁS ALLÁ DEL HUESO

Marina Soledad Bonanno, Mariana Rey Saravia, Mariana Seijo, Susana Noemí Zeni*

Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET. Hospital de Clínicas José de San Martín, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), Argentina.

Resumen

Los hallazgos osteológicos se intensificaron en los últimos años. Se demostró que el esqueleto se comporta, además de sus funciones clásicas, como un órgano de secreción endocrina que sintetiza al menos dos hormonas: el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF-23) y la osteocalcina (Ocn).

La Ocn es un péptido pequeño que contiene 3 residuos de ácido glutámico. Estos residuos se carboxilan postraduccionalmente, quedando retenida en la matriz ósea. La forma decarboxilada en el primer residuo de ácido glutámico (GluOcn) fue reportada por poseer efectos biológicos; la resorción ósea es el mecanismo clave para su bioactivación.

La presente revisión se centra en los conocimientos actuales sobre la función hormonal de la Ocn. A la fecha se reporta que la Ocn regularía el metabolismo energético aumentando la proliferación de células β pancreáticas, y la secreción de insulina y de adiponec-

tina. Sobre el músculo esquelético actuaría favoreciendo la absorción y el catabolismo de nutrientes. La función reproductiva masculina estaría regulada mediante el estímulo a las células de Leydig para sintetizar testosterona; en el desarrollo cerebral y la cognición, la Ocn aumentaría la síntesis de neurotransmisores monoaminados y disminuiría el neurotransmisor inhibitorio GABA.

Si bien son indispensables mayores evidencias para dilucidar los mecanismos reguladores por medio de los cuales actuaría la Ocn, los resultados enumerados en los distintos estudios experimentales establecen la importancia de este novedoso integrante molecular. Dilucidar su rol dentro de estos procesos interrelacionados en seres humanos abriría la posibilidad de utilizar a la Ocn en el tratamiento de enfermedades endocrino-metabólicas.

Palabras clave: osteocalcina, metabolismo energético, fertilidad masculina, desarrollo cerebral.

*Correspondencia: Prof. Dra. Susana Noemí Zeni, Investigador Principal CONICET. Av. Córdoba 2351-8° piso (1120), CABA, Argentina. Tel-Fax: 541159508972.
E-mail: snzeni@hotmail.com

Abstract

ROLE OF OSTEOCALCIN BEYOND THE BONE

Osteological findings have intensified in recent years. The skeleton behaves as an endocrine secretion organ that synthesizes at least two hormones: osteocalcin (Ocn) and fibroblast growth factor 23 (FGF-23).

Ocn is a small peptide that contains 3 glutamic acid residues. After translation, these residues are carboxylated to make possible its retention into the bone matrix. Decarboxylation on the first glutamic acid residue (GluOcn) has been reported to have biological effects. Bone resorption is the key mechanism for its bioactivation.

This review focuses on current knowledge on Ocn hormonal function. It has been reported that Ocn regulates energy metabolism by increasing the proliferation of pancreatic

β cells, and the secretion of insulin and adiponectin. On the skeletal muscle, it may act by favoring the absorption and catabolism of nutrients. Male reproductive function might be regulated by stimulating Leydig cells to synthesize testosterone. Regarding brain development and cognition, Ocn would increase monoamine neurotransmitters synthesis and decrease inhibitory neurotransmitter GABA.

Although more evidence is needed to elucidate the regulatory mechanisms of Ocn, different experimental studies establish the importance of this novel molecular mediator. Clarifying its role within interrelated processes in humans, might open the possibility of using Ocn in different treatments of endocrine-metabolic diseases.

Key words: osteocalcin, energetic metabolism, male fertility, brain development.

Introducción

Históricamente, los primeros descubrimientos realizados en el campo de los estudios sobre el hueso fueron llevados a cabo por patólogos quienes, a través de la observación de la morfología de las células óseas, inferían su función y su regulación.¹ Consideraban el esqueleto como una estructura estática cuya única función radicaba en proteger a los órganos internos, proporcionar sostén al organismo y soportar la locomoción.² Como, al mismo tiempo, es el principal responsable del mantenimiento de la homeostasis fosfocálcica, se determinó que cumplía además funciones homeostáticas.

La osteocalcina (Ocn) es la proteína no colágena más abundante de la matriz extracelular (MEC) del hueso. La expresión de Ocn coincide con la iniciación de la mineralización de la matriz en el hueso embrionario; por ello, en esos tiempos, se infirió que Ocn participaba en el proceso de mineralización de la MEC ósea.³

La Ocn es un péptido pequeño, altamente conservado,⁴ de 49 aminoácidos en los seres humanos (46 en ratones),⁵ que contiene 3 residuos de ácido glutámico en las posiciones 17, 21 y 24.^{2,6} La proteína nativa sufre pequeñas modificaciones postraduccionales: la escisión de un pre-pro-péptido⁷ y la carboxilación vitamina K-dependiente de sus residuos de ácido glutámico a ácido carboxiglutámico. Dichos residuos carboxilados aumentan la afinidad de la Ocn por el calcio (Ca) de los cristales de hidroxiapatita quedando así retenida en la MEC ósea donde constituye el 15% del total de las proteínas no colágenas^{2,8,9}. Para demostrar la función de Ocn en el proceso de mineralización, se les administró a roedores warfarina, inhibidor del mecanismo de carboxilación vitamina K-dependiente, observándose hipermineralización del hueso y cierre prematuro del cartílago de crecimiento. Sobre esa base se descartó su participación en el proceso de mineralización y su función permaneció así desconocida por muchos años.



A principios de la década de 1990, los hallazgos osteológicos se intensificaron gracias al advenimiento de las técnicas de ADN recombinante, que permitieron la creación de modelos animales genéticamente modificados.¹ Es así como, durante los últimos 20 años, se demostró que, además de sus funciones clásicas, el esqueleto se comporta como un órgano de secreción endocrina que sintetiza al menos dos hormonas: el Factor de Crecimiento de Fibroblastos 23 (FGF-23), liberado por osteocitos a la circulación y que, actuando sobre los riñones, regula el metabolismo del fósforo,¹⁰ y la Ocn producida principalmente por osteoblastos (OBL), que le permitiría al esqueleto tener un rol crítico más allá del esqueleto.

Esta revisión se centra en los conocimientos actuales sobre la función de la Ocn en los procesos biológicos donde participa, analizando su posible relevancia en el ser humano tanto en condiciones normales como patológicas y su potencial acción terapéutica.

Fisiología

La actividad de las células óseas permite el crecimiento del hueso durante la niñez (modelado) y su mantenimiento en la edad adulta (remodelado). El desarrollo de ambos procesos se produce en dos etapas: formación ejercida por la actividad de osteoblastos (OBL) y resorción ejercida por osteoclastos (OCL).⁸

El proceso de diferenciación del OBL depende de la acción secuencial de una serie de citoquinas, incluyendo la vía canónica de las Wnt y la de los Hedgehogs.^{1,11} El OBL es una célula con intensa actividad sintética que secreta una gran cantidad de proteínas, como el colágeno tipo I y una serie de proteínas no colágenas, entre las que se incluye la Ocn.

La diferenciación de los precursores de OCL necesita de la señalización de dos citoquinas: el factor estimulante de colonias 1 (M-CSF) y el ligando del receptor activador

para el factor nuclear KB (RANKL), ambas secretadas por células estromales y OBL. Los precursores osteoclasticos expresan en su membrana receptores de ambas citoquinas: c-Fms y RANK, respectivamente. La señal RANK-RANKL inicia una cascada intracelular, dependiente de quinasas ERK, que induce la expresión de genes característicos del OCL como fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), cathepsina K (CATK), receptor de calcitonina y β 3-integrina.¹² El inhibidor fisiológico de RANKL es la osteoprotegerina (OPG), también secretada por células estromales y OBL. La OPG actúa como un receptor soluble señuelo para RANKL, bloqueando su unión a RANK y, en consecuencia, la resorción ósea.²

La Ocn es sintetizada casi exclusivamente por OBL y, en muy pequeña cantidad, por odontoblastos y condrocitos hipertróficos. En los seres humanos se encuentra codificada por el gen *Bglap* localizado en el cromosoma 1 localización q25 (GenBank ID 632), y su síntesis está regulada por la vitamina D y el factor de transcripción Runx2.^{13,14}

El ambiente ácido que se genera durante la resorción osteoclastica promueve la decarboxilación de sus residuos carboxilados, produciendo la pérdida de afinidad por el Ca y su liberación a la circulación sistémica. En plasma, la Ocn existe en varias formas: totalmente carboxilada, parcialmente carboxilada y completamente descarboxilada;^{2,5} la forma descarboxilada en el primer residuo de ácido glutámico posee efectos biológicos (GluOcn);¹⁵ siendo la resorción ósea el mecanismo clave para su bioactivación.⁸

Hormona del osteoblasto

Las primeras evidencias de la función hormonal de Ocn fueron documentadas por el grupo de Karsenty y col. en 1996.¹⁶ Para sus ensayos utilizaron ratones modificados genéticamente, carentes del gen que codifica para la Ocn (Ocn^{-/-}),¹⁶ modelo que presenta la pérdida de función de la proteína. Estos ratones

son normales al nacimiento y no presentan anomalías en su patrón esquelético ni en la formación ectópica de huesos;¹⁶ sin embargo, a lo largo del tiempo, desarrollan un remodelado anormal con incremento de la masa ósea.¹⁶ Sobre esta base se descartó la función de la Ocn en el proceso de mineralización¹⁶ y se planteó la idea de que cumpliría roles en otros órganos blanco, fuera del hueso.¹⁶ Los ratones *Ocn*^{-/-} presentan, además, dos fenotipos inesperados. El fenotipo más notorio corresponde al gran aumento de la grasa abdominal y, el segundo, más subjetivo, es que se reproducen menos y en forma tardía.¹⁷ Estas alteraciones sugirieron que la Ocn influiría, al menos, en dos procesos fisiológicos que no afectan directamente al esqueleto: acumulación de grasa ventral y reproducción.¹⁷

Al reanalizar el comportamiento de la molécula de Ocn observaron que presentaba ciertas características hormonales. En este sentido, como la mayoría de las hormonas peptídicas, la Ocn se sintetiza como una pre-molécula que se escinde secuencialmente en OBL, de modo que solo se secreta la proteína madura. Al igual que muchas hormonas, sus niveles siguen un ritmo circadiano y, en la circulación sistémica, se encuentran en el orden de los ng/ml, en todas las especies evaluadas. Asimismo, como ocurre con otras proteínas carboxiladas, su bioactivación se produce a través del proceso de decarboxilación.¹⁷

Con la evidencia acumulada por los ratones *Ocn*^{-/-} y sus características bioquímicas se postuló que la Ocn actuaría como una hormona peptídica secretada por OBL.¹⁷ El descubrimiento de la función hormonal de la Ocn amplió significativamente el campo de la biología ósea, debido a la serie de procesos fisiológicos en los cuales dicha proteína participa. A la fecha se ha demostrado que está involucrada en la regulación del metabolismo energético,⁸ la fertilidad masculina,¹⁸ la función muscular, el desarrollo cerebral y la cognición¹⁹ (Figura 1).

Osteocalcina en la regulación de la homeostasis de la glucosa

Durante el proceso de remodelado, la actividad de los OCL y OBL requiere un elevado suministro de energía.⁸ Para ello, ambos tipos de células envían señales acerca de sus necesidades energéticas a distintos sitios homeostáticos con el fin de que aporten su principal sustrato energético, la glucosa. Ambas células óseas presentan transportadores específicos de glucosa, entre los que se encuentra el transportador GLUT-4, dependiente de insulina (Ins). A nivel celular, el ATP generado por el metabolismo intermedio suministrará la energía y los esqueletos hidrocarbonados necesarios para la actividad biosintética de las células óseas. Otra fuente energética la constituyen los ácidos grasos libres (AGL) provenientes de la hidrólisis de los triglicéridos acumulados en el tejido adiposo. Las células óseas también cuentan con mecanismos de transporte para AGL. Los niveles circulantes de ambos sustratos energéticos se encuentran regulados por distintas hormonas, entre las que se incluyen la Ins y leptina. Estas moléculas, al interactuar con sus receptores celulares específicos, afectan la expresión de genes que controlan los procesos bioenergéticos a nivel celular. La acción regulatoria ejercida por Ins y leptina permite ajustar la producción y el depósito de energía entre diferentes tejidos y, al mismo tiempo, informa el estado energético global a los distintos centros cerebrales que controlan la saciedad y el gasto energético.

Debido a que la mayoría de las reacciones endocrinas se encuentran reguladas recíprocamente, los científicos hipotizaron que tal vez las células óseas regulen el suministro de energía que requieren para cubrir sus necesidades metabólicas.⁸ Las primeras evidencias respecto de la regulación del metabolismo de la glucosa y la grasa corporal por Ocn fueron suministradas por los ratones *Ocn*^{-/-}.¹⁶ Estos acumulan una cantidad anormalmente alta de grasa visceral y presentan alteraciones seve-

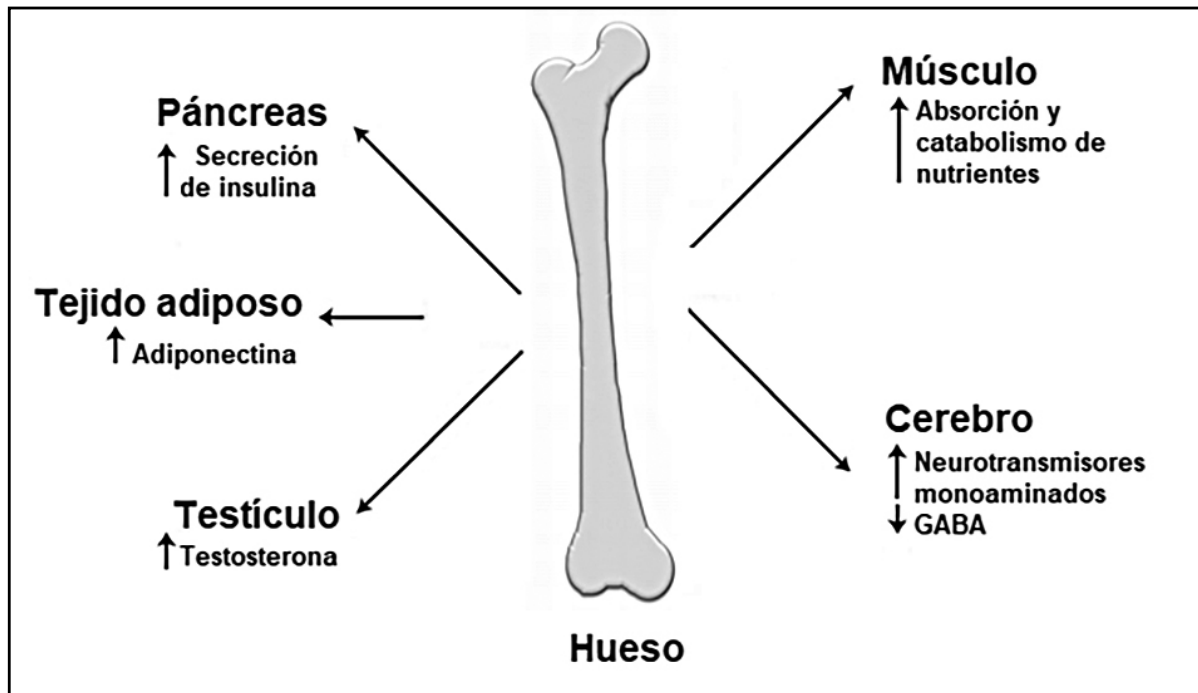


Figura 1. El esqueleto como órgano endocrino. La regulación endocrina ejercida por el tejido óseo sobre el metabolismo energético, la reproducción masculina y el desarrollo cerebral y la cognición estaría mediada por Ocn, proteína secretada específicamente por los osteoblastos (OBL). La Ocn regularía el metabolismo energético aumentando la secreción de insulina (Ins) y favoreciendo la proliferación de células β pancreáticas. En el tejido adiposo incrementaría la producción de adiponectina, hormona sensibilizaste a Ins. Sobre el músculo esquelético actuaría favoreciendo la absorción y catabolismo de glucosa y ácidos grasos libres (AGL) por las miofibras. La función reproductiva masculina estaría regulada mediante el estímulo a las células de Leydig para sintetizar testosterona. Con respecto al desarrollo cerebral y la cognición, la Ocn aumentaría la síntesis de neurotransmisores monoaminados (serotonina, dopanima y noradrenalina) y disminuiría el neurotransmisor inhibidor ácido gamma-aminobutírico (GABA).

ras en el metabolismo de la glucosa (hiperglucemia, hipoinsulinemia, bajo número de células β pancreáticas, disminución del gasto energético y niveles séricos reducidos de adiponectina).^{8,4}

El receptor huérfano GPRC6A, miembro de la familia de proteínas de membrana asociadas a proteína G, fue reportado como el receptor para la GluOcn.^{18,20} Los modelos murinos carentes del gen que codifica para este receptor (GPRC6A^{-/-}) presentan un fenotipo similar a los desórdenes metabólicos propios de los ratones Ocn^{-/-}.⁵ La señal GluOcn-

GPRC6A activa quinasas ERK iniciando una cascada de señalización intracelular, tanto en células β pancreáticas, como en adipocitos y células de Leydig.² La señalización de GluOcn en las células β pancreáticas aumenta la expresión de los genes *Ins1* e *Ins2* que codifican para pre-pro-Ins. Asimismo, dicha señalización activa los genes de las quinasas dependientes de ciclinas *Cdk4*, *Ccnd1* y *Ccnd2* que regulan el ciclo celular, aumentando la proliferación de las células β y, en consecuencia, la producción de Ins,^{2,8} no solo en adultos sino también durante el desarrollo

embrionario.² La señalización de GluOcn en adipocitos induce la acumulación de AMPc y la consecuente activación de la proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc (CREB). Este hecho activa al receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ) e induce la expresión del gen *Adipoq*, que codifica para la adiponectina.¹¹ En conjunto, estos resultados demuestran que la señal GluOcn-GPRC6A actuaría directamente sobre los islotes pancreáticos aumentando la proliferación de las células β , la expresión y secreción de Ins,² mejorando el gasto de energía y, en los adipocitos, aumentando la expresión de adiponectina, hormona sensibilizante de la Ins.^{4,21}

Los OBL expresan receptores de membrana funcionales para Ins (RIIns)² cuya señal estimula la síntesis de marcadores anabólicos óseos, modula la síntesis de colágeno, la producción de fosfatasa alcalina (FAL), la capacidad de respuesta a la hormona paratiroidea (PTHrP) y la captación de glucosa.⁵ El RIIns se encuentra regulado negativamente por una proteína osteotesticular tirosina fosfatasa (OST-PTP), codificada por el gen *Esp* (*Ptprv*) que se expresa en células madre embrionarias, células de Sertoli y en precursores de OBL.⁵ La activación del gen *Esp* estimula la producción de OST-PTP y, con ello, la inactivación rápida del RIIns, lo que permite controlar la homeostasis de la glucosa evitando el desarrollo de hipoglucemia.¹² El ratón *Esp*^{-/-} presenta tanto expresión como niveles séricos de Ocn normales pero, al mismo tiempo, contiene altas concentraciones de GluOcn.⁵ Esto sugirió que la señal Ins-RIIns manifestaría un comportamiento dual: actuando directamente sobre OBL⁵ regulando la expresión de Ocn, e indirectamente sobre OCL regulando la bioactivación y liberación a la circulación sistémica de la GluOcn.⁸

Años más tarde se determinó que, a nivel molecular, la señal Ins-RIIns en OBL bloquea la supresión que el factor nuclear Twist2 ejerce sobre Runx2, favoreciendo la diferencia-

ción del pre-OBL y la producción de Ocn.⁸ Asimismo, dicha señal regula la producción de Ocn y su activación a través de FOXO1 y ATF4.⁴ En ausencia de la señal Ins-RIIns, FOXO1 induce la expresión de los genes *Esp* y *Opg* e interactúa físicamente con Runx2 impidiendo su unión al sitio del promotor del gen *Bglap*.¹¹ La activación del gen *Esp* induce la fosforilación del RIIns y la activación del gen *Opg* aumenta la producción de OPG. Como resultado de esto último, la relación RANKL/OPG disminuye, y en consecuencia la proliferación y diferenciación de los precursores osteoclastos, inhibiendo la resorción ósea y, al mismo tiempo, reduciendo la bioactivación de la Ocn.²² ATF4 induce la expresión del gen *Esp* actuando en forma conjunta con FOXO1.¹¹ En presencia de la señal Ins-RIIns, FOXO1 es fosforilado, lo que reduce su habilidad para activar a los promotores de los genes *Esp* y *Opg* e inhibir a Runx2.¹¹ Este hecho aumenta en forma directa la expresión de Ocn por los OBL, pero al mismo tiempo, inhibe la producción de OPG, aumentando la relación RANKL/OPG. Este aumento relativo de RANKL favorece la actividad osteoclastica y el incremento de la expresión de la proteasa CATK y del componente de la bomba de protones Tcigr1. El aumento de este último componente facilita el transporte de protones a la laguna de resorción osteoclastica e incrementa la acidificación de la MEC ósea. La disminución del pH, ~4,5, facilita la decarboxilación de Ocn y su liberación a la circulación sistémica.¹¹ En consecuencia, se crea una retroalimentación donde la señal Ins-RIIns en OBL promueve su diferenciación celular, la producción de FAL y RANKL y, al mismo tiempo, favorece la producción de GluOcn por el OCL^{2,8} y la señal GluOcn-GPR6A en las células β pancreáticas promueve su proliferación y la producción y secreción de Ins.

Esta retroalimentación Ins-GluOcn se ve contrarrestada por la acción de la leptina.⁸ La leptina es una hormona pleiotrópica, codificada por el gen *Ob*, secretada y liberada a la cir-



culación sistémica, principalmente, por el tejido adiposo blanco,²² implicada en el control del metabolismo energético que participaría también de la modulación de la masa ósea. A nivel del OBL regula el metabolismo de la glucosa inhibiendo la secreción de Ins,²³ asimismo es un regulador negativo de la formación y la resorción ósea, es decir, de la producción y bioactivación de Ocn.⁸

En la actualidad no se encuentra completamente dilucidado el mecanismo molecular por el cual la leptina regula la actividad del OCL y del OBL, pero se reporta que tendría una acción dual. Por un lado, ensayos *in vitro* demostraron que podría ejercer una acción directa sobre los OBL estimulando su proliferación e inhibiendo el reclutamiento de OCL dependientes de OBL²⁴. Pero la mayoría de los estudios *in vivo* demostraron que podría ejercer efectos indirectos actuando a nivel central sobre el tono simpático.²² En este sentido, el grupo de Karsenty²⁵ reportó por primera vez la vía endocrina central de regulación de la leptina sobre la masa ósea, hacia el año 2000. La leptina atraviesa la membrana hematoencefálica, uniéndose a su receptor (RLep) asociado a la quinasa de Janus 2 (Jak2) expresado en las neuronas productoras de serotonina del núcleo de Rafé en el tronco encefálico.²⁶ La señal leptina-RLep activa Jak2, que fosforila residuos del RLep, en particular el residuo tirosina 985; este disminuye la expresión del gen que codifica para la enzima triptófano hidroxilasa 2 (Tph2),²⁶ enzima que cataliza el primer paso de la biosíntesis de serotonina. Las neuronas de los núcleos de Rafé se proyectan hacia los núcleos hipotalámicos ventromediales.²⁶ Allí, la señal leptina-RLep, activan a CREB, induciendo la expresión de genes involucrados en la síntesis de catecolaminas,²⁶ en particular aumentan la secreción de norepinefrina²⁴ activando el sistema nervioso simpático (SNS).^{8,23} Esta acción es controlada por el supresor de la señal de citoquinas 3 (Socs3) que, al unirse a Jak2, evita la fosforilación del RLep. Las células óseas se

encuentran invadas por neuronas del SNS y tienen receptores β_2 adrenérgicos (Adr β_2). El aumento de la secreción de norepinefrina actúa sobre los receptores Adr β_2 inhibiendo la proliferación y diferenciación osteoblástica y suprimiendo la formación ósea.⁸

La resorción ósea, y por lo tanto la descarboxilación y la actividad de la Ocn, están reguladas positivamente por la señalización de Ins en los OBL. En contraste, la leptina, a través de la estimulación central del SNS, inhibe indirectamente la activación de Ocn (Figura 2).⁸

La retroalimentación que se genera entre GluOcn e Ins en modelos murinos puede observarse también en seres humanos. Los niveles de GluOcn sérica correlacionan negativamente con el índice de masa corporal (IMC), la cantidad de masa grasa y los niveles de glucosa en plasma,⁸ la obesidad y el HOMA-IR, y positivamente con los niveles de adiponectina e Ins.² Los adultos con síndrome metabólico tienen niveles séricos menores de Ocn y GluOcn en comparación con aquellos sin síndrome metabólico, independientemente del IMC.²⁷ Además, los individuos obesos también presentan una disminución de hasta un 40% en los niveles circulantes de Ocn y GluOcn, en comparación con individuos delgados.²⁷

Osteocalcina, músculo y ejercicio

El músculo esquelético desempeña un rol dominante en el control del metabolismo energético sistémico y en la sensibilidad a Ins.¹⁷ La mayoría de la glucosa de la dieta se incorpora al músculo esquelético en respuesta a la Ins, almacenando el exceso de glucosa en las miofibras como glucógeno muscular.¹⁷ El músculo emite señales para modular la homeostasis de la energía sistémica, a través de la expresión y liberación de péptidos biológicamente activos que actúan como factores autocrinos, paracrinos o endocrinos.¹⁷ Entre estas miocinas podemos citar a IL-4, IL-6, miostatina, IGF-1, FGF-2, etcétera.²⁸

En respuesta al ejercicio, la función muscular aumenta significativamente, lo que re-

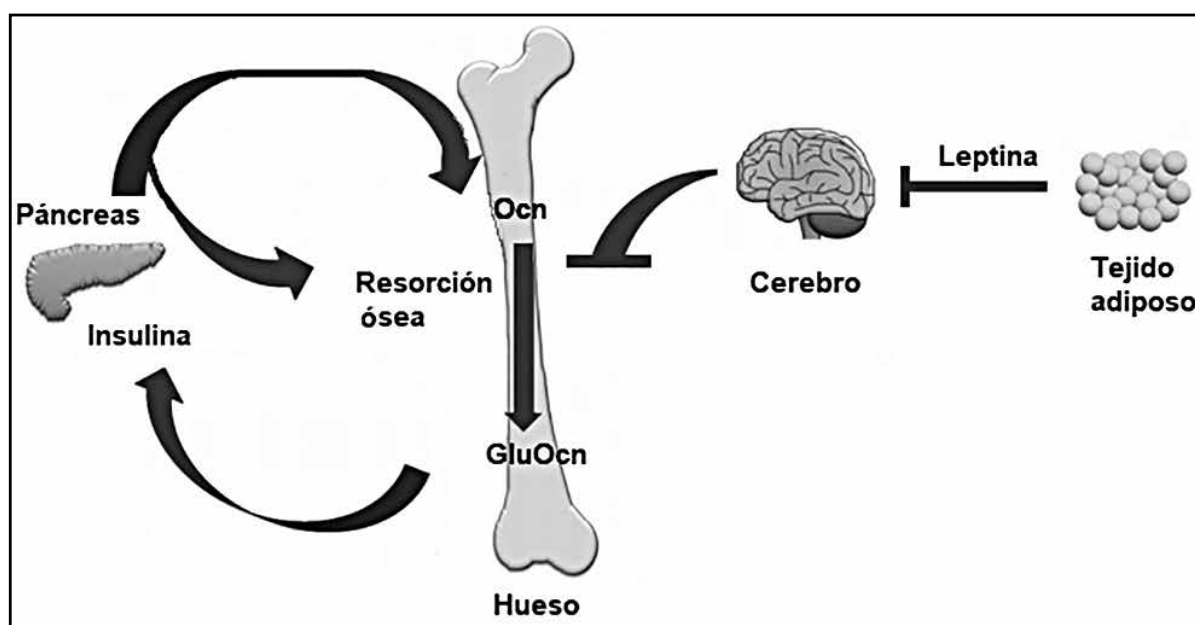


Figura 2. Representación esquemática de la comunicación entre el metabolismo óseo y el energético. La Ocn es secretada por OBL y es retenida en la MEC ósea. Se activa y libera por descarboxilación durante la resorción ósea. GluOcn actuaría sobre las células pancreáticas aumentando su proliferación y potenciando la producción y liberación de Ins. La Ins estimula la producción de Ocn y RANKL por OBL, favoreciendo la actividad osteoclastica y, en consecuencia, la resorción ósea y la bioactivación de Ocn, liberándola a circulación sistémica. La leptina secretada por los adipocitos, a través de la señalización neuronal del tronco encefálico inhibe la producción de serotonina cerebral, con lo cual aumenta el tono simpático. Este último es un regulador negativo de la resorción ósea al inhibir la activación de Ocn.

quiere aumentar la captación y el catabolismo de glucosa y AGL.^{29,30} Sin embargo, durante la actividad física, los niveles circulantes de Ins disminuyen y, como además esta molécula no participa en el catabolismo de la glucosa,^{29,31} se postuló que otras moléculas u hormonas regularían el aporte energético durante el ejercicio.³⁰

La capacidad del hueso para detectar fuerzas mecánicas, la proximidad física con el músculo y el hecho de que tanto la capacidad para realizar ejercicios como la masa ósea disminuyen al mismo tiempo, sugieren una interrelación entre el hueso y el músculo.³⁰ Varios estudios previos establecen la existencia de tal interrelación. En este sen-

tido, el grupo de Karsenty demostró que los niveles séricos de Ocn disminuyen bruscamente en la mitad de la vida de los vertebrados,²⁹ concordante con la disminución en la masa muscular y en la capacidad para realizar ejercicio.³⁰ Asimismo, el ejercicio aumenta los niveles de Ocn y GluOcn sérica tanto en hombres como en mujeres.^{30,27} Al estudiar el motivo del aumento en los niveles séricos de GluOcn se observó que no se producen en la misma magnitud en ratones adultos y en ratones jóvenes.²⁹ Estos hallazgos sugieren que la Ocn sería la molécula que actuaría como nexo entre el músculo y el hueso, regulando el metabolismo de la glucosa, fuente principal de energía para los músculos durante el ejercicio.



Mediante el uso de los ratones GPRC6A^{-/-} específicamente en las miofibras se demostró que la señalización de GluOcn es necesaria para aumentar la capacidad de realizar ejercicio. En este sentido, GluOcn favorece la captación de glucosa y AGL (función que comparte con la Ins) pero, al mismo tiempo, potencia el catabolismo de ambos nutrientes para generar ATP.³² El mecanismo implicado presenta tres pasos: la señalización de GluOcn en las miofibras favorece, primeramente, la descomposición del glucógeno.²⁹ En segundo lugar, promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la membrana plasmática y, por lo tanto, mejora la captación de glucosa y la glucólisis.²⁹ Finalmente, aumenta la captación de AGL y su catabolismo,²⁹ aumentando la expresión de acil-CoA deshidrogenasa, enzima clave de la ruta metabólica de oxidación de AGLs.⁸ A través de estas tres funciones combinadas, la señalización de GluOcn en las miofibras promueve la actividad del ciclo de Krebs y la producción de ATP, necesario para aumentar la función muscular²⁹ (Figura 3).

La Ocn también favorece la función muscular durante el ejercicio aumentando la expresión y liberación de IL-6.²⁹ Esta miocina promueve la utilización de nutrientes por las fibras musculares esqueléticas, la producción de glucosa en el hígado y la lipólisis en el tejido adiposo.¹⁵ Asimismo, la IL-6 actuaría sobre las células de linaje osteoblástico promoviendo la actividad resorptiva del OCL, y la consiguiente bioactivación de la Ocn¹⁵ (véase Figura 3).

La administración de GluOcn a ratones jóvenes y adultos, tanto en forma aguda (justo antes de un ejercicio de resistencia) como en forma crónica durante un mes, indujeron una ganancia sorprendentemente alta en la capacidad para realizar ejercicios, en ambos ratones. La señalización de GluOC indujo una ganancia de masa muscular en los ratones jóvenes mientras que, en los adultos, mantuvo la masa muscular promoviendo la síntesis de

proteínas en las células musculares, sin afectar su degradación.³²

Si bien se requieren mayores evidencias para dilucidar el mecanismo de regulación de la actividad muscular por Ocn, estos resultados sugieren que Ocn sería necesaria y suficiente para prevenir la pérdida muscular relacionada con la edad. Este hecho colocaría a la Ocn y su receptor como sitios terapéuticos promisorios para combatir la disminución de la fuerza muscular relacionada con la edad o aliviar el efecto de enfermedades musculares. Considerando que el rol de la Ocn en la función muscular ha sido reportado muy recientemente, se deberían ampliar el número de estudios clínicos para obtener conclusiones definitivas sobre la aplicación terapéutica de la Ocn en la comunicación hueso-músculo.

Osteocalcina en la reproducción masculina

Durante la pubertad, el esqueleto está influenciado por hormonas sexuales que estimulan el crecimiento óseo,⁸ en ambos géneros, la caída de esteroides sexuales da lugar a la pérdida paulatina de masa ósea.³³ El grupo de Karsenty planteó la posibilidad de que la Ocn tuviera capacidad endocrina reguladora de las funciones reproductivas femeninas, debido al rol central de la leptina sobre la reproducción y el remodelado óseo, junto al efecto de retroalimentación ejercido por la Ocn.³²

Los primeros ensayos consistieron en añadir sobrenadante de cultivos de OBL murinos productores de Ocn y de OBL Ocn^{-/-} a pequeños trozos de tejido ovárico, utilizando como control negativo el tejido testicular y cultivos de células de Leydig, productoras de testosterona (To).^{32,34} Los resultados fueron inesperados, ya que demostraron que la GluOcn incrementaba la producción de To por las células de Leydig en cultivo y en tejido testicular,³³ favoreciendo la expresión de los genes que codifican las enzimas necesarias para la biosíntesis de To.¹⁸ Esta capacidad era única de los OBL, ya que ningún otro sobrenadante de cultivos de células mesenquimales lograba aumentar los niveles de To.³²

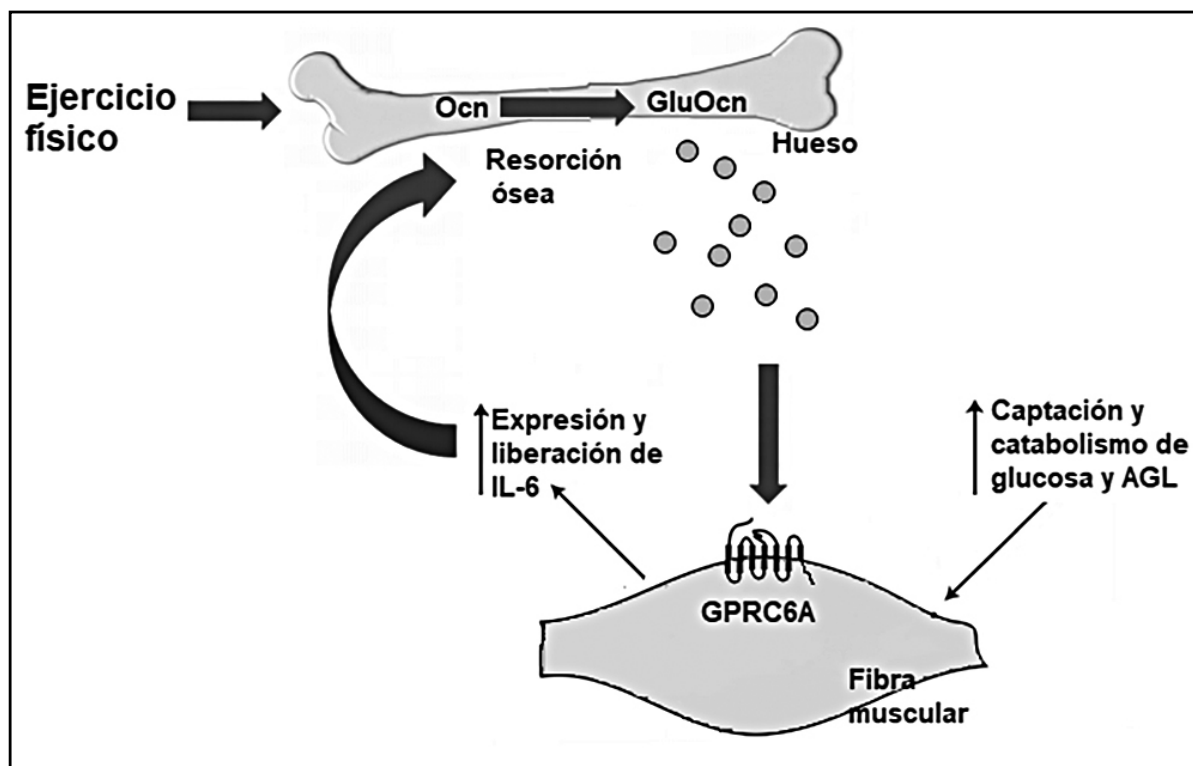


Figura 3. IL-6 favorece la producción de osteocalcina decarboxilada durante el ejercicio. Representación esquemática que ilustra cómo la señalización de Ocn en miofibras y la IL-6 derivada de los músculos esqueléticos cooperan para favorecer la adaptación al ejercicio.

Incluso ninguno de los sobrenadantes, incluido el cultivo de OBL, alteraban la producción de hormonas sexuales en tejido ovárico, debido a que la GluOcn no tiene efecto sobre la expresión del gen *Cyp19* que codifica para las enzimas capaces de convertir la To en estradiol.^{17,18,34} Más adelante se confirmó que el receptor GPRC6A no se expresa en las células foliculares de los ovarios, tanto en ratones como en seres humanos, demostrando que la señal de Ocn solo afecta la esteroidogénesis testicular.⁶

Diversos ensayos *in vivo* utilizando ratones machos *Ocn*^{-/-} evidenciaron la presencia de menores niveles de To en sangre, bajos niveles de reproducción, con una disminución en el tamaño de los testículos, epidídimo y vesículas seminales, una disminución del 50% en el número de espermatozoides y pobre maduración de las células de Leydig.^{33,34} Los ratones

Ocn^{-/-} específicamente en los OBL presentan también baja producción de To, mientras que el fenotipo de los ratones *Ocn*^{-/-} en células de Leydig no presentó dicha alteración.³⁴

Sobre la base de estos ensayos se postuló que la Ocn sería una hormona ósea que actuaría en forma endocrina, junto al eje hipotálamo-pituitario-gonadal, regulando la reproducción masculina, al incrementar la maduración de las células de Leydig y la producción de To.⁶ Pero la resorción osteoclastica que lleva a la decarboxilación y consecuente bioactivación de la Ocn es el determinante fisiológico del eje páncreas-hueso-testículo.^{6,34} La señal GluOcn-GPRC6A en células de Leydig desencadena un aumento en la producción de AMPc,⁶ lo cual activa el factor de transcripción CREB, que controla la expresión de varios genes que codifican para las enzimas



de la biosíntesis de To.⁶ El gen *StAR* codifica para la proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR), crucial para el transporte de colesterol a las mitocondrias donde se inicia la biosíntesis de esteroides. El gen *Cyp11a* codifica la enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol (P450_{scc}) que cataliza el primer paso, donde se convierte el colesterol en pregnenolona. Los genes *3 β -HSD* y *Cyp17* codifican dos enzimas requeridas durante la conversión de pregnenolona a To^{18,35} (Figura 4).

Existen consistencias entre el rol de la Ocn en la reproducción de ratones y su función endocrina en seres humanos.⁶ Los niveles de Ocn y el recambio óseo se asocian con los niveles circulantes de To en la población general y en pacientes con trastornos óseos.^{6,36}

Además, también se ha demostrado que existe una asociación significativa entre los niveles de GluOcn sérica y los niveles de To durante la pubertad en hombres.^{36,37} Las evidencias genéticas se demostraron al estudiar individuos con insuficiencia testicular periférica, un síndrome bien definido en los seres humanos.^{6,38} Una mutación puntual (T>A) en el exón 4 del gen que codifica para el receptor GPRC6A da como resultado una sustitución de aminoácidos (F464Y) en una región altamente conservada de uno de los dominios transmembrana de GPRC6A. Este mecanismo impide su localización en la membrana celular, lo cual conduce a la pérdida de la función de dicho receptor.⁶ Estos sujetos poseen un fenotipo similar al fenotipo encontrado en los ratones *Ocn*^{-/-} y *GPRC6A*^{-/-}.^{18,34}

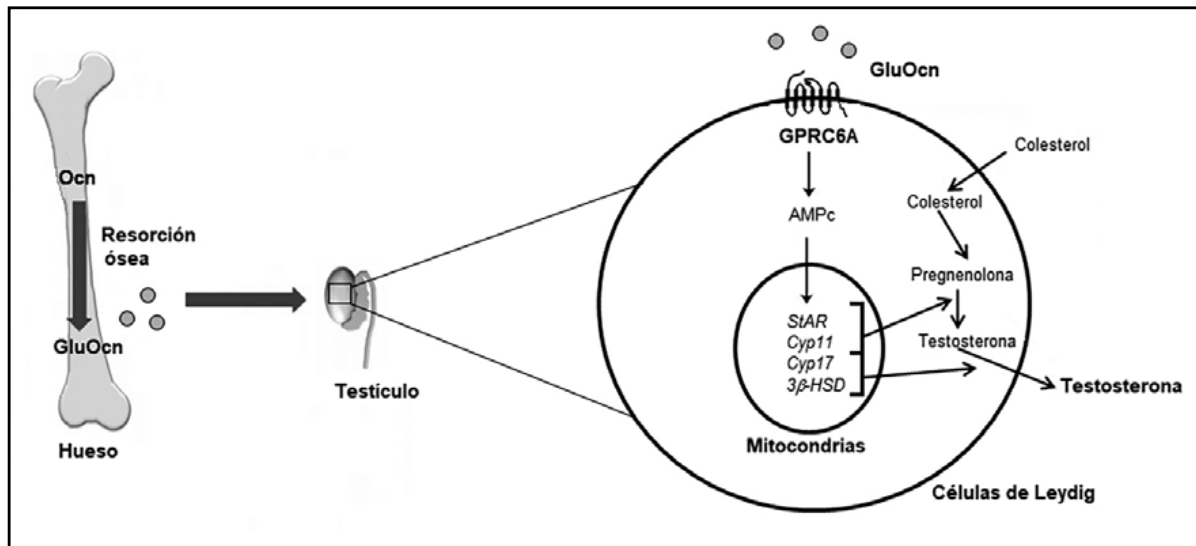


Figura 4. Acción molecular de Ocn en la regulación de la fertilidad masculina. La señal GluOcn-GPRC6A en células de Leydig favorece la producción de AMPc que conduce a la activación del factor de transcripción CREB. CREB activa la expresión de varios genes que codifican las enzimas necesarias para la biosíntesis de testosterona, como *StAR*, *Cyp11a*, *3 β -HSD* y *Cyp17*. La proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR) es crucial para el transporte de colesterol a las mitocondrias donde se inicia la biosíntesis de esteroides. *Cyp11a* codifica la enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol (P450_{scc}) que cataliza el primer paso que convierte el colesterol en pregnenolona. *3 β -HSD* y *Cyp17* son dos enzimas requeridas durante la conversión de pregnenolona a testosterona. La testosterona es una hormona esteroidea sexual necesaria para muchas de las funciones testiculares, como la supervivencia de las células germinales y la espermatogénesis.

Osteocalcina, desarrollo cerebral, memoria y cognición

Impulsados por el comportamiento pasivo de los ratones *Ocn*^{-/-32} y por el hecho de que los niveles séricos de GluOcn decaen en todos los vertebrados con la edad,³⁰ se planteó la hipótesis respecto de que la *Ocn* también regularía funciones cognitivas.

El fenotipo pasivo no se podía atribuir al hipogonadismo de estos animales ya que este comportamiento era observado tanto en ratones machos como hembras.¹⁷ Los ratones *Ocn*^{-/-} muestran un aumento de ansiedad y depresión junto a pobre habilidad de aprendizaje y memoria.^{17,32} Anatómicamente, el cerebro de los ratones *Ocn*^{-/-} es más pequeño y presenta hipocampo hipoplásico, con una disminución del 30% del área cubierta por la circunvolución dentada y carente de cuerpo calloso.¹⁹ Bioquímicamente, los niveles de todos los neurotransmisores monoaminados (serotonina, dopamina y noradrenalina) se encuentran reducidos entre 20-50%, tanto en el cerebro medio como en el tronco encefálico.¹⁹ Al mismo tiempo, la acumulación de ácido gamma-aminobutírico (GABA), neurotransmisor inhibitorio, se incrementa entre 15-30%, en las mismas áreas del cerebro.¹⁹ Estas anomalías son secundarias, al menos en parte, a eventos transcripcionales, ya que la expresión de los genes necesarios para la síntesis de los neurotransmisores monoaminados disminuye entre 15-50%, mientras que la expresión de dos genes (*Gad1* y *Gad2*) necesarios para la síntesis de GABA se incrementan casi 50% en tallo cerebral.¹⁹

Los ratones *Ocn*^{-/-}, específicamente en los OBL experimentaron las mismas anomalías moleculares y fenotípicas.³⁹ Los animales con inactivación posnatal de *Ocn* presentan un aumento significativo en el comportamiento similar a la ansiedad y a la depresión, pero el aprendizaje espacial y la memoria solo se vieron modestamente afectados.³⁹ Los ratones *GPRC6A*^{-/-}, que comparten con los ratones *Ocn*^{-/-} su fenotipo metabólico y reproduc-

tivo, no presentan anomalías conductuales, debido a que el receptor *GPRC6A* no se expresa en cerebro.³⁹

La administración de GluOcn a través de una infusión intracerebro-ventricular a ratones *Ocn*^{-/-} y a ratones añosos indujo la recuperación completa de las anomalías conductuales similares a la ansiedad y la depresión, así como también a la anormal expresión génica,^{32,39} mientras que el aprendizaje espacial y los defectos de memoria se restauraron solo parcialmente.³⁹

Si bien GluOcn no se expresa en ninguna parte del cerebro,³⁹ es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica, donde se une a las neuronas de los núcleos de Rafé dorsales en el tallo cerebral (que contiene todas las neuronas serotoninérgicas del cerebro), a las del área tegmental ventral en el mesencéfalo y a las de la sustancia negra (dos núcleos dopaminérgicos) y, también, a las de la región CA3 del hipocampo.^{17,19} En dichas zonas, la GluOcn favorece la síntesis de todos los neurotransmisores monoaminados y disminuye la síntesis de GABA (Figura 5).³² Este hecho se debe a que la señalización a través de GluOcn regula la expresión de enzimas neuronales clave para la síntesis de dichos neurotransmisores.^{32,39} Además, previene la apoptosis neuronal en el hipocampo.³²

Recientemente se identificó un segundo receptor, que transduce la señal de GluOcn en las neuronas.⁴⁰ Los ensayos genéticos, electrofisiológicos, moleculares y conductuales identifican a *GPR158*, un receptor huérfano acoplado a proteínas G y expresado en las neuronas de la región CA3 del hipocampo, como el transductor de la regulación de la GluOcn sobre la memoria dependiente del hipocampo.⁴⁰ La señal GluOcn-*GPR158* incrementa la producción de inositol 1,4,5 trifosfato (*IP₃*) y actúa a través de la señalización del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF).⁴⁰

La *Ocn* materna es necesaria para el desarrollo normal del cerebro fetal.⁴¹ Durante la

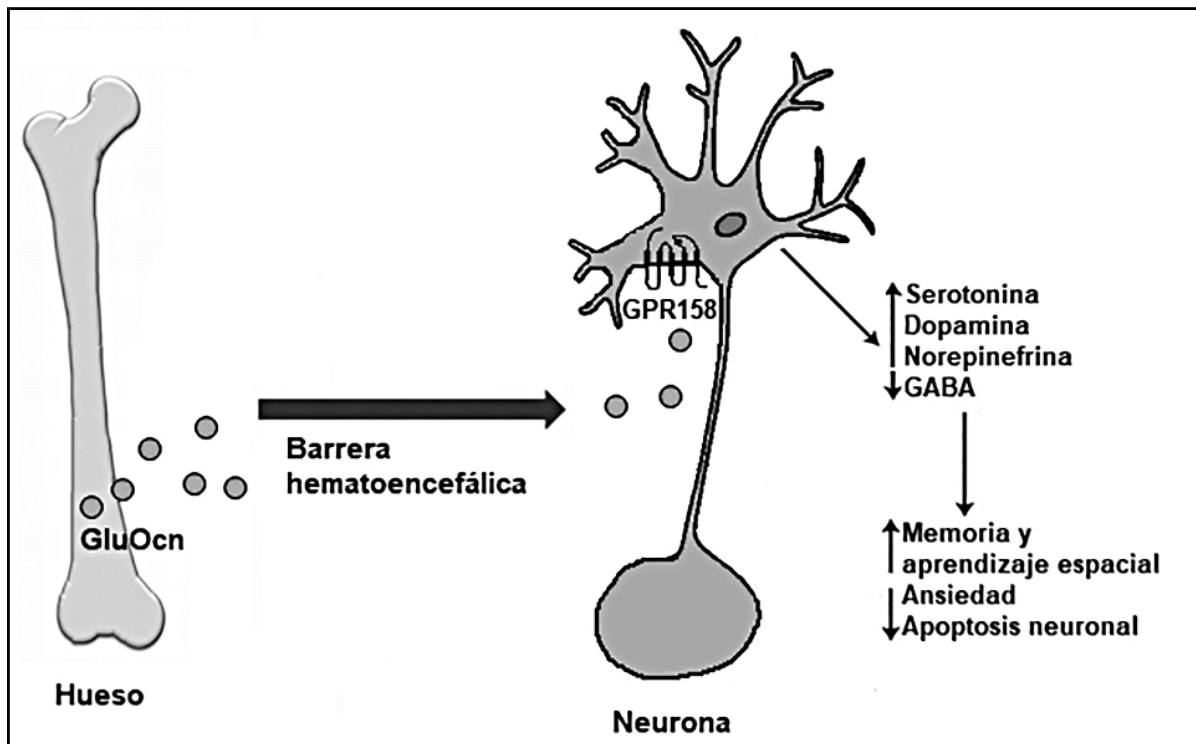


Figura 5. GluOcn promueve el aprendizaje espacial y la memoria y previene la ansiedad. GluOcn cruza la barrera hematoencefálica para acceder al cerebro, donde se une a las neuronas de la región CA3 del hipocampo, a las neuronas del área tegmental ventral (VTA) del mesencéfalo y a las neuronas del núcleo Rafé dorsal (DRN) y el núcleo Rafé medio (MRN) del tronco cerebral. Actúa, a través de eventos transcripcionales, para incrementar la síntesis de todos los neurotransmisores monoaminados (dopamina, serotonina y noradrenalina) y disminuir la síntesis de GABA, promoviendo el aprendizaje espacial y la memoria y disminuyendo la ansiedad. La señal GluOcn-GPR158 en la región CA3 del hipocampo promovería un incremento en la acumulación de IP_3 como segundo mensajero y, eventualmente, incrementa la expresión y síntesis del BDNF un mediador de la cognición.

embriogénesis, la Ocn se puede encontrar en la sangre fetal (E14.5) antes de que se exprese durante el desarrollo óseo (E16.5).^{41,42} Algunos experimentos adicionales demostraron que la Ocn no se expresa en la placenta, pero es capaz de atravesarla, lo que indica que la Ocn embrionaria es de origen materno.^{39,42} En ausencia de GluOcn materna y endógena, los embriones muestran una dilatación de los ventrículos laterales del cerebro y un aumento en el número de células apoptóticas en el hipocampo.⁴¹ Sin embargo, las inyecciones

diarias de GluOcn a ratones hembra gestantes $Ocn^{-/-}$ corrigen tal fenotipo anatómico y también se recupera parcialmente el déficit en aprendizaje y memoria de la descendencia.^{39,42} Estos resultados explicarían, al menos en parte, la alta incidencia de trastornos neuropsiquiátricos en niños nacidos de mujeres que sufren de desnutrición durante el embarazo. En ellas, el déficit en la señalización de la Ocn induciría alteraciones en el correcto desarrollo del cerebro e influiría en la función cognitiva de la descendencia en la adultez.³⁹

En los seres humanos, las numerosas anomalías óseas con deterioro cognitivo o alteraciones neurológicas asociadas sugieren una estrecha interacción de hueso y cerebro.⁴² Los pacientes con enfermedad de Alzheimer presentan un remodelado óseo aumentado y desarrollo de osteoporosis, respecto de personas sanas de la misma edad.⁴³ En relación con la pérdida de memoria vinculada a la edad, las personas con menor densidad mineral ósea (DMO) tienen un riesgo dos veces mayor de demencia,⁴⁴ lo que respalda la noción de que la alteración del hueso puede estar asociada a procesos cognitivos y de envejecimiento.

La displasia cleidocraneal (CCD) es una displasia esquelética clásica en la cual las funciones cognitivas también se ven afectadas.⁴⁵ Dicha enfermedad autosómica dominante es causada por la haploinsuficiencia en el locus *Runx2*.⁴⁵ Los estudios de ratones *Runx2*^{+/-} (modelo animal para estudiar CCD) mostraron las primeras evidencias de que el remodelado óseo afecta las funciones cerebrales como la cognición y el comportamiento, similar a la ansiedad.⁴⁵ Se probó que la haploinsuficiencia de *Runx2*, un factor de transcripción expresado exclusivamente en células progenitoras de OBL y en OBL maduros, regula los niveles circulantes de GluOcn,⁴⁵ modulando su expresión y bioactivación a través de la resorción ósea.⁴⁵ Estas observaciones indican que la alteración del remodelado óseo sería suficiente para obstaculizar el aprendizaje espacial y la memoria.

Conclusiones

Con la evidencia acumulada sobre el rol regulatorio que la Ocn ejerce sobre el meta-

bolismo de la glucosa, se sugirió la importancia de dicha molécula en el posible tratamiento de enfermedades metabólicas, incluido el síndrome metabólico, que aumenta el riesgo de patologías que presentan un incremento en su prevalencia a nivel mundial tales como diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, infertilidad y cáncer.² Asimismo, se planteó la utilización de GluOcn como terapéutica farmacológica para prevenir la pérdida muscular y los desórdenes neurológicos relacionados con la edad. Con respecto al desarrollo cerebral, la GluOcn influiría en la actividad neuronal, la expresión génica, la síntesis de neurotransmisores y, finalmente, el comportamiento, similar a la ansiedad, aprendizaje espacial y memoria.¹⁹

Si bien son indispensable mayores evidencias para dilucidar los mecanismos reguladores por medio de los cuales actuaría la Ocn, los resultados “enumerados en los distintos estudios experimentales evaluados en esta revisión” establecen la importancia de este novedoso integrante molecular en la regulación del metabolismo de la glucosa y la masa grasa, el músculo y el ejercicio, la fertilidad masculina y el desarrollo cerebral y la cognición. Establecer, con exactitud, su rol dentro de estos procesos interrelacionados en los seres humanos, abriría la posibilidad de utilizar la Ocn en el tratamiento de enfermedades endocrino-metabólicas.

Conflicto de interés: todos los autores no reportan conflictos de interés.

Recibido: mayo 2019
Aceptado: agosto 2019



Referencias

1. Battaglini R. El esqueleto como órgano endocrino: funciones metabólicas de la osteocalcina. *Actual Osteol* 2017; 13(3):225-32.
2. Mizokami A, Kawakubo-Yasukochi T, Hirata M. Osteocalcin and its endocrine functions. *Biochem Pharmacol* 2017; 132:1-8.
3. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristaponis J, Raman N. Characterization of a γ -carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73(5):1447-51.
4. Tangseefa P, Martin SK, Fitter S, Baldock PA, Proud CG, Zannettino ACW. Osteocalcin-dependent regulation of glucose metabolism and fertility: Skeletal implications for the development of insulin resistance. *J Cell Physiol* 2018; 233:376983.
5. Oldknow KJ, MacRae VE, Farquharson C. Endocrine role of bone: recent and emerging perspectives beyond osteocalcin. *J Endocrinol* 2015; 225:R1-R19.
6. De Toni L, Di Nisio A, Rocca MS, De Rocco Ponce M, Ferlin A, Foresta C. Osteocalcin, a bone-derived hormone with important andrological implications. *Andrology* 2017; 5(4):664-70.
7. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130:456-69.
8. Ducy P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia* 2011; 54(6):1291-7.
9. Montecinos BR, Zeni SN. Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; 43(2):177-93.
10. Fukumoto S, Shimizu Y. Fibroblast growth factor 23 as a phosphotropic hormone and beyond. *J Bone Miner Metab* 2011; 29(5):507-14.
11. Rodda SJ. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. *Development* 2006; 133:3231-44.
12. Muñoz-Torres M, Higuera López-Frías M, Fernández García D. Avances en el conocimiento de la biología del osteoclasto: el sistema osteoprotegerina-ligando del RANK. *Med Clínica* 2004; 122:75-7.
13. Ducy P, Starbuck M, Priemel M, Shen J, et al. A Cbfa1-dependent genetic pathway controls bone formation beyond embryonic development. *Genes Dev* 1999; 13:1025-36.
14. Lee B, Thirunavukkarasu K, Zhou L, et al. Missense mutations abolishing DNA binding of the osteoblast-specific transcription factor OSF2/CBFA1 in cleidocranial dysplasia. *Nat Genet* 1997; 16(3):307-10.
15. Mera P, Ferron M, Mosialou I. Regulation of energy metabolism by bone-derived hormones. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018; 8(6):a031666.
16. Ducy P, Desbois C, Boyce B, et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 1996; 382(6590):448-52.
17. Karsenty G, Olson EN. Bone and muscle endocrine functions: unexpected paradigms of inter-organ communication. *Cell* 2006; 164:1248-56.
18. Oury F, Sumara G, Sumara O, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell* 2011; 144:796-809.
19. Obri A, Khrimian L, Karsenty G, Oury F. Osteocalcin in the brain: from embryonic development to age-related decline in cognition. *Nat Rev Endocrinol* 2018; 14(3):174-82.
20. Pi M, Wu Y, Quarles LD. GPRC6A mediates responses to osteocalcin in β -cells in vitro and pancreas in vivo. *J Bone Miner Res* 2011; 26:1680-3.
21. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates β cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:5266-70.
22. Zeni SN. Remodelamiento óseo, control del sistema nervioso central y rol de la leptina. *Actual Osteol* 2009; 5:171-9.
23. Kanazawa I. Osteocalcin as a hormone

- regulating glucose metabolism. *World J Diabetes* 2015; 6(18):1345-54.
24. Motyl KJ, Rosen CJ. Understanding leptin-dependent regulation of skeletal homeostasis. *Biochimie* 2012; 94:2089-96.
 25. DUCY P, Amling M, Takeda S, et al. Leptin Inhibits Bone Formation through a Hypothalamic Relay: A Central Control of Bone Mass. *Cell* 2000; 100(2):197-207.
 26. Karsenty G, Ferron M. The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature* 2012; 481(7381):314-20.
 27. Levinge I, Brennan-Speranza TC, Zulli A, et al. Multifaceted interaction of bone, muscle, lifestyle interventions and metabolic and cardiovascular disease: role of osteocalcin. *Osteoporos Int* 2017; 28(8):2265-73.
 28. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:457-65.
 29. Mera P, Laue K, We J, Berger JM, Karsenty G. Osteocalcin is necessary and sufficient to maintain muscle mass in older mice. *Mol Metab* 2016; 5:1042-7.
 30. Mera P, Laue K, Ferron M, et al. Osteocalcin signaling in myofibers is necessary and sufficient for optimum adaptation to exercise. *Cell Metab* 2016; 23:1078-92.
 31. Lund S, Holman GD, Schmitz O, Pedersen O. Contraction stimulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92:5817-21.
 32. Karsenty G. Update on the biology of osteocalcin. *Endocr Pract* 2017; 23:1270-4.
 33. Karsenty G, Oury F. Regulation of male fertility by the bone-derived hormone osteocalcin. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382:521-6.
 34. Oury F, Ferron M, Huizhen W, et al. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis. *J Clin Invest* 2013; 123:2421-33.
 35. Oury F. A crosstalk between bone and gonads. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1260:1-7.
 36. Hannemann A, Breer S, Wallaschofski H, et al. Osteocalcin is associated with testosterone in the general population and selected patients with bone disorders. *Andrology* 2013; 1:469-74.
 37. Kirmani S, Atkinson EJ, Melton LJ, Riggs BL, Amin S, Khosla S. Relationship of testosterone and osteocalcin levels during growth. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2212-6.
 38. Paduch DA. Testicular cancer and male infertility. *Curr Opin Urol* 2006; 16:419-27.
 39. Oury F, Khrimian L, Denny CA, et al. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell* 2013; 155:228-41.
 40. Khrimian L, Obri A, Ramos-Brossier M, et al. Gpr158 mediates osteocalcin's regulation of cognition. *J Exp Med* 2017; 214(10):2859-73.
 41. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New insights into the biology of osteocalcin. *Bone* 2016; 82:42-9.
 42. Rouseaud A, Moriceau S, Ramos-Brossier M, Oury F. Bone-brain crosstalk and potential associated diseases. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2016; 28:69-83.
 43. Luckhaus C, Mahabadi B, Grass-Kapanke B, et al. Blood biomarkers of osteoporosis in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2009; 116:905-11.
 44. Zhou R, Zhou H, Rui L, Xu J. Bone loss and osteoporosis are associated with conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2014; 11:706-13.
 45. Khrimian L, Obri A, Karsenty G. Modulation of cognition and anxiety-like behavior by bone remodeling. *Mol Metab* 2017; 6:16105.



PROGRAMA

3^{er} CONGRESO ARGENTINO DE OSTEOLÓGIA 2020

JUEVES 26 DE NOVIEMBRE

- 11:55 **APERTURA**
Dr. Lucas R. Brun (Presidente AAOMM) y Dr. José Luis Mansur (Presidente SAO)
- 12:00 - 13:15 **SIMPOSIO: LA OSTEOPOROSIS EN EL ADULTO MAYOR**
Coordinadores: Dra. Silvia Karlsbrum - Dra. Alicia Bagur
– **Fisiología de la osteoporosis senil.** Dra. Claudia Sedlinsky
– **El anciano frágil: enfoque de la gerontología.** Dra. Geraldine Altamar (Colombia)
– **Sarcopenia: definición, diagnóstico y enfoque terapéutico.** Dra. Silvina Mastaglia
- 13:00 Preguntas
- 13:15 Descanso
- 13:30 - 14:15 **SIMPOSIO ASBMR HIGHLIGHTS**
Coordinadores: Dr. Lucas R. Brun, Dr. Jose Luis Mansur
- Presentación institucional de ASBMR. Desarrollo del primer evento en forma virtual.**
Dra. Teresita Bellido (USA)
¿Qué novedades hubo en la reunión ASBMR 2020?
– **Simposio: Tratamiento secuencial.** Dra. Vanesa Longobardi
– **Avances en enfermedades óseas pocos frecuentes.** Dra. María Lorena Brance
– **Simposio Inteligencia artificial. Precisión en salud musculoesquelética.** Dra. María Silvia Larroudé
– **Simposio: Hueso, intestino y cerebro.** Dra. Virginia Massheimer
- 14:15 - 15:15 **SIMPOSIO AMGEN: PASADO, PRESENTE Y FUTURO EN EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS DE ALTO RIESGO DE FRACTURA**
Coordinadora: Dra. María Silvia Larroudé
- Disertante: Dr. Adolfo Diez Pérez (España)
– Pasado: Los primeros pasos en el tratamiento de la osteoporosis
– Presente: La terapia secuencial como paradigma en pacientes de alto riesgo
– Futuro: La vía de la esclerostina como target terapéutico
- 15:15 Descanso
- 18:00 - 19:15 **SIMPOSIO: EL HUESO EN EL MIELOMA MULTIPLE**
Coordinadores: Dra. Josefina Pozzo, Dra. Adriana Frigeri
– **Rol del osteocito.** Dra. Teresita Bellido (USA)
– **¿Cuándo sospechar un mieloma múltiple? Enfoque diagnóstico de la enfermedad ósea.** Dra. Natalia Schutz
– **Tratamiento del compromiso óseo.** Dra. Ariela Kitaigrodsky
- 19:00 Preguntas
- 19:15 Descanso

19:30 - 20:15 **CONFERENCIA: OSTEOCALCINA MAS ALLA DEL HUESO**
Coordinadores: Dr. Erich Fradinger, Dra. Virginia Massheimer
Disertante: Dra. Susana Zeni

20:15 Cierre

VIERNES 27 DE NOVIEMBRE

12:00 - 13:00 **MESA REDONDA: TRATAMIENTO POST FRACTURA: ¿ANABÓLICOS, ANTIRESORTIVOS, COMBINADOS?**

Coordinadores: Dra. Ana María Galich, Dra. Magdalena Norma Guadagna
– **¿Cómo tratar a un paciente con fractura vertebral?**. Dr. Rodolfo Guelman
– **¿Cómo tratar a una fractura no vertebral?**. Dra. Helena Salerni

12:40 Discusión con el panel

13:00 Descanso

13:15 - 15:15 Presentación oral de trabajos seleccionados a premio
Coordinadores: Dres. Alicia Bagur, Patricia Mandalunis, Helena Salerni, Susana Zeni

Investigación Básica

- 1. Asociación entre deterioro cognitivo y alteraciones óseas en ratas envejecidas. Posible conexión con estrés oxidativo sistémico.**
Torres ML, Wanionok N, McCarthy AD, Morel GR, Fernandez JM.
- 2. Efectos y mecanismo de acción de quercetina en osteoblastos normales y tumorales.**
Lezcano V, Principe G, González Pardo V, Morelli S.
- 3. Bicompatibilidad y regeneración tisular ósea con matrices recombinantes.**
Aimone M, Rodriguez Fonseca A, Camal Ruggieri IN, García LC, Venegas Rojas FM, Chullo Llerena V, Ramallo M, Santiago O, Lembo IM, Landgraft T, Benevidez de Oliveira G, Farez N, Gatti D, Stur M, Missana LR, Alonso M, Rodriguez Cabello C, Feldman S.

Investigación Clínica

- 4. Cambios en la composición corporal con la edad. Experiencia local**
Conejos LM, Abdala R, Zanchetta MB
- 5. Tratamiento de la fractura de cadera durante la pandemia Covid-19**
Buttazzoni M, Boietti B, Kitaigrodsky A, Komornicki M, Vera ME, Slullitel P, Carabelli G, Barla J, García Barreiro G, Benchimol J, Diehl M.
- 6. Hipoparatiroidismo postquirúrgico definitivo: ¿podemos anticiparnos en el diagnóstico? Un estudio de cohorte**
García ML, Lisdero AP, Otero MJ, Segarra AE, González Pernas M, Mumbach GA, Genovesi E, Speroni R
- 7. SLPI y vitamina D: ¿marcadores indirectos del sistema inmune en adultos mayores?**
Oliveri B, Ambrossi N, Bonanno M, Mastaglia S, Chuluyan E.



Joven Investigador

8. Influencia de los niveles de vitamina D sobre la evolución clínica en pacientes Covid-19: estudio piloto multicéntrico experiencia de la vida real

Crueño MG, Lopez Lopez FN, Freile B, Moratto E, Pollini V, Netel J, Esposito M, Halac DA, Lisdero AP, Gonzalez Pernas M, Scarabino M, Areniello EF, Bacigaluppi S, Mumbach G, Garcia ML, Giacoia E.

9. Osteomalacia inducida por tumor: 10 años de seguimiento.

Vera ME, Buttazzoni M, Diehl M, Kitaigrodsky A, Roitman P, Ayerza M, Plantalech L

10. Síndrome de dismobilidad en mujeres adultas de la comunidad

Abdala R, Crespo Amaya G, Zanchetta B.

11. Bioactividad osteogénica en armazón de tercera generación para medicina regenerativa

Garcia Moreno MF, Martin A, Manavella G, Feldman S, Missana LR.

18:00 - 19:00

SIMPOSIO: ACTIVIDAD FISICA, DEPORTE Y HUESO

Coordinadores: Dra. Paula Rey, Dr. Fernando Saravi

– **Irisina y músculo.** Dra. Gabriela Picotto

– **Fisiología molecular del ejercicio. Entender más, prescribir mejor.** Dr. Alejandro Lanari

18:50

Preguntas

19:00

Descanso

19:15 - 20:15

“MESA REDONDA ROL DE LOS NUTRIENTES EN LA SALUD OSEA”

Coordinadores: Dra. Graciela Brito, Dra. Marisa Canicoba

– **Dietas vegetarianas. Fuentes no tradicionales de calcio.** Dra. Marcela Manuzza

– **Controversias en el consumo de lácteos.** Dra. Dana Watson

– **Influencia de los hábitos alimentarios en la masa ósea.** Dra. María Inés Tamborenea

20:00

Discusión con el panel

20:15

Palabras de cierre



PROGRAMA

4° CONGRESO ARGENTINO DE OSTELOGIA 2021

MARTES 26 DE OCTUBRE

- 16:45 **APERTURA** | Presidentes AAOMM-SAO
Dr. Lucas R. Brun (Presidente AAOMM) y Dr. José Luis Mansur (Presidente SAO)
- 17:00 - 18:00 **Trending Research Topics en Osteología**
Dra. Nadia Schwartz | Dra. Vanina Farias | Dra. Valeria Rodriguez
Coordinadores: Dra. Patricia Cowan | Dra. Marisa Sandoval
- 18:00 - 19:00 **SIMPOSIO Actualización en acciones no clásicas de vitamina D**
Coordinadores: Dra. Paula Rey | Dra. Alicia Bagur
- Vitamina D y microbiota.** Dra. Beatriz Oliveri
Vitamina D en enfermedades autoinmunes. Dr. José Luis Mansur
Vitamina D en ginecología y obstetricia. Dr. David Fusaro
- 19:00 - 19:15 Descanso
- 19:15 - 20:15 **SIMPOSIO AMGEN: Risk stratification and identification of the very high risk patient**
Dra. Felicia Cosman (USA)
Coordinador: Dra. María Belén Zanchetta
- 19:15 - 19:30 Risk stratification and identification of the very high risk patient
- 19:30 - 20:00 Evenity as initial treatment for very high risk patients and optimal treatment sequences.
- 20:00 - 20:15 Q&A

MIÉRCOLES 27 DE OCTUBRE

- 12:00 - 13:00 **CONFERENCIA | Cross talk between adipose tissue, muscles and bone**
Dr. Gerard Karsenty (USA)
Coordinadores: Dra. Claudia Sedlinsky | Dra. Susana Zeni
- 13:00 - 14:00 **SIMPOSIO Osteoporosis secundaria I**
Coordinadores: Dra. Norma Guadagna | Dra. Vanessa Longobardi
- Enfermedades inflamatorias intestinales y su impacto óseo.** Dr. Julio Bai
Osteopatía diabética. Dr. Antonio Mc Carthy
- 14:00 - 14:15 Descanso
- 14:15 - 15:15 **SIMPOSIO AMGEN: Osteonecrosis de los maxilares asociada a medicamentos: una visión clínica**
Guía de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral y la Sociedad Argentina de Osteoporosis
Coordinador: Dr. José Luis Mansur
- 14:15 - 14:30 Fisiopatología. Factores de riesgo. Epidemiología. Efectos de las dosis y del tiempo de exposición a las drogas. Dr. Rodolfo Guelman.

- 14:30 - 14:45 Presentación clínica. Diagnóstico diferencial. Métodos diagnósticos.
Dr. Eduardo Piemonte
- 14:45 - 15:00 Recomendaciones clínicas. Manejo multidisciplinario. Dra. Silvana Picardo.
- 15:00 - 15:15 Preguntas y comentarios
- 15:15 - 18:00 Descanso
- 18:00 - 19:00 **CONFERENCIA | Highlights ASBMR 2021**
Dra. Teresita Bellido (USA)
Coordinador: Dr. Lucas Brun | Dra. María Silvia Larroudé
- 19:00 - 20:00 **SIMPÓSIO Interacciones entre tejido adiposo, músculo y hueso**
Coordinadores: Dra. Celeste Balonga | Dra. María Josefina Pozzo
- Síndrome metabólico, obesidad y osteoporosis. Aspectos clínicos.** Dr. Ariel Sánchez
Osteosarcopenia. Dr. Gustavo Duque (Australia)

JUEVES 28 DE OCTUBRE

- 12:00 - 13:00 **SIMPÓSIO impacto del calcio en el sistema vascular**
Coordinadores: Dra. Claudia Gomez Acotto | Dra. Nori Tolosa
- Calcificaciones vasculares: ¿riesgo o beneficios de los estrógenos?**
Dra. Virginia Massheimer
- Calcificación vascular y fragilidad ósea: nexos más allá del envejecimiento.**
Dr. Jorge Cannata Andía (España)
- 13:00 - 13:45 **CONFERENCIA | Nuevas técnicas para el estudio y evaluación ósea**
Jorge Malouf Sierra (España, Barcelona)
Coordinadores: Dr. Fernando Somma | Dra. Ana M. Galich
- 13:45 - 14:00 Descanso
- 14:00 - 15:15 **PRESENTACIÓN DE TRABAJOS A PREMIO**
Coordinadores: Dra. Patricia Mandalunis | Dra. Claudia Sedlinsky | Dra. Ana María Galich
- Investigación Básica**
- 1. Comportamiento del binomio hueso-músculo a nivel de las epífisis femorales superiores por Box Counting, y su potencial asociación con el ángulo de anteversión femoral, con fines pronósticos.**
Cabral ME, Hanemann A, Chiorazo CL, Garuti G, Martin MM, Feldman S.
 - 2. Absorción mineral y retención ósea en un modelo de crecimiento normal: efecto del consumo de una dieta a base de yogur experimental reducido en lactosa conteniendo galactooligosacáridos (GOS)**
Seijo M, Bonanno MS, Vénica C, Pita Martin de Portela ML, Bozzini C, Bergamini C, Wolf I, Perotti MC, Zeni SN.
 - 3. Medicina regenerativa: biocompatibilidad y osteoregeneración en lesión crítica de calota con matriz de Poli-L-Láctico**
Vitelo Xavier M, Farez N, Lembo IM, Santiago O, Gatti D, Stur M, Salvatierra PL, Jardini Munhos A, Kharmandayan P, Feldman S.



4. **Respuesta vascular al estrés: efecto protector del bisfosfonato alendronato**
Cutini PH, Campelo AE, Massheimer ML.

Investigación Clínica

1. **Calcificaciones vasculares en la enfermedad renal crónica: ¿nuevo factor de riesgo para fracturas?**
Rivoira MA, Dionisi MP, Fernandez P, Porta DJ, Cardozo A, Godoy A, Tabares A, Douthat W.
2. **Primera evidencia de una inversión mecánicamente inducida de la proporcionalidad geométrica entre los diámetros seccionales de un hueso largo humano (estudio seccional).**
Pisani L, Pilot N, Luscher S, Rittweger J, Ireland A, Ferretti JL, Cointry G, Capozza R.

Joven Investigador

1. **Características sociodemográficas y salud ósea en adultos consumidores de alimentación basada en plantas correspondiente al área metropolitana de Buenos Aires, Argentina**
Taboada PA, Manuzza M, Mastaglia SR.
2. **Prevalencia de baja masa ósea y fracturas por fragilidad en mujeres premenopáusicas con lupus eritematoso sistémico bajo corticoterapia crónica**
Arce Callahuara GR, Balonga MC, Caputo MF, Loayza Reynolds GB, Cabrera S, Giacoia E.
3. **Impacto de la suplementación con hidroximetilbutirato asociado al entrenamiento multicomponente sobre la salud muscular en mujeres mayores de 60 años**
Abdala R, Gilligan M, Pissani MP, Rugiati E, Zanchetta MB, Zanchetta JR.

15:15 - 18:00 Descanso

18:00 - 19:00 **SIMPOSIO Estrógenos y hueso**
Coordinadores: Dra. Isabel Torrecilla | Dra. Silvina Mastaglia

Terapia hormonal en la menopausia cuando el objetivo es la salud ósea.

Dra. Alejandra Belardo

Perimenopausia, anticoncepción y masa ósea. Dra. Susana Moggia

19:00 - 20:00 **SIMPOSIO | Osteoporosis secundarias II**
Coordinadores: Dra. María Laura García | Dr. Rodolfo Guelman

El uso de terapéutica con glucocorticoides en neumología. Dra. Laura Alberti

EPOC como causa de osteoporosis. Dra. María Diehl

Glucocorticoides inhalatorios y su impacto óseo. Dra. Lorena Brance

20:00 Palabras de cierre

VIERNES 29 DE OCTUBRE

10:00 - 12:00 PRESENTACIÓN DE COMUNICACIONES LIBRES | Plataforma Zoom