



CL 1. Evaluación de la actividad biológica de los fitoesteroles de la tipa (*Tipuana tipu* [Benth.] Lillo) sobre células progenitoras de médula ósea

Costa ML,¹ Amen Y,² Marzouk AM,² Zaghoul MG,² Afifi MS,² Molinuevo MS,¹ Fernández JM,¹

¹ Laboratorio de Investigaciones en Osteopatías y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP)-Comisión de Investigaciones Científicas (CIC).

² Departamento de Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Mansoura, Manso.

El proceso de remodelado óseo dentro de la unidad básica multicelular involucra el acoplamiento entre la formación y la resorción ósea, donde se ha demostrado que los estrógenos desempeñan un papel importante. Entre las causas de la menopausia se encuentran la disminución en los niveles circulantes de estrógenos y el incremento del estrés oxidativo, lo cual produce un deterioro en la calidad ósea. La tipa (*Tipuana tipu* [Benth.] Lillo, Leguminosae [Fabaceae]) es un árbol indígena de nuestro país. Recientemente se han aislado los principales componentes a partir de los extractos metanólicos de la hoja y corteza de la tipa; entre ellos se encuentra el b-sitosterol en su forma libre o como glucósido. Previamente, se ha demostrado que el b-sitosterol posee capacidad de interactuar con el receptor de estrógenos disminuyendo el estrés oxidativo. Actualmente se lo comercializa en forma de cápsulas para el tratamiento de algunas prostatitis. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del b-sitosterol aislado de *T. tipu* sobre la proliferación y diferenciación osteoblástica de las células progenitoras de médula ósea (CPMO). Las CPMO se obtuvieron a partir de lavados del canal diafisario medular de fémures de ratas machos jóvenes de la cepa WKAH/Hok. Las células fueron cultivadas en platos de cultivo, e incubadas 24 horas en DMEM sin rojo de fenol con concentraciones crecientes de β -sitoesterol (0-10 μ M) para evaluar la proliferación (cristal violeta); o 10 días con un medio de diferenciación osteogénico que contiene b-glicerol fosfato y ácido ascórbico con o sin el agregado de b-sitosterol. La diferenciación osteogénica se determinó evaluando la producción de colágeno tipo 1 (Col1, método de Sirius red) y la actividad de fosfatasa alcalina (FAL, producción de p-nitrofenol a pH 10). Alternativamente se emplearon células MDA-MB-231 (las cuales carecen de receptores de estrógeno [RE]) para evaluar el papel de los RE sobre las acciones biológicas del b-sitosterol. Los resultados se expresan como la media \pm SEM; las diferencias entre grupos fueron analizadas por la prueba de ANOVA (one-way). Encontramos un incremento en la proliferación celular dependiente de la concentración de b-sitosterol en las CPMO ($p < 0,01$ vs. control) que fue inhibido por la coincubación con PD 98059, un inhibidor de las MAP kinasas (MAPK); mientras que no se observó respuesta alguna sobre las células MDA-MB-231. Además, 1 μ M de b-sitosterol indujo un incremento en los niveles de ARNm para el RE luego de 24 horas de incubación. En las CPMO encontramos un incremento dependiente de la concentración de b-sitosterol, en la producción de col1 ($p < 0,05$ vs. control) y la actividad FAL ($p < 0,01$ vs. control). En conclusión, nuestros resultados muestran que el b-sitosterol promueve la proliferación y el desarrollo osteoblástico, mediante el incremento en los niveles del RE y la activación de las MAPK.



Caso 3: paciente de 41 años, sexo femenino, que comenzó con síntomas a los 8 años. Presentó 3 fracturas de cadera y múltiples alteraciones dentales. CK total=216 UI/l (CKMM=80%, CKMB=5%, CKBB=15%); total= 418UI/L (LDH-1=32%, LDH-2=40%, LDH-3=18%, LDH-4=6%, LDH-5=4%).

Caso 4: paciente de 21 años, sexo masculino; comenzó con dolores óseos a los 3 años y parálisis facial. Presentó 14 fracturas múltiples en ambas caderas, con alteración en la consolidación, dolores osteomusculares y queratocono bilateral. CK total=376 UI/l (CKMM=25%, CKMB=10%, CKBB=65%); LDH total=453 UI/l (LDH-1=25%, LDH-2=30%, LDH-3=20%, LDH-4=10%, LDH-5=15%).

Todos los pacientes son argentinos de raza blanca. Los últimos 2 corresponden a una misma familia (madre e hijo). Solo se describen las manifestaciones positivas. Todos presentaban manifestaciones radiológicas características.

Resultados: el 75% presentó aumento de CK-BB y dos de ellos (50%) presentaron múltiples fracturas. LDH no mostró aumento. En cuanto a las isoenzimas de LDH, la concentración fue LDH-2 >1>3>4>5. El 50% de los pacientes registró un aumento del remodelado óseo (C-telopéptidos) y 25% presentó hipercalcemia.

Discusión: en nuestra serie limitada, la isoenzima CK-BB fue el parámetro bioquímico aumentado y confirma OPADO2 en tres de cuatro pacientes y descarta otro tipo de esclerosis ósea. A diferencia de otros trabajos, la determinación de LDH total e isoenzimas se encontró en rango normal. Se observó resorción ósea en algunos pacientes. En ausencia de estudios moleculares, la isoenzima CK-BB es útil para el diagnóstico OPADO2 en nuestro medio.

CL 32. Ingeniería de tejidos óseos. Estudios in vitro e in vivo con matrices híbridas de vidrio bioactivo, quitosano y polivinilalcohol

Coletta DJ,^{1,#} Missana L,^{2,#} Martins T,^{3,#} García L,¹ Farez N,¹ DeGlee T,¹ Díaz M,¹ Moreno MF,² Mardegan Issa JP,⁴ Pereira M,³ Feldman S¹

¹ LABOATEM-Universidad Nacional de Rosario; ² FOUNT-Proimi-Conicet; ³ Facultad de Odontología Rio Preto (San Pablo); ⁴ Lab. Biomat., Universidade Federal de Minas Gerais. #ex aequo

Al desarrollarse matrices tridimensionales para ser aplicadas en regeneración tisular ósea, se pretende generar una arquitectura que promueva la adhesión celular, la proliferación y diferenciación, permitiendo el desarrollo del tejido. Este trabajo se propuso: 1) caracterizar estructuralmente una matriz tridimensional MH formada como híbrido poroso de vidrio bioactivo con quitosano y polivinil alcohol, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), 2) investigar la potencial citotoxicidad MH, mediante evaluación de la actividad metabólica celular, 3) evaluar *in vivo*, al implantar MH en nuestro modelo de lesión ósea femoral (5,1 mm diámetro), conejos adultos, *New Zealand*, 3,5 kg vs. controles (n=5 c/u) y realizar estudios clínicos, bioquímicos (hemograma, proteínas totales, transaminasas hepáticas para valorar el estado hepático frente a degradación de MH, todos medidos día a los 1, 7, 90 días posimplante) e histológicos (90 días). Resultados: 1) SEM: mostró una red bien definida, con poros abiertos e interconectados, organizados de manera homogénea, en un rango de 64 a 234 μ m, 2) citotoxicidad: el ensayo MTT (3-[4,5-dimethylthiazolyl-2]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) demostró que no hubo diferencias significativas en el desarrollo celular entre grupos controles y desarrollados en presencia de MH, 3) resultados *in vivo*: desde la perspectiva de la clínica general, los primeros 2 días posimplante se observó marcha levemente afectada, recuperada completamente el 6.º día. El comportamiento, Tº corporal y nivel de alimentación fueron semejantes a los de