

# Efecto del aluminio (Al) sobre la masa ósea y sobre el hueso trabecular en presencia de función renal normal

C. Gómez Alonso, P. Menéndez Rodríguez, M. J. Virgós, M. Serrano, M. A. González Carcedo y J. B. Cannata

Unidad de Investigación. Metabolismo Oseo y Mineral. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

## Introducción

En los últimos años ha quedado demostrado el efecto tóxico del aluminio sobre el hueso de pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) y su vinculación más característica con algunos tipos histológicos de osteodistrofia renal<sup>1</sup>. Si bien ha quedado claramente establecido que el Al deprime la actividad paratiroidea y obstaculiza la mineralización<sup>2</sup>, este efecto se produce en circunstancias en las que el eje Ca-PTH-vitamina D ha sido modificado por la propia IRC.

El efecto que el Al tiene sobre la función celular es menos conocido. Se ha descrito un efecto diferente en función del tipo o estirpe celular (inhibición del osteoblasto/estimulación del preosteoblasto), y se ha propuesto la posibilidad de actuar sobre mediadores locales o sistémicos del remodelado óseo e incluso variar sus efectos finales en función de la concentración y especie química<sup>3</sup>.

En estudios con animales con función renal normal (FRN) se ha descrito un efecto estimulador de la formación de hueso<sup>4,5</sup> y algunos compuestos, como la zeolita A (trisilicato de Al), se encuentran en fase de experimentación como posibles tratamientos alternativos de la osteoporosis<sup>6</sup>.

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar el efecto de la administración de Al sobre el hueso —masa ósea e histología trabecular— en un modelo experimental de osteoporosis en ratas con FRN.

## Material y métodos

Se han utilizado 18 ratas Wistar macho de 6 meses de edad, a las cuales les fue administrado NH<sub>4</sub>Cl al 2 % en el agua de bebida durante 6 meses como inductor de osteopenia. Posteriormente, y durante 4 meses, fueron divididos en 3 grupos experimentales:

Grupo amonio (Am): Se continuó con la administración de NH<sub>4</sub>Cl al 2 % en el agua de bebida (n = 5) durante 4 meses.

Grupo aluminio (Al): Les fue administrado AlCl<sub>3</sub>, 10 mg/kg/día 5 días/semana, vía intraperitoneal (n = 8), durante 4 meses.

Grupo control (Nad): Se suspendió el NH<sub>4</sub>Cl (n = 5).

A todos los animales les fueron realizados los siguientes estudios:

1. *Densitometría ósea* (DEXA-Hologic QDR-1.000) a nivel lumbar y caudal *in vivo* a los 12 y 16 meses de edad y a nivel de fémur aislado al finalizar el estudio. El CV de la técnica en nuestro servicio es <1 %<sup>7</sup>.

2. *Estudios metabólicos*: Calcio, fósforo, creatinina y aluminio en suero y en orina de 24 horas (basal y de ayuno); osteocalcina (Antirat osteocalcin, Biomedical Technologies), PTH (PTH-MM, Nichols Institute), pH, bicarbonato en suero e hidroxiprolina (Hypronosticon, Organón Teknika GmbH) en orina.

Todos ellos se realizaron a los 12 y 16 meses de edad de las ratas.

3. *Estudios histológicos*, al finalizar el estudio:

Cualitativos (tinciones de Von Kossa, solucromo de azurina, Perls, marcaje con tetraciclinas) en tibia, cuarta vértebra lumbar y segunda vértebra caudal (rabo).

Histomorfometría ósea (volumen óseo trabecular y grosor cortical) en tercio proximal tibial.

Determinación del contenido de Al en tejido óseo (espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito Perkin Elmer).

Todos los animales se mantuvieron en las condiciones estándar del animalario, con dieta Panlab A4 (calcio, 0,6 %; fósforo, 0,59 %, y Vit. D<sub>3</sub>, 2.020 UI/kg) *ad libitum* y en jaulas metabólicas durante la semana en que se realizaban los estudios metabólicos. Todas las exploraciones se realizaron bajo anestesia (Pentobarbital, 40 mg/kg, ip y/o éter inhalado) y al finalizar el estudio fueron eutanasiadas mediante sobredosis.

El análisis de los resultados se realizó utilizando el programa estadístico Sigma (Horus Hardware), utilizándose el análisis de la varianza, test de la t de Student para datos pareados y coeficiente de correlación lineal de Pearson, considerándose significativo p <0,05.

Correspondencia: C. Gómez Alonso.  
Hospital Central de Asturias.  
Apto. de Correos 243.  
33080 Oviedo (España).

## Resultados

La administración de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  al 2% en el agua de bebida ha causado incrementos significativos en la calciuria (de  $20,4 \pm 10,4$  a  $75,9 \pm 28,8$  mg/24 horas,  $p < 0,001$ ) y en los índices calcio/creatinina (de  $0,13 \pm 0,07$  a  $0,56 \pm 0,27$ ,  $p < 0,001$ ) e hidroxiprolina/creatinina en orina de ayuno (de  $0,20 \pm 0,03$  a  $0,33 \pm 0,10$ ,  $p < 0,005$ ), así como unos valores de masa ósea significativamente inferiores en todos los niveles estudiados ( $254 \pm 17$  vs  $223 \pm 22$  — $p < 0,005$ —,  $276 \pm 19$  vs  $259 \pm 19$  — $p < 0,05$ — y  $291 \pm 23$  vs  $256 \pm 23$  mg/cm<sup>2</sup> — $p < 0,05$ — en las determinaciones lumbar, caudal y de tibia, respectivamente) cuando se han comparado con un grupo de 7 ratas de la misma edad sin administración de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

Los marcadores metabólicos finales sólo fueron significativamente diferentes —tanto respecto a sus valores basales como respecto a los otros dos grupos— en el grupo Nad: osteocalcina ( $16,6 \pm 2$  en grupo Am,  $21 \pm 19,7$  en el Al y  $13,4 \pm 2,5$  ng/ml en el Nad), calciuria en 24 horas ( $55,3 \pm 35,5$  en el Am,  $37,7 \pm 27,1$  en el Al y  $14,6 \pm 5,6$  \* mg en el grupo Nad), Ca/Cr ( $0,39 \pm 0,18$  en el grupo Am,  $0,28 \pm 0,32$  en el Al y  $0,09 \pm 0,03$  \* en el Nad), aunque se observó una gran variabilidad en el grupo Al (\*  $p < 0,05$  intergrupo; &  $p < 0,05$  intragrupo).

El pH fue significativamente menor en los grupos Am

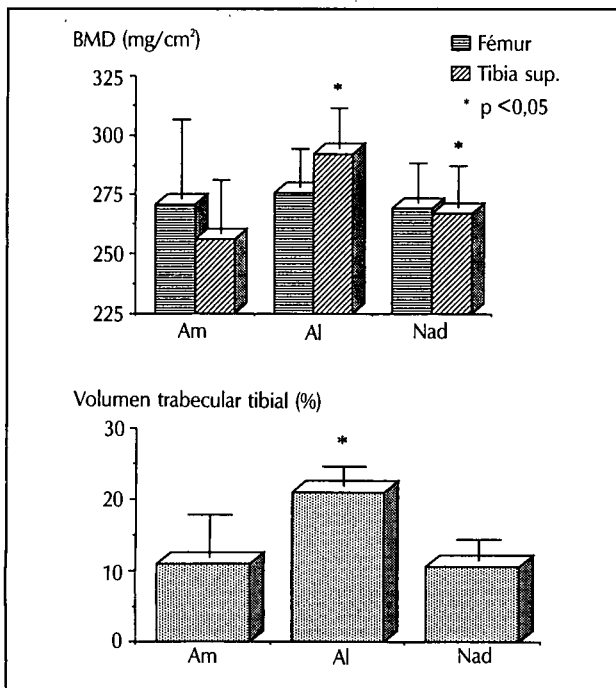


Fig. 1.—Valores densitométricos de masa ósea en fémur y extremidad superior tibial en huesos aislados (superior) y valores histomorfométricos del volumen óseo trabecular en la extremidad superior tibial (inferior).

**Tabla I.** Valores densitométricos evolutivos —al finalizar el período de sobrecarga ácida crónica y tras los 4 meses de exposición a aluminio (Al), supresión del  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Nad) y grupo con persistencia de administración de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ — a nivel lumbar y caudal, expresados como mg/cm<sup>2</sup>

		12 meses	16 meses	Significación
AM (n = 5)	BMD lumbar	224 ± 23	231 ± 24	NS
	BMD caudal	261 ± 25	263 ± 25	NS
Al (n = 8)	BMD lumbar	226 ± 13	242 ± 15	$p < 0,02$
	BMD caudal	262 ± 11	272 ± 15	$p < 0,02$
Nad (n = 5)	BMD lumbar	219 ± 36	248 ± 30	$p < 0,02$
	BMD caudal	252 ± 25	264 ± 28	$p < 0,02$

y Al respecto del grupo Nad ( $7,15 \pm 0,08$  y  $7,15 \pm 0,05$  vs  $7,24 \pm 0,05$  — $p < 0,05$ —, respectivamente). Las determinaciones de Al fueron marcadamente superiores en el grupo Al, siendo sus valores en suero de  $404 \pm 108$  µg/l en este grupo vs  $2,7 \pm 2,2$  y  $2,1 \pm 1,6$  µg/l en los grupos Am y Nad ( $p < 0,001$ ); en cuanto al Al en tibia, en el grupo A fue de  $101 \pm 13$  µg/g, mientras que los otros dos grupos tuvieron niveles inferiores a 2 µg/g ( $p < 0,001$ ).

Es destacable la excelente correlación existente entre los diferentes marcadores bioquímicos en el grupo Al (hidroxiprolina/creatinina, calcio/creatinina y calciuria en orina de ayuno, calciuria en orina basal y osteocalcina sérica se correlacionaron entre sí con valores de  $r$  entre 0,73 y 0,95 — $p < 0,05$  a  $p < 0,001$ —), siendo también destacable la correlación negativa del Al sérico con todos los anteriores parámetros (con  $r$  entre  $-0,81$  y  $-0,96$  — $p < 0,05$  a  $p < 0,001$ ).

Los valores de masa ósea evolutivos mostraron incrementos significativos en los grupos Al y Nad (tabla I), si bien en hueso aislado sólo se encontraron diferencias en dichos grupos a nivel tibial superior (fig. 1 superior).

La histología ósea ha mostrado una marcada disminución de hueso trabecular en los animales del grupo Am, mientras que en el grupo Al se ha observado un marcado incremento de hueso trabecular en la cavidad medular, incluso con formación de acúmulos o conglomerados del mismo. A pesar de los intensos depósitos de Al en el tejido óseo —prácticamente cubierto el 100% de la superficie trabecular y cortical en la tinción con solucromo de azulina—, la presencia de osteoide fue limitada a acúmulos focales y se observaron abundantes marcajes de tetracilinas.

Estas diferencias se constataron histomorfométricamente, donde se ha observado un mayor porcentaje de hueso trabecular en el grupo Al respecto a los otros dos grupos (fig. 1 inferior). En el grosor cortical ( $0,28 \pm 0,14$  en el grupo Am,  $0,47 \pm 0,19$  en el Al y  $0,36 \pm 0,8$  µm en el Nad), pese a observarse una tendencia similar, no se alcanzaron diferencias significativas.

## Discusión

La respuesta de los animales frente a la administración de una sobrecarga ácida crónica ha sido una marcada disminución de los valores de masa ósea con marcadores de alto recambio óseo, similar a lo descrito previamente<sup>8</sup> como respuesta del hueso frente a la acidosis<sup>9</sup>, si bien en nuestro caso se ha podido evaluar la respuesta evolutiva posterior en los diferentes grupos analizados.

La elección de este modelo se ha realizado para evitar la interferencia que en otros modelos de osteoporosis podría producir la acidosis inducida por la administración de  $Al_3Cl$ . En este caso se ha visto cómo, sin diferir en los valores de pH, se ha producido un efecto inductor de formación de hueso, fundamentalmente de hueso trabecular, constatable tanto densitométrica como histomorfométricamente.

A la vista de la marcada disminución del hueso trabecular observado en los animales que persistieron con la administración de  $NH_4Cl$ , el hueso neoformado lo sería «de novo», sin partir de la red trabecular, como lo demuestran los acúmulos de hueso en el área central medular con tinciones positivas para el aluminio, tanto en la superficie como dentro del hueso mineralizado.

La correlación negativa de los niveles de Al sérico con todos los marcadores metabólicos estudiados, en el grupo que recibió  $Al_3Cl$ , demuestra el efecto atenuador sobre el metabolismo óseo, a pesar de un efecto final positivo sobre la masa ósea, que refuerza la hipótesis de que el aluminio ejerza un efecto óseo paradójico —tóxico y trófico— probablemente a nivel de aluminio dependiente.

En conclusión, se ha encontrado que el aluminio es capaz de aumentar la masa ósea, sobre todo a nivel de hue-

so trabecular, en ratas con función renal normal y con marcada osteoporosis previa.

## Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por FIS 91/747E. El densitómetro Hologic 1000 utilizado pertenece al proyecto multicéntrico CREO y fue cedido por Rhone Poulenc-Rhorer.

## Bibliografía

1. Coburn JW: «Aluminio y enfermedad ósea». En Llach F y Valderrábano F (eds.): *Insuficiencia renal crónica. Diálisis y trasplante renal*. Ediciones Norma, Madrid, pp. 257-281, 1990.
2. Goodman WG, Leite Duarte ME: «Aluminum: effects on bone and role in the pathogenesis of renal osteodystrophy». *Miner Electrolyte Metab* 17:221-232, 1991.
3. Quarles LD: «Paradoxical toxic and trophic osseous actions of aluminum: potential explanations». *Miner Electrolyte Metab* 17: 233-239, 1991.
4. Quarles LD, Gitelman HJ, Drezner MK: «Induction of de novo bone formation in the beagle. A novel effect of aluminum». *J Clin Invest* 81:1056-1066, 1988.
5. Gómez Alonso C, Menéndez Rodríguez P, Fernández Martín JL, Díaz López JB, Cannata Andía JB: «May aluminum be implicated in nutritional aspects related with osteoporosis?» In Burckhardt P y Heaney RP (eds.): *Nutritional aspects of osteoporosis*. Sero Symposium, vol. 85:235-243. Raven Press, New York, 1991.
6. Harris SA, Riggs BL, Spelberg TC: «Zeolite A induces rapid increases in C-Fos and C-Jun proto-oncogene expression in normal human osteoblast-like cells». *J Bone Miner Res* 6 (Suppl. 1):S139, 1991.
7. Gómez C, Virgós M, Fernández JL, Menéndez P, Cannata JB: «Evaluation of bone mass by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) in laboratory animals. Precision analysis *in vitro* and *in vivo*». *Calcif Tissue Int* 51:241, 1992.
8. Myburgh KH, Noakes TD, Roodt M, Hough FS: «Effect of exercise on the development of osteoporosis in adult rats». *J Appl Physiol* 66:14-19, 1989.
9. Green J, Kleeman CR: «Role of bone in regulation of systemic acid-base balance». *Kidney Int* 39:9-26, 1991.