

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 16, Nº 3 - septiembre / diciembre 2020

Indizada en SCImago, EBSCO, Latindex, LILACS, SciELO, Scopus & Embase y SIIC Data Bases



A.A.O.M.M.

(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)

ISSN 1669-8975 (Print);
ISSN 1669-8983 (Online)
Revista Cuatrimestral
Rosario, Santa Fe, Argentina
www.osteologia.org.ar

Proteja los huesos de sus pacientes *con* Prolia®



Prolia® está indicado para:

Tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y en hombres con riesgo elevado de fracturas ¹

Tratamiento de la pérdida ósea asociada con la supresión hormonal en hombres con cáncer de próstata con riesgo elevado de fracturas ¹

Tratamiento de la pérdida ósea asociada con el tratamiento sistémico a largo plazo con glucocorticoides en pacientes adultos con riesgo elevado de fracturas ¹



Material dirigido exclusivamente a profesionales de la Salud, está prohibida su reproducción y/o distribución

Amgen Biotecnología de Argentina S.R.L. Italia 415, 2º Piso
B1638 BMC, Vicente López, Buenos Aires, Argentina | www.amgen.com.ar

La información de prescribir aprobada se encuentra disponible en vademécum ANMAT o en el siguiente código QR:

Referencia: 1. Disposición ANMAT N° DI-2020-3282-APN-ANMAT#MS



Osteofortil[®]
Teriparatida

Reconstruimos mucho más
que los huesos.

PRIMER AGENTE OSTEOFORMADOR APROBADO PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS EN PACIENTES CON ALTO RIESGO DE FRACTURA.

**TERIPARATIDA,
ÚNICO AGENTE
OSTEOANABÓLICO**



Osteofortil[®]
Teriparatida

Osteofortil[®] estimula preferentemente la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica generando la formación nueva de hueso.

Gran eficacia en la reducción de fracturas osteoporóticas vertebrales y no vertebrales.

Osteofortil[®] reduce significativamente el riesgo de fracturas.¹

84%

Reducción del riesgo de nuevas fracturas vertebrales.²

53%

Reducción de riesgo de fractura no vertebral.²

94%

Reducción del riesgo de múltiples fracturas vertebrales.²

62%

Reducción del riesgo de fracturas no vertebrales en las principales localizaciones.²

PRESENTACIÓN: Envases conteniendo 30 jeringas prellenadas con 20 mcg de teriparatida cada una. **INDICACIONES:** Mujeres posmenopáusicas con una fractura osteoporótica previa. Mujeres posmenopáusicas y varones con osteoporosis severa. Pacientes que reciben terapia con corticoides en forma crónica. Mujeres mayores de 65 años con Tscore <-2.5 y fractura vertebral previa.

Bio
es Vida[®]

Programa de Servicio al Paciente

☎ 0800-666-2527

📞 (011) 3893-3040

www.bioesvida.com.ar

TRIP D3

VITAMINA D3
(COLECALCIFEROL) 100.000 UI

Todos los
beneficios de
la Vitamina D3
en LIQUIDCAP

ÚNICA PRESENTACIÓN
3
CÁPSULAS



PRIMERO Y ÚNICO EN SU TIPO EN EL PAÍS

NUEVA LIQUIDCAP

TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN EN VITAMINA D3

PRÁCTICA

Fácil administración.

PRECISA

Dosis exacta,
no quedan remanentes.

CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO

Fácil de ingerir, se evita el gusto.

ESTABILIDAD MEJORADA

Menor permeabilidad al oxígeno,
mayor protección de la Vitamina D3.

ALTA PUREZA

Por la no utilización de agua ni
calor en el proceso productivo.

ABSORCIÓN OPTIMIZADA

En sólo 10 minutos promedio
se disuelve el 80% de la dosis.

ENVASES CONTENIENDO 1 Y 3 CÁPSULAS DURAS





LUNAR[®]

enCORE

Nueva Versión 18



3D-SHAPER

TBS ^{3 en 1} **iNsight[®]**
Easy access to bone microarchitecture



0810-333-6978

WhatsApp: +54 9 11-4164-4482

Web: www.osteomedical.com.ar

Mail: ventas@osteomedical.com.ar

 **osteomedical**
Densitometría Ósea



Oravil®

VITAMINA D3



LÍNEA ORAVIL: LA MÁS AMPLIA VARIEDAD ACORDE A SU NECESIDAD

Oravil®

VITAMINA D3



Presentación:
Envases
conteniendo
1 frasco ampolla
bebible por 2 ml.

Oravil® CB

VITAMINA D3 • CÁPSULAS BLANDAS
100.000 UI



Presentación:
Envases
conteniendo
1 y 2 cápsulas
blandas.

Oravil®

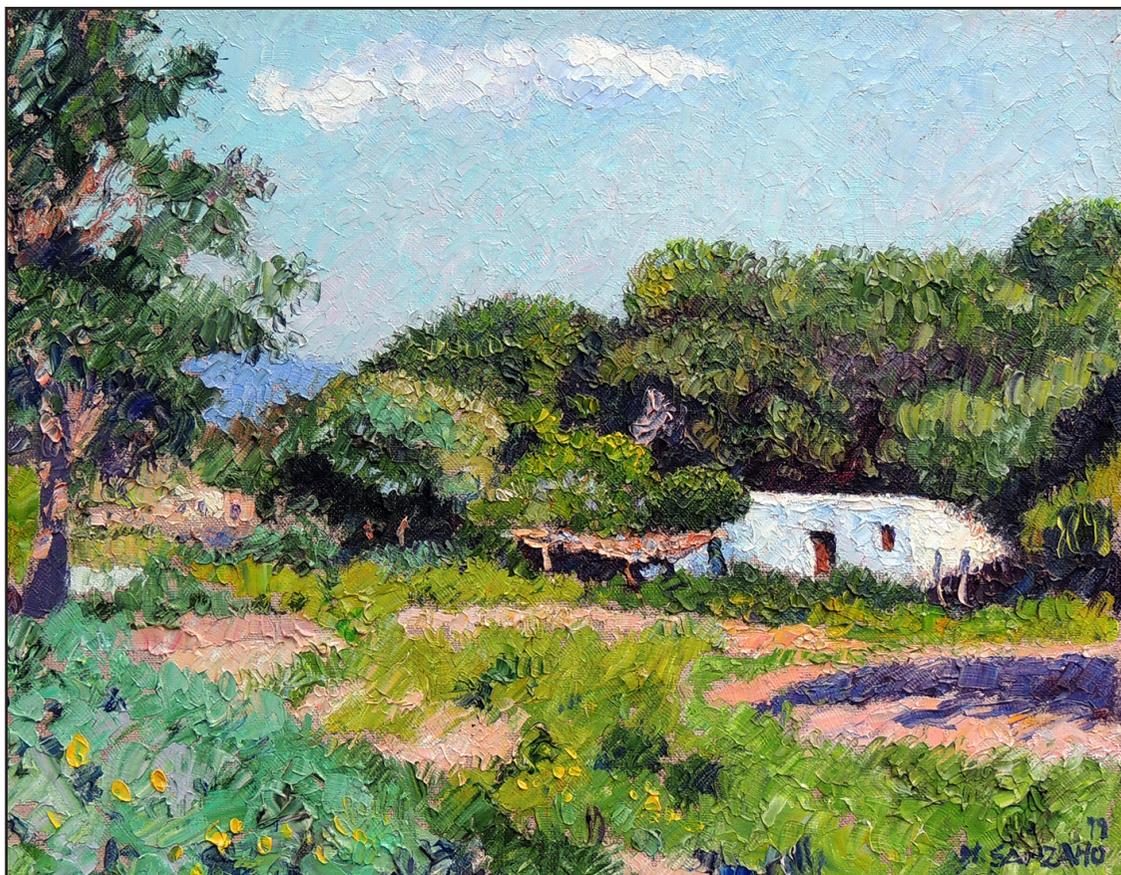
GOTAS
VITAMINA D3



Presentación:
Envases
conteniendo
1 frasco gotero
por 6 ml.

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral



Mario Sanzano
“Entre los árboles”, 1999
Óleo sobre lienzo, 24 x 30 cm.
Galería Zurbarán.

VOL. 16, Nº 3

septiembre /diciembre 2020

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

www.osteologia.org.ar

Rosario, Santa Fe, Argentina

Indizada en SCImago, EBSCO, Latindex, LILACS, SciELO, Scopus & Embase y SIIC Data Bases



ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 16, Nº 3

septiembre / diciembre 2020

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

www.osteologia.org.ar

Rosario, Santa Fe, Argentina

Aparición: cuatrimestral

Editores responsables:

Virginia Massheimer: Cátedra Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, Bahía Blanca (B8000ICN), Argentina. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

Fernando Saravi: Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Argentina.

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

PROPIETARIO: Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

DOMICILIO LEGAL: 9 de julio 1324, (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina

www.aaomm.org.ar / info@aaomm.org.ar

Perfil de la revista

Actualizaciones en Osteología es el órgano científico de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM). Actualizaciones en Osteología acepta para su publicación trabajos redactados en español o en inglés, que aborden aspectos clínicos o experimentales dentro de la osteología y el metabolismo mineral que puedan considerarse de utilidad e interés para nuestra comunidad científica. Dichos trabajos habrán de ser inéditos, cumplir los requisitos de uniformidad para el envío demanuscritos y estar comprendidos en algunas de las secciones de la revista (Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Editoriales, Cartas al Editor). Los artículos son revisados por pares, expertos nacionales e internacionales.

Los artículos publicados en Actualizaciones en Osteología son indizados en EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), LILACS (Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud), base de datos corporativa del Sistema BIREME (Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) y SIIC Data Bases (Sociedad Iberoamericana de Información Científica).

Actualizaciones en Osteología es una revista de Acceso Abierto (Open Access). Todo el contenido es de acceso libre y gratuito. Los usuarios pueden leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, siempre que no se pretenda su utilización para uso comercial. Para el correcto ejercicio de este derecho por parte de los usuarios, es condición necesaria que los derechos de propiedad intelectual sean reconocidos. Para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciada, indicando la autoría y la fuente bibliográfica. Por otra parte, para la reproducción escrita del material de la revista se deberá solicitar la autorización pertinente. El contenido y las opiniones expresadas en los trabajos publicados en la revista son de entera responsabilidad del(los) autor(es).

Scope

Actualizaciones en Osteología is the official scientific journal of the Argentinean Association of Osteology and Mineral Metabolism (AAOMM). Actualizaciones en Osteología publishes manuscripts written in Spanish or English describing clinical and experimental aspects within osteology and mineral metabolism. The articles should be original, meet the uniform requirements for manuscript submission and be comprised in one of the sections of the journal (Original Articles, Review Articles, Short Communications, Case Reports, Editorials, Letters to the Editor). Articles are peer-reviewed by national and international experts in the field.

The articles published in Actualizaciones en Osteología are indexed in EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Regional Information System for Scientific Journals Online of Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal), LILACS (Latin American Literature in Health Sciences), BIREME (Latin American and Caribbean Center on Health Sciences), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) and SIIC data Bases (Iberoamerican Society Scientific Information).

Actualizaciones en Osteología is an Open Access journal. All its content is available free of charge. Users can read, download, copy, distribute, print, search or link the complete article texts from this journal without requiring permission from the editor or author, as long as it is not for commercial use. Users should recognize the intellectual property rights. For this, any reproduction of the contents of any article published in the journal should be properly referenced, indicating the authors and bibliographic source.

On the other hand, authorization should be requested for written reproduction of the journal material. The content and opinions expressed in the manuscripts published by the journal are the sole responsibility of the author(s).

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

EDITORES RESPONSABLES

Virginia Massheimer

Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR, CONICET-UNS). Universidad Nacional del Sur. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Bahía Blanca. Argentina.

Fernando Saravi

Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Argentina.

EDITORAS ASOCIADAS

Silvina Mastaglia

Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEN). CONICET-UBA, Buenos Aires. Argentina.

Gabriela Picotto

Bioquímica y Biología Molecular, INICSA (CONICET-UNC), Córdoba. Argentina.

Lilian I. Plotkin

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

María Josefina Pozzo

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires. Argentina.

EDITOR ASOCIADO SENIOR

Julio Ariel Sánchez

Director Centro de Endocrinología. Rosario, Argentina. Ex-director Actualizaciones en Osteología 2005-2012.

SECRETARIA DE REDACCIÓN

Patricia Mandalunis

Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA. Buenos Aires. Argentina.

COORDINACIÓN EDITORIAL

Mariana Rapoport

asistente-editorial@osteologia.org.ar

CORRECCIÓN DE TEXTOS

Prof. María Isabel Siracusa

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires. Argentina.

Ricardo A. Battaglini

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

Teresita Bellido

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

Lucas R. M. Brun

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rosario. Argentina.

David Burr

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

Marilia Buzalaf

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

Jorge B. Cannata Andía

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

Haraldo Claus Hermberg

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires, Argentina.

Gustavo Duque

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

Adriana Dusso

Laboratorio de Nefrología Experimental. IRB Lleida (Instituto de Investigaciones Biomédicas de Lleida). Facultad de Medicina. Universidad de Lleida. Lleida. España.

Pedro Esbrit

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

José Luis Ferretti

Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEM-FoC). Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.



Ana María Galich

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

Diana González

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, Argentina.

María Luisa Gonzalez Casaus

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

Arancha R. Gortázar

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

Nuria Guañabens

Servicio de Reumatología del Hospital Clinic de Barcelona. España.

Suzanne Jan de Beur

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

Patricia Jaurez Camacho

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

Carlos Mautalen

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, Argentina.

Michael McClung

Oregon Osteoporosis Center, Portland, OR, USA.

José Luis Millán

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

Armando Negri

Instituto de Investigaciones Metabólicas. Buenos Aires, Argentina.

Beatriz Oliveri

MAUTALEN, Salud e Investigación. Laboratorio Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas, INIGEM. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.

Luisa Carmen Plantalech

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

Hans L Porias Cuéllar

Nuevo Sanatorio Durango. México.

Rodolfo Puche

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

Alfredo Rigalli

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Rosario, Argentina.

Emilio Roldán

Departamento de Investigaciones Musculo esqueléticas, Instituto de Neurobiología (IDNEU). Dirección Científica, Gador SA. Buenos Aires, Argentina.

Ana Russo de Boland

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.

Helena Salerni

División Endocrinología del Hospital Durand. Buenos Aires, Argentina.

Eduardo Slatopolsky

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

Nori Tolosa de Talamoni

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D "Dr. Fernando Cañas". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

José R. Zanchetta

Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Buenos Aires, Argentina.

Susana Zeni

Investigadora principal del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

**AUTORIDADES DE AAOMM
COMISIÓN DIRECTIVA 2019-2020**

Presidente

Dr. Lucas Brun

Vicepresidente

Dra. Gabriela Picotto

Secretaria

Dra. Lorena Brance

Tesorera

Dra. Paula Rey

Vocales

Dra. María Belen Zanchetta

Dra. Graciela Mabel Brito

Dra. Diana González

Dra. María Diehl

Dra. Elisa Cambiazzo

Dr. Adrián Campelo

Dra. María Cielo Maher

Dr. Jorge Jacobo

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 16, Nº 3, septiembre / diciembre 2020

ÍNDICE**EDITORIAL / Editorial**

- Bloqueo puberal en niños con disforia de género: ¿totalmente reversible?**
Pubertal suppression in children with gender dysphoria: fully reversible?
Fernando D. Saraví **163**

COMENTARIO EDITORIAL / Editorial Comment

- Tratamientos para la osteoporosis y vacunación contra el Covid-19: recomendaciones conjuntas de las principales entidades científicas internacionales**
Osteoporosis treatments and COVID-19 vaccination: joint recommendations from main international scientific entities
Silvina Mastaglia **166**

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

- Densidad mineral ósea y composición corporal en mujeres transgénero previamente al tratamiento hormonal cruzado. ¿Hay diferencias con hombres cisgénero?**
Bone mineral density and body composition in transgender females prior to cross-sex hormone treatment. Is there any difference with cisgender males?
Rubén Abdala, Alberto Nagelberg, Mariela Sesta, María Belén Zanchetta **167**

ACTUALIZACIONES / Review

- Salud ósea en personas transgénero**
Bone health in transgender subjects
Rubén Abdala, Alberto Nagelberg, M. Lorena Brance **176**

**Micro-ARNs y células óseas***MicroRNAs and bone cells***Marina Soledad Bonanno, Estefanía Magali Zeni Coronel,
Mariana Seijo, Susana Noemí Zeni****188****Importancia de la angiogénesis en el diseño de *scaffolds*
para Ingeniería de tejido óseo***Importance of angiogenesis in the design of scaffolds
for bone tissue engineering***Juan Manuel Fernández****211****Osteonecrosis de los maxilares asociada a medicamentos (ONMM)***Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ)***Rodolfo Guelman, María Silvia Larroudé, José Luis Mansur,
Ariel Sánchez, Eduardo Vega, María Belén Zanchetta,
Silvana Noemí Picardo, Sergio A. Rodríguez Genta, Eduardo A. Rey****232****ÍNDICE ACUMULADO / *Cumulative Index*****253****INSTRUCCIONES PARA AUTORES / *Authors guidelines*****259**

EDITORIAL / Editorial

BLOQUEO PUBERAL EN NIÑOS CON DISFORIA DE GÉNERO: ¿TOTALMENTE REVERSIBLE?

Fernando D. Saraví

Existe creciente interés en la salud de personas transexuales y transgénero, que ha trascendido las revistas sexológicas, endocrinológicas y quirúrgicas para manifestarse en revistas médicas generales como *The Lancet*¹ y *The New England Journal of Medicine*².

Uno de los aspectos que recibe atención es la salud ósea de estas personas, como lo estamos comprobando en los servicios de densitometría. Al respecto, en el presente número publicamos dos trabajos sobre el tema: una revisión sobre salud ósea de personas transexuales por Brance y col. y un artículo original sobre transexuales mujeres por Abdala y col.

Dados los desafíos específicos que plantea la salud de estas personas, varias sociedades científicas han publicado lineamientos de práctica clínica destinados a optimizar su atención y tratamiento.^{3,4}

En nuestro país, la ley 26743, llamada de “identidad de género”, permite el cambio del sexo registral de cualquier adulto que lo solicite sin que, en ningún caso, sea un requisito “acreditar intervención quirúrgica por reasignación genital total o parcial, ni acreditar terapias hormonales u otro tratamiento psicológico o médico” (artículo 4º). Los menores de edad pueden acceder a igual cambio con autorización de sus representantes legales o, de ser necesario, por decisión judicial (artículo 5º).

Por otra parte, la misma ley en su artículo 11º establece un derecho de estas personas a recibir “tratamientos integrales hormonales” e “intervenciones quirúrgicas totales o parciales”, que deben ser garantizadas por los efectores del sistema público de salud. Todas las prestaciones mencionadas quedan incluidas en el Plan Médico Obligatorio.

Las opciones de tratamiento para adaptar la anatomía al sexo autopercebido se clasifican en reversibles, parcialmente reversibles e irreversibles.^{3,4} Estas últimas comprenden intervenciones quirúrgicas como la mastectomía, la castración (ooforectomía u orquiectomía), la vaginoplastia y la faloplastia, mientras que los tratamientos crónicos con estrógenos o andrógenos se describen como parcialmente reversibles. Por otra parte, los tratamientos con bloqueantes de la secreción de gonadotropinas, destinados a detener el desarrollo puberal, se consideran generalmente reversibles.

Los agonistas de la gonadoliberina (GnRH), como histrelina y leuprolide, se han empleado con éxito en niños con pubertad precoz de origen central.⁵ En el caso de niños que solicitan reasignación de su sexo biológico, por diversas razones se recomienda iniciar el tratamiento médico con agonistas de GnRH para bloquear el desarrollo puberal a partir de la etapa 2 de Tanner. Usualmente esto corresponde a una edad de 12 o 13 años.

Los agonistas de GnRH causan una reducción de la secreción de gonadotropinas, lo cual disminuye la producción de esteroides sexuales y, en consecuencia, el desarrollo de los carac-



teres sexuales propios del sexo biológico. La citada reversibilidad de los agonistas de GnRH consiste en que, al suspenderse su administración, el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal retoma su función normal.

Ahora bien, además de funciones reguladoras, los esteroides sexuales cumplen funciones tróficas y organizativas.⁶ En un niño con pubertad precoz es deseable demorar este proceso para sincronizarlo con el resto del desarrollo, y en particular para que alcance una talla acorde con su potencial genético.

No obstante, la conveniencia de demorar un proceso para sincronizarlo con otros aspectos del desarrollo normal no es *a priori* lo mismo que bloquear el desarrollo puberal que ocurre de manera biológicamente oportuna en un niño anatómica y fisiológicamente normal. Es llamativo que este tratamiento se comenzara a promover de manera virtualmente experimental, “off label”,⁷ sin clara evidencia de su eficacia, ni mucho menos de su seguridad a largo plazo.

Se sabe que la amplia mayoría de los niños con disforia de género resuelven espontáneamente su conflicto al producirse su desarrollo puberal.⁸ Quienes recomiendan el bloqueo puberal lo consideran como una forma reversible de evitar un desarrollo no deseado y dar tiempo para una decisión definitiva. No obstante, la misma intervención presuntamente reversible puede sesgar dicha decisión.

Tras dos o tres años de bloqueo puberal, el niño permanecerá en una etapa infantil en su talla, su masa y su composición corporal, y probablemente en la función de su sistema nervioso, que experimentaría una reorganización significativa durante la pubertad fisiológica.⁹ Esto sin considerar los efectos psicológicos sobre el niño, en un entorno social y escolar en el que la mayoría de sus pares se desarrollan normalmente.¹⁰

En consecuencia, es de la mayor importancia proceder a una evaluación exhaustiva e informar a los niños y sus progenitores o representantes legales los pros y los contra de cada una de las opciones, incluidas las presuntamente reversibles, a la luz del axioma médico “ante todo, no hacer daño”.

Recibido: diciembre 2021

Aceptado: diciembre 2021

Referencias

1. Safer JD, Tangpricha V. Care of transgender persons. *N Eng J Med* 2019; 381:2451-60.
2. Reisner SL, Poteat T, Keatley JA, et al. Global health burden and needs of transgender populations: a review. *Lancet* 2016; 388:412-36.
3. Hembree WC, Cohen-Kettenis PT, Gooren L, et al. Endocrine treatment of gender-dysphoric/gender-incongruent persons: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102:3869-903.
4. Coleman E, Bockting W, Botzer M, et al. Standards of care for the health of transexual, transgender, and gender-nonconforming people, version 7. *Int J Transgend* 2012; 13:165-232.
5. Carel JC, Eugster EA, Rogol A, Ghizzoni L, Palmert MR. Consensus statement on the use

- of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics* 2009; 123:e752-62.
6. Wood CL, Lane LC, Cheetham T. Puberty: normal physiology (brief overview). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2019; 33:101265.
 7. López CM, Solomon D, Boulware SD, Christison-Lagay E. Trends in the “off-label” use of GnRH agonists among pediatric patients in the United States. *Clin Pediatr (Phila)* 2018; 57:1432-5.
 8. Bonifacio HJ, Rosenthal SM. Gender variance and dysphoria in children and adolescents. *Pediatr Clin N Amer* 2015; 62:1001-16.
 9. Chen D, Strang JF, Kolbruck VD, et al. Consensus parameter: Research methodologies to evaluate neurodevelopmental effects of pubertal suppression in transgender youth. *Transgender Health* 2020; 5:246-57.
 10. Rafferty J. Committee on Psychosocial Aspects of Child and Family Health; Committee on Adolescence, Section on Lesbian, Gay, Bisexual, and Transgender Health and Wellness. Ensuring comprehensive care and support for transgender and gender-diverse children and adolescents. *Pediatrics* 2018; 142: e20182162.
-



COMENTARIO EDITORIAL / *Editorial comment*

TRATAMIENTOS PARA LA OSTEOPOROSIS Y VACUNACIÓN CONTRA EL COVID-19: RECOMENDACIONES CONJUNTAS DE LAS PRINCIPALES ENTIDADES CIENTÍFICAS INTERNACIONALES

Las entidades internacionales* más destacadas en el área de osteoporosis y metabolismo mineral recientemente redactaron una guía, basada en la opinión de expertos, con el fin de realizar recomendaciones dirigidas a los médicos especialistas responsables de prescribir medicamentos para el tratamiento de la osteoporosis en aquellos pacientes candidatos a recibir la vacuna contra el COVID-19.

Dado que la osteoporosis *per se* no incrementaría el riesgo de infección o complicaciones asociadas a COVID-19, no es necesario priorizar la vacunación en este grupo de pacientes. Las medidas generales para la salud ósea (por ejemplo, suplementación con vitamina D y calcio, actividad física y una dieta balanceada) deben ser mantenidas al momento de la vacunación o posteriormente a su aplicación. No se recomienda suspender el tratamiento con bifosfonatos de administración oral, teriparatida o modulador selectivo de los receptores de estrógenos (SERM) al momento en que el paciente reciba la vacuna contra el COVID-19. En cambio, se recomienda un intervalo de una semana entre la infusión de un bifosfonato intravenoso y la aplicación de la vacuna contra el COVID-19, para permitir diferenciar entre una reacción de fase aguda que resulte de la administración del bifosfonato de otra causada por el efecto de la vacuna contra el COVID-19. Para la administración de un medicamento monoclonal (denosumab) se aconseja un intervalo de 4 a 7 días entre la administración de denosumab y la aplicación de la vacuna contra el COVID-19, para evitar una reacción en el sitio de inyección con ambos tratamientos. Alternativamente, si fuera necesaria la administración concomitante con la vacuna contra el COVID-19, el denosumab podría colocarse en el brazo contralateral o en otro sitio alternativo (abdomen o muslo).

El siguiente link permite acceder al documento original:

<https://www.asbmr.org/about/statement-detail/joint-guidance-on-covid-19-vaccine-osteoporosis>

SILVINA MASTAGLIA

Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas
Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) - CONICET
Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires. Argentina.

*Entidades internacionales participantes: American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR), American Association of Clinical Endocrinology (AACE), Endocrine Society, European Calcified Tissue Society (ECTS), International Osteoporosis Foundation (IOF), and National Osteoporosis Foundation (NOF).

ARTÍCULOS ORIGINALES /Originals

DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y COMPOSICIÓN CORPORAL EN MUJERES TRANSGÉNERO PREVIAMENTE AL TRATAMIENTO HORMONAL CRUZADO. ¿HAY DIFERENCIAS CON HOMBRES CISGÉNERO?

Rubén Abdala^{1,2}, Alberto Nagelberg³, Mariela Sesta¹, María Belén Zanchetta^{1,2}

1. Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas (IDIM). 2. Cátedra de Osteología y Metabolismo Mineral, Universidad del Salvador. 3. División Endocrinología Hospital Carlos G. Durand, GAPET. Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Se denomina transgénero mujer (TM) a un varón biológico con identidad de género femenina. El tratamiento hormonal cruzado (THC) es una de las opciones para lograr caracteres sexuales del género autopercebido. Realizamos un estudio de diseño transversal, observacional y analítico para evaluar la densidad mineral ósea, composición corporal y fuerza muscular antes de iniciar la hormonización. Un total de 26 TM en condiciones de ingresar en el estudio fueron comparadas con hombres cisgénero de similar edad (mediana 23,5 vs. 25,5 años). Basalmente, las TM presentaron menor densidad ósea en columna lumbar (1,040 vs. 1,280 g/cm²; p=0,01), cade-

ra total (0,970 vs. 1,070 g/cm²; p=0,01) y cuerpo entero (1,080 vs. 1,220 g/cm²; p<0,01). Observamos, además, menor masa muscular en brazos (5,033 vs. 6,212 kg; p<0,01) y piernas (16,343 vs. 18,404 kg; p=0,02), acompañada de menor fuerza muscular de puño (p<0,01). Concluimos que las TM presentaron características diferentes de la biología masculina aun sin haber iniciado el THC. Sugerimos incluir la evaluación de la densidad mineral ósea en la evaluación inicial de esta población, dados los hallazgos identificados.

Palabras clave: transmujeres, tratamiento hormonal cruzado, densidad mineral ósea, composición corporal, masa muscular.



Abstract

BONE MINERAL DENSITY AND BODY COMPOSITION IN TRANSGENDER FEMALES PRIOR TO CROSS-SEX HORMONE TREATMENT. IS THERE ANY DIFFERENCE WITH CISGENDER MALES?

A trans-woman (TW) is a biologically male person with female gender identity. Cisgender denotes a person whose sense of personal identity and gender corresponds with its birth sex. Cross-sex hormone therapy (CSHT) is one of the options to achieve secondary characteristics of the self-perceived gender. We performed a cross-sectional study. Bone mineral density (BMD), body composition, and muscle strength before starting CSHT were assessed. Twenty-six TW (median age

23.5 years) and cisgender males (median age 25.5 years) were matched for age. TW had less BMD at the lumbar spine (1.040 vs 1.280 g/cm²; $p=0.01$), total hip (0.970 vs 1.070 g/cm²; $p=0.01$), and total body (1.080 vs 1.220 g/cm²; $p<0.01$). They also had less skeletal muscle mass in the arms (5.033 vs 6.212 kg; $p<0.01$) and legs (16.343 vs 18.404 kg; $p=0.02$), associated with lower grip strength ($p<0.01$). It appears that bone and muscle characteristics of TW before starting CSHT differ from cisgender men. Taking these findings into account, we suggest the inclusion of BMD in the initial evaluation of TW.

Keywords: trans woman, cross-sex hormone treatment, bone mineral density, body composition, muscle mass.

Introducción

Se denomina transgénero mujer (TM) a un varón biológico con identidad de género femenino. En la Argentina, la Ley 26743 de identidad de género fue sancionada en el año 2012.¹ El tratamiento hormonal cruzado (THC) o de reafirmación constituye una opción disponible para lograr cambios corporales acordes con el género autopercibido.^{2,3} En nuestra División, la hormonización en TM se realiza mediante preparados de estrógenos administrados por vía oral o transdérmica, solos o asociados con antiandrógenos.

Se denominan personas cisgénero (cis) a aquellas que no presentan discordancia entre su sexo biológico y su identidad de género.⁴ El impacto del THC sobre la salud ósea y el metabolismo fosfocálcico en personas trans es materia de estudio en muchos centros de referencia.⁵ El pico de masa ósea o máxima ganancia en la densidad mineral ocurre durante la pubertad; en este período, los esteroides sexuales son factores determinantes

para el dimorfismo sexual esquelético entre hombres y mujeres.⁶ Esto resulta evidente ya que, antes de esta etapa, la densidad mineral ósea volumétrica (DMOV) es similar en ambos sexos biológicos.^{7,8} Van Caenegem y col. reconocieron en su estudio que las TM con una edad media de 30 años presentaban basalmente menor densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar, cuello de fémur y cadera total antes del THC en comparación con hombres cis. Además, mediante la realización de tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT) evidenciaron en el radio una menor densidad ósea volumétrica trabecular (trabecular vBMD, mg/cm³) 218±42 vs. 244±50, menor densidad ósea volumétrica cortical (cortical vBMD, mg/cm³) 1091±36 vs. 1113±28 y menor espesor cortical (mm) 2,21±0,30 vs. 2,46±0,27.⁹ Figuera y col. informaron diferencias significativas en parámetros de composición corporal (masa muscular y tejido graso) y densidad mineral ósea al inicio del THC.¹⁰

Existen diferentes técnicas para la evaluación de la composición corporal. La absorciometría de rayos X de doble energía (DXA), es una técnica que actualmente es ampliamente utilizada; mediante la atenuación de los rayos permite diferenciar los compartimentos óseo, magro y graso. Su coeficiente de variación es bajo y, por lo tanto, permite una correcta reproducibilidad. Al ser comparada con la resonancia magnética nuclear (RMN) presenta una correlación excelente, de 0,99.¹¹⁻¹⁴

El objetivo de nuestro estudio fue analizar la composición corporal por DXA, la densidad mineral ósea y la fuerza muscular en TM en condiciones de iniciar el THC.

Materiales y métodos

Estudio de diseño transversal, observacional y analítico. Se incluyeron en forma consecutiva un total de 27 TM en condiciones de iniciar THC. Se consideraron para el ingreso en el estudio aquellas personas mayores de 18 años, con valores hormonales basales dentro de parámetros normales para nuestro laboratorio y correspondientes al sexo biológico. El estudio se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki, se firmó un consentimiento informado y fue aprobado por el Comité de ética. Se excluyeron aquellas TM que recibieron tratamiento hormonal previo o se hubieran realizado implantes glúteos. También fueron excluidos aquellos individuos con causas secundarias de osteoporosis (enfermedad celíaca, HIV, hiperparatiroidismo, diabetes mellitus, etc.).

Basalmente, en las TM, se midieron los niveles de hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH), estradiol y testosterona mediante un método quimioluminiscente.

Para evitar la sobrestimación de la masa muscular fueron retiradas del estudio las TM con IMC > 29,9 kg/m² (n=1). Se seleccionó un grupo control de 47 hombres cis de similar edad, talla y peso. Todos eran saludables, además de presentarse clínicamente eugonádicos.

Se recopilaron datos sobre hábitos tóxi-

cos (tabaco, marihuana, alcohol) y actividad física. Ambas variables se recopilaron como variable dicotómica (Sí/No).

La densidad mineral ósea (DMO) fue evaluada mediante absorciometría dual de rayos X (DXA- GE Lunar Prodigy equipment GE Lunar®, Madison, WI, USA) e informada en g/cm². Se registraron las densidades de distintas regiones: cuello de fémur (CF), cadera total (CT) y columna lumbar (L1-L4).

La composición corporal fue evaluada mediante un *software* instalado en el equipo DXA, bajo la licencia del fabricante. El escaneo de cuerpo entero permitió la medición de la masa grasa (g y %), masa muscular de brazos y piernas (masa muscular apendicular, kg), contenido mineral óseo (CMO, g) y densidad mineral ósea de cuerpo entero (g/cm²). Además, permitió el análisis regional mediante puntos de referencia (*landmarks*) que se delimitan en forma automática. El índice androide/ginoide (A/G) se obtuvo del cociente entre el tejido graso de ambas regiones; el índice de masa muscular esquelética o IMME corresponde al cociente entre la masa muscular apendicular (suma de masa muscular en brazos y piernas) y la talla al cuadrado. Antes de la realización de la DXA, todos los participantes fueron medidos y pesados con una báscula con estadímetro implementado.

La fuerza de puño fue evaluada mediante dinamómetro hidráulico de mano (Dynamometer, JAMAR®-USA). Para la comparación con la población control se registró el mejor valor de tres determinaciones en cada miembro derecho (D) e izquierdo (I).

Estadística

Dada la distribución de los datos, se informan como mediana y rango intercuartil (RIQ). Para la inferencia estadística se utilizó la prueba no paramétrica de muestras independientes U de Mann-Whitney. Se consideró estadísticamente significativa una p<0,05. Para el análisis se empleó el *software* INFOS-TAT® versión 2017.



Resultados

Todas las TM presentaron niveles hormonales basales esperados para el sexo biológico previamente al THC. El 22 % (n=6) de las TM presentaron un Z-score <-2 para el sexo biológico (no autopercibido) en cualquiera de las regiones evaluadas (CF, CL o CT). Las características antropométricas y bioquímicas basales de las TM (n=27) se muestran en la Tabla 1 y se expresan como mediana y rango intercuartil (RIQ). La mediana de testosterona en TM fue de 6,26 ng/ml (RIQ 5,39-7,5; VN: 3-9 ng/ml) y de estrógeno 31,5 pg/ml (RIQ: 17-40; VN: 16-60 pg/ml) (Tabla 1). La mediana de edad fue de 25 años. La mediana de peso e IMC fue de 61 kg y 20,8 kg/m², respectivamente. Posteriormente a la exclusión de una TM con IMC >29,9 kg/m², la comparación entre TM y hombres cis se muestra en la Tabla 2. No hubo diferencias significativas en edad y talla. Basalmente, la población de TM presentó menor cantidad de tejido graso (19,15% vs. 24,70%) y menor masa muscular en brazos y piernas (MMA 19,370 kg vs. 25,140 kg). La DMO demostró claras diferencias en todas las

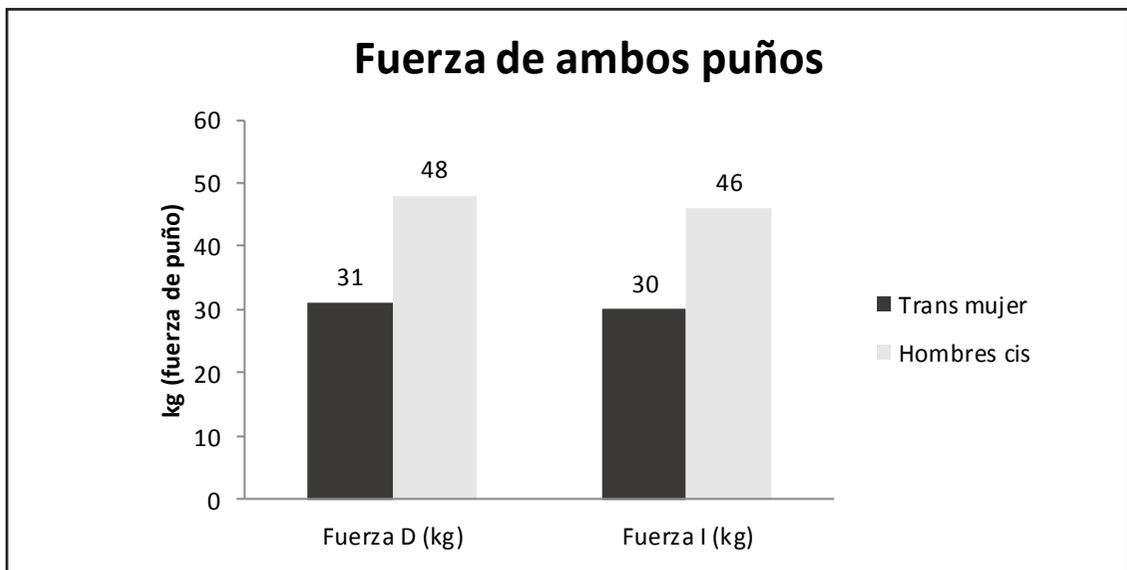
regiones evaluadas (CT, CL y cuerpo entero). También se constató menor CMO (2536 g vs. 2816 g). La Figura 1 muestra las diferencias en la fuerza de puño en ambos miembros (D: derecho I: izquierdo), que fue menor en las TM.

Tabla 1. Características basales antropométricas y bioquímicas de las personas transmujeres (n=27).

	Mediana (IQ)
Edad (años)	25,00 (23-33)
Peso (kg)	61,00 (56,00-67,00)
Talla (m)	1,70 (1,66-1,76)
FSH (1,5-7 mUI/ml)	4,45 (4,10-4,70)
LH (1,1-9 mUI/ml)	3,60 (1,30-4,20)
To (3-9 ng/ml)	6,26 (5,39-7,5)
E2 (16-60 pg/ml)	31,5 (17-40)
Fuerza D (kg)	30 (28-34)
Fuerza I (kg)	30 (24-30)

FSH: hormona foliculoestimulante, LH: hormona luteinizante, To: testosterona total, E2: estradiol, D: derecha, I: izquierda.

Figura 1. Fuerza de puño de ambos miembros en hombres cis y transmujeres.



Se describen las medianas de fuerza en ambos puños evaluada por dinamometría de mano. En ambos miembros (D = mejor valor del puño derecho, I = mejor valor del puño izquierdo) $p < 0,0001$.

Tabla 2. Tabla comparativa entre hombres cis y transmujeres.

Variable	Hombres cis (n=47)	Mujer Trans (n=26)	p
Edad (años)	23,5 (21,0 -27,0)	25,5 (23,0-33,0)	0,0935
Peso (kg)	69,0 (62-81)	60,5 (56-67)	0,0014
Talla (m)	1,73 (1,67- 1,77)	1,70 (1,66-1,76)	0,3819
IMC (kg/m ²)	24,1 (22,2-26,3)	20,7 (18,3-22,9)	0,0011
Grasa T(%)	24,70 (19,50-31,40)	19,15 (15,90-27,30)	0,0577
Grasa (kg)	17,02 (12,05- 24,15)	11,37 (9,11-18,10)	0,0162
A/G	0,93 (0,81-1,04)	0,86 (0,70-1,04)	0,0609
MM Brazos (kg)	6,212 (4,812-7,175)	5,033 (4,312-5,602)	0,0018
MM Piernas (kg)	18,404 (14,786-19,937)	16,343 (14,088-17,395)	0,0252
MMA (kg)	25,14 0 (19,040 -28,520)	19,370 (18,070-22,800)	0,0015
IMME (kg/m ²)	8,15 (6,86- 8,88)	6,96 (6,38-7,73)	0,0023
CMO (g)	2816 (2420-3259)	2536 (2130-2663)	0,0149
DMO cuerpo entero (g/cm ²)	1,220 (1,120-1,270)	1,080 (1,030-1,180)	0,0010
CL (g/cm ²)	1,280 (1,080-1,530)	1,040 (1,000-1,170)	0,0125
CF (g/cm ²)	1,060 (1,020-1,190)	0,984 (0,890-1,160)	0,3862
CT (g/cm ²)	1,070 (1,040-1,190)	0,970 (0,860-1,030)	0,0158

Test U de Mann-Whitney

IMC: índice de masa corporal, MM: masa muscular, MMA: masa muscular apendicular, IMME: índice de masa muscular esquelética, CMO: contenido mineral óseo, CL: columna lumbar, CF: cuello femoral, CT: cadera total, A/G: índice androide-ginoide.

Discusión

Hasta donde sabemos, no existen reportes sobre la salud ósea en personas transgénero en la Argentina. Al igual que otros

autores encontramos que, antes del THC, las TM presentaron algunas características diferentes respecto de los hombres cis.^{9,10} Estas diferencias fueron observadas en la



composición corporal, fuerza muscular y DMO. Haraldsen y col. evaluaron basalmente TM (n=12) en condiciones de iniciar THC y las compararon con una población control cis. En ese trabajo se encontró que el grupo de personas trans tenía: menor DMO en CL (L2-L4) 1,13 vs. 1,26 g/cm², menor DMO de cuerpo entero 1,18 vs. 1,25 g/cm², menor masa muscular 54,449 vs. 59,059 kg. Todas las diferencias entre los parámetros mencionados fueron significativas. Para estos autores, dichas disparidades ya existentes (patrón feminizado) previas al tratamiento hormonal podrían ser consecuencia de los diferentes estilos de vida entre las poblaciones.¹⁵ Esta hipótesis es postulada de igual manera por otros investigadores, atribuyendo un rol importante al déficit de vitamina D y a la menor actividad física entre estos individuos.¹⁶ En una población de TM de Bélgica se observó una prevalencia de déficit de vitamina D (<20 ng/ml) en el 75% comparado con el 35% de la población control.¹⁶ En adolescentes trans se sugiere iniciar análogos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en estadio de Tanner 2, para evitar el desarrollo de caracteres sexuales no deseados.¹⁷ Los cambios en el metabolismo óseo en esta etapa de la vida son cruciales, ya que cerca del 95% del pico de masa ósea ocurre durante la pubertad.^{18,19}

Janet Y. Lee y col. informaron en un estudio recientemente publicado una prevalencia de 30% (n=10 de 33 TM) de baja DMO (Z-score <-2). Estas adolescentes estaban en condiciones de comenzar análogos de GnRH en etapas tempranas de la pubertad (edad media 12,1 ± 1,3 años). En sus reportes informaron que el 15% de los adolescentes transgénero tenía déficit de vitamina D. Al comparar las TM con transvarones en similar estadio (Tanner 2) observaron que las primeras tenían menor actividad física medidas por el cuestionario PAQ-C y concluyeron que esta diferencia puede ser uno de los tantos factores influyentes.²⁰ La guía emitida por la *Endocrine Society* propone la medición de la densidad

mineral ósea (DMO) mediante absorciometría dual de rayos X (DXA) durante la utilización de análogos de GnNRH.²¹

Entre nuestros hallazgos, la prevalencia de baja masa ósea (Z-score <-2) determinada en cualquiera de las regiones evaluadas fue de 22% (n=6) en TV, mientras en la población control ningún individuo presentó estos valores. No existe una causa única atribuible para explicar las diferencias encontradas. Sin embargo, algunas hipótesis sugieren que los factores socioculturales y mecánicos podrían influenciar en estas disimilitudes. Solo 5 TM (20%) refería realizar algún tipo de actividad física, mientras que en la población control era el 80%. Si bien, este parámetro no fue cuantificado y solamente respondido como variable dicotómica (Sí o No); resulta de relevancia remarcar estas diferencias basales entre los grupos.

Es conocido que las cargas desempeñan un rol fundamental para el crecimiento óseo; estas señales mecánicas son censadas por los osteocitos y posteriormente convertidas en señales bioquímicas.²² Las señales bioquímicas generan una respuesta celular que varía de acuerdo con las necesidades fisiológicas, impulsando ya sea el modelado o remodelado óseo.²³ Esta interacción del músculo y el hueso o unidad músculo-hueso se denomina “mecanostato óseo de Frost”.²⁴

Además de los esteroides sexuales en la pubertad, el estímulo mecánico es determinante para la formación ósea periosteal en hombres.²⁵ El ejercicio físico durante la etapa de crecimiento estimula una mayor aposición de tejido óseo, aunque el tiempo de entrenamiento requerido todavía se desconoce.³⁶ Diversos estudios en animales observaron que, aplicando varios modelos de carga, estos generan una respuesta anabólica sobre el tejido óseo.²⁷ En los seres humanos, la actividad física de resistencia demostró ganancias significativas en la masa ósea, resultando un complemento fundamental para el tratamiento integral de la osteoporosis.²⁸⁻³⁰

La evaluación ósea en personas transgénero es materia de estudio. La interpretación de los resultados densitométricos puede ser dificultosa ya que no existen calculadores de riesgo de fractura en personas transgénero, además porque el *software* original del densitómetro informa y compara por sexo biológico (no por identidad de género). Sumado a esto, las recomendaciones de la *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) no contemplan la evaluación ósea basal, salvo en ciertas circunstancias.^{31,32}

Conclusiones

En este trabajo observamos que las TM antes de iniciar el THC presentaron menor DMO en cuerpo entero, CL y CT en comparación con hombres cis. Además, tenían menor masa muscular en miembros superiores e inferiores, al igual que menor fuerza muscular evaluada por dinamometría de puño. Entre las causas de estas diferencias podemos pensar en el estilo de vida más sedentario: solamen-

te el 20% de ellas realizaba actividad física al momento de las evaluaciones, diferente de lo que se vio en hombres cis (80%) (dato que no se muestra en la Tabla 2). Si bien las guías no recomiendan la evaluación de la DMO de rutina en mujeres trans que van a iniciar tratamiento hormonal de reafirmación, creemos que la realización de una densitometría previa al THC nos proporcionaría conocimiento sobre el pico de masa ósea alcanzado y para su seguimiento en el futuro. Además, su realización facilitaría el reconocimiento de aquellos individuos en mayor riesgo.

Agradecimiento

A la Fundación de Investigaciones Metabólicas (FIM) por brindarnos las herramientas para la medición de la densidad mineral ósea y composición corporal.

Recibido: agosto 2020

Aceptado: noviembre 2021

Referencias

1. "Ley N.º 26743. Identidad de género. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ministerio de Justicia y Derechos Humanos de la Nación. Secretaría de Derechos Humanos; 2014.
2. Deutsch MB, Bhakri V, Kubicek K. Effects of cross-sex hormone treatment on transgender women and men. *Obstet Gynecol* 2015; 125(3):605-10.
3. T'Sjoen G, Arcelus J, Gooren L, Klink DT, Tangpricha V. Endocrinology of Transgender Medicine. *Endocr Rev* 2019; 40(1):97-117.
4. Aparicio-García ME, Díaz-Ramiro EM, Rubio-Valdehita S, López-Núñez MI, García-Nieto I. Health and Well-Being of Cisgender, Transgender and Non-Binary Young People. *Int J Environ Res Public Health* 2018; 15(10):2133.
5. Davidge-Pitts C, Clarke BL. Transgender bone health. *Maturita* 2019; 127: 35-42.
6. Cadogan J, Blumsohn A, Barker ME, Eastell R. A longitudinal study of bone gain in pubertal girls: anthropometric and biochemical correlates. *J Bone Miner Res* 1998; 13(10):1602-12.
7. Bass S, Delmas PD, Pearce G, Hendrich E, Tabensky A, Seeman E. The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is region-specific. *J Clin Invest* 1999; 104(6):795-804.
8. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, et al. Bone structure at the distal radius during



- adolescent growth. *J Bone Miner Res* 2009; 24(6):1033-42.
9. Van Caenegem E, Taes Y, Wierckx K, et al. Low bone mass is prevalent in male-to-female transsexual persons before the start of cross-sex hormonal therapy and gonadectomy. *Bone* 2013; 54(1):92-7.
 10. Figuera TM, da Silva E, Lindenau JD, Spritzer PM. Impact of cross-sex hormone therapy on bone mineral density and body composition in transwomen. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2018; 88(6):856-62.
 11. Laskey MA. Review Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition* 1996; 12(1):45-51.
 12. Prior BM, Cureton KJ, Modlesky CM, et al. In vivo validation of whole body composition estimates from dual-energy X-ray absorptiometry. *J Appl Physiol (1985)* 1997; 83(2):623-30.
 13. Albanese CV, Diessel E, Genant HK. Clinical applications of body composition measurements using DXA. *J Clin Densitom* 2003; 6(2):75-85.
 14. Borga M, West J, Bell JD, et al. Advanced body composition assessment: from body mass index to body composition profiling. *J Investig Med* 2018; 66(5):1-9.
 15. Haraldsen IR, Haug E, Falch J, Egeland T, Opjordsmoen S. Cross-sex pattern of bone mineral density in early onset gender identity disorder. *Hormones and Behavior* 2007; 52(3):334-43.
 16. Van Caenegem E, T'Sjoen G. Bone in trans persons. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2015; 22(6):459-66.
 17. Klink D, Caris M, Heijboer A, van Trotsenburg M, Rotteveel J. Bone mass in young adulthood following gonadotropin-releasing hormone analog treatment and cross-sex hormone treatment in adolescents with gender dysphoria. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(2):E270-5.
 18. Bass S, Delmas PD, Pearce G, Hendrich E, Tabensky A, Seeman E. The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is region-specific. *J Clin Invest* 1999; 104(6):795-804.
 19. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, et al. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res* 2009; 24(6):1033-42.
 20. Lee JY, Finlayson C, Olson-Kennedy J, et al. Low Bone Mineral Density in Early Pubertal Transgender/Gender Diverse Youth: Findings from the Trans Youth Care Study. *J Endocr Soc* 2020; 4(9):bvaa065.
 21. Hembree WC, Cohen-Kettenis PT, Gooren L, et al. Endocrine treatment of gender-dysphoric/gender-incongruent persons: an Endocrine Society clinical practice guideline. *Endocr Pract* 2017; 23(12):1437.
 22. Aarden EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 1994; 55:287-99.
 23. Yavropoulou MP, Yovos JG. The molecular basis of bone mechanotransduction. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2016; 16(3):221-36.
 24. Frost HM. Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. *Anat Rec* 1987; 219:1-9.
 25. Callewaert F, Venken K, Kopchick JJ, et al. Sexual dimorphism in cortical bone size and strength but not density is determined by independent and time-specific actions of sex steroids and IGF-1: evidence from pubertal mouse models. *J Bone Miner Res* 2010; 25(3):617-26.
 26. Tan VP, Macdonald HM, Kim S, et al. Influence of physical activity on bone strength in children and adolescents: a systematic review and narrative synthesis. *J Bone Miner Res* 2014; 29(10):2161-181.
 27. Hsieh YF, Turner CH. Effects of loading frequency on mechanically induced bone formation [published correction appears in *J Bone Miner Res* 2002 Jan;17(1):182]. *J Bone Miner Res* 2001; 16(5):918-24.
 28. Lanyon LE, Rubin CT. Static vs. dynamic loads as an influence on bone remodelling. *J Biomech* 1984; 17:897-905.
 29. Kelley GA, Kelley KS, Khort WM. Exercise and

- bone mineral density in men: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Bone* 2013; 53:103-11.
30. Bolam KA, Van Uffelen JGZ, Taaffe DR. The effect of physical exercise on bone density in middle-aged and older men: A systematic review. *Osteoporos Int* 2013; 24:2749-62.
31. Rosen HN, Hamnvik OR, Jaisamrarn U, et al. Bone Densitometry in Transgender and Gender Non-Conforming (TGNC) Individuals: 2019 ISCD Official Position. *J Clin Densitom* 2019; 22(4):544-53.
32. Hembree WC, Cohen-Kettenis P, Delemarre-van de Waal HA, et al. Endocrine treatment of transsexual persons: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(9):3132-54.
-



ACTUALIZACIONES /Reviews

SALUD ÓSEA EN PERSONAS TRANSGÉNERO

Rubén Abdala¹, Alberto Nagelberg², M. Lorena Brance^{3,4}

¹ Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas (IDIM). ² División Endocrinología Hospital Carlos G. Durand, GAPET. Buenos Aires. ³ Reumatología y Enfermedades Óseas. Rosario, Santa Fe. ⁴ CONICET, Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Una persona transgénero es aquella en la cual el género autopercebido difiere del asignado al nacer, mientras que el término cisgénero es utilizado en aquellos individuos no trans. El tratamiento hormonal cruzado (THC) constituye una opción para lograr caracteres sexuales secundarios deseados. Es conocido que los esteroides sexuales desempeñan un rol fundamental en la adquisición de la densidad mineral ósea (DMO) durante la pubertad. Por lo tanto, el impacto del THC sobre la masa ósea se ha convertido en materia de estudio. En estadios puberales tempranos, los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) son utilizados con un efecto reversible. Si bien la DMO parece mantenerse estable, cuando se compara con una población de referencia del mismo sexo biológico y edad, el Z-score se encuentra por debajo de lo esperado. En adultos, durante el THC no se informaron disminuciones en la DMO. Está reportado

que las mujeres trans antes del inicio del TH presentan características densitométricas diferentes de los hombres cisgénero. Hasta el momento, la carga de datos para los calculadores del riesgo de fractura y el software del equipo DXA se basan en el sexo biológico y no en identidad de género. Recientemente, la *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) emitió sus recomendaciones para la evaluación de la masa ósea en personas transgénero y en aquellos individuos no conformes con el género. Si bien la ISCD sugiere realizar la evaluación únicamente en aquellos pacientes con factores de riesgo, es de importancia realizar DXA basal, sobre todo en mujeres transgénero, para determinar el riesgo inicial de dicha población. En este artículo se revisa la evidencia disponible sobre el impacto del THC en la salud ósea de personas transgénero.

Palabras clave: mujeres transgénero, hombres transgénero, cisgénero, tratamiento hormonal cruzado, densidad mineral ósea, DXA.

Abstract

BONE HEALTH IN TRANSGENDER SUBJECTS

Cross sex hormone therapy (CSHT) in transgender women (TW) it is an option to achieve desired secondary sexual characteristics. It is known that sex steroids play a fundamental role in the acquisition of bone mineral density during puberty, in addition to determining a different characteristic bone pattern between both biological sexes. So the impact of affirming HT on bone is it has become in subject of study. In early pubertal stages, GnRH analogs are used with a reversible effect. Although bone mineral density (BMD) seems to remain stable, when compared with a reference population of the same biological sex and age, the Z-score is lower than expected. In adults, during CSHT no decreases in BMD were reported. However, it was reported that TW prior to starting CSHT present different

densitometric characteristics than cisgender men. So far, the data load for the fracture risk calculators and DXA software is based on biological sex and not gender identity.

Recently the ISCD issued its recommendations for the evaluation of bone mass in transgender subjects and in those non-conforming to gender. Although the ISCD suggests performing the evaluation only in those patients with risk factors, our group recognizes that baseline DXA, especially in TW, constitutes a useful tool to determine the initial risk of this population. Our proposal arises from our own experience and from that compiled in the international literature, where it is observed that even without starting CSHT, transgender women have lower BMD. DXA. This article reviews the available evidence regarding the effect of CSHT on health bone in transgender people.

Key words: transgender women, transgender men, cisgender, cross sex hormone therapy, bone mineral density,

Introducción

Se denomina identidad de género a la vivencia interna e individual del género tal como cada persona la siente.¹ La percepción del género puede no coincidir con el sexo genético o biológico. En la Argentina, la “Ley de identidad de género” (26743) fue sancionada el 19 de mayo de 2012, garantizando el acceso a la salud integral de las personas transgénero.² Se denomina transvarón (TV) a una mujer biológica (46XX) que se autopercibe como parte del género masculino y transmujer (TM) a un varón biológico (46XY) que se identifica como integrante del género femenino.³ Sin embargo, hay muchas personas que no se sienten incluidas en el binario varón-mujer, identificándose a sí mismas como personas no binarias, no conformes con el género, de género fluido, bigénero, trigénero, etc. Debe-

mos remarcar que todas las identidades son consideradas normales.

Las cirugías de reafirmación y el tratamiento hormonal cruzado (THC) o tratamiento hormonal de reafirmación (THR) constituyen algunas de las herramientas a las que, quienes lo deseen, pueden acceder para adecuar su cuerpo al género autopercebido. En aquellas personas que buscan feminización o masculinización completa se recomienda alcanzar niveles hormonales fisiológicos dentro del género autopercebido, aunque, sin embargo, no existe un consenso sobre el tiempo por el cual las hormonas deben ser prescriptas. La elección del preparado y vía de administración de testosterona (To) o de estrógenos (E) y antiandrógenos utilizados en cada centro dependen principalmente de la disponibilidad del fármaco, de las preferencias del médico y del



consultante y de los hallazgos clínicos en cada persona, por ejemplo, buscando evitar el primer paso hepático en ciertas circunstancias.⁴

Es conocido que la adquisición del pico de masa ósea se produce principalmente durante la pubertad, y está influenciada fuertemente por los esteroides sexuales. Además, desempeñan un rol importante en el mantenimiento de la densidad mineral ósea en la vida adulta.⁵ Se denomina pico de masa ósea la máxima

ganancia de masa ósea que se adquiere en un individuo. Los principales determinantes para este período son los factores genéticos, hormonales, nutricionales y mecánicos. Durante la pubertad masculina, bajo estímulos hormonales (factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1-IGF1, To y E) se produce un incremento en la aposición periosteal. En mujeres, el crecimiento óseo es diferente, con mayor aposición endosteal (Figura 1).

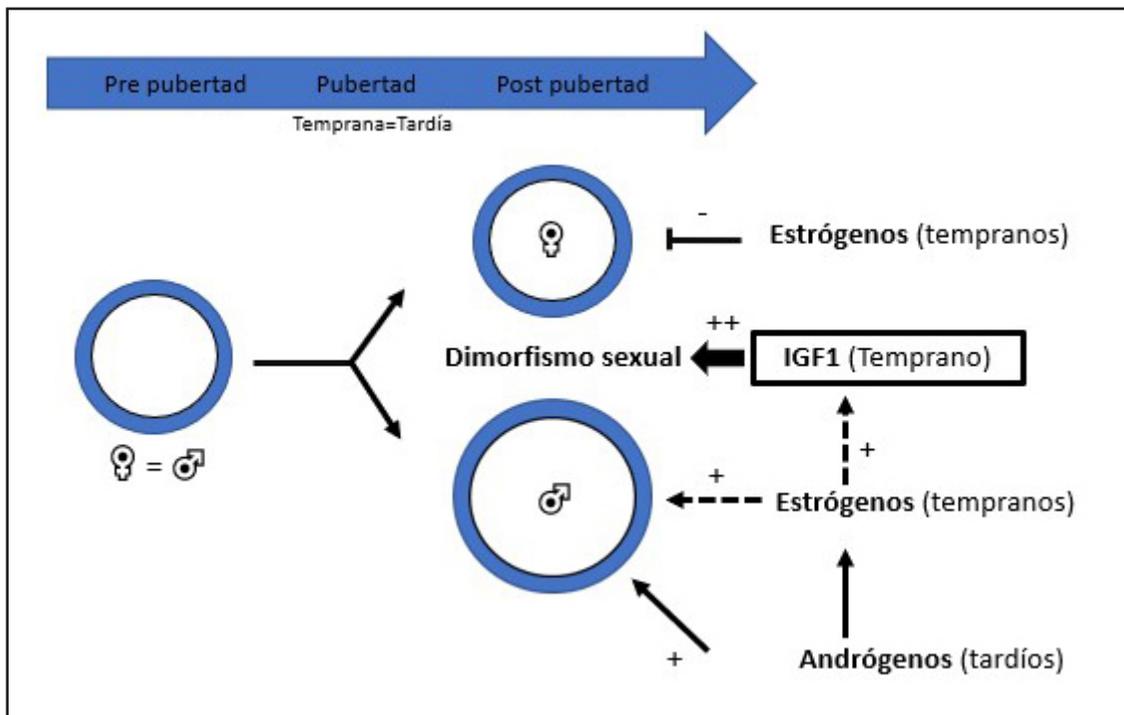


Figura 1. Dimorfismo sexual esquelético: en este esquema se aprecia la principal importancia del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 sobre el desarrollo del esqueleto. También se puede apreciar el rol que cumplen los esteroides sexuales para la diferenciación y adquisición ósea. Adaptado de F. Callewaert y col.²⁸

Esteroides sexuales y hueso

En mujeres premenopáusicas, el 95% del E2 (estradiol) circulante se produce en las gónadas femeninas, mientras que, en mujeres posmenopáusicas, la conversión periférica es esencial para su mantenimiento. En hombres,

el 95% de la To deriva de la producción en las células de Leydig.⁶⁻⁸ Un porcentaje extra de estas hormonas es generado localmente por conversión periférica. Se ha demostrado que las enzimas clave para la síntesis extragónadal de esteroides sexuales se encuentran

presentes en células de linaje osteoblástico. Entre ellas se destacan las isoformas de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (β -HSD), aromatasas (CYP21), esteroide sulfatasa, 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (β -HSD) y 5 α -reductasa.⁹⁻¹⁷

Los preparados de E se utilizan para lograr los caracteres sexuales femeninos en TM.⁴ A nivel celular óseo, el E induce apoptosis de los osteoclastos. Los estados de deficiencia pueden conducir a una tasa de remodelado óseo incrementada, con la fase de activación osteoclástica prolongada. Estos comportamientos generan cambios en el tejido óseo. En el hueso esponjoso induce una pérdida de la conectividad entre las trabéculas y a nivel cortical, incremento en la porosidad.¹⁸⁻²⁰ La To puede actuar directamente a través de su receptor de andrógeno o indirectamente después de su aromatización a E2. Por ambos mecanismos estimularía la formación ósea actuando en diferentes etapas de la osteoblastogénesis. Asimismo, durante la maduración esquelética en hombres y mujeres cisgénero se observa una clara diferencia en la aposición perióstica, que determina el tamaño y distribución del tejido óseo.²¹

Esteroides sexuales y pico de masa ósea: "Dimorfismo sexual esquelético"

Los esteroides sexuales desempeñan un rol fundamental en la adquisición de la masa ósea durante la pubertad; antes de esta etapa, los niños y niñas presentan una similar densidad ósea volumétrica (vBMD). El máximo capital de hueso que se adquiere en este período es mayor en hombres cisgénero, como consecuencia del tamaño óseo adquirido.^{22,23} Cerca del 95% del pico de masa ósea ocurre en esta etapa de la vida. Las diferencias resultan de una mayor expansión perióstica, mientras que, por el contrario, las mujeres cisgénero presentan mayor aposición endocortical.^{24,25} En un principio se interpretó que la To en el hombre y los E en la mujer eran los únicos responsables del dimorfismo

sexual esquelético. Sin embargo, numerosos estudios llevados a cabo en animales de experimentación o en hombres con mutación en el receptor de E o de aromatasas han destacado la importancia de los E en el esqueleto masculino. Estos trastornos conducen a una disminución en la masa ósea aun con niveles plasmáticos de To normales. Por lo tanto, la To desempeña un rol importante en la diferencia de la masa ósea, y su principal efecto aparece en etapas tardías de la pubertad. Los E, en cambio, tendrían un rol al inicio de esta etapa en ambos sexos biológicos.²⁸ Por otro lado, reguladores fundamentales del crecimiento en este período son la hormona de crecimiento (GH) y el factor de crecimiento insulínico de tipo 1 (IGF1). Sus concentraciones se incrementan de 1,5 a 3 veces, en respuesta al incremento de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y E.^{29,30}

La pubertad es una etapa crucial en adolescentes transgénero, ya que es entonces cuando se produce la maduración sexual y se desarrollan los caracteres sexuales secundarios.³¹ Estos eventos pueden generar malestar y angustia coincidente con la aparición de características físicas no deseadas, que *a posteriori* son irreversibles. Se recomienda iniciar el tratamiento con análogos de GnRH en estadio de Tanner 2.³²⁻³⁷ A partir de los conocimientos sobre la importancia de los esteroides sexuales para la maduración y máxima adquisición esquelética, la guía emitida recientemente por la *Endocrine Society* recomienda su evaluación durante esta etapa y propone la medición de la densidad mineral ósea (DMO) mediante absorciometría dual de rayos X (DXA).³⁸

Impacto de los análogos de GnRH sobre el hueso en adolescentes transgénero

Klink y col. evaluaron la DMO por DXA en columna lumbar (CL) y cadera con una mediana de tratamiento de 1,3 y 1,5 años en TM (n=15) y TV (n=19), respectivamente. Después de la supresión puberal con triptorelina en



TM, la DMO CL (basal 0,84 vs. postriptorelina 0,84 g/cm²) y la DMO aparente (basal 0,22 vs. postriptorelina 0,22 g/cm³) se mantuvieron estables. Al comparar con una población de referencia para el sexo y edad, el *Z-score* descendió en CL (-0,77 vs. -1,1) y cuello de fémur (CF) (-0,66 vs. -0,95) aunque sin diferencias significativas. En TV se observaron disminuciones significativas en la DMO en CL (0,95 vs. 0,91 g/cm², p=0,006) y CF (0,92 vs. 0,88 g/cm², p=0,05). En ambos grupos, posteriormente al inicio del THC (22 años) con E o To experimentaron aumentos en la DMO, aunque el *Z-score* permaneció por debajo de la población de referencia (CL -1,36 y CF -0,69 en TM, CL -0,33 y CF -0,35 en TV).³⁹ Algunas observaciones similares fueron reportadas por Delemarre van de Waal, con la diferencia de que, después del agregado de E o To, el *Z-score* se incrementó. Las progestinas o derivados de la progesterona pueden considerarse herramientas útiles adicionales a los análogos de GnRH, para evitar las modificaciones puberales no deseadas en personas transgénero.⁴⁰ Algunos grupos sugieren su utilización en estadios puberales más tardíos y al menos 6 meses previos al inicio del THC.⁴¹⁻⁴³ Tack y col. informaron que, luego de la administración de linestrenol en adolescentes TV (n=44) por 11,6 meses (4 a 40 meses), se experimentaron incrementos de 8,6% en la masa muscular y 10,6% en la fuerza de puño. También se observaron en estos individuos incrementos significativos en la DMO en cadera total (CT) (0,926 a 0,942 g/cm²), CF (0,815 a 0,826 g/cm²) y CL (0,951 a 0,964 g/cm²). Los TM (n=21) fueron evaluados a 10,6 meses (5 a 31) de la administración de acetato de ciproterona y se encontró disminución de la masa muscular (-4,7%) y DMO, principalmente en CL (*Z-score* -0,765 a -1,145). De esta manera se manifiesta la importancia de la evaluación de la salud ósea en adolescentes transgénero, principalmente en TM en quienes la aposición ósea puede verse frenada mediante progestinas con propiedades

antiandrogénicas.⁴⁴ Se recomienda comenzar con análogos de GnRH en aquellos individuos que experimentan los primeros cambios puberales (estadio 2 de Tanner).³⁸

Esteroides sexuales en el mantenimiento de la salud ósea

La carencia de esteroides sexuales tanto en hombres como mujeres cisgénero genera cambios en la DMO. Esto demuestra su importancia en el mantenimiento de masa esquelética en la vida adulta. La menopausia es una etapa inevitable en la vida de la mujer, y su impacto puede ser variable. Algunos autores refieren una pérdida de 1 a 4% los primeros años, en relación principalmente con la menopausia fisiológica.^{45,46} Otros trabajos informaron una pérdida más pronunciada en hueso trabecular disminuido un 18% en los dos primeros años posteriores a la ooforectomía y 4% en hueso cortical, ambos compartimentos evaluados mediante tomografía computarizada cuantitativa.⁴⁷ Los hombres no tienen un equivalente a la menopausia, por lo tanto no se ven afectados por la pérdida acelerada y brusca en la masa ósea. Sin embargo, en hombres sometidos a castración, la declinación en la DMO fue similar a la de mujeres menopáusicas.⁴⁸ De igual manera, en hombres hipogonádicos resulta notorio un incremento en los marcadores de remodelado óseo con aumento de la actividad osteoclástica.^{49,50}

Este fenómeno advierte sobre la importancia de la To en la protección continua a nivel esquelético, aunque además de su acción directa sobre el receptor de andrógeno (AR), su aromatización a estradiol parece ser clave. Diversas publicaciones explican el rol de los E sobre el hueso en adultos y le otorgan un papel fundamental en el tejido óseo masculino.⁵⁰

El THC constituye, como ya se mencionó, una de las opciones de tratamiento en personas transgénero. En TV que busca masculinización completa se desea, además de lograr caracteres sexuales deseados, mantener ni-

veles hormonales de To en rango masculino (3 a 9 ng/ml para nuestro laboratorio).³ En TM, las opciones para el THC son E solos o con antiandrógenos.³⁸ Las guías internacionales recomiendan realizar densitometría ósea en TV que suspenden el THC o en aquellos individuos que presenten riesgo incrementado de fractura. En TM sugieren realizar una evaluación basal y, en aquellas personas con bajo riesgo, solicitar una densitometría a partir de los 60 años.³⁸

Trans mujeres

El impacto del cruzamiento hormonal sobre huesos masculinos generó incertidumbre sobre sus efectos en este nivel. La interpretación de los resultados densitométricos puede ser dificultosa, ya que no existen calculadores de riesgo de fractura en personas transgénero y además porque el *software* original del densitómetro informa y compara por sexo biológico.⁵¹ Nuestro grupo de trabajo halló que las TM mayores de 18 años (n=12) tenían basalmente menor DMO medida por DXA (CT 0,940 g/cm² versus 1,090 g/cm²) que hombres cisgénero. Esta diferencia fue significativa aun sin haber iniciado THC. Además, presentaron menor masa muscular y una distribución de tejido graso muy diferente de aquella de los hombres y similar a las mujeres cisgénero, lo cual indicaría que en las TM los factores mecánicos o de carga desempeñarían un rol importante, además del estado hormonal.⁵² Un estudio realizado durante el año 2018 evaluó 142 TM (edad media 33,7 años) con THC reciente (3 meses de inicio) y al igual que lo observado por nuestro grupo, encontró diferencias significativas en la DMO de CL (1,150 g/cm²) en comparación con hombres y mujeres cisgénero (1,250 y 1,210 g/cm², respectivamente). Estas disimilitudes también estuvieron presentes en CF (TM 1,010 vs. hombres cisgénero 1,130 g/cm²), CT (TM 1,010 vs. hombres cisgénero 1,140 g/cm²) y masa muscular apendicular (TM 22,3 vs. hombres cisgénero 27,4 kg) comparado con hombres cisgénero.⁵³

Van Caenegem y col. reconocieron en su estudio que las TM (n=25, edad media 30 años) presentaban basalmente menor DMO en CL (0,97 vs. 1,05 g/cm²), CF (0,78 vs. 0,92 g/cm²), CT (0,94 vs. 1,11 g/cm²), y cuerpo entero (1,09 vs. 1,23 g/cm²) que los controles (hombres cisgénero).⁵⁴ Mediante la realización de tomografía computarizada cuantitativa periférica (pQCT), las TM evidenciaron menor densidad ósea volumétrica trabecular en radio (vBMD, 218±42 vs. 244±50 mg/cm³), menor densidad ósea volumétrica cortical (cortical vBMD 1091±36 vs 1113±28 mg/cm³) y menor espesor (espesor cortical 2,21±0,30 vs. 2,46±0,27 mm). Estas diferencias fueron encontradas basalmente, antes del inicio del THC.⁵⁴ En un estudio transversal posterior al inicio de THC (3 años), y a un año del tratamiento quirúrgico de reafirmación genital, la prevalencia de baja masa ósea (*Z-score* ≤ 2,0) fue de 26% en CL y 2% en CT.⁵⁵ Posteriormente al THC, la mayoría de los estudios informaron beneficios de los diferentes preparados hormonales. Durante dos años de THC con valerato de estradiol o 17 β estradiol asociados a ciproterona, 49 TM fueron seguidas para su valoración. Los marcadores de remodelado óseo (MRO) disminuyeron en este tiempo de THC: pro péptido amino-terminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) -18%, osteocalcina -12%, telopéptido carboxilo terminal (CTX) -25%, y de estos, 11 TM requirieron tratamiento con vitamina D. Observaron incrementos en DMO de CL 3,2 % (0,952 a 0,982 g/cm²), CF 1,8% (0,795 a 0,807 g/cm²) y radio 1,1% (0,614 a 0,622 g/cm²). Estos autores no hallaron cambios en los parámetros trabeculares y corticales evaluados por pQCT.⁵⁶ La Red Europea para la Investigación de la Incongruencia de Género, integrada por Italia, Noruega, Bélgica y Holanda, evaluó 231 TM mayores de 18 años a un año de THC. La mediana de edad fue de 22 años y durante este período se evidenció una ganancia en la DMO de CL 3,67%, ([IC 95%: 3,20-4,13%], p<0.001), CT 0,97% ([IC 95%: 0,62-1,31%], p<0,001) y CF 1,86%, ([IC



95%: 1,41-2,31%], $p < 0,001$). Estas modificaciones no variaron de acuerdo con el tipo de preparado utilizado para el THC.⁵⁷ Mueller y col. analizaron los cambios en la composición corporal y DMO posterior al THC con valerato de estradiol y análogo de GnRH (goserelina cada 4 semanas). A 24 meses ($n=84$, edad media 36,3 años) incrementó la DMO en CL de 1,20 a 1,30 g/cm² y la masa grasa de 10,7 a 14 kg; mientras que la masa muscular disminuyó de 59,6 a 54 kg.⁵⁸ Hasta la fecha son escasos los estudios que evalúen los cambios en la masa ósea a largo plazo. Recientemente se publicó un trabajo dirigido por Wiepjes y col., en el que se incluyeron para análisis 711 TM seguidas durante 10 años. Basalmente, el 21,9% tenían $Z\text{-score} \leq 2,0$ y, tras 10 años de THC ($n \text{ final}=102$), el $Z\text{-score}$ en CL incrementó +0,22. Al clasificar de acuerdo con los niveles de E2 (tercillos), aquellos en el tercilo más alto presentaron ganancias en DMO de CL (0,044 g/cm²). No hubo diferencias en la DMO de CL de acuerdo con el nivel de supresión en los valores de To. TM con menor DMO basal fueron las más beneficiadas en este tiempo. Las evaluaciones en CF y CT no tenían el número suficiente ($n=4$) para aplicar mayores análisis estadísticos a 10 años.⁵⁹ Al carecer de estudios de seguimiento a largo plazo, los trabajos sobre incidencia de fracturas son escasos. Wiepjes y col. comunicaron una ocurrencia de fractura de 3,3% ($n=67$) en TM comparadas con hombres y mujeres cis 2,7% y 2,8%, de similar edad y seguidos durante 3 años sin diferencias en la incidencia de fracturas entre estos grupos. Las fracturas de columna, cadera, muñeca o húmero representaron un 41,8% del total de fracturas en TM, en tanto que en hombres cisgénero estas fracturas representaron 26,6% ($p=0,014$). Al estratificar por edad, las TM ≥ 50 años ($n=934$) presentaron un riesgo incrementado de fractura versus hombres cisgénero (OR 1,90, IC 1,32–2,74), riesgo no observado en aquellas más jóvenes.⁶⁰ Dos metanálisis evaluaron las diferencias de medias en la DMO entre TM

y hombres cisgénero, aunque, sin embargo, sus datos son afectados por la calidad de los diseños de estudios incluidos, con poca cantidad de pacientes, sesgos en los estudios y heterogeneidad.^{61,62} El *Trabecular Bone Score* (TBS) es un método indirecto para evaluar microarquitectura ósea trabecular a partir de una imagen densitométrica de CL.^{63,64} Al evaluar mediante este método se constató que TM jóvenes (20-29 años) con THC (5 años) tenían mayor puntuación que aquellas sin inicio de la hormonoterapia. No se encontraron diferencias entre en la geometría ósea (diámetro perióstico, diámetro endóstico, y espesor cortical) y tiempo de THC.⁶⁵

Trans varones

Haraldsen y col. evaluaron $n=22$ TV (edad media 21,5 años) de manera basal, y a 3 y 12 meses de THC en comparación con una población control ($n=45$). Basalmente, los TV presentaban mayor DMO en cuerpo entero (1,25 vs. 1,18 g/cm²), mayor contenido mineral óseo (CMO 3413 vs. 3077 g) y masa magra (59,059 vs. 54,449 kg) que la población control (mujeres cisgénero). Tal vez estas diferencias estén influenciadas por estímulos externos, como la actividad física, entre otros. Durante 12 meses de THC no hubo modificaciones en el tejido óseo pero, en cambio, hubo incrementos significativos en el tejido muscular con disminución en el tejido graso.⁶⁶

Posteriormente al año de THC, Wiepjes y col., en un estudio multicéntrico ($n=199$), observaron incrementos en la DMO de CL 0,86% ([IC 0,38-1,35%], $p=0,001$) y CT 1,04% ([IC 0,64-1,44%], $p < 0,001$). En CF, al subclasificar la población por edad, aquellos ≥ 50 años presentaron incrementos significativos 4,32%, ([IC 2,28-6,36%], $p < 0,001$) en comparación con los más jóvenes. Estos cambios en la DMO fueron independientes del tipo de To empleado para el THC.⁵⁷ Van Caenegem y col. evaluaron transversalmente TV ($n=50$) con THC previo (9,9 años rango 3,2 a 27,5) en comparación con mujeres cisgénero ($n=50$).

Este grupo encontró que aquellos TV tenían mayor DMO volumétrica en radio evaluada por pQCT (221 vs. 198 mg/cm³). Además, se evidenció un mayor diámetro perióstico y endóstico en esta región (+4,5% y +6,7%). Al igual que en estudios previos, los TV tenían mayor masa muscular en cuerpo entero (49,5 vs. 44.5 kg).⁶⁷

Wiepjes y col. evaluaron a largo plazo (10 años) los cambios producidos en la DMO. En CL la DMO se mantuvo estable en este tiempo, pero el *Z-score* se incrementó 0,34 (IC 0,23 a 0,45). Al categorizar la población de acuerdo con la edad, en aquellos TV ≥ 40 años se observó un incremento de 0,054 g/cm² (IC 0,032 a 0,076 g/cm²). Estos cambios positivos fueron asociados con menores niveles de LH (<1 U/L).⁵⁹ El riesgo de fractura en TV al parecer no se ve afectado por el THC, aunque son necesarias mayores investigaciones para poder determinar fehacientemente esta cuestión. Una reciente publicación evaluó el riesgo de fractura a partir de una cohorte de 1036 TV (40 \pm 14 años) que recibieron de THC por 9 años. Durante el seguimiento ocurrieron un total de 1,7% de fracturas no hallándose un riesgo incrementado al comparar con mujeres y hombres cisgénero.⁶⁰

Dos metanálisis realizados sobre población transgénero concluyen en la ausencia de cambios significativos en TV con el THC. Sin embargo, estos dos estudios secundarios (metanálisis) mencionan dificultades por la gran variabilidad en los diseños de los estudios incluidos.^{61,62} Los cambios geométricos de la cadera evaluados a partir de DXA no parecieron diferir entre el tiempo del THC clasificado por edades. El TBS en esta población (n=437) varió de acuerdo con el grupo etario: aquellos más jóvenes (20-29 años) con THC presentaron menor puntuación en la escala de grises informados por este *software*, respecto de aquellos TV (20-29 años) *naïve* de THC. De igual modo, los adultos (40-59 años) con hormonización previa presentaron menor puntuación en el TBS.⁶⁵

Recomendaciones internacionales para el informe densitométrico

Hasta hace muy poco tiempo no había establecido un consenso sobre la manera de emitir los informes densitométricos y el momento oportuno para solicitarlo. En 2019 se publicaron las recomendaciones de la *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) indicando que la evaluación basal de la DMO debería solicitarse en las siguientes circunstancias: antecedente de gonadectomía o de tratamiento que disminuya los niveles hormonales, hipogonadismo sin THC, causas secundarias de alteración de la DMO. Por otra parte, sugieren informar *T-score* (TM y TV) utilizando la base de datos de mujeres caucásicas en aquellos individuos ≥ 50 años. El *Z-score* debería ser calculado acorde con la identidad de género (autopercebido), y en aquellas personas no conformes con el género debería utilizarse el *Z-score* para el sexo genético.⁶⁸

Conclusiones

En la actualidad, el número de consultas de personas transgénero en busca de tratamiento de reafirmación hormonal o quirúrgico está en crecimiento. Si bien la mayoría de los individuos que consultan son adultos, a partir de la aprobación de la “ley de identidad de género”, se observó un acrecentamiento de visitas en edades más tempranas en nuestro país. Resulta importante reconocer la tarea de los endocrinólogos pediatras en este período de la vida. Durante la pubertad, y dependiendo principalmente de los esteroides sexuales, se produce el pico de masa ósea. Factores nutricionales y mecánicos adicionalmente colaboran con esta adquisición ósea. Por lo tanto, toda perturbación que pueda ocurrir durante este proceso puede determinar alguna alteración en la vida adulta. La evaluación de la salud ósea, sobre todo en aquellos que frenan la pubertad con análogos de GnRH, puede constituir una herramienta útil para conocer el impacto de estos. Una vez com-



pletada la pubertad, el tratamiento hormonal cruzado se utiliza en busca de adquisición de caracteres secundarios correspondiente al género autopercebido.

Si bien hacen falta mayores investigaciones para entender el comportamiento y la implicancia del tratamiento hormonal cruzado sobre el metabolismo óseo en personas transgénero, en nuestra experiencia resulta de importancia la evaluación inicial previa al inicio del tratamiento hormonal. Al igual que otros grupos dedicados a la atención de personas transgénero, nosotros encontramos que las mujeres transgénero presentan menor densidad mineral ósea y menor masa

muscular aún sin haber iniciado la terapia de reafirmación hormonal. Aunque solamente es una hipótesis, una posible causa es que una menor carga mecánica proporcionada por los músculos pueda ser determinante para esta observación. En la actualidad continuamos direccionando investigaciones sobre la salud ósea en esta población.

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

Recibido: agosto 2020

Aceptado: octubre 2020

Referencias

1. Tozzi PA. Six Problems with the “Yogyakarta Principles”. New York: International Organizations Research Group, 2008.
2. Ley N.º 26743. Identidad de género. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ministerio de Justicia y Derechos Humanos de la Nación. Secretaría de Derechos Humanos, 2014.
3. Abdala R, Nagelberg A, Silveira F, Otero P, Mormandi E. Perfil de seguridad a corto plazo de la terapia hormonal cruzada en trans-varones [Short-term safety profile of cross-hormonal therapy in trans-male subjects]. *Medicina (B Aires)* 2018; 78(6):399-402.
4. Hashemi L, Weinreb J, Weimer AK, Weiss RL. Transgender Care in the Primary Care Setting: A Review of Guidelines and Literature. *Fed Pract* 2018; 35(7):30-7.
5. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002; 23(3):279-302.
6. Schiffer L, Barnard L, Baranowski ES, et al. Human steroid biosynthesis, metabolism and excretion are differentially reflected by serum and urine steroid metabolomes: A comprehensive review. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019; 194:105439.
7. Schiffer L, Arlt W, Storbeck KH. Intracrine androgen biosynthesis, metabolism and action revisited. *Mol Cell Endocrinol* 2018; 465:4-26.
8. Noel T, Noel CT, Reed MJ, Jacobs HS, James VHT. The plasma concentration of oestrone sulphate in postmenopausal women: lack of diurnal variation, effect of ovariectomy, age and weight. *J. Steroid Biochem* 1981; 14:1101-5.
9. Eyre LJ, Bland R, Bujalska IJ, Sheppard MC, Stewart PM, Hewison M. Characterization of aromatase and 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase expression in rat osteoblastic cells. *J Bone Miner Res* 1998; 13(6):996-1004.
10. Bruch HR, Wolf L, Budde R, Romalo G, Schweikert HU. Androstenedione metabolism in cultured human osteoblast-like cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(1):101-5.
11. Merlotti D, Gennari L, Stolakis K, Nuti R. Aromatase activity and bone loss in men. *J Osteoporos* 2011; 2011:230671.
12. Shozu M, Simpson ER. Aromatase expression of human osteoblast-like cells. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 139(1-2):117-29.

13. Fujikawa H, Okura F, Kuwano Y, et al. Steroid sulfatase activity in osteoblast cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 231(1):42-7.
14. Kuwano Y, Fujikawa H, Watanabe A, et al. 3Beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human osteoblast-like cells. *Endocr J* 1997; 44(6):847-53.
15. Nakano Y, Morimoto I, Ishida O, et al. The receptor, metabolism and effects of androgen in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone Miner* 1994; 26(3):245-59.
16. Shimodaira K, Fujikawa H, Okura F, Shimizu Y, Saito H, Yanaihara T. Osteoblast cells (MG-63 and HOS) have aromatase and 5 alpha-reductase activities. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 39(1):109-16.
17. Sasano H, Uzuki M, Sawai T, et al. Aromatase in human bone tissue. *J Bone Miner Res* 1997; 12(9):1416-23.
18. Parfitt AM. Skeletal heterogeneity and the purposes of bone remodeling: implications for the understanding of osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D, Kelsey J (eds). *Osteoporosis*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2000. p.433-47.
19. Parfitt AM, Mathews CHE, Villaneuva AR, Kleerekoper M, Frame B, Rao DS. Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis. *J Clin Invest* 1983; 72:1396-409.
20. Eriksen EF, Langdahl B, Vesterby A, Rungby J, Kassem M. Hormone replacement therapy prevents osteoclastic hyperactivity: A histomorphometric study in early postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 1999; 14(7):1217-21.
21. Wakley GK, Schutte HD Jr, Hannon KS, Turner RT. Androgen treatment prevents loss of cancellous bone in the orchidectomized rat. *J Bone Miner Res* 1991; 6(4):325-30.
22. Cadogan J, Blumsohn A, Barker ME, Eastell R. A longitudinal study of bone gain in pubertal girls: anthropometric and biochemical correlates. *J Bone Miner Res* 1998; 13(10):1602-12.
23. Bass S, Delmas PD, Pearce G, Hendrich E, Tabensky A, Seeman E. The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is region-specific. *J Clin Invest* 1999; 104(6):795-804.
24. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, et al. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res* 2009; 24(6):1033-42.
25. Seeman E. Clinical review 137: Sexual dimorphism in skeletal size, density, and strength. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10):4576-84.
26. Vidal O, Lindberg MK, Hollberg K, et al. Estrogen receptor specificity in the regulation of skeletal growth and maturation in male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(10):5474-9.
27. Miyaura C, Toda K, Inada M, et al. Sex- and age-related response to aromatase deficiency in bone. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280(4):1062-8.
28. Callewaert F, Venken K, Kopchick JJ, et al. Sexual dimorphism in cortical bone size and strength but not density is determined by independent and time-specific actions of sex steroids and IGF-1: evidence from pubertal mouse models. *J Bone Miner Res* 2010; 25(3):617-26.
29. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 1998; 19(6):717-97.
30. Grumbach MM. Estrogen, bone, growth and sex: a sea change in conventional wisdom. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13 (Suppl 6):1439-55.
31. Wennink JMB, Delemarre-van de Waal HA, Schoemaker R, Schoemaker H, Schoemaker J. Luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion patterns in boys throughout puberty measured using highly sensitive immunoradiometric assays. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989; 31(5):551-64.
32. Cohen-Kettenis PT, Delemarre-van de Waal HA, Gooren LJG. The treatment of adolescent transsexuals: changing insights. *J Sex Med* 2008; 5(8):1892-7.
33. Delemarre-van de Waal HA, Cohen-Kettenis PT. Clinical management of gender identity disorder in adolescents: a protocol on psycho-



- logical and paediatric endocrinology aspects. *Eur J Endocrinol* 2006; 155:S131–S137.
34. Carel JC, Eugster EA, Rogol A, et al. Consensus statement on the use of gonadotropin-releasing hormone analogs in children. *Pediatrics* 2009; 123(4):e752–e762.
 35. Roth CL, Brendel L, Rückert C, Hartmann K. Antagonistic and agonistic GnRH analogue treatment of precocious puberty: tracking gonadotropin concentrations in urine. *Horm Res* 2005; 63(5):257–62.
 36. Roth C. Therapeutic potential of GnRH antagonists in the treatment of precocious puberty. *Expert Opin Investig Drugs* 2002; 11(9):1253–9.
 37. Hembree WC. Guidelines for pubertal suspension and gender reassignment for transgender adolescents. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2011; 20(4):725–32.
 38. Hembree WC, Cohen-Kettenis PT, Gooren L, et al. Endocrine Treatment of Gender-Dysphoric/Gender-Incongruent Persons: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102(11):3869–903.
 39. Klink D, Caris M, Heijboer A, van Trotsenburg M, Rotteveel J. Bone mass in young adulthood following gonadotropin-releasing hormone analog treatment and cross-sex hormone treatment in adolescents with gender dysphoria. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(2):E270–5.
 40. Delemarre-van de Waal HA, Cohen-Kettenis PT. Clinical management of gender identity disorder in adolescents: a protocol on psychological and paediatric endocrinology aspects. *European Journal of Endocrinology* 2006; 155(suppl_1): S131–S137.
 41. Tack LJW, Craen M, Dhondt K, Vanden Bossche H, Laridaen J, Cools M. Consecutive lynestrenol and cross-sex hormone treatment in biological female adolescents with gender dysphoria: a retrospective analysis. *Biol Sex Differ* 2016; 7(1):14.
 42. Tack LJW, Heyse R, Craen M, et al. Consecutive Cyproterone Acetate and Estradiol Treatment in Late-Pubertal Transgender Female Adolescents. *J Sex Med* 2017; 14(5):747–57.
 43. Giltay EJ, Gooren LJG. Effects of sex steroid deprivation/ administration on hair growth and skin sebum production in transsexual males and females. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(8):2913–21.
 44. Tack LJW, Craen M, Lapauw B, et al. Proandrogenic and Antiandrogenic Progestins in Transgender Youth: Differential Effects on Body Composition and Bone Metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2018; 103(6):2147–56.
 45. Recker R, Lappe J, Davies K, Heaney R. Characterization of perimenopausal bone loss: a prospective study. *J Bone Miner Res* 2000; 15(10):1965–73.
 46. Guthrie JR, Ebeling PR, Hopper JL, et al. A prospective study of bone loss in menopausal Australian-born women. *Osteoporos Int* 1998; 8(3):282–90.
 47. Genant HK, Cann CE, Ettinger B, Gordan GS. Quantitative computed tomography of vertebral spongiosa: a sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy. *Ann Intern Med* 1982; 97(5):699–705.
 48. Stěpán JJ, Lachman M, Zvěřina J, Pacovský V, Baylink DJ. Castrated men exhibit bone loss: effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69(3):523–7.
 49. Stoch SA, Parker RA, Chen L, et al. Bone loss in men with prostate cancer treated with gonadotropin-releasing hormone agonists. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(6):2787–91.
 50. Khosla S, Melton III LJ, Riggs BL. Clinical review 144: estrogen and the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1443–50.
 51. Kanis JA. FRAX® Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fractura desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [Internet]. Sheffield: The University of Sheffield; 2009 [acceso 4 de noviembre de 2009]. Disponible en: http://www.shef.ac.uk/FRAX/index_SP.htm.
 52. Abdala R, Nagelberg A, Zanchetta MB, Silveira F, Schultheis K. Composición corporal, densidad mineral ósea y fuerza muscular en transgénero mujer previo al tratamiento femi-

- nizante: ¿Diferencias con la biología masculina? XXXIII Reunión Anual AAOMM-XII Congreso Argentino de Osteoporosis. *Actual Osteol* 2016; 12 (1): Abstract 41.
53. Fighera TM, da Silva E, Lindenau JD, Spritzer PM. Impact of cross-sex hormone therapy on bone mineral density and body composition in transwomen. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2018; 88(6):856-62.
 54. Van Caenegem E, Taes Y, Wierckx K, et al. Low bone mass is prevalent in male-to-female transsexual persons before the start of cross-sex hormonal therapy and gonadectomy. *Bone* 2013; 54(1):92-7.
 55. T'Sjoen G, Weyers S, Taes Y, et al. Prevalence of low bone mass in relation to estrogen treatment and body composition in male-to-female transsexual persons. *J Clin Densitom* 2009; 12(3):306-13.
 56. Van Caenegem E, Wierckx K, Taes Y, et al. Preservation of volumetric bone density and geometry in trans women during cross-sex hormonal therapy: a prospective observational study. *Osteoporos Int* 2015; 26(1):35-47.
 57. Wiepjes CM, Vlot MC, Klaver M, et al. Bone Mineral Density Increases in Trans Persons After 1 Year of Hormonal Treatment: A Multicenter Prospective Observational Study. *J Bone Miner Res* 2017; 32(6):1252-60.
 58. Mueller A, Zollver H, Kronawitter D, et al. Body composition and bone mineral density in male-to-female transsexuals during cross-sex hormone therapy using gonadotrophin-releasing hormone agonist. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2011; 119(2):95-100.
 59. Wiepjes CM, de Jongh RT, de Blok CJ, et al. Bone Safety During the First Ten Years of Gender-Affirming Hormonal Treatment in Transwomen and Transmen. *J Bone Miner Res* 2019; 34(3):447-54.
 60. Wiepjes CM, de Blok CJ, Staphorsius AS, et al. Fracture Risk in Trans Women and Trans Men Using Long-Term Gender-Affirming Hormonal Treatment: A Nationwide Cohort Study. *J Bone Miner Res* 2020; 35(1):64-70.
 61. Fighera TM, Ziegelmann PK, Rasia da Silva T, Spritzer PM. Bone Mass Effects of Cross-Sex Hormone Therapy in Transgender People: Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *J Endocr Soc* 2019; 3(5):943-64.
 62. Singh-Ospina N, Maraka S, Rodríguez-Gutiérrez R, et al. Effect of Sex Steroids on the Bone Health of Transgender Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102(11):3904-13.
 63. Hans D, Barthe N, Boutroy S, Pothuaud L, Winzenrieth R, Krieg MA. Correlations between trabecular bone score, measured using anteroposterior dual-energy X-ray absorptiometry acquisition, and 3-dimensional parameters of bone microarchitecture: an experimental study on human cadaver vertebrae. *J Clin Densitom* 2011; 14(3):302-12.
 64. Silva BC, Walker MD, Abraham A, et al. Trabecular bone score is associated with volumetric bone density and microarchitecture as assessed by central QCT and HRpQCT in Chinese American and white women. *J Clin Densitom* 2013; 16(4):554-61.
 65. Wiepjes CM, Vlot MC, de Blok CJM, Nota NM, de Jongh RT, den Heijer M. Bone geometry and trabecular bone score in transgender people before and after short- and long-term hormonal treatment. *Bone* 2019; 127:280-6.
 66. Haraldsen, IR, Haug E, Falch J, Egelan T, Opjordsmoen S. Cross-sex pattern of bone mineral density in early onset gender identity disorder. *Hormones and Behavior* 2007; 52(3):334-43.
 67. Van Caenegem E, Wierckx K, Taes Y, et al. Body composition, bone turnover, and bone mass in trans men during testosterone treatment: 1-year follow-up data from a prospective case-controlled study (ENIGI). *Eur J Endocrinol* 2015; 172(2):163-71.
 68. Rosen HN, Hamnvik OR, Jaisamram U, et al. Bone Densitometry in Transgender and Gender Non-Conforming (TGNC) Individuals: 2019 ISCD Official Position. *J Clin Densitom* 2019; 22(4):544-53.



ACTUALIZACIONES /Reviews

MICRO-ARNs Y CÉLULAS ÓSEAS

Marina Soledad Bonanno, Estefanía Magali Zeni Coronel, 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 micro-ARNs (miARNs) son pequeñas moléculas de ARN no codificante (de aproximadamente 15-25 nucleótidos), que regulan la expresión de genes involucrados en numerosas funciones biológicas, a través de la inhibición o degradación de un ARN mensajero diana. La homeostasis ósea se mantiene por el balance entre la formación osteoblástica y la resorción osteoclastica. La sobreexpresión o inhibición de miARNs específicos afecta la proliferación, diferenciación y actividad de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Estas acciones son llevadas a cabo modulando la expresión de distintos factores transcripcionales y moléculas de señalización de las vías esenciales para la osteoblastogénesis u os-

teoclastogénesis. Estos efectos modifican el balance entre la formación y la resorción, determinando cambios en la homeostasis ósea.

Esta revisión enumera una serie de miARNs que participan en la homeostasis ósea. Profundizando en el conocimiento de los mecanismos por medio de los cuales los miARNs actúan sobre el hueso, podrían revelarse nuevos usos potenciales futuros, entre los que se encuentran su utilidad como nuevos biomarcadores óseos o como agentes terapéuticos para el tratamiento de trastornos metabólicos óseos, pérdida de masa ósea o enfermedades óseas.

Palabras clave: microARNs, osteoblastogénesis, osteoclastogénesis, remodelamiento óseo.

Abstract

MICRORNAS AND BONE CELLS

MicroRNAs (miRNAs) are endogenous small noncoding RNA molecules (of approximately 15–25 nucleotides), which regulate the expression of genes controlling numerous biological functions, through the inhibition or degradation of the target messenger RNA. Bone homeostasis is maintained by a balance between osteoblastic bone formation and osteoclastic bone resorption. The overexpression or inhibition of specific miRNAs affects cell proliferation, differentiation and activity of osteoblast, osteocytes and osteoclast. This action is done by modulating

the expression of different transcription factors and signaling molecules of the most relevant pathways of osteoblastogenesis or osteoclastogenesis. This effect is able to modify the balance between bone formation and resorption, determining changes in bone homeostasis.

The present review is an overview of a series of miRNAs involved in bone homeostasis. An in depth knowledge of the mechanisms by which miRNAs act on bone may reveal potential uses in the future as new bone biomarkers or therapeutic agents for treating metabolic bone disorders, bone loss and bone diseases.

Key words: *microRNAs, osteoblastogenesis, osteoclastogenesis, bone remodeling.*

Introducción

Para el diagnóstico de osteopenia/osteoporosis se utiliza la medición de la densidad mineral ósea (DMO) mediante absorciometría de rayos X dual (DXA), mientras que para evaluar el nivel de remodelamiento se utilizan marcadores bioquímicos óseos específicos como el propéptido N-terminal del procolágeno tipo I (s-P1NP) y el telopéptido C-terminal de colágeno tipo I (s-CTX).^{1,2} Con estas herramientas además se puede evaluar el riesgo de fracturas por fragilidad, predecir la progresión de la enfermedad y controlar el éxito del tratamiento farmacológico utilizado. Los marcadores s-P1NP y s-CTX son metabolitos del colágeno que reflejan la actividad coordinada de osteoblastos (OBL) y osteoclastos (OCL), es decir, formación y resorción ósea. Tanto la medición de DXA como la de los marcadores bioquímicos presentan limitaciones y, en ciertos casos, no se condicen con lo esperado; por ejemplo, los pacientes con diabetes tipo II presentan una DMO normal o aun aumentada; sin embargo, tienen un alto riesgo de fracturas por alteración en la microarquitectura ósea.³

Todo ello sugiere que sería importante la introducción de nuevos biomarcadores que, solos o en combinación con aquellos existentes, proporcionen una mejor comprensión de la resistencia ósea y, en consecuencia, del riesgo de fractura.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como biomarcador a “cualquier sustancia, sus productos, estructura o proceso que puede medirse en el organismo y que influye o predice la incidencia de resultados o enfermedades”.¹ Se ha postulado que los ARN pequeños, no codificantes, serían excelentes candidatos para ser utilizados como biomarcadores óseos.⁴ Entre los ARN pequeños, los micro-ARNs (miARNs) cumplen funciones reguladoras importantes en casi cualquier tipo de célula o tejido, incluido tejido óseo y muscular.⁵

Los micro-ARNs (miARNs)

Los ARNs pequeños (sARNs) son una familia de ARNs regulatorios que incluyen a los miARNs, a los ARN de interferencia cortos (ARNsi) y a los ARNs que interactúan con la



proteína argonauta de *Pyrococcus furiosus* (PIWI) (ARNpi).⁶ Estos tres tipos de ARNs difieren en su biogénesis.⁷

Los miARNs son cadenas cortas de ARN monocatenarias, no codificantes de 21 a 25 nucleótidos (NT), que derivan de secuencias no codificantes intergénicas (intrones) de genes que codifican proteína. Estos miARNs poseen secuencias complementarias que, durante la transcripción, se pliegan sobre sí mismos adoptando una estructura en forma de horquilla.⁶⁻⁸ La función de estos miARN es regular la expresión génica, uniéndose a un ARN mensajero (ARNm) específico por complementariedad de bases, bloqueando la traducción o degradando al mensajero, tanto en animales como plantas, algas verdes, gusanos e incluso en virus.⁷⁻⁹ El mecanismo implicado incluye la unión del miARN, a través de su extremo proximal 5' (nucleótidos del 2 al 7 o del 2 al 8) también denominada secuencia semilla, a la región 3' no traducible (3' UTR) complementaria del ARNm.^{10,11}

Como la secuencia complementaria entre el ARNm y el miARN es de tan solo 7-8 NT, cada miARN podría, potencialmente, aparearse con cientos de ARNm diferentes. Se estima que un único miARN puede regular alrededor de 200 transcritos diferentes y, a su vez, un mismo ARNm puede ser regulado por múltiples miARNs,⁸ modulando coordinadamente a un grupo de genes que codifican proteínas.

Los micro-ARNs se encuentran conservados en especies muy diversas y se los considera un mecanismo de regulación epigenética de procesos celulares complejos como crecimiento, ciclo celular, proliferación, diferenciación, apoptosis, metabolismo, homeostasis y respuesta al estrés.^{1,12}

Son expresados en forma endógena en la mayoría de las células eucariotas, pero su expresión puede ser característica de ciertos tejidos o de ciertos estadios del desarrollo celular, encontrándose una expresión diferencial de miARNs específicos que puede ser estudiada.⁸ Se ha definido como miRNoma al es-

pectro completo de miARNs expresado en un tipo particular de células.¹³

La mayoría de los miARNs permanecen dentro de las células; sin embargo, algunos pueden salir de la célula y encontrarse dentro de vesículas extracelulares (VEC) o de vesículas formadas por lipoproteínas de alta densidad (HDL); otros pueden circular unidos a proteínas específicas como la ribonúcleo-proteína nucleofosmina¹ o a cuerpos apoptóticos,⁷ permitiendo su detección en sangre, suero, plasma, orina u otros biofluidos.^{1,14} Se ha postulado que las alteraciones en los perfiles de miARN específicos circulantes reflejarían las condiciones fisiológicas y patológicas del tejido en cuestión.¹⁵ Se ha demostrado que los cambios en la expresión de los miARNs circulantes reflejan estados de enfermedad como cáncer, enfermedades cardiovasculares, trastornos neurodegenerativos, diabetes, sepsis, así como también daños y lesiones tisulares.^{12,16} Debido a ello, la medición sérica/plasmática de determinados miARNs permitiría sacar conclusiones sobre la fisiopatología del tejido.

Un punto importante es que los miARNs, a través de las VEC, pueden mediar la comunicación intercelular de forma similar a las hormonas.^{1,12} Las VEC son pequeñas estructuras de membrana (ectosomas, micropartículas, microvesículas derivadas de tumores, exosomas y oncosomas) que se producen por diferentes mecanismos. Las VEC se pueden liberar al torrente sanguíneo de casi todo tipo celular⁷, y así llegar, en forma estable, a las células receptoras que se encuentren a distancias cortas o largas de la célula que las liberó¹. Estas VEC que contienen miARNs son captadas por endocitosis, fusionándose con la membrana plasmática de la célula receptora o a través de interacción con receptores de membrana específicos. Una vez en el interior celular pueden modificar el repertorio de miARNs de la célula receptora, causando cambios en la expresión de sus genes y, en consecuencia, su comportamiento celular,^{1,16} disminuyendo o sobreexpresando miARNs

individuales que alteran significativamente los fenotipos celulares. Este mecanismo les confiere un gran potencial terapéutico.

Según la base de datos miRBase versión 22¹⁷ existen en los seres humanos, al menos, 326 genes que codifican para miARNs,¹⁸ 1917 precursores y 2654 miARNs maduros conocidos, que regulan cerca de un tercio del transcriptoma celular.¹⁶

Biogénesis de miARNs

La biogénesis de los miARNs depende de una serie de pasos enzimáticos.¹⁹ Existen dos vías de generación: la vía clásica o *canónica* y la vía alternativa o *no canónica*.

La generación de los miARNs a través de la vía canónica depende de las proteínas Drosha (nuclear) y Dicer (citoplasmática) en un proceso estrictamente regulado. El proceso completo de biogénesis clásica de miARNs se resume en la Figura 1. En animales, comienza en el núcleo, donde la ARN polimerasa II transcribe el precursor pri-miARN a partir de regiones no codificantes intergénicas.¹ Esta molécula precursora es larga, poliadenilada en el extremo 3', con caperuza en el extremo 5'; presenta una estructura tipo horquilla de ARN doble cadena (ARNdc) sin complementariedad perfecta, con largas colas de ARN de simple cadena (ARNsc) en cada extremo y un bucle terminal.^{6,8,13} En el siguiente paso, las proteínas nucleares Drosha (ribonucleasa III) y la proteína de unión a ADN bicatenario (DGCR8) cortan las colas del pri-miARN generando un precursor de 55 a 70 NT^{13,20} que presenta una saliente distintiva de 2 NT de ARNsc en el extremo 3', denominado PRE-miARN.²¹

El PRE-miARN es subsecuentemente trasladado, desde el núcleo al citoplasma, mediante la unión a un complejo de transporte, formado por un receptor de exportación nuclear (Exportina 5), una proteína nuclear RAN ligada a GTP (RAN-GTP) y nucleoporinas que median su acoplamiento con los poros nucleares.⁸ En el citoplasma,

el PRE-miARN es reconocido por la proteína Dicer que presenta acción de endonucleasa III²² y posee varios dominios de unión a ARN.¹⁹ El dominio PAZ reconoce la cola saliente de 2 NT en el extremo 3', mientras que la región entre PAZ y el dominio RNasa III (que reconoce secuencias en tándem) actúa como una "regla molecular" definiendo el tamaño del miARN maduro.¹⁹

Dicer, junto a otras proteínas (TRBP2 y PRKRA) que actúan como cofactores, reconoce y escinde al pre-miARN¹⁹ generando un miARN ARNdc maduro de aproximadamente 19-25 NT con una saliente de 2 NT de ARNsc en cada extremo 3'.^{1,8,21} Posteriormente, Dicer junto a sus cofactores se unen a la proteína Argonauta 2 (AGO2).²¹ Dicer también escinde el miARN ARNdc, dando lugar a una hebra de miARN ARNsc antisentido o miARN maduro que carga en AGO2, mientras que la otra hebra es degradada por el complejo.²¹ La unión del miARN maduro al conjunto proteico da lugar al denominado complejo de silenciamiento inducido por miARN (RISC), en el cual AGO2 utiliza el miARN maduro para dirigir el silenciamiento. RISC actúa de dos formas, dependiendo de la complementariedad parcial o completa del miARN y su ARNm blanco. Cuando existe una complementariedad perfecta entre la secuencia semilla del miARN con el extremo 3' UTR del ARNm diana, se inhibe la traducción a través de la ruptura y degradación directa del mensajero.⁷ En cambio, si la complementariedad es parcial, bloquea la traducción desestabilizando al ARNm sin producir su degradación^{13,18} (véase Figura 1).

Además de la biogénesis clásica de miARN existen varias vías alternativas o *no canónicas*, que solo han sido descritas para organismos inferiores como *Drosophila megaloblaster*, *Giardia lamblia*, Zebrafish y Murine γ -herpesvirus 68.⁸ La producción de estos miARNs pueden ser independientes de Drosha o de Dicer compartiendo pasos del procesamiento.¹

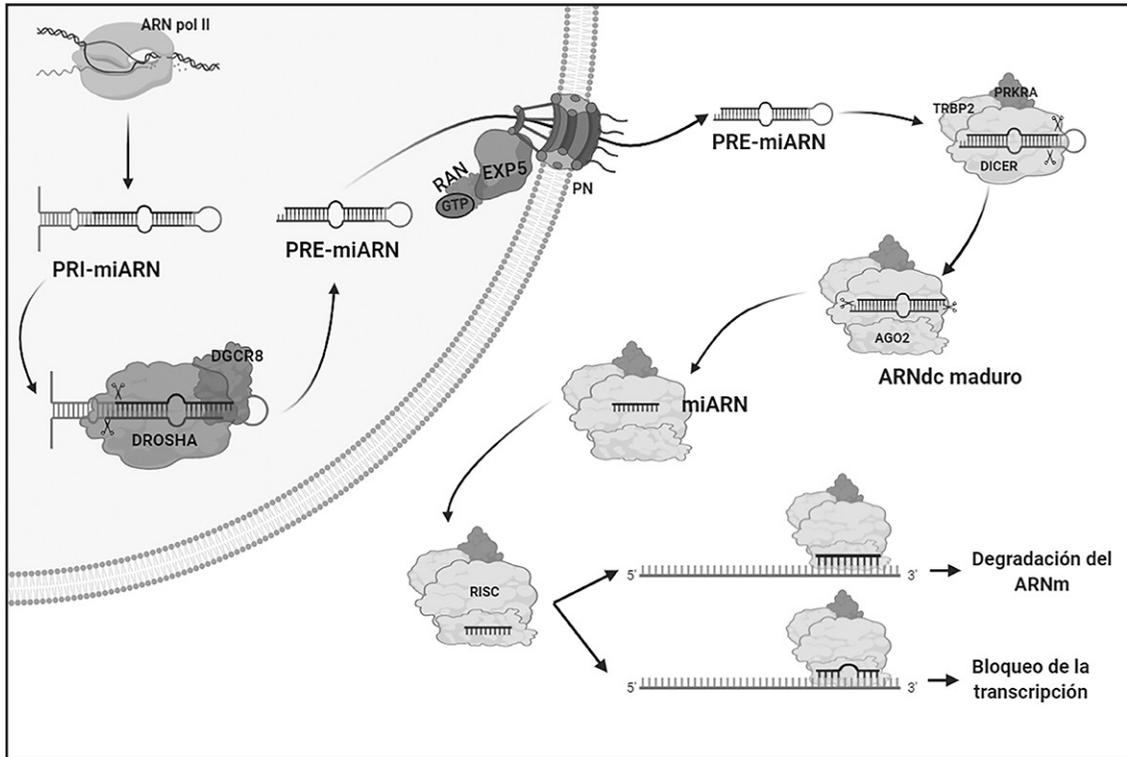


Figura 1. Biogénesis canónica de microARNs (miARNs). La ARN polimerasa II (ARN pol II) transcribe el precursor PRI-miARN. Drosha y DGCR8 lo escinden generando el PRE-miARN. Pasa a citoplasma donde Dicer junto a cofactores (TRBP2 y PRKRA) lo escinden generando un ARN doble cadena (ARNdc) maduro que se asocia a Argonauta 2 (AGO2). Dicer escinde nuevamente al miARNdc formando un ARN de simple cadena antisentido o miARN maduro; la otra hebra es degradada. La unión de miARN maduro a AGO2 forma el complejo de silenciamiento inducido por miARN (RISC) que silenciará al ARN mensajero (ARNm) diana. EXP5 = Exportina 5, NP = poros nucleares.

MicroARNs y metabolismo óseo

El esqueleto se remodela constantemente por la acción conjunta de OBL, OCL y osteocitos, en un proceso que se encuentra estrictamente regulado. Los miARNs regulan epigenéticamente distintos procesos celulares que ocurren dentro de cada una de las células óseas (proliferación, diferenciación y apoptosis celular) o modulan distintas vías metabólicas del tejido.

La primera evidencia respecto de la im-

portancia de los miARNs en el desarrollo esquelético surgió en 2008, al observar las alteraciones que se generan en ratones carentes de la proteína Dicer, específicamente en condrocitos.²³ Los cartílagos de crecimiento presentaban un menor número de condrocitos proliferativos, debido a la disminución en el proceso de proliferación y a un aumento en la diferenciación a condrocitos hipertróficos posmitóticos. Estos animales presentan graves defectos en el desarrollo

del esqueleto y muerte prematura.²³ A partir de dicho estudio se realizaron diferentes investigaciones centradas en caracterizar la variación en la expresión de miARNs en las células óseas primarias, así como también en analizar el rol regulador de los miARN tanto en la osteoblastogénesis como en la osteoclastogénesis y, en definitiva, en la homeostasis ósea.¹

Micro-ARNs y osteoblastogénesis

Los OBL derivan de pre-OBL que se diferencian de células madre mesenquimales,²⁴ las cuales a su vez pueden diferenciarse a otros linajes celulares como miocitos, condrocitos, neuronas y adipocitos dependiendo del impacto de distintos factores presentes en su microambiente celular.²⁵

La osteoblastogénesis es un proceso complejo que se encuentra regulado por diferentes factores de transcripción, vías de señalización y de genes regulatorios. Entre los factores de transcripción más importantes se encuentran el factor de transcripción 2 relacionado a RUNT (Runx2), el factor de transcripción específico de OBL u osterix (Osx) y la familia de proteínas Smads (1, 4 y 5).²⁶ A su vez, las vías de señalización que desempeñan un rol fundamental en el proceso de osteoblastogénesis incluyen las señales de Wnt/ β -catenina, del factor de crecimiento transformante β (TGF- β), de las proteínas morfogenéticas óseas 2-7 (BMPs), de la proteína quinasa dual específicamente activada por mitógeno (MAPK)/ERK, la vía NOTCH y la vía JAK/STAT. En la osteoblastogénesis participan una enorme cantidad de factores regulatorios como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), Distal-Less Homeobox 5 (Dlx5), la vía de señalización de Hedgehog, el factor nuclear de células T activadas citoplasmático 1 (NFATc1), la proteína activadora 1 (AP-1) y Twist 1.²⁷ El proceso también se encuentra regulado por distintas hormonas y citoquinas,^{25,26} pero además, a nivel genético y epigenético, se incluyen la regulación transcripcional por metila-

ción del ADN, modificaciones nucleosómicas y modificaciones de proteínas.²⁵ Todo cambio en los niveles de miARN que impacten sobre alguno de los pasos antes mencionados alteraría la regulación ósea, determinando el incremento o la disminución de la diferenciación del OBL y de sus funciones específicas. Las Tablas 1 y 2 resumen los miARNs que estimulan y que suprimen la osteoblastogénesis, respectivamente.

Micro-ARNs implicados en la vía Wnt/ β -catenina

La vía de señalización Wnt/ β -catenina desempeña un rol fundamental en la diferenciación, proliferación y apoptosis del OBL. Dicha vía incluye una señal canónica y una no canónica. La señal canónica se produce cuando Wnt se une al receptor Frizzled y a su correceptor la lipoproteína de baja densidad (LRP)5/6, generando el secuestro de Axina.²⁸ Este proceso evita la formación del complejo Axina/Proteína poliposis adenomatosa coli (APC)/Glucógeno Sintasa Kinasa (GSK3 β), encargado de degradar a β -catenina. En consecuencia, β -catenina queda libre y se traslada al núcleo donde activa la transcripción de genes indispensables para la osteogénesis como las proteínas TGF- β y BMP2.²⁸ Por otra parte, la señal Wnt estimula la transcripción de osteoprotegerina (OPG) y Runx2.²⁸ Esto induce una reducción en la relación del ligando del receptor activador del factor nuclear kB (RANKL)/OPG, lo que se traduce en la inhibición de la diferenciación osteoclástica y en la promoción de todo el proceso de formación ósea²⁴ (véase Figura 2).

La vía no canónica de Wnt/ β -catenina se caracteriza por no requerir la estabilización de la β -catenina para culminar su cascada de señalización. Mediante esta vía, Runx2 es activado y, al mismo tiempo, el receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR γ) es inhibido dando lugar, en conjunto, a la diferenciación osteoblástica y a la inhibición de la diferenciación adipocítica.²⁹



Tabla 1. microARNs que estimulan la osteoblastogénesis.

miARN	Blanco	Vía	Modelo experimental	Tipo de estudio	Referencias
miR-15b	Smurf 1	TGF- β	hBM-MSCs	<i>In vitro, Clínico</i>	29 36 40
	Smurf 1	TGF- β	hPDLSCs	<i>In vitro</i>	29 36 40
miR-20a	BAMBI, CRIM y PPAR γ	Wnt/ β -catenina/ BMPs/FGF2	hBM-MSCs	<i>In vitro</i>	29 36 37
miR-21	Smad 7	BMPs	mMSCs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	1 27 29
	Smad 7	TGF- β	mMSCs	<i>In vitro</i>	29 33 40 41 43
miR-26a	GSK3 β	Wnt/ β -catenina	mBM-MSCs	<i>In vitro</i>	25 32
miR-27a	APC	Wnt/ β -catenina	MDPC-23	<i>In vitro</i>	31 32 37 40 47
	sFRP1	Wnt/ β -catenina	MG63, HEK293T	<i>In vitro</i>	34
miR-29a	Dkk1, Kremen2, sFRP2 y SOST	Wnt/ β -catenina	hFOB	<i>In vitro</i>	25 29 33 40
	HDAC4	Runx2	mBM-MSC, ratones VB	<i>In vitro, In vivo</i>	29
Tardíamente miR-29b	TGF- β	TGF- β	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	25 26 27 29 32 33 40
	Col1A1	Síntesis de matriz	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	33 37
	Runx2	Runx2	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	29
miR-92a	PI3K y Akt	IGF1	MG-63, MHM, MNNG	<i>In vitro</i>	29
miR-98	SOST	Wnt/ β -catenina	Saos-2, U-2OS	<i>In vitro</i>	29
miR-142	APC	Wnt/ β -catenina	hFOB1.19, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	40 31 32 37 47
miR-181a	TGFBI y TGFBR	TGF- β	C2C12, MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	29 37
miR-194	STAT1	Runx2	mBM-MSCs	<i>In vitro</i>	29 32
miR-210	AcvR1b	TGF- β	ST2, NRG	<i>In vitro</i>	29 37
miR-218	Dkk1, Kremen2, sFRP2 y SOST	Wnt/ β -catenina	MC3T3-E1, mBM-MSCs, ADSCs	<i>In vitro</i>	25 29 33 40
miR-216a	c-Cbl	IGF-1	hADSCs, ratones NOD/SCID	<i>In vitro, In vivo</i>	29 36
miR-322	Tob2	BMPs	BM-MSCs, C2C12, HeLa	<i>In vitro</i>	40 58
miR-335 y miR-433	Dkk1	Wnt/ β -catenina	C3H10T-1/2, MC3T3-E1, hFOB1.19, muestras de sangre	<i>In vitro, clínico</i>	25 29 32 37
miR-346	GSK3 β	Wnt/ β -catenina	hBM-MSCs	<i>In vitro</i>	32 40
miR-378	PI3K y Akt	IGF-1	C2C12, MC3T3-E1, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	27 36 37
miR-542	sFRP1	Wnt/ β -catenina	rBM-MSCs, ratas Sprague-Dawley	<i>In vitro, In vivo</i>	29 32
miR-764	Runx2	Runx2	MC3T3-E1, L mOB	<i>In vitro</i>	29
miR-2861	HDC5	Runx2	mOB, ST2, mBM-MSCs, ratones C57BL/6, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	25 26 27 29 33 36 37 43

Tabla 2. microARNs que suprimen la osteoblastogénesis.

miARN	Blanco	Vía	Modelo experimental	Tipo de estudio	Referencias
miR-10b y miR-30c	Runx2	Runx2	MC3T3-E1, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	29 32 37
miR-16	AcvR2a	TGF- β	hBM-MSCs,	<i>Clínico</i>	26 29
miR-17	BMP2 y Smad 1/5	BMPs	hADSCs, ratones C57BL/6J	<i>In vitro, In vivo</i>	29 36 40
miR20a	TGFR	TGF- β	3T3-L1, ST2, C3H10T1/2	<i>In vitro</i>	25 29 35
miR-21	SPRY1	FGF	mMSCs, hBM-MSCs, ratones C57BL/6J, suero	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	29 32 40
miR-23a	LRP5	Wnt/ β -catenina	hBM-MSCs	<i>In vitro, Clínico</i>	1 29 33 37 47
	SATB-2	Runx2	MC3T3-E1, ratones C57BL/6, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	29 33 37
miR-23b	Smad 3	TGF- β	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	29 55
	Runx2	Runx2	hBM-MSCs, ratones C57BL/6J	<i>In vivo, Clínico</i>	29
miR-24	SATB-2	Runx2	hBM-MSCs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	29 33
miR-26a	Smad 1/5	BMPs	hADSCs	<i>In vitro</i>	25 26 27 36 37
Tempranamente miR-29b	TGF- β	TGF- β	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	37
	Runx2	Runx2	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	29 37
miR-30	LRP5/6	Wnt/ β -catenina	mBM-MSCs	<i>In vitro</i>	29 40
miR-30 (a, b, c y d)	Smad 1/5	BMPs	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	29 33 35 37 40 47
miR-31	SATB-2	Runx2	hMSCs	<i>In vitro</i>	27 40
	Osx	Osx			32
miR-33	SATB-2	Runx2	mBM-MSCs	<i>In vitro</i>	29
miR-34a	Jag 1	Notch	hMSCs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	27 29 32 33 36 40 47
miR-34b	Notch2	Notch	C2C12	<i>In vitro</i>	33
	SATB-2	Runx2	mOBs, ratones 129Sv/EV	<i>In vitro, In vivo</i>	29
miR-34c	Notch1/2 y Jag1	Notch	C2C12, ratones FVB/N	<i>In vitro, In vivo</i>	33 36
	SATB-2	Runx2	C2C12, ratones FVB/N	<i>In vitro, In vivo</i>	29 32 33 36 47 51
miR-63, miR-96 y miR-135b	Osx	Osx	mBM-MSCs, USSCs, ratones C57BL/6J, muestras de medula ósea humana	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	25 26 27 29 37 40
miR-93	BMP2	BMPs	hBM-MSCs	<i>In vitro</i>	1 29 33
	Osx	Osx	mOBs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	29 33
miR-100 y miR-153	BMPR	BMPs	hADSCs, hBM-MSCs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	1 25 26 29 37



(continuación de tabla 2)

miARN	Blanco	Vía	Modelo experimental	Tipo de estudio	Referencias
miR-103a, miR-137, miR-205, miR-217, miR-222, miR-338, miR-618 y miR-3077	Runx2	Runx2	hBM-MSCs, MC3T3-E1, ratones C57BL/6J y BALB/c, ratas Wistar	<i>In vitro, In vivo</i>	27 29 32 33 36 37
miR-106 y miR-370	BMP-2	BMPs	hADSCs, MC3T3-E1, ratones C57BL/6	<i>In vitro, In vivo</i>	1 29 33 36
miR-124	Dlx2, Dlx3 y Dlx5	BMPs	hBM-MSCs, ratones nude NIH-bg-nu-xid, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	1 27 37 54
miR-125b	BMPR	BMPs	hBM-MSCs, ratones BALB/c nude	<i>In vitro, In vivo</i>	1 25 26 27 29 37
	Osx	Osx	hBM-MSCs, muestras de médula ósea	<i>In vitro, Clínico</i>	26 29 36 37
miR-133, miR-204/211	Runx2	BMPs	C2C12, VSMCs, hMSCs, muestras de sangre y médula ósea	<i>In vitro, Clínico</i>	1 25 26 27 33 37 38 47 56
miR-135a	Smad 1/5	BMPs	C2C12	<i>In vitro</i>	25 26 27 29 33 37 38 47
	Runx2	Runx2	MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	25 26 29 32 33
miR-140 y miR-422a	TGF- β	TGF- β	MC3T3-E1, MG-63, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	1 29 35 40 42
miR-148	Kdm6b	TGF- β	mBM-MSCs, ST2, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	29 33 37
miR-155 y miR-222	Smad 1/5	BMPs	MC3T3-E1, hBM-MSCs	<i>In vitro</i>	27 33 49
miR-181a	Kdm6b	TGF- β	mBM-MSCs	<i>In vitro</i>	29
miR-182	FOXO1	IGF-1	C3H10T1/2, MC3T3-E1	<i>In vitro</i>	57
miR-206	Glutaminasa	Interacción celular	C2C12, ratones FVB	<i>In vitro, In vivo</i>	26 27 29 37 46
miR-210	PPAR γ	Wnt/ β -catenina/FGF2	hBM-MSCs	<i>In vitro, Clínico</i>	29
miR-214, miR-223 y miR-338	FGFR1/2	FGF	BM-MSCs, ratones, muestras de sangre C57BL/6J y BALB/c	<i>In vitro, In vivo, clínico</i>	1 25 27 29 32 33 36 37 44
miR-221	Dkk2	Wnt/ β -catenina	mOBs	<i>In vitro</i>	29
miR-223 y miR-497	IGF-1R	IGF-1	MC3T3-E1, HOS, U2OS	<i>In vitro</i>	27 29
miR-376c	Wnt3	Wnt/ β -catenina	mOBs	<i>In vitro</i>	29 30
miR-483	ERK1	FGF	hADSCs, ratones Balb/c nude, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	29 45

Los miARNs que usan como blanco a Wnt, Frizzled o LRP5/6 atenúan la señal suprimiendo la diferenciación del OBL. Entre los miARNs que bloquean la señal Wnt/ β -catenina se encuentran miR-376c que utiliza como blanco al ARNm de Wnt3³⁰, miR-20a y miR-210 que inhiben PPAR γ o miR-23a y miR-30, que se unen directamente al ARNm de LRP5/6.²⁹ En cambio, la osteoblastogénesis será promovida si los miARNs actúan como reguladores negativos sobre alguno de alguno de los integrantes del complejo de captura de la β -catenina. En células mesenquimales, miR-26a y miR-346

inhiben al ARNm de GSK3 β mientras que miR-27a y miR-142³¹ inhiben al ARNm de APC.³²

La vía Wnt/ β -catenina es inhibida por Dikkopf (Dkk), Kremen y esclerostina (SOST) que evitan la interacción entre Wnt y su receptor, mientras que la proteína secretada relacionada con Frizzled (sFRP) inhibe la señal uniéndose directamente a Wnt. Los miARNs que inhiban a estos reguladores negativos favorecerán la diferenciación osteogénica; miR-29a y miR-218 regulan negativamente a Dkk1³³, Kremen2, sFRP2 y SOST; miR-98 inhibe al ARNm de SOST; miR-98 inhibe al ARNm de SOST; miR-335 y miR-433 actúan sobre Dkk1,

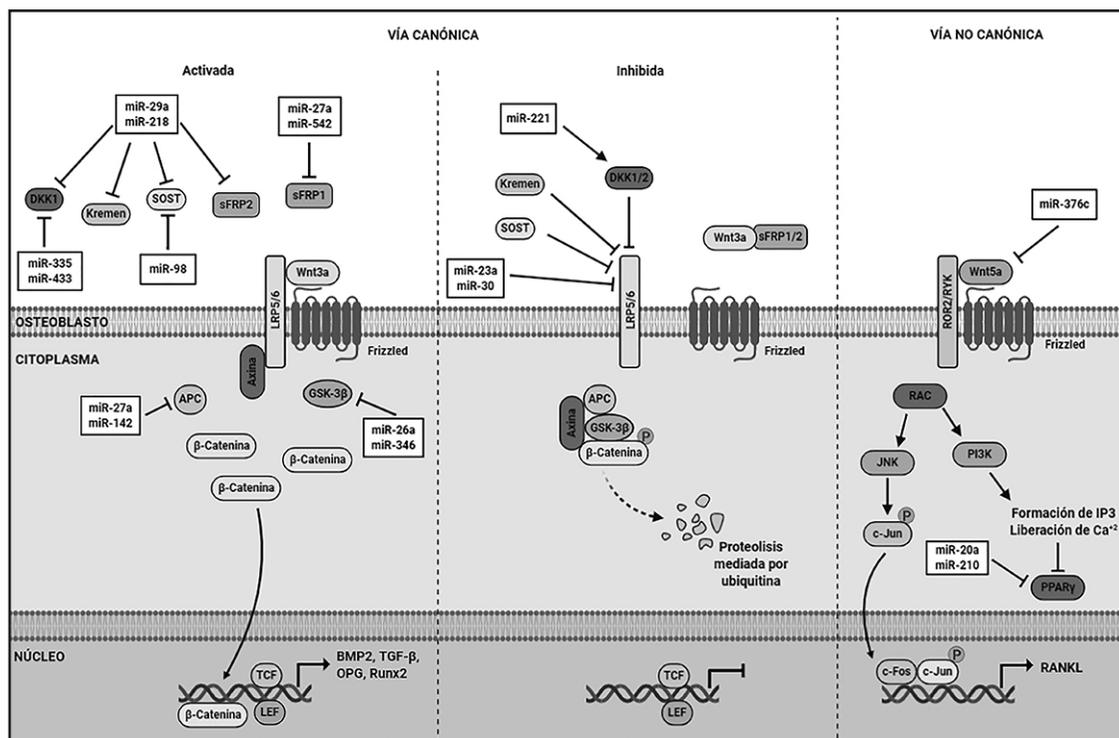


Figura 2. MicroARNs (miARNs) implicados en la vía Wnt/ β -catenina. La señal canónica de la vía Wnt/ β -Catenina se activa cuando Wnt3a se une al receptor Frizzled y a su correceptor la lipoproteína de baja densidad (LRP)5/6 secuestrando a Axina. Esto evita la degradación de β -catenina que queda libre, se traslada al núcleo y activa la transcripción de genes para la osteogénesis. Los represores son Dikkopf (DKK1), Kremen, esclerostina (SOST) y sFRP1/2. La vía no canónica utiliza a Wnt5a, no requiere la estabilización de β -catenina y culmina activando a Runx2 e inhibiendo al receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR γ). Los miARNs que bloquean la vía canónica son miR-: 23a, 30 y 221; los miARNs que promueven la osteoblastogénesis son miR-: 26a, 346, 27a, 142, 29a, 218, 335, 433, 27a y 542. Los miARNs que bloquean la vía no canónica son miR-: 376c, 20a y miR-210. Axina/APC/GSK-3 β = complejo de degradación.



mientras que miR-27a y miR-542 lo hacen sobre sFRP1.^{31,34} Contrariamente, aquellos que estimulen a estos reguladores negativos atenuarán la osteoblastogénesis, como lo hace miR-221 que activa a Dkk2.

Micro-ARNs implicados en la vía de las BMPs

Si bien BMP-2, 4, 5, 6, y 7 presentan una alta capacidad osteogénica, únicamente la BMP-2 es necesaria y suficiente para inducir la osteoblastogénesis irreversiblemente.³⁵ La unión de BMP-2 a su receptor específico (BMPR) induce la autofosforilación del receptor y el reclutamiento del complejo Smad 1/5/8. Este complejo, al unirse a Smad 4, activa una señal en cascada que se traslada al núcleo donde se inicia la transcripción de Runx2, Dlx5 y Osx. La autofosforilación de BMPR también activa la señal en cascada de las MAPKs que, a través de la p38K, induce la maduración del OBL por la fosforilación de Runx2, Dlx5 y Osx³⁵ (véase Figura 3).

Sobre la vía de las BMP actúan varios miARNs que regulan recíprocamente la osteogénesis y la adipogénesis. La diferenciación mesenquimal a OBL es promovida por miR-20a, que activa la señalización BMP/Runx2 mediante la inhibición de antagonistas de la vía tales como PPAR γ , el inhibidor ligado a membrana de BMP y activina (BAMBI) y el regulador transmembrana de BMP 1 rico en cisteína (CRIM).^{29,36,37} Contrariamente, miR-17, miR-93, miR-106 y miR-370 regulan negativamente la osteogénesis y activan la adipogénesis uniéndose al ARNm de BMP2.^{1,36}

La osteogénesis también es inhibida por la regulación negativa ejercida por miR-100, miR-125b y miR-153^{27,29} sobre el BMPR; por la inhibición o bloqueo de Runx2 donde actúan miR-133 y miR-204/211;³⁷ los dos primeros estimulan al mismo tiempo la adipogénesis,^{26,27,38} o por la inhibición de Smad 1/5 sobre las que actúan miR-17, miR-26a, la familia de miR-30a, b, c y d, miR-135a, miR-155 y miR-222.^{26,27,38,39}

Los factores Dlx y el traductor de erbB2 (Tob2) se encuentran implicados en la cascada osteoinductiva de las BMPs. Los miARNs

que eviten la expresión de cualquier Dlx, tal como lo hace miR-124,³⁷ suprimirá la diferenciación osteogénica y la mineralización de la matriz.³¹ Tob2 es un regulador negativo de la osteoblastogénesis al unirse al ARNm de Osx e inducir su degradación. miR-322 evita este efecto uniéndose al ARNm de Tob2, favoreciendo la respuesta inductiva.^{40,58}

Existen varios represores de la vía de las BMP, entre ellos, Noggin y Smad 6 y 7. Noggin inhibe la unión BMP/BMPR; Smad 6 induce la degradación de Smad 1/5/8 y Smad 7 inhibe la autofosforilación de BMPR y la formación del complejo Smad 1/5/8³⁵ (véase Figura 3). La regulación negativa ejercida por los miARNs sobre alguno de estos represores inducirá la osteogénesis, como lo hace miR-21 al inhibir a Smad 7.⁴¹

Micro-ARNs implicados en la vía del TGF- β

El factor proteico TGF- β ejerce un rol dual en el proceso de osteoblastogénesis ya que, por un lado, activa la proliferación de pre-OBL en las etapas tempranas y, por el otro, inhibe la diferenciación de OBL y mineralización, en las etapas finales de la osteogénesis. La unión de TGF- β a su receptor específico (TGFR) activa a Smad 2/3 el cual, al unirse a Smad 4, forma un complejo que se traslada al núcleo donde inicia la transcripción del factor Wnt que favorecerá la osteoblastogénesis³⁵ (véase Figura 3).

La diferenciación del OBL se inhibe al bloquear la traducción del ARNm de TGF- β , ya que se ve disminuida la fosforilación de Smad 2/3. Es a través de este proceso que se inhibe, en etapas tempranas, la osteogénesis por medio de miR-29b, miR-140 y miR-422a.^{1,42} El bloqueo del receptor TGFR también inhibe la osteoblastogénesis como lo hace miR-20a.²⁵ La señal de TGF- β posee inductores de la diferenciación osteoblástica. La diferenciación de OBLs es favorecida por miR-181a al unirse al inductor de TGF- β (TGFB1) y al receptor 1 (TGFB1).³⁷ Contrariamente, la inhibición de tales inductores modulará negativamente el proceso de diferenciación. La demetilasa lisina-específica 6b (Kdm6b) es una enzima

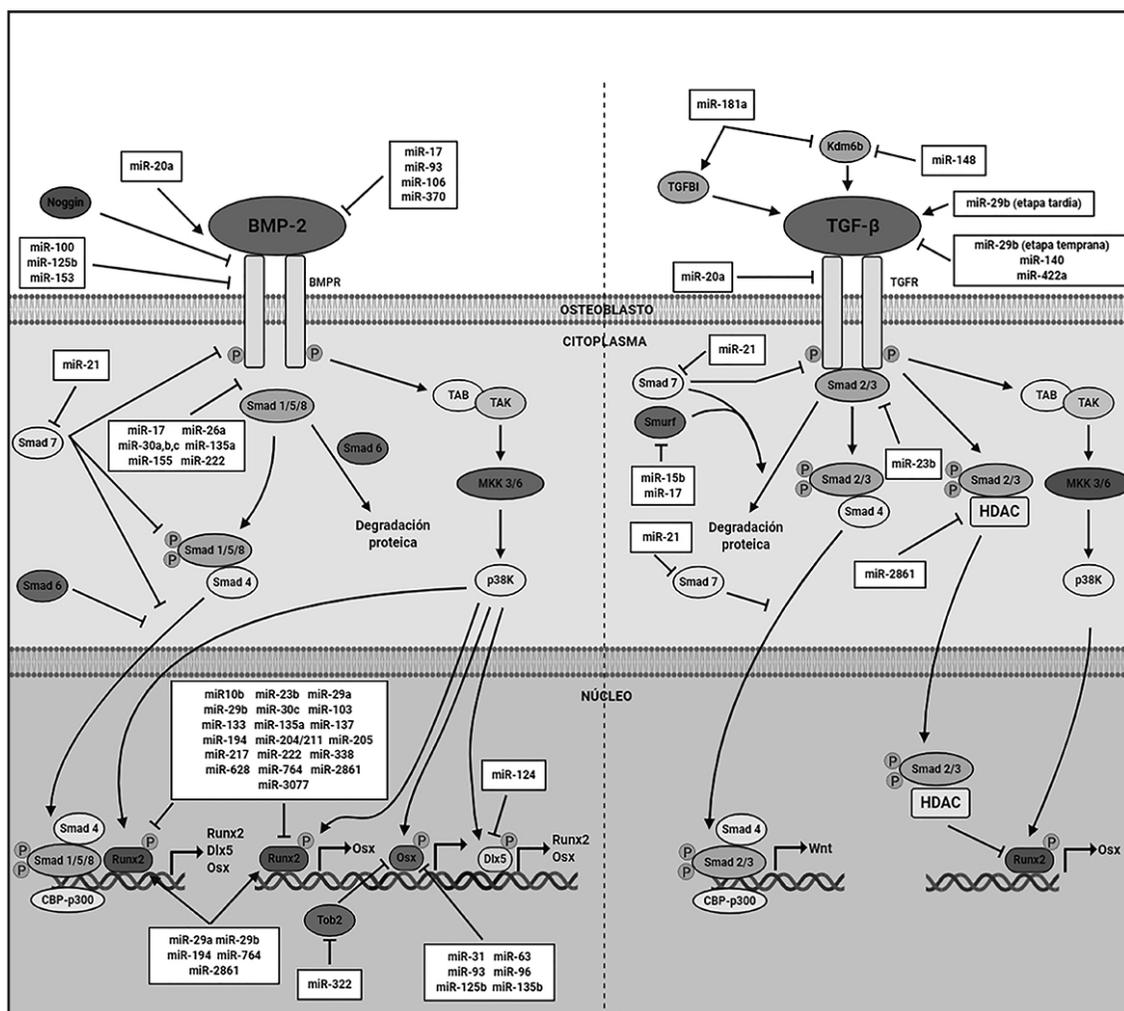


Figura 3. MicroARNs (miARNs) implicados en la vía de las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) y en la vía del TGF-β. La interacción BMP-2/receptor específico (BMPR) induce el reclutamiento del complejo Smad 1/5/8 que al unirse a Smad 4 transcribe a Runx2, al factor Dlx5 y a Osterix (Osx). Además, activa a las quinasas activadas por mitógeno (MAPKs) que inducen la maduración de osteoblastos. Los represores de esta vía son Noggin, Smad 7, Smad 6 y Tob2. Los miARNs que bloquean la vía son miR-: 17, 93, 106, 370 100, 125b, 153, 17, 26a, 30a, b y c, 135a, 155, 222, 124, 31, 63, 93, 96, 125b, 135b, 10b, 23b, 29a, 29b, 30c, 103, 133, 135a, 137, 194, 204/211, 205, 217, 222, 338, 628, 764, 2861 y 3077. Los miARNs que promueven la osteogénesis son miR-: 21, 322, 29a, 29b, 194, 764, 2861 y 20a. La interacción TGF-β/receptor específico (TGFR), en etapas tempranas de la osteogénesis, activa a Smad 2/3 que, al unirse a Smad 4, inicia la transcripción de Wnt. Además, las MAPKs mediante p38K, inducen la maduración de osteoblastos. La demetilasa lisina específica 6b (Kdm6b) y TGFBI son inductores positivos de la vía; Smad 7, Smurf y la unión de Smad 2/3 a la histona diacetilasa (HDAC) son represores del proceso. Los miARNs que bloquean la vía son miR-: 29b, 140, 422 20a, 148, 181a y 23b y los que la estimulan son miR-: 21, 15b, 17, 181a, 29b y 2861.



que participa en la vía del TGF- β como un inductor positivo de la osteoblastogénesis;³⁵ miR-181a y 148 inhiben a dicha enzima.²⁹ La señal de TGF- β en las etapas tempranas de la osteogénesis también es interferida por miR-23b mediante la unión a Smad 3.^{29,55} Los lipopolisacáridos estimulan a miR-23b y con ello inhiben la osteoblastogénesis.²⁹ Smad 7 y Smurf son represores de la vía de TGF- β .³⁵ En este sentido, Smad 7 inhibe el traslado del complejo Smad 2/3-Smad 4 al núcleo, mientras que tanto Smad 7 como Smurf favorecen la degradación de Smad 2/3.³⁵ La osteoblastogénesis es promovida por miR-21, que regula negativamente la expresión de Smad 7,³³ y por miR-15b y miR-17, que disminuyen la expresión de Smurf1, incrementando así los niveles de Runx2.^{29,36}

Durante la diferenciación tardía de los OBLs, algunos TGF- β actúan como inhibidores del proceso. La interacción de estos TGF- β con su TGFBR o con los receptores de activina (AcvR), pertenecientes a la superfamilia de receptores de TGF- β , activan a Smad 2/3. La unión de Smad 2/3 con la histona diacetilasa (HDAC) forma un complejo que se traslada al núcleo y reprime a Runx2, inhibiendo la osteogénesis.³⁵ La osteoblastogénesis también es inducida por miR-29b silenciando al ARNm de TGF- β 3 en etapas tardías del proceso,³⁷ mientras que miR-2861 lo hace inhibiendo a HDAC5, lo que aumenta indirectamente la expresión de Runx2.⁴³ La diferenciación osteoblástica es promovida por miR-210; este miARN actúa inhibiendo al ARNm del receptor de activina 1 (AcvR1b); contrariamente, miR-16 inhibe la osteogénesis modulando el ARNm del AcvR2a.²⁹

Micro-ARNs implicados en otros procesos osteogénicos

La señal FGF/FGFR desempeña un rol importante en la osteoblastogénesis; sin embargo, el efecto de esta señal es complejo ya que puede aumentarla o atenuarla según el tipo de FGF y de FGFR que se exprese, el estado de maduración celular y el microambiente en el cual ocurre.²⁸ Varios estudios genéticos han demos-

trado que el FGF2 es un importante regulador de la proliferación y diferenciación celular durante la osteogénesis. En este sentido, la unión de FGF2 a su receptor tirosina kinasa específico (FGFR) induce la dimerización y yuxtaposición de los dominios de tirosina kinasa para iniciar una transfosforilación secuencial de al menos 6 residuos de tirosina. Este proceso activa a la fosfolipasa C (PLC) la cual cataliza la formación de diacilglicerol (DAG) e inositol-trifosfato (IP3). DAG activa a la proteína kinasa C (PKC) que, a través de vía de las MAPK, incrementa la fosforilación de Runx2 y con ello la osteoblastogénesis. Además, MAPK activa a la proteína de señal extracelular regulada por kinasas 1/2 (ERK), que se traslada al núcleo, se une a la proteína inhibidora de Runx2 (ERF) y la exporta al citoplasma, aumentando la osteogénesis²⁸ (véase Figura 4).

La osteogénesis es suprimida por la unión de miR-214, miR-223 y miR-338 al receptor FGFR1/2,^{1,44} por miR-21 que se une al ARNm del homólogo Sprouty 1 (SPRY1) e inhibe la activación en cascada de las MAPKs y con ello la activación de Runx2,²⁷ y por la unión de miR-483 al ARNm de ERK1; en este último caso se promueve al mismo tiempo la adipogénesis.⁴⁵

La señal de Notch mantiene un balance entre la proliferación y diferenciación celular. La activación de la señal de Notch induce la rotura proteolítica de su receptor, liberando su dominio intracelular (NICD) que puede trasladarse al núcleo donde, junto al factor de unión a Core α 1 (CBFA1), induce la transcripción de dos factores, HES y HEY, que regulan negativamente a Runx 2;²⁹ miR-34b y miR-34c modulan la señal de Notch2 generando la disminución en la producción osteoblástica de OPG y al mismo tiempo aumentan la de RANKL, mientras que miR-34a disminuye la osteoblastogénesis al bloquear a Jagged1 (Jag 1).^{33,40}

La unión del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) con su receptor específico de tirosina kinasa (IGF-1R) genera la dimerización y autofosforilación en forma secuencial de sus 6 dominios tirosina kinasa. La fosforilación de los residuos tirosina 677 y 766 des-

encadenan una fosforilación en cascada que incluye la activación de la fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K) que, a su vez, cataliza la fosforilación del fosfatidil inositol difosfato (PIP2) a trifosfato (PIP3). Este último, activa a la proteína kinasa B (Akt) y esta, a su vez, a mTOR, favoreciendo la supervivencia del OBL. Por su parte, PIP3 inhibe a FOXO1 que no puede trasladarse al núcleo, por lo cual se ve inhibida la síntesis de osteocalcina, FGF y Runx2²⁹ (véase Figura 4).

Asimismo, miR-223 y miR-497 se unen al IGF-1R y promueven la apoptosis del OBL.⁴⁴ En particular, la expresión de miR-223 inducida por productos de glicosilación avanzada (AGE) es el que determina la apoptosis del OBL en diabetes mellitus.⁴⁴ La diferenciación osteoblástica es estimulada por miR-216a que desregula negativamente al inhibidor de PI3K denominado linfoma de linaje B-Casitas (c-Cbl); por miR-92a que se expresa tempranamente en células osteoprogenitoras activando la señal PI3K/Akt y por miR-378 que activa a esta última vía, bajo condiciones de altos niveles de glucosa.^{10,36} Contrariamente, la diferenciación osteoblástica es suprimida por miR-182 a través de la inhibición de FOXO1.³⁸

En paralelo con la diferenciación osteoblástica disminuye la expresión de miR-206^{38,46}, que inhibe la expresión de la enzima glutaminasa, mediante la unión directa a su ARNm. Este hecho altera el metabolismo de la glutamina y suprime la osteoblastogénesis.⁴⁶ El proceso de secreción de osteoide y mineralización también se encuentra regulado. En este sentido, el aumento en la expresión de miR-29b inhibe la síntesis de colágeno y promueve la mineralización.²⁷

Micro-ARNs implicados en la regulación del factor de transcripción Runx2

Todos los pasos de osteoblastogénesis convergen en el factor de transcripción clave de la diferenciación osteoblástica Runx2 y en su cofactor, la proteína de unión a la secuen-

cia especial rica en ATS 2 (SATB2). Runx2 suprime la proliferación del pre-OBL y promueve la expresión de otros genes que favorecen la diferenciación a OBLs maduros.^{24,28}

Todos los miARNs que desregulen negativamente estos factores llevarán a la inhibición de la osteogénesis. Una serie de miARNs, entre los cuales se encuentran miR-23b, miR-30c, miR-103a, miR-133, miR-135a, miR-137, miR-204/211, miR-205, miR-217, miR-222, miR-338, miR-628 y miR-3077 se unen al ARNm de Runx2 determinando la inhibición de la osteoblastogénesis *in vitro* y dando lugar a la pérdida de masa ósea *in vivo*.⁴⁷ En particular, miR-137 es mecanosensible, por lo que favorece la diferenciación del OBL en condiciones de falta de carga mecánica. En pacientes con fracturas que no consolidan se observa un aumento en la expresión de miR-628. La deficiencia estrogénica estimula la expresión de miR-3077 en ratones ovariectomizados (OVX) debido a la activación del factor nuclear kB (NF-kB).²⁹

Otros miARNs que afectan la actividad de Runx2 son: miR-10b, miR-29a, miR-29b, miR-194, miR-764 y miR-2861. En particular, la disminución en la expresión de Runx2 es ejercida por la sobreexpresión de miR-10b que activa a STAT1 o por el silenciamiento de miR-2861.²⁹ Contrariamente, la regulación positiva de Runx2 y, por lo tanto, la osteoblastogénesis es activada por miR-194, que disminuye los niveles de STAT1, o por miR-29a, miR-29b, miR-764 y miR-2861 los cuales, a través de diferentes vías, previenen la degradación de Runx2.³⁷

SATB-2 es una proteína de unión al ADN que regula específicamente, a nivel transcripcional, la diferenciación de genes osteoblásticos, induciendo la regeneración ósea. miR-33 y miR-34b se unen al ARNm de SATB-2 y bloquean la señal de diferenciación osteogénica. Asimismo, la expresión de miR-23a, miR-24, miR-31 y miR-34c bloquean la señal de diferenciación de OBL y osteocitos, uniéndose directamente a los ARNm de Runx2 y SATB-2.

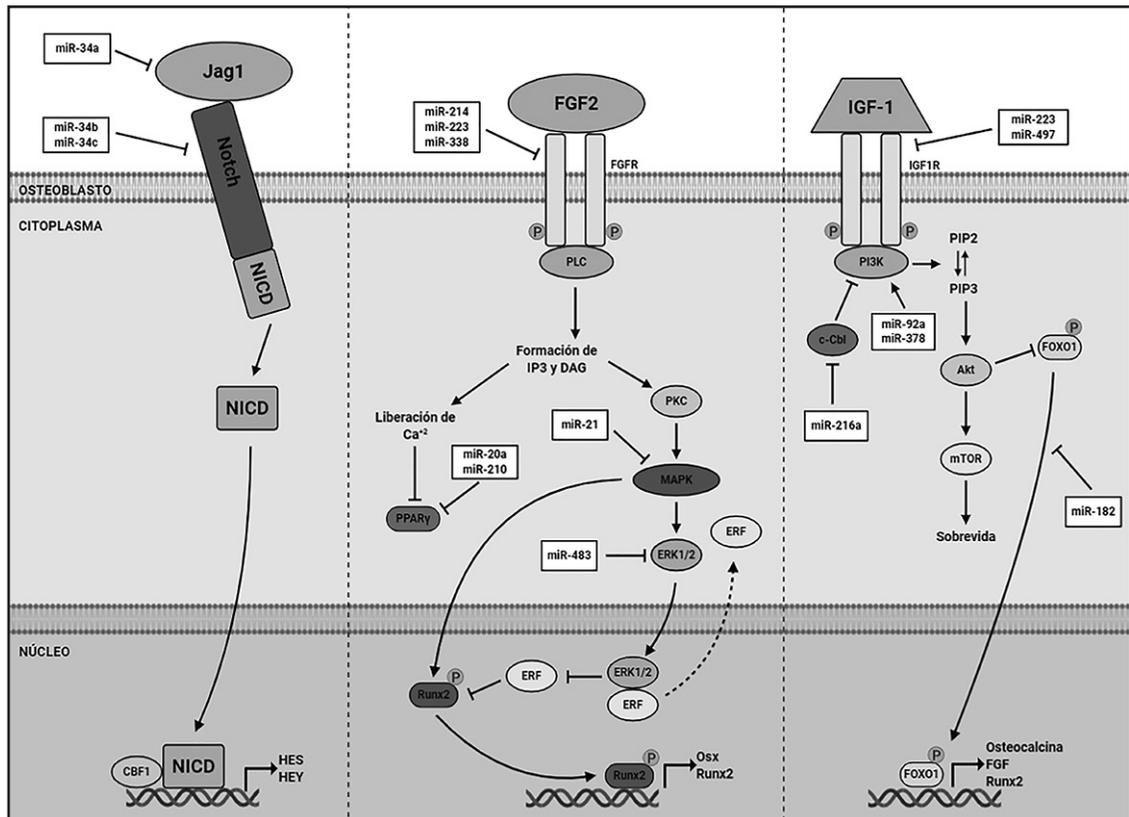


Figura 4. MicroARNs (miARNs) implicados en las vías Notch, FGF e IGF-1. Jagger 1 (Jag1) activa la señal de Notch liberando su dominio intracelular (NICD). Este dominio, en el núcleo, induce la expresión de los factores HES y HEY. Los miARNs que bloquean esta vía son miR-: 34a y 34b/c. La unión FGF2/FGFR activa a la fosfolipasa c (PLC), generando diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3). DAG activa la kinasa C (PKC) e incrementa la osteogénesis; además activa a ERK que exporta el citoplasma a la proteína inhibidora de Runx2 (ERF), aumentando la osteogénesis. La vía de FGF2 se encuentra bloqueada por miR-: 214, 223, 3385, 21 y 483. La interacción entre el factor de crecimiento insulínico símil (IGF-1)/receptor (IGF-1R) inicia una cascada de fosforilación que activa a fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K) que transforma al fosfatidilinositol difosfato (PIP2) en trifosfato (PIP3), activando la proteína kinasa B (Akt) y esta a mTOR favoreciendo la sobrevivida de los osteoblastos e inhibiendo a FOXO1. El factor linfoma de linaje de Casitas B (c-Cbl) actúa como represor de la vía. Esta vía está bloqueada por miR-: 223, 497 y 182. Esta vía es estimulada por miR-: 216a, 92a y 378.

Por otro lado, la señal Runx2/SATB-2 activa la expresión Osx y con ello la diferenciación de OBL y osteocitos, pero también el proceso de mineralización y formación ósea. La expresión de miR-31 reduce la estabilidad del ARNm para Osx inhibiendo la mineralización.

Otros miARN como miR-63, miR-93, miR-96, miR-125b y miR-135b inhiben la expresión de Osx, uniéndose directamente y degradando su ARNm.²⁹

Micro-ARNs y osteoclastogénesis

Los OCLs derivan de un precursor monoci-

to/macrófago que se diferencia a pre-OCLs.²⁴ La información acerca de la participación de los miARNs en la osteoclastogénesis es más limitada.²⁷ Sin embargo, la inactivación de Dicer genera una disminución en la formación de OCL y conduce a una disminución en la actividad resortiva y el desarrollo de osteopetrosis, sugiriendo un control del proceso por parte de los miARNs.⁴³

Los dos pasos principales del proceso de osteoclastogénesis involucran al sistema RANK/RANKL y al sistema del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF)/receptor 1 del factor estimulante de colonias de macrófagos (C-FMS). Aunque menos estudiados, se ha demostrado que una serie de miARN también actúan sobre las distintas vías de la osteoclastogénesis. Las Tablas 3 y 4 resumen los miARN que estimulan y que suprimen la osteoclastogénesis, respectivamente. *Micro-ARNs implicados en la vía de señalización RANK/RANKL*

El sistema RANK/RANKL/OPG es el principal regulador de la diferenciación y activación de OCL, luego de que la parathormona o el calcitriol estimulen la producción de RANKL por los OBLs.²⁴ La OPG actúa como un receptor trampa que limita esta señal²⁴ (véase Figura 5). Los miARN que den lugar a variaciones en la expresión de RANKL u OPG por parte de OBL y de RANK por parte de OCL, modularán la diferenciación osteoclástica.

La expresión de miR-26a se incrementa en respuesta a la señal de RANKL favoreciendo la osteoclastogénesis.³⁹ En pre-OCL, la diferenciación osteoclástica es suprimida mediante la expresión de miR-335 y miR-338 que regulan negativamente a RANKL;⁴⁸ contrariamente, miR-145 incrementa la relación RANKL/OPG favoreciendo la osteoclastogénesis.²⁹ Los estrógenos suprimen a miR-145 disminuyendo la diferenciación osteoclástica.²⁹ Por otra parte, la expresión de RANK en OCL es regulada negativamente por miR-503 y con ello su diferenciación.^{31,39}

Tabla 3. MicroARNs que estimulan la osteoclastogénesis.

miARN	Blanco	Vía	Modelo experimental	Tipo de estudio	Referencias
miR26a	RANKL	RANK	mBM-MMs	<i>In vitro</i>	27 29 36 39
miR-29c	NFIA, calcitonina	M-CSF	RAW264.7, mBMMs	<i>In vitro</i>	29
miR-34c	GSK3-β	LGR4	RAW264.7, 293T	<i>In vitro</i>	51
miR-99b	IGF-1R	IGF	hPBMCs	<i>In vitro</i>	29
miR-133	IFN-γ	RANK	hPBMCs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	1 29 39
miR-145	OPG	RANK	MG-63	<i>In vitro</i>	29
miR-148a	NFATC1, c-Fos y MITF	RANK	hPBMCs, ratones C57BL/6, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	27 29 33 36 39
miR-214	TRAF3	RANK y M-CSF	RAW264.7, ratones C57BL/6J y miR-214-3p flox/-C57BL/6J	<i>In vitro, In vivo</i>	27 29 36 52
	Pten	RANK y M-CSF	mBMMs, OC-TG214, ratones C57BL/6J y OC-TG214	<i>In vitro, In vivo</i>	29 52
miR-223	NF1A e IKKα	RANK	RAW264.7, ratones DBA/1, muestras de tejido sinovial	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	11 25 27 29 33 37 38 43
	NFIA	M-CSF	mM-CSF	<i>In vitro</i>	43



Tabla 4. MicroARNs que inhiben la osteoclastogénesis.

miARN	Blanco	Vía	Modelo experimental	Tipo de estudio	Referencias
miR-7b	DC-STAMP	Interacción celular	RAW264.7,	<i>In vitro, Clínico</i>	27 29
miR-9b, miR-181a y miR-422a	c-CBL	Apoptosis	mOCs, muestras de sangre RAW264.7, mBMMs, mOCs, ratones C57BL/6, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	1 29 39
miR-21	c-Fos	RANK	hBM-MMs, ratones C57BL/6 y miR-21 ^{-/-}	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	11 1 25 27 29 33 37 38 43 39
miR-29b	RANKL y M-CSF	RANK y M-CSF	hPBMCs	<i>In vitro</i>	29
	MMP2	RANK, degradación de matriz	hPBMCs	<i>In vitro</i>	29 33 39
miR-124	NFAT-c1	RANK	mBMMs, muestras de sangre	<i>In vitro, Clínico</i>	27 29 39 54
	Rab27a	MAPKs	mBMMs, ratones C57BL/6J	<i>In vitro, In vivo</i>	54
	IL-11	Inflamación	RAW264.7, MC3T3-E1, ratones nude	<i>In vitro, In vivo</i>	29
miR-125a y miR-146a	TRAF6	RANK	hPBMCs	<i>In vitro</i>	27 29 33 39
miR-126 y miR-532	MMP13	Degradación de matriz	mBMMs, GCTSC, UMR 106-01	<i>In vitro</i>	29 53
miR-142	IL-6	Inflamación	mPBMCs	<i>In vitro</i>	29 31
miR-155	MIFT	RANK, M-CSF	RAW264.7, mBMMs	<i>In vitro</i>	1 25 27 29 33 37 39
miR-186	CATK	Degradación de matriz	RAW264.7, mBMMs, ratones C57BL/6J, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, clínico</i>	29
miR-204/211	IL-11	Inflamación	MSCs	<i>In vitro</i>	29
miR-218 y miR-618	NF-κB	RANK	RAW264.7	<i>In vitro</i>	29
miR-222	c-Src	RANK	RAW264.7	<i>In vitro</i>	29 49
miR-335 y miR-338	RANKL	RANK	mPBMCs, ratones NOD/SCID	<i>In vitro, In vivo</i>	29 48
miR-365	MMP9	Degradación de matriz	mOBs, MC3T3-E1, ratones C57BL/6J	<i>In vitro, In vivo</i>	29
miR-503	RANK	RANK	hPBMCs, ratones C57BL/6, muestras de sangre	<i>In vitro, In vivo, Clínico</i>	27 29 36 39

La unión de RANKL a RANK desencadena una señal de transducción en cascada, principalmente de la proteína adaptadora asociada al receptor de TNF 6 (TRAF6), el que a su vez activa a la kinasa Kappa B (IKK), a las MAPKs: MAP2K1/MEK1, MAP2K6/MKK6 y MAP2K7/MKK7, al protooncogén tirosina-proteína ki-

nasa (c-Src) y a PLC²⁴ (véase Figura 5). Por su parte, miR-125a y miR-146a se unen directamente al ARNm de TRAF6 suprimiendo, tanto la diferenciación de pre-OCL como la formación de OCL multinucleados.^{33,39}

IKK fosforila al inhibidor de NF-κB (IKB) y lo degrada, activando consecuentemente a

NF- κ B.²⁴ Al producirse la activación de NF- κ B se suprime la función del promotor de miR-29b, con lo cual su expresión disminuye progresivamente durante la diferenciación osteoclástica inducida por RANKL y M-CSF.²⁹ En osteoporosis posmenopáusica se observa que la expresión de miR-218 y miR-618 está inhibida, con lo cual se activan NF- κ B y la osteoclastogénesis,²⁹ y miR-223 suprime también el proceso uniéndose a IKK α .³⁹

La MAPK MKK6 activa a una kinasa p38 (p38K), la cual aumenta la expresión del factor de transcripción asociado a microftalmia (MIFT), fundamental para activar la expresión de genes osteoclásticos como los de catepsina K (CATK) y fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP). El miR-155 se une al ARNm de MIFT favoreciendo la diferenciación hacia macrófagos e inhibiendo la resorción ósea^{27,43} (véase Figura 5).

La interacción de c-Src y TRAF6 estimula la vía PI3K/Akt/blanco de rapamicina en mamíferos (mTOR) inhibiendo proteínas proapoptóticas, lo cual conduce a la supervivencia de los OCLs.²⁴ El miR-222 disminuye el ARNm de c-Src en pre-OCLs, generando un efecto inhibitorio de la osteoclastogénesis activada por RANKL⁴⁹ (véase Figura 5).

Todos los pasos antes mencionados convergen en la activación de NFAT-c1, a través de la formación de un complejo entre NF- κ B y el dímero activador de proteínas 1 (AP1) (compuesto por c-Fos y c-Jun)²⁴ (véase Figura 5). Esta es la principal vía reguladora de la transcripción de genes específicos de OCLs como TRAP, CATK y metaloproteasas (MMP) como la MMP9, MMP13, etc.²⁴ La diferenciación osteoclástica es inhibida por miR-124 que suprime la expresión de NFAT-c1 uniéndose a su ARNm; por miR-21 que desregula el ARNm de c-Fos, inhibiendo la formación de AP1 y la transcripción de NFAT-c1.^{29,39} Contrariamente, miR-148a favorece la diferenciación de OCL al bloquear los represores de la transcripción de NFAT-c1, c-Fos y MITF.^{27,36}

Varias investigaciones recientes han demostrado que el sistema RANK/RANKL/OPG

cuenta con un nuevo integrante denominado receptor 4 acoplado a proteína G que contiene repeticiones ricas en leucina (LGR4).⁵⁰ Durante años se creyó que RANK era el único receptor de RANKL; sin embargo, se ha demostrado que LGR4 actúa como receptor de dicho ligando, compitiendo con RANK e inhibiendo su señal, lo cual conduce a una inhibición de la osteoclastogénesis y la resorción ósea.⁵⁰ La interacción RANKL/LGR4 desencadena una serie de señales en cadena que comienza con la activación de la proteína G α subunidad α (G α_q) que, a su vez, inhibe la fosforilación de GSK3- β . Este hecho impide la translocación nuclear de NFAT-c1 evitando la formación del complejo nuclear con NF- κ B y AP1 y, consecuentemente, la transcripción de genes específicos de los OCL.^{50,51} La expresión de LGR4 se encuentra regulada negativamente por miR-34c que promueve la fosforilación de GSK3- β , estimulando la osteoclastogénesis.⁵¹

Micro-ARNs implicados en la vía de señalización osteoclastogénica M-CSF/C-FMS

La interacción de M-CSF y su receptor c-FMS asegura la supervivencia del OCL mediante la activación de la proteína kinasa MEK1 que aumenta la señal de RANKL, activando por un lado la cascada de señalización de ERK 1/2 y, por el otro, la vía de PI3K/Akt/mTOR (véase Figura 5). Este último paso es estimulado por miR-214, que se sobreexpresa en macrófagos de la médula ósea cuando la osteoclastogénesis es inducida por M-CSF y RANKL, al disminuir la expresión de Pten, inhibidor de la vía.⁵² La inhibición *in vitro* de miR-214 disminuye la producción de TRAP, MMP9, canal de cloro 7 (CLC7) y CATK, mientras que la sobreexpresión *in vivo* de este miARN reduce la DMO en ratones.⁵² Asimismo, miR-214 induce la diferenciación osteoclástica al unirse al ARNm de TRAF3, activando la vía canónica y no canónica de la señal de NF- κ B.⁵² La diferenciación de OCL también es promovida por miR-29c y miR-223,⁴³ que inhiben al factor nuclear I A (NFIA), regulador negativo

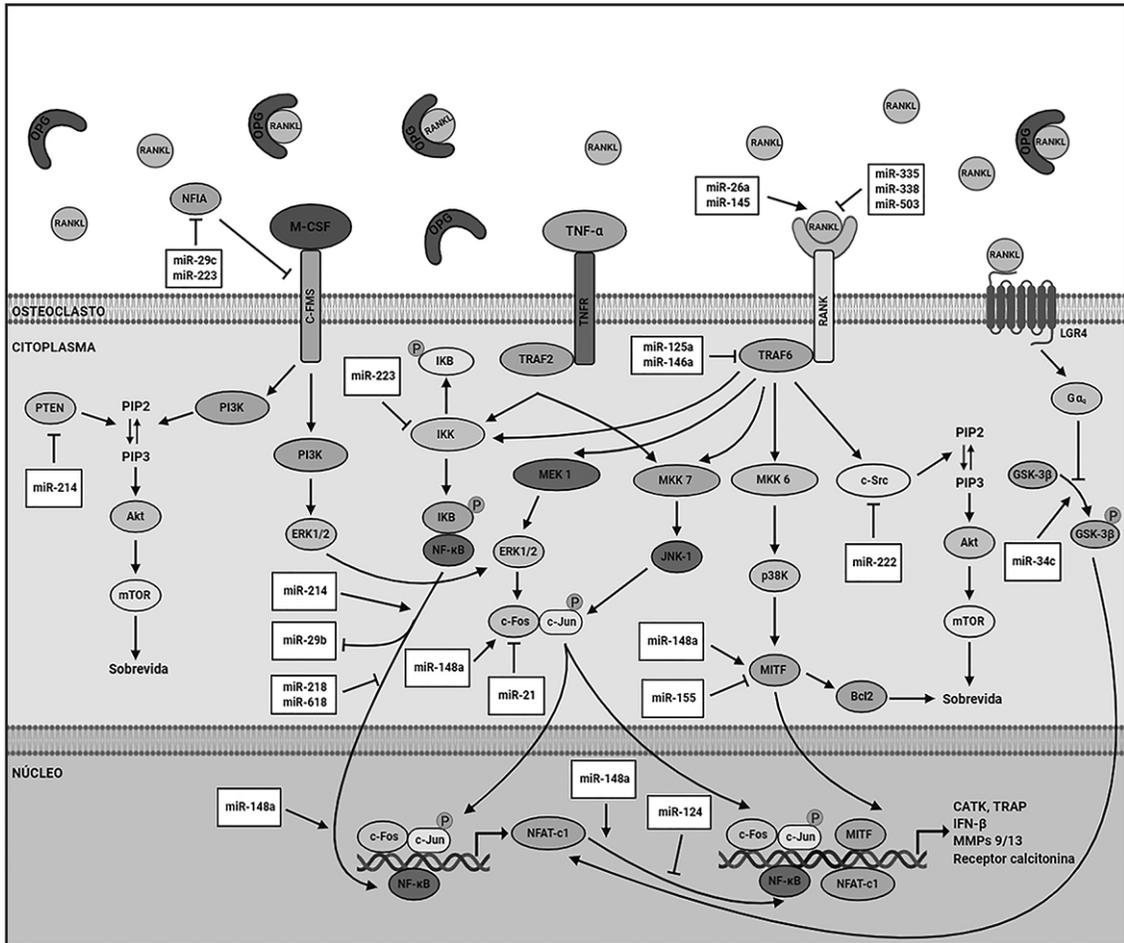


Figura 5. MicroARNs (miARNs) implicados en la osteoclastogénesis. La unión del receptor activador del factor nuclear κ B (RANK) y su ligando (RANKL) desencadena la señal de la proteína adaptadora asociada al receptor de TNF 6 (TRAF6), activando a la quinasa Kappa B (IKK), las MAPK (MAP2K1/MEK1, MAP2K6/MKK6 y MAP2K7/MKK7), al protooncogén tirosina proteína quinasa (c-Src) y a PLC. IKK degrada al inhibidor de NF- κ B (I κ B). MAPK MKK6 activa la quinasa p38 (p38K), que estimula al factor de transcripción asociado a microftalmia (MIF). Todos estos pasos activan a NFAT-c1, que junto a NF- κ B, c-Fos, c-Jun y MIF regula la expresión de genes específicos de osteoclastos. LGR4 actúa como un nuevo receptor de RANKL, compite por RANK e inhibe su señal y la osteoclastogénesis.

Los miARN que bloquean la señal RANK/RANKL son miR-: 335, 338, 503, 125a, 146a, 222, 155, 223, 218, 618, 21 y 124. Los miARNs que estimulan la osteoclastogénesis son miR-: 26a, 145, 214, 148a y 34c. La activación de NF- κ B suprime la función del promotor y disminuye progresivamente a miR-29b durante la osteoclastogénesis.

La unión de M-CSF a su receptor c-FMS asegura la supervivencia de los osteoclastos, activando la señal de la quinasa MEK1 que transforma al fosfatidilinositol difosfato (PIP2) en trifosfato (PIP3) que favorece la supervivencia del osteoclasto. El factor nuclear I A (NFIA) y PTEN son reguladores negativos de la vía. Los miARN que inducen esta vía son miR-: 29c, 223 y 214.

de la osteoclastogénesis.²⁹ Este factor se encuentra implicado en la represión de C-FMS, por lo cual su inhibición amplifica la señal de M-CSF.²⁹

Otros micro-ARNs que influyen en la osteoclastogénesis

Las MMPs son enzimas que degradan la matriz ósea, liberando distintos factores solubles que favorecen la diferenciación osteoclástica. Varios miARNs inhiben la osteoclastogénesis al bloquear los ARNm de distintas MMPs. miR-29b inhibe la expresión de MMP2;²⁹ los miR-126 y miR-532 inhiben la de MMP13⁵³ y el miR-365 inhibe la de MMP9.²⁹

Otros miARNs modifican únicamente la expresión de genes específicos de la actividad del OCL. Por ejemplo, el miR-186 disminuye la expresión de CATK, sugiriendo su utilidad como posible agente terapéutico para controlar las osteopatías metabólicas relacionadas con una elevada resorción ósea.²⁹ La expresión del miR-124 reduce la actividad osteoclástica al inhibir la expresión de la proteína relacionada con RAS 27a (Rab27a), uno de los factores implicados en la activación de MAPKs.⁵⁴ La expresión de miR-7b inhibe la fusión de OCL para formar OCLs maduros.^{27,29}

Todo miARN que modifique señales de la regulación del ciclo celular, sobrevida o apoptosis celular influenciará la diferenciación del OCLs. miR-9b, miR-181a y miR-422a son reguladores negativos de la osteoclastogénesis, por lo cual su baja expresión favorece la sobrevida y actividad de OCLs.^{29,39} Las citoquinas y otros factores que actúen sobre estos pasos también influenciarán la diferenciación del OCLs. Por ejemplo, miR-29c favorece la diferenciación osteoclástica uniéndose al ARNm del receptor de calcitonina, lo cual favorece la liberación de Ca²⁺, desencadenante de la actividad del OCL.^{29,39} Las citoquinas proinflamatorias IL-1 β , TNF- α , IL-17, IL-11 acti-

van la diferenciación del OCL favoreciendo la expresión tanto local como sistémica de RANKL en OBLs y células del sistema inmunitario. La unión de la IL-1 β a su receptor activa a TRAF6 y con ello la señal osteoclastogénica. miR-124 y miR-204/211 se unen al ARNm de IL-11, disminuyen sus niveles y con ello la maduración y actividad del OCL.²⁹ El miR-99b aumenta la expresión de ARNm de IGF-1R y promueve la diferenciación osteoclástica.²⁹ El interferón gamma (IFN γ) es una citoquina antiinflamatoria que inhibe la actividad de c-Fos y a los OCLs. miR-133 inhibe esta vía y con ello activa la osteoclastogénesis. La expresión de miR-142 bloquea la diferenciación de OCLs al unirse al ARNm del gp130, que codifica para el receptor de IL6, importante citoquina para la diferenciación osteoclástica.³¹

Conclusiones

En esta revisión nos hemos centrado en la definición y el mecanismo general de los miARNs, así como en la influencia de alguno de ellos en la diferenciación, activación y apoptosis de los OBLs y OCLs a través de las principales vías de activación. La integridad del esqueleto depende de la actividad balanceada de ambas células, a través de los procesos de modelamiento durante el crecimiento y remodelamiento en edades más avanzadas. Con la edad disminuyen la diferenciación y actividad de los OBLs a partir de células mesenquimales con un desequilibrio hacia la formación de adipocitos. La disminución de estrógenos en la menopausia induce a una mayor resorción osteoclástica e incremento en el riesgo de fracturas. Los cambios en la expresión de los miARN son los que llevan a la modificación de todos estos procesos. Evidentemente, para los investigadores interesados en el impacto de los miARN en la actividad de las células óseas, el reto más importante, a largo plazo, sería identificar el número real de miARN actuantes, así como encontrar



los ARNm a los cuales regulan, con el fin de detallar su influencia sobre la homeostasis ósea y detallar cómo sus cambios participan en el desarrollo de osteopatías metabólicas. Este último conocimiento respecto de los cambios en la expresión de los miARNs hará posible su uso futuro como biomarcadores y como blancos terapéuticos.

Conflicto de intereses: las autoras declaran no tener conflicto de intereses.

Recibido: septiembre 2020

Aceptado: diciembre 2020

Referencias

1. Hackl M, Heilmeier U, Weilner S, Grillari J. Circulating microRNAs as novel biomarkers for bone diseases—Complex signatures for multifactorial diseases?. *Mol Cell Endocrinol* 2016; 432:83-95.
2. Bauer D, Krege J, Lane N, et al. National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker Project: current practices and the need for US harmonization, standardization, and common reference ranges. *Osteoporos Int* 2012; 23:2425-33.
3. Martínez SB, Cenarruzabeitia NV, San Martín JE, Canelas AC. La paradoja diabética: densidad mineral ósea y fractura en la diabetes tipo 2. *Endocrinol Nutr* 2016; 63:495-501.
4. De Guire V, Robitaille R, Tétreault N, et al. Circulating miRNAs as sensitive and specific biomarkers for the diagnosis and monitoring of human diseases: promises and challenges. *Clin Biochem* 2013; 46:846-60.
5. Guo Z, Maki M, Ding R, Yang Y, Xiong, L. Genome-wide survey of tissue-specific microRNA and transcription factor regulatory networks in 12 tissues. *Sci Rep* 2014; 4:5150.
6. Moran Y, Agron M, Praher D, Technau U. The evolutionary origin of plant and animal microRNAs. *Nat Ecol Evol* 2017; 1:1-8.
7. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136:215-33.
8. Pabón-Martínez YV. MicroARNs: una visión molecular. *Rev Univ Ind Santander Salud* 2011; 43:289-97.
9. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009; 19:92-105.
10. Feng J, Xing W, Xie L. Regulatory roles of microRNAs in diabetes. *Int. J Mol Sci* 2016; 17:1729.
11. Xia Z, Chen C, Chen P, Xie H, Luo X. MicroRNAs and their roles in osteoclast differentiation. *Front Med* 2011; 5:414-9.
12. Huang W. MicroRNAs: biomarkers, diagnostics, and therapeutics. *Methods Mol Biol* 2017; 1617:57-67.
13. Fabbri M, Croce CM, Calin GA. MicroRNAs. *Cancer J* 2008; 14:1-6.
14. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:10513-8.
15. Velu VK, Ramesh R, Srinivasan AR. Circulating microRNAs as biomarkers in health and disease. *J Clin Diagn Res* 2012; 6:1791.
16. Blondal T, Nielsen SJ, Baker A, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods* 2013; 59:S1-S6.
17. miRBase. <http://www.mirbase.org/summary.shtml?org=hsa>. Sep-2020.
18. Carthew RW. Gene regulation by microRNAs. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16:203-8.
19. Fareh M, Yeom K, Haagsma AC, et al. TRBP ensures efficient Dicer processing of precursor

- microRNA in RNA-crowded environments. *Nat Commun* 2016; 7:1-11.
20. Westholm JO, Lai EC. Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing. *Biochimie* 2011; 93:1897-904.
 21. Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, Shiekhattar R. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123:631-40.
 22. Datta A, Ganguli S. The Interactomics of the RNA-Induced Silencing Complex. *Current trends in Bioinformatics: An Insight* 2018; 193-206.
 23. Kobayashi T, Lu J, Cobb BS, et al. Dicer-dependent pathways regulate chondrocyte proliferation and differentiation. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:1949-54.
 24. Bellido T, Plotkin LI, Bruzzaniti A. Bone cells. *Basic and applied bone biology* 2019; 37-55.
 25. Carpio-Cano D, Fabiola E, DeLa Cadena RA, Sawaya BE. HIV and bone disease: a perspective of the role of microRNAs in bone biology upon HIV infection. *J Osteoporos* 2013; 2013:571418.
 26. Hu R, Li H, Yang L, et al. Targeting miRNAs in osteoblast differentiation and bone formation. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14:1109-20.
 27. Chen J, Qiu M, Dou C, Cao Z, Dong S. MicroRNAs in bone balance and osteoporosis. *Drug Dev Res* 2015; 76:235-45.
 28. Komori T. Signaling networks in RUNX2-dependent bone development. *J Cell Biochem* 2011; 112:750-55.
 29. Bellavia D, De Luca A, Carina V, et al. Deregulated miRNAs in bone health: Epigenetic roles in osteoporosis. *Bone* 2019; 122:52-75.
 30. Kureel J, John AA, Prakash R, Singh D. MiR 376c inhibits osteoblastogenesis by targeting Wnt3 and ARF-GEF-1-facilitated augmentation of beta-catenin transactivation. *J Cell Biochem* 2018; 119:3293-3303.
 31. Sonda N, Simonato F, Peranzoni E, et al. miR-142-3p prevents macrophage differentiation during cancer-induced myelopoiesis. *Immunity* 2013; 38:1236-49.
 32. Li B. MicroRNA regulation in osteogenic and adipogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells and its application in bone regeneration. *Curr Stem Cell Res Ther* 2018; 13:26-30.
 33. van Wijnen AJ, Van de Peppel J, Van Leeuwen JP, et al. MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2013; 11:72-82.
 34. Guo D, Li Q, Lv Q, et al. MiR-27a targets sFRP1 in hFOB cells to regulate proliferation, apoptosis and differentiation. *PLoS One* 2014; 9:e91354.
 35. Wu M, Chen G, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Res* 2016; 4:16009.
 36. Sun M, Zhou X, Chen L, et al. The regulatory roles of microRNAs in bone remodeling and perspectives as biomarkers in osteoporosis. *BioMed Res Int* 2016; 2016:1652417.
 37. Lian JB, Stein GS, van Wijnen AJ, et al. MicroRNA control of bone formation and homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:212-27.
 38. An JH, Ohn JH, Song JA, et al. Changes of microRNA profile and microRNA-mRNA regulatory network in bones of ovariectomized mice. *J Bone Miner Res* 2014; 29:644-56.
 39. Tang P, Xiong Q, Ge W, Zhang L. The role of microRNAs in osteoclasts and osteoporosis. *RNA Biol* 2014; 11:1355-63.
 40. Peng S, Gao D, Gao C, et al. MicroRNAs regulate signaling pathways in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep* 2016; 14:623-9.
 41. Arumugam B, Balagangadharan K, Selvamurugan N. Syringic acid, a phenolic acid, promotes osteoblast differentiation by stimulation of Runx2 expression and targeting of Smad7 by miR-21 in mouse mesenchymal stem cells. *J Cell Commun Signal* 2018; 12:561-73.
 42. Liu M, Xiusheng H, Xiao X, Wang Y. Overexpression of miR-422a inhibits cell proliferation and invasion, and enhances chemosensitivity in osteosarcoma cells. *Oncol Rep* 2016; 36:3371-8.
 43. Sugatani T, Vacher J, Hruska KA. A microRNA



- expression signature of osteoclastogenesis. *Blood J Am Soc Hematol* 2011; 117:3648-57.
44. Qin Y, Ye J, Wang P, Gao L, Wang S, Shen H. miR-223 contributes to the AGE-promoted apoptosis via down-regulating insulin-like growth factor 1 receptor in osteoblasts. *Biosci Rep* 2016; 36:e00314.
45. Chen K, He H, Xie Y, et al. miR-125a-3p and miR-483-5p promote adipogenesis via suppressing the RhoA/ROCK1/ERK1/2 pathway in multiple symmetric lipomatosis. *Sci Rep* 2015; 5:1-15.
46. Chen Y, Yang Y, Fan X, et al. miR-206 inhibits osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells by targeting glutaminase. *Biosci Rep* 2019; 39:BSR20181108.
47. Zhang Y, Xie R, Gordon J, et al. Control of mesenchymal lineage progression by microRNAs targeting skeletal gene regulators *Trps1* and *Runx2*. *J Biol Chem* 2012; 287:21926-35.
48. Zhang XH, Geng GL, Su B, et al. MicroRNA-338-3p inhibits glucocorticoid-induced osteoclast formation through RANKL targeting. *Genet Mol Res* 2016; 15.
49. Takigawa S, Chen A, Wan Q, et al. Role of miR-222-3p in c-Src-mediated regulation of osteoclastogenesis. *Int J Mol Sci* 2016; 17:240.
50. Luo J, Yang Z, Ma Y, et al. LGR4 is a receptor for RANKL and negatively regulates osteoclast differentiation and bone resorption. *Nat Med* 2016; 22:539-46.
51. Cong F, Wu N, Tian X, et al. MicroRNA-34c promotes osteoclast differentiation through targeting LGR4. *Gene* 2017; 610:1-8.
52. Zhao C, Sun W, Zang P, et al. miR-214 promotes osteoclastogenesis by targeting Pten/PI3k/Akt pathway. *RNA Biol* 2015; 12:343-53.
53. Mohanakrishnan V, Balasubramanian A, Mahalingam G, et al. Parathyroid hormone-induced down-regulation of miR-532-5p for matrix metalloproteinase-13 expression in rat osteoblasts. *J Cell Biochem* 2018; 119:6181-93.
54. Tang L, Yin Y, Liu J, Li Z, Lu X. MiR-124 attenuates osteoclastogenic differentiation of bone marrow monocytes via targeting Rab27a. *Cell Physiol Biochem* 2017; 43:1663-72.
55. Guo Q, Chen Y, Guo L, Jiang T, Lin Z. miR-23a/b regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation in bone marrow mesenchymal stem cells. *Bone Res* 2016; 4:16022.
56. Wang Y, Li L, Moore BT, et al. MiR-133a in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. *PLoS One* 2012; 7:e34641.
57. Kim KM, Park SJ, Jung S, et al. miR-182 is a negative regulator of osteoblast proliferation, differentiation, and skeletogenesis through targeting FoxO1. *J Bone Miner Res* 2012; 27:1669-79.
58. Gámez B, Rodríguez-Carballo E, Bartrons R, Rosa JL, Ventura F. MicroRNA-322 (miR-322) and its target protein Tob2 modulate Osterix (*Osx*) mRNA stability. *J Biol Chem* 2013; 288:14264-75.

ACTUALIZACIONES / *Reviews*

IMPORTANCIA DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL DISEÑO DE *SCAFFOLDS* PARA INGENIERÍA DE TEJIDO ÓSEO

Juan Manuel Fernández

Laboratorio de Investigaciones en Osteopatías y Metabolismo Mineral (LIOMM), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata - Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC), Argentina.

Resumen

Hematoma, inflamación, angiogénesis y osteogénesis son distintas etapas que se superponen durante el proceso de reparación de una fractura ósea. Durante las primeras etapas se liberan distintos factores de crecimiento quimioattractantes que producen el reclutamiento de diversas células para generar la formación de un hueso funcional con su respectiva vasculatura. Debido a la importancia que posee la angiogénesis en el desarrollo de una adecuada red vascular, tanto para la formación ósea como en su reparación, en los últimos años los especialistas en ingeniería de tejido óseo han estudiado la manera de fomentar tanto la osteogénesis como la angiogénesis durante la reparación ósea. En este trabajo de revisión, se recopilan y discuten los principales conceptos sobre distintas estrategias a fin de lograr un implante sintético con funcionalidad dual promoviendo los procesos que garanticen la angiogénesis y la osteogé-

nesis en forma acoplada utilizando distintos tipos de *scaffolds* y sistemas de liberación de drogas osteoinductoras y angiointductoras. La liberación dual de factores osteoinductores y angiointductores debe producirse en forma témporo-espacial controlada para garantizar los efectos deseados sin producir efectos adversos como tumores o hueso ectópico. Se deben tener en cuenta varios factores como el tipo y la arquitectura de hueso, tipo de daño, edad, sexo y condiciones patológicas del paciente. En cuanto a los materiales se debe considerar el tipo de material para usar como *scaffold*, los factores inductores seleccionados, su combinación y sistemas de liberación. El avance en estos estudios hará que la Ingeniería de Tejido Óseo sea una alternativa terapéutica en el futuro.

Palabras clave: Ingeniería de Tejido Óseo, angiogénesis, sistema de liberación de drogas, factores de crecimiento, andamios.



Abstract

IMPORTANCE OF ANGIOGENESIS IN THE DESIGN OF SCAFFOLDS FOR BONE TISSUE ENGINEERING

Hematoma, inflammation, angiogenesis, and osteogenesis are different stages that overlap during the healing process of a bone fracture. During the first stages, different chemoattractant growth factors are released which produce the recruitment of various cells that will induce the formation of a functional bone with its respective vasculature. Due to the importance of angiogenesis for the development of an adequate vascular network in both bone formation and repair, in recent years specialists in bone tissue engineering have studied how to promote both osteogenesis and angiogenesis during bone repair. In this review, the main concepts on different strategies developed to achieve a synthetic implant with dual functionality, promoting processes that guarantee angiogenesis and

osteogenesis in a coupled way using different types of scaffolds and osteo-drug delivery systems and angiointducers, are collected and discussed.

The dual release for osteoinductive and angiogenic factors must ensure the release of them in a controlled time-space manner to guarantee the desired effects without producing adverse effects such as tumors or ectopic bone. Several factors must be taken into account, such as bone type and architecture, type of damage to be repaired, age, sex, and pathological conditions of the patient. Regarding the materials, the type of material to be used as scaffolds, selected inducing factors and drug release system must be considered. Advances in these studies will make Bone Tissue Engineering a therapeutic alternative in the future.

Keywords: bone tissue engineering, angiogenesis, drug delivery system, growth factors, scaffolds.

Introducción

El hueso posee una capacidad única de repararse a sí mismo frente a una fractura sin dejar cicatrices, recuperando su función y forma anatómica al final del proceso.¹ Luego de una fractura ósea se produce la reparación del tejido por una serie de sucesos que pueden ser divididos en etapas a pesar de que se encuentran parcialmente solapados. Si bien la secuencia de eventos que conducen a la reparación depende del tipo de hueso y de fractura, la secuencia se puede describir básicamente de la siguiente manera. En la primera etapa, debido a la fractura ósea, se produce un hematoma en la zona causado por la ruptura de vasos sanguíneos. Las células provenientes de estos vasos desencadenan una cascada inflamatoria gracias

a la acción de células como macrófagos y linfocitos, entre otras. Esta respuesta inflamatoria recluta células madre mesenquimales de distintos nichos, principalmente del periostio y médula ósea. Las células progenitoras que llegan al sitio se diferencian en osteoblastos para facilitar la formación de hueso intramembranoso en aquellos lugares donde aún se conserva un suministro de sangre intacto, pero en el espacio de la fractura, donde la presión de oxígeno es baja, las células progenitoras se diferencian a condrocitos para formar un tejido cartilaginoso. Luego, los condrocitos comienzan a sufrir apoptosis mientras se calcifica la matriz extracelular formando un hueso desorganizado con invasión de vasos sanguíneos. Por último, gracias al proceso de remodelación, se

logra la conversión del tejido desorganizado en hueso laminar y, finalmente, recrea la forma anatómica del hueso.²⁻⁵ La osteoporosis es una enfermedad que se caracteriza por una masa ósea disminuida con alteración de la estructura ósea que conlleva un compromiso en la resistencia ósea con un aumento de riesgo de fracturas.⁶ Afecta mayoritariamente a las mujeres posmenopáusicas, pero también afecta al hombre, estimándose que más de 200 millones de personas sufren este trastorno a nivel global.^{6,7} Además, el riesgo de fracturas puede aumentar su incidencia cuando los pacientes presentan otros problemas metabólicos como, por ejemplo, diabetes mellitus.^{8,9} A pesar de los mecanismos biológicos, existen situaciones en que las fracturas no pueden repararse por sí mismas y para poder lograr la reparación se necesitan intervenciones médicas utilizando injer-

tos, placas de osteosíntesis, tornillos y clavos o reemplazo mediante el uso de prótesis metálicas.¹⁰⁻¹⁴ Las fracturas y traumatismos causados al tejido óseo producen altos costos en la sociedad debido a sus tratamientos y pérdida de años de vida productiva debido a jubilaciones anticipadas. A nivel mundial, en el año 2013 hubo más de 50 millones de fracturas con más de 8 millones de procedimientos quirúrgicos.¹⁵ En ese mismo año, los gastos médicos asociados a la utilización de distintos tipos de injertos en la reparación ósea alrededor del mundo superaron los USD 2,5 mil estimando un crecimiento anual del 8%.¹⁶ Las distintas limitaciones de los tratamientos actuales utilizados (Tabla 1), costos, aumento de la expectativa de vida y envejecimiento de la población hace que la Ingeniería de Tejido Óseo sea una alternativa a los tratamientos convencionales.

Tabla 1. Limitaciones de los tratamientos actuales.

Tratamiento	Limitaciones
Autoinjerto	Si bien es considerada como la técnica de oro pues posee los mecanismos de acción osteogénesis ¹ osteoinducción ² y osteoconducción, ³ y ausencia de rechazo, se puede obtener limitada disponibilidad de tejido y morbilidad en el sitio de extracción.
Aloinjerto	Debido a que son injertos cadavéricos de la misma especie, son acelulares, lo que hace que no presenten capacidad de osteogénesis y, a pesar de los tratamientos que reciben, pueden causar transmisión de enfermedades y reacciones inmunológicas.
Xenoinjerto	Los xenoinjertos son básicamente huesos desproteinizados de otras especies y, por ende, solo poseen el mecanismo de osteoconducción. También pueden ocasionar rechazo y transmisión de enfermedades.
Placas de osteosíntesis y tornillos	No son reabsorbibles y se requieren segundas cirugías para extraerlos.
Prótesis	Se busca el reemplazo y no la regeneración. No contribuyen a la fisiología ósea. Sufren desgastes, fatigas, corrosión y pueden aflojarse y requerir un nuevo reemplazo.

1, 2 y 3 serán definidas más adelante.



Consideraciones básicas en Ingeniería de Tejido Óseo

El término Ingeniería de Tejido fue definido formalmente por primera vez en 1988 en un *workshop* de la *National Science Foundation*.¹⁷ Actualmente la definición más utilizada es la proporcionada por Langer y Vacanti en 1993, quienes definieron que la “Ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida hacia el desarrollo de sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función de los tejidos”.¹⁸ Si bien esta definición es la más popular y aceptada, ha quedado desactualizada no en cuanto a sus objetivos, sino a las ciencias implicadas. Principios de química, física, matemática e informática hoy resultan fundamentales en la Ingeniería de Tejido Óseo haciendo que este sea un campo interdisciplinario cada vez más amplio. Así, se podría decir que su objetivo final es desarrollar estrategias para regenerar hueso dañado o enfermo. Los autoinjertos son considerados como la técnica de referencia (estándar de oro) entre los tratamientos con injertos, pues cumplen con los tres mecanismos de acción necesarios para la regeneración ósea, definidos a continuación:¹⁹⁻²¹

-*Osteoconducción*: es un proceso pasivo donde las células osteoblásticas y sus progenitores pueden migrar a través de una red estructural, también llamada *scaffold* (en inglés: andamio), unirse a él y proliferar al tiempo que otorga soporte mecánico.

-*Osteoinducción*: es el proceso de reclutamiento de las células del linaje osteoblástico y su diferenciación hacia osteoblastos a fin de poder generar hueso. Este proceso se produce por distintas señales biológicas como factores de crecimiento que se encuentran en el injerto.

-*Osteogénesis*: es la propiedad de generar hueso, es decir, células del linaje osteoblástico vivas que se encuentran contenidas dentro de él al momento de ser implantado.

De esta forma, inspirada en los autoinjertos, la Ingeniería de Tejido Óseo utiliza una matriz tridimensional (*scaffold*), células y señales biológicas como factores de crecimiento para generar un biomaterial o injerto sintético el cual, una vez implantado en el sitio de lesión, ayudará o guiará la reparación ósea (Figura 1).^{10,15,17,22} Así, los injertos sintéticos actuarán mediante los tres mecanismos antes descritos.^{15,23}

En la Figura 2 se puede ver cómo los tres componentes de la Ingeniería de Tejido Óseo interaccionan con el fin de cumplir distintas misiones. Los *scaffolds* no solo sirven de soporte para que las células tengan un lugar donde adherirse, proliferar, diferenciarse y generar hueso, sino también como sistema liberador de los factores de crecimiento que serán los encargados de direccionar las funciones celulares.

Desde el punto de vista de su composición, los *scaffolds* pueden ser muy variables: polímeros (sintéticos, naturales o mezclas de ambos), cerámicas, vidrios bioactivos o materiales compuestos, es decir, mezcla de distintos componentes. En la literatura se puede encontrar un gran número de trabajos que evalúan la posibilidad de diversos materiales para ser utilizados como *scaffolds*. Si bien una revisión detallada de ellos escapa a este trabajo, en la Tabla 2 se pueden encontrar algunos de ellos. A pesar de la gran diferencia que hay en su composición, todos deben cumplir una serie de requisitos como por ejemplo: capacidad de degradarse; no ser tóxico ni inmunogénico (ni el material ni sus productos de degradación); ser biocompatible, poroso, con buenas propiedades mecánicas para que no colapse y garantice un espacio para que se genere hueso; topografía superficial, capaz de darle arquitectura deseada, es decir, poder diseñarlos a la medida de un hueso dado de cada paciente, sin olvidar que deben ser de bajo costo y poder esterilizarse sin que cambien sus propiedades.^{15,17,24}

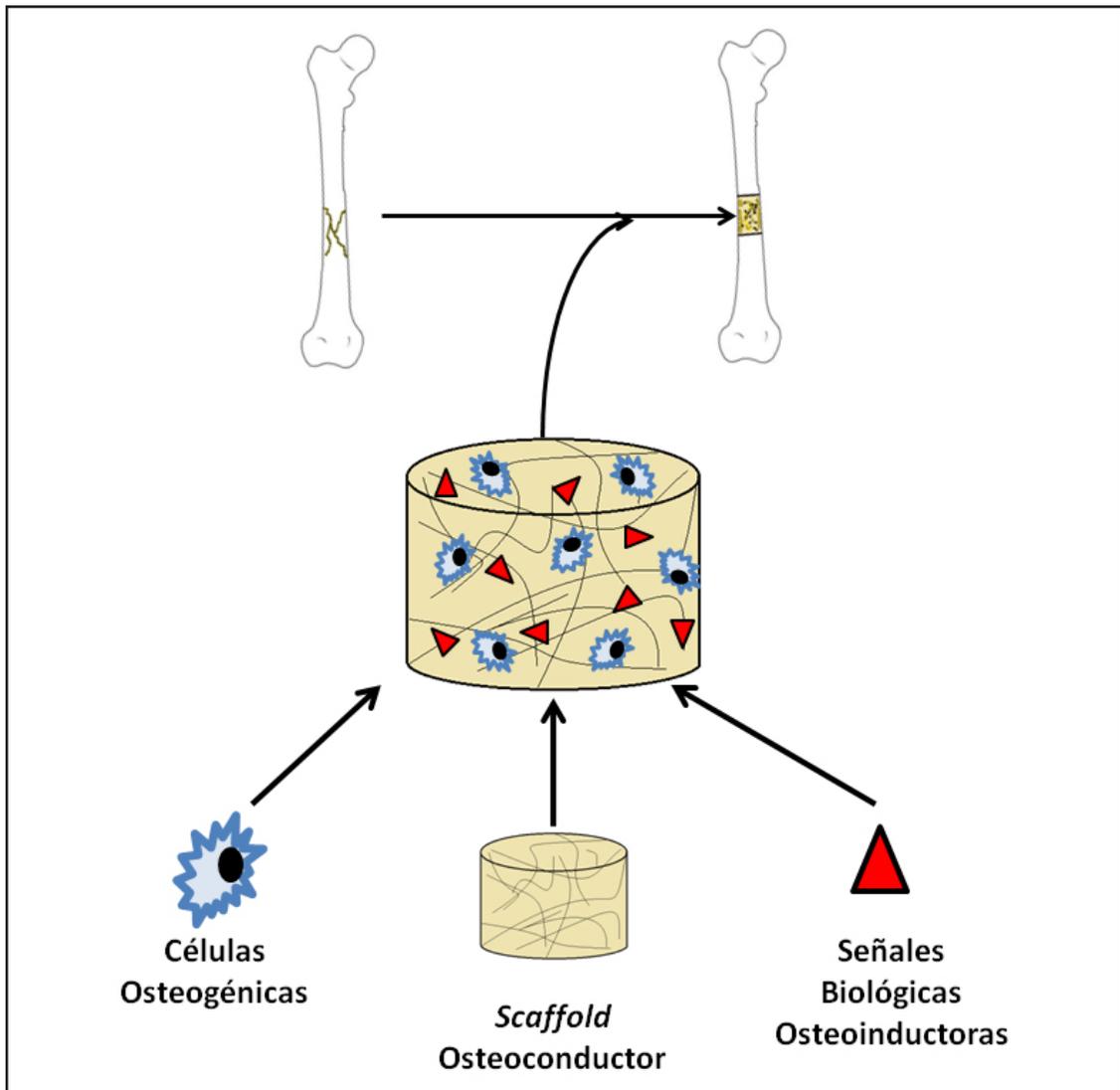


Figura 1. La Ingeniería de Tejido Óseo posee como componente: un implante formado por una matriz tridimensional osteoconductor (*scaffold*), células osteogénicas y moléculas osteoinducidas para ayudar a la reparación ósea.

Desde que se ha comenzado el desarrollo de los biomateriales, sus objetivos han ido evolucionando. Los de primera generación, aquellos desarrollados durante la década 1960-1970, se buscaba que fueran no tóxicos (también llamados bioinertes) y con buenas propiedades mecánicas: estos eran las prótesis. Los de segunda generación, a partir de la década de 80, además de ser biocompatibles, debían

cumplir buenas propiedades mecánicas, con requisitos tales como ser reabsorbibles o bioactivos. Así nacen términos como bioactividad, osteoconducción, biodegradación (y sus distintos mecanismos de degradación), lo cual hace que con el tiempo fueran reemplazados por el tejido del paciente. Actualmente existen los de tercera generación, también llamados inteligentes. Se los llama así pues se espera de

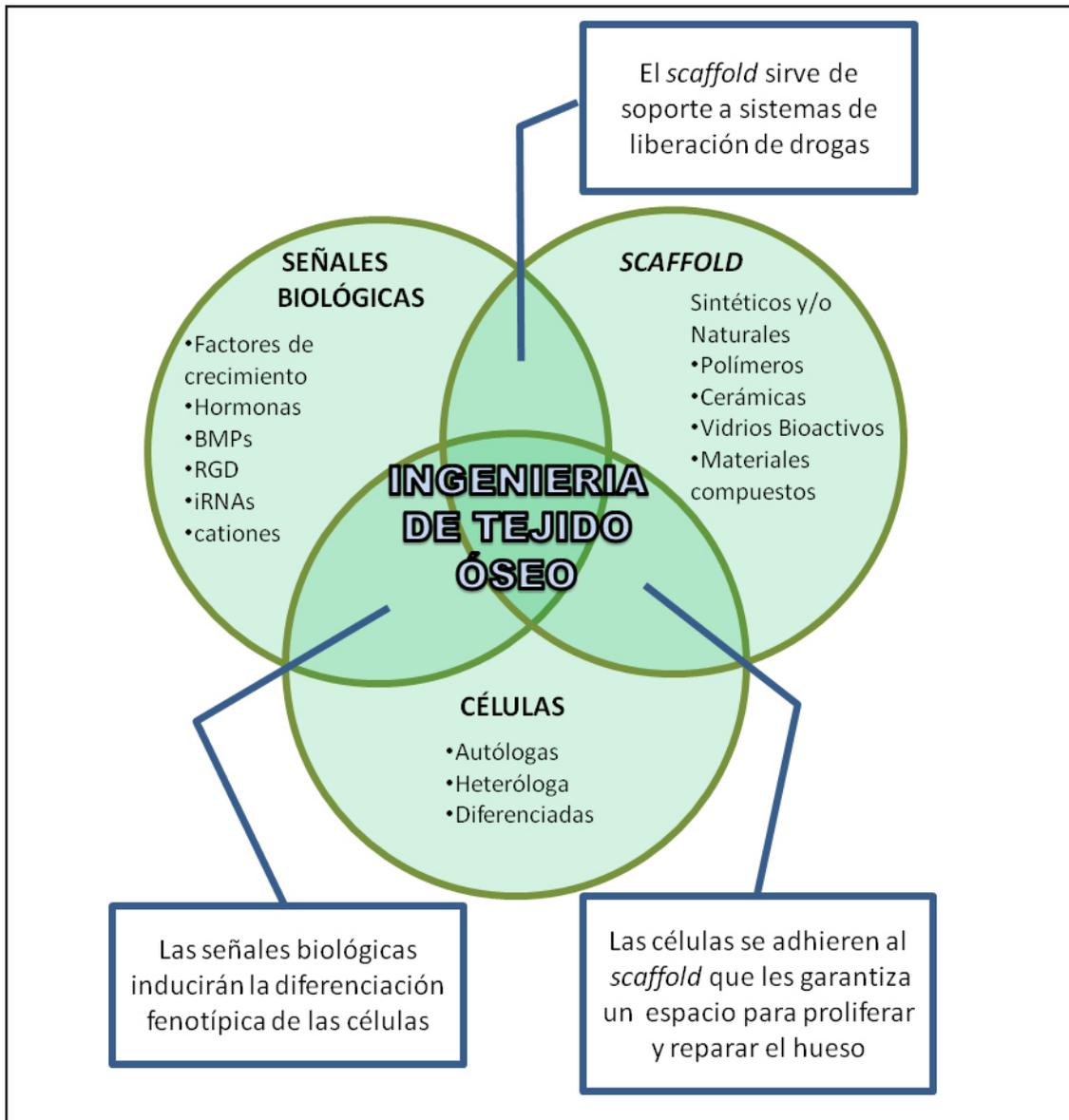


Figura 2. La Ingeniería de Tejido Óseo lleva a cabo su objetivo gracias a la interacción de sus tres componentes. Las moléculas osteoinductoras soportadas en el *scaffold* conducen la proliferación y diferenciación fenotípica de las células que se encuentran adheridas al soporte estructural brindado por el *scaffold*.

ellos que, además de las funciones anteriores, cumplan otras funciones no de sustitución sino de regeneración. Con los cambios de objetivo y técnicas de estudio, se comenzaron a utilizar términos como *scaffolds*, osteoinducción, sistemas de liberación de drogas, porosidad,

tailor (capacidad de diseño a medida del cada paciente según sus necesidades), etc., al momento de diseñar biomateriales inteligentes que estimulen diversas respuestas de células del linaje osteoblástico a nivel molecular para que se logre la reparación ósea.^{10,16,39-41}

Tabla 2. Breve revisión bibliográfica de tipos de materiales utilizados en el desarrollo de *scaffolds*.

Tipo de material	Material	Detalles del <i>scaffold</i>
1- Polímeros sintéticos y/o naturales	1.1- Poli ϵ caprolactona y polifumarato ²⁵	1.1- Compatibilización de mezclas de polímeros mediante ultrasonido.
	1.2- Poli ϵ caprolactona y polifumarato ²⁶	1.2- Obtención de <i>scaffolds</i> porosos mediante electrospray.
	1.3- Colágeno ²⁷	1.3- Obtención de un <i>scaffold</i> con superficie en forma de lomas y ordenamiento de las fibras del colágeno.
	1.4- Quitosano, polifumarato y poliácetato de vinilo ²⁸	1.4- Uso de moldes para la obtención de <i>scaffolds</i> con una superficie nanoestructurada.
	1.5- Matriz extracelular y poli ϵ caprolactona ²⁹	1.5- Obtención de <i>scaffolds</i> porosos mediante <i>electrospinning</i> .
2- Cerámicas	2.1- Carburo de silicio y carbono pirolizado ³⁰	2.1- Síntesis de cerámica porosa como <i>scaffolds</i> utilizando madera y algas.
	2.2- Alúmina ³¹	2.2- <i>Scaffolds</i> con poros alineados para mejorar sus propiedades mecánicas.
3- Vidrios bioactivos	3.1- <i>Bioglass</i> ® ³²	3.1- Estudios de cambios estructurales de los <i>Bio-glass</i> luego de ser implantados.
	3.2- <i>Bioglass</i> ³³	3.2- Mejora de unión al hueso del <i>Bioglass</i> luego de ser modificado por radiación gamma.
4- Materiales compuestos	4.1- Poli ϵ caprolactona y polifumarato e hidroxiapatita ³⁴	4.1- Mejora de las propiedades del <i>scaffold</i> gracias a la incorporación de hidroxiapatita obtenida a bajos costos.
	4.2- Poli ϵ caprolactona y polifumarato conteniendo estrocio ³⁵	4.2- Incorporación de Sr a la matriz polimérica para mejorar osteoinducción del <i>scaffold</i> .
	4.3- Gelatina y vidrio fosfato ³⁶	4.3- Refuerzo mecánico y propiedades biológicas de un <i>scaffold</i> poroso de gelatina.
	4.4- Alginato y nanohidroxiapatita ³⁷	4.4- Obtención <i>scaffolds</i> a partir de alginato e hidroxiapatita con actividad antibacterial.
	4.5 -Quitosano, hidroxiapatita y alginato ³⁸	4.5- Obtención de microesferas para <i>drug delivery</i> en Ingeniería de Tejido Óseo.

Curiosamente, Bongio y col. denominan esta evolución “desde la biocompatibilidad hacia las instrucciones”.³⁹ Volviendo a las Figuras 1 y 2, se observa que las células progenitoras se siembran en andamios reabsorbibles; estos

contienen moléculas que inducen la osteogénesis de las *stem cells* en un reactor fuera del cuerpo donde las células crecen y se diferencian e imitan los procesos de reparación ósea. Tales injertos sintéticos/vivos de Ingeniería de Tejido



luego se implantan en los pacientes para reemplazar los tejidos enfermos o dañados. Con el tiempo, los andamios serán reabsorbidos y reemplazados por tejidos del huésped que idealmente incluyen un suministro de sangre y nervios viables. Tratando de obtener biomateriales cada vez más “inteligentes” o con diversas funciones, la evolución de estos biomateriales no se detiene. La curación de las fracturas óseas, en forma resumida, es un proceso de inflamación, angiogénesis y osteogénesis. Se inicia con la inflamación, liberando diversas citoquinas y factores de crecimiento. Estas conducen el reclutamiento de células madre y la formación de vasculatura que deriva en la formación de hueso funcional, como se mencionó anteriormente.

Los biomateriales diseñados y estudiados hasta el momento buscaban cumplir o favorecer la osteogénesis del proceso (Figura 3, línea punteada A). Claro que, entre los requerimientos del material, había un espacio para la angiogénesis, sobre todo a la hora de pensar la porosidad y tamaño de poro, pero la idea central siempre ha sido favorecer la osteogénesis. Debido al rol crítico de la vasculatura para lograr una reparación ósea exitosa, demostrado hace décadas, en los últimos años se ha abordado el problema en el diseño de *scaffolds* con una funcionalidad dual, es decir, pensar, diseñar y lograr biomateriales que promuevan tanto la diferenciación vascular (Figura 3 línea punteada B) como la osteogénica durante la regeneración ósea.

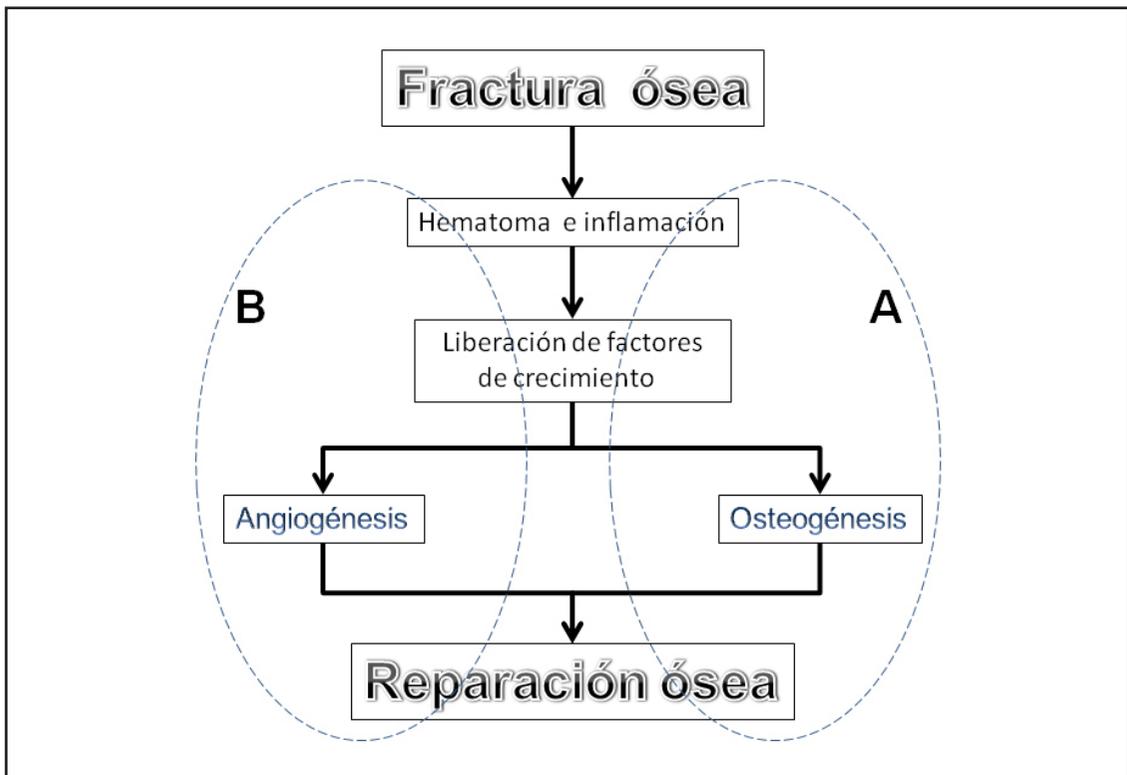


Figura 3. La fractura ósea conduce al desencadenamiento de señales químicas que promueven procesos de angiogénesis y osteogénesis para, en conjunto, llevar a cabo la reparación de la fractura. Tradicionalmente, el diseño de los estudios de los biomateriales apuntaban a fomentar la osteogénesis (línea punteada A). Últimamente, se busca que tengan actividad dual, es decir, que favorezcan también la angiogénesis (línea punteada B).

Breve resumen del rol de la angiogénesis en el proceso de reparación de fracturas óseas

Desde el siglo XVIII se conoce la importancia que posee la correcta angiogénesis no solo en el desarrollo y crecimiento del hueso, sino también en su reparación.⁴² Hoy en día se conoce en forma más detallada el rol que la vasculatura posee en el desarrollo esquelético embrionario, el crecimiento y la remodelación ósea.⁴³ Por otro lado, la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros ya existentes, es decir la angiogénesis, es un proceso sumamente raro en adultos y se limita a procesos de reparación de lesiones y crecimiento de tumores.⁴⁴ La red vascular actúa como un sistema de transporte de hormonas, productos de desecho, sustancias tóxicas y oxígeno, nutrientes y células; además libera factores de crecimiento producidos localmente por las células endoteliales (CE), incluidos factores angiogénicos, factores morfogénicos, sustancias vasoconstrictoras y vasodilatadoras, haciendo que al endotelio vascular se lo considere también como un órgano endocrino. De esta forma, las CE pueden comunicarse con células del hueso como osteoblastos, células estromales, macrófagos y osteoclastos.^{42,43,45}

La angiogénesis resulta ser clave durante el proceso de reparación ósea pues la formación de nuevos vasos sanguíneos en el callo de la fractura aporta nutrientes, oxígeno, citoquinas, hormonas y factores de crecimiento, además de los precursores celulares involucrados en el proceso de reparación. Esta asociación tiempo-espacial de la vasculatura con el proceso de formación ósea se denomina “acoplamiento angiogénico-osteogénico”.⁴³

Durante el traumatismo, debido a la interrupción del suministro sanguíneo, se crea un entorno hipoxémico causado por la baja presión de oxígeno alrededor del espacio lesionado, desencadenando señales en los osteoblastos que influyen sobre la proliferación y diferenciación de las CE, las cuales luego secretarán factores osteogénicos; esta fase será

crucial para la reparación de la fractura ósea. Las plaquetas son las primeras en actuar, formando un trombo en el sitio de exposición de colágeno, estabilizado luego por un coágulo de fibrina. Este coágulo plaquetario secreta factores que activan la migración de células inflamatorias y las demás células implicadas en la reparación ósea. Las CE quiescentes de los vasos sanguíneos existentes son activadas por el aumento de factores angiogénicos producidos por el coágulo plaquetario, las células inflamatorias y el estado de hipoxia, llevando a un alargamiento de los nuevos vasos gracias a la proliferación y migración de las CE. A medida que se forma el endotelio vascular, las CE secretan moléculas atrayentes de células perivasculares (como pericitos y células de músculo liso) para recubrir el endotelio proporcionando no solo estabilidad, sino también permeabilidad a los nuevos vasos formados. La angiogénesis resulta ser un proceso tan importante en la reparación ósea que una ausencia o inhibición de esta es una de las principales razones de falla en la reparación de la herida, como se ha demostrado en gran número de trabajos.⁴⁶⁻⁴⁸

De esta forma, para una correcta reparación ósea, la capacidad de estimular la osteogénesis debe estar correctamente acoplada con la angiogénesis pues ambos procesos se hallan estrechamente relacionados y la osteogénesis no se daría en ausencia de la angiogénesis.^{42-45,49} Esta relación estrecha entre ambos procesos es controlada por diversos factores de crecimiento que actúan en forma autocrina y paracrina, producidos por los osteoblastos y las CE y sus respectivos precursores. Además, se ha demostrado que existe comunicación en forma directa entre las células mediante contacto directo utilizando, por ejemplo, uniones del tipo “gap”. Entre los principales factores angiogénicos se encuentra el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), producido por las células osteoblásticas. Su importancia en el proceso de reparación de fractura se demostró mediante



varios estudios donde se observa una pobre o ausente reparación cuando se bloquea el VEGF (mediante anti-VEGF o silenciamiento de gen).^{42,43} Activadas las CE mediante VEGF, producen moléculas osteoinductoras como BMPs-2, 4 y 7 (proteínas morfogénicas óseas 2, 4 y 7) e IGF (factor de crecimiento símil insulina). De esta manera, se regula la migración, proliferación, y diferenciación de ambos tipos celulares. Además, se ha demostrado que el agregado de VEGF en forma exógena estimula la diferenciación de células osteoblásticas. En la Figura 4 se puede ver el *cross talk* entre las CE y los osteoblastos (Ob) donde se encuentran involucrados además otros factores de crecimiento. Por ejemplo, bFGF (factor de crecimiento fibroblástico básico) estimula la angiogénesis y osteogénesis activando la proliferación y diferenciación de CE y Ob. Otro factor de crecimiento con un importante

rol en la reparación ósea es PDGF (factor de crecimiento derivado de plaqueta). Este factor estimula la proliferación de las células de origen mesenquimático como osteoblastos y condrocitos, siendo además un importante factor mitogénico que promueve la expresión de VEGF.⁴²

No solamente existe comunicación entre osteoblastos y CE. Se ha demostrado que VEGF interviene en el reclutamiento de osteoclastos (Oc), los cuales degradan la matriz extracelular liberando TGF- β (factor de crecimiento transformante β), que entonces promueve la actividad osteoblástica. Por último, los osteoblastos pueden favorecer la diferenciación osteoclástica gracias a la interacción de RANK y RANKL (receptor activador para el factor nuclear κ B y ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B, respectivamente).^{42,43,45,50-53}

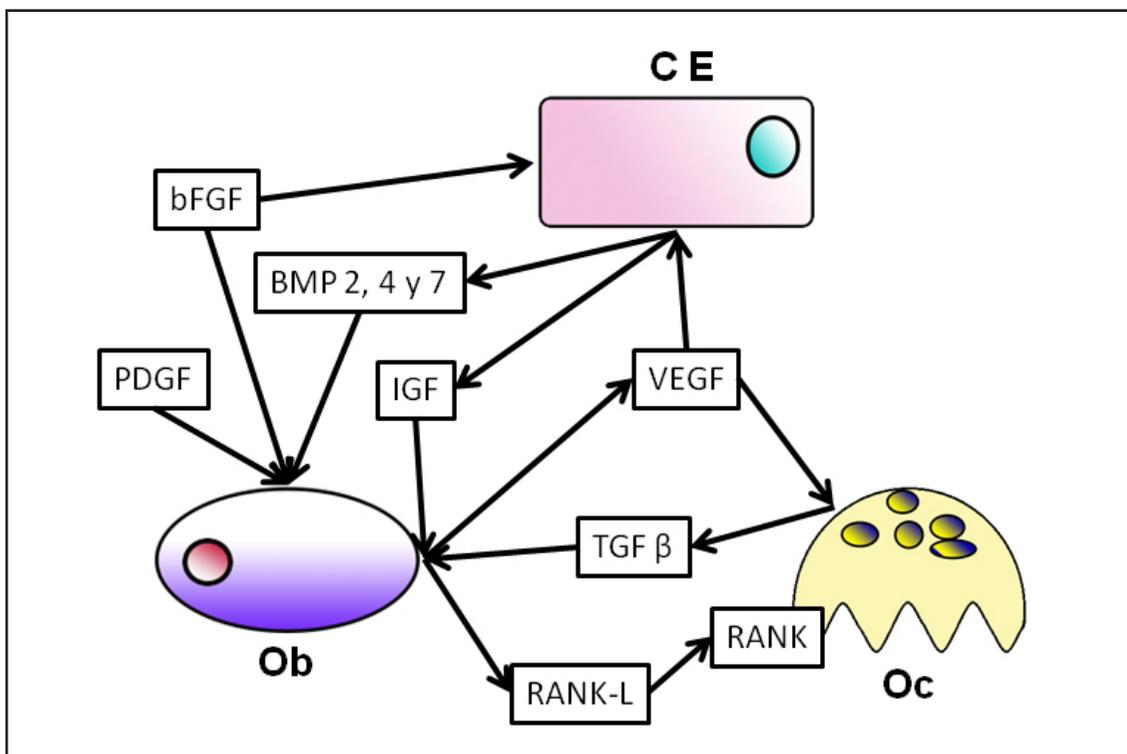


Figura 4. Comunicación o *cross talk* entre las células endoteliales (CE), los osteoblastos (Ob) y los osteoclastos (Oc) a través de la liberación de distintos factores de crecimientos regulatorios.

Diseño de *scaffolds* con función dual: promover la osteogénesis tanto como la angiogénesis

Debido a la importancia de obtener una buena vasculatura con el fin de lograr exitosamente la reparación ósea tras una fractura, resulta crítico diseñar *scaffolds* con funcionalidad dual, es decir, lograr la osteogénesis garantizando también la angiogénesis. Como mencionamos anteriormente, los osteoblastos y las CE producen señales recíprocas con el fin de mantener acoplados ambos procesos. Los osteoblastos producen VEGF que estimulan y activan a las CE mientras que estas producen BMP-2 que estimula y activa a los osteoblastos. Sin embargo, algunos trabajos demuestran que la osteogénesis no es suficiente para favorecer la angiogénesis, sino que la supervivencia de las células que se encuentran en el interior de los grandes *scaffolds* se ve comprometida por la falta de oxígeno y nutrientes a causa del tiempo que toma formar los nuevos vasos sanguíneos.¹⁵ Por lo tanto, en los últimos años, se han estudiado distintas estrategias a fin de lograr *scaffolds* que promuevan ambos eventos en forma acoplada.

Como se puede ver en la Figura 2, los *scaffolds* cuentan con dos principales misiones: funcionar como soporte estructural emulando una matriz extracelular que garantiza un espacio para migración, adhesión, proliferación y diferenciación celular, al tiempo que también sirve de soporte para sistemas de liberación de drogas. De esta forma, las consideraciones importantes para tener en cuenta en el diseño de *scaffolds* resultan ser la técnica de fabricación, forma y estructura del hueso dañado, los factores osteogénicos y angiogénicos para utilizar y un sistema de liberación que provea la cinética deseada. Lograr este último objetivo resulta ser importante pues una cinética de liberación adecuada es necesaria para una obtener una correcta angiogénesis sin que se produzca limitación de oxígeno ni nutrientes.^{15,42,44,49,50}

De esta forma, se profundiza la utilización de términos como:

-*Angioconducción*: es la capacidad que posee una matriz tridimensional porosa para sostener el crecimiento de vasos sanguíneos. Así, los materiales angioconductores podrán proporcionar los medios para que el suministro de sangre del paciente llegue al sitio para reparar y se promueva la integración del *scaffold* durante el proceso de reparación ósea.

-*Angioinducción*: consiste en la diferenciación de las células progenitoras endoteliales a células endoteliales mediada por la liberación de distintas moléculas proangiogénicas que se encuentran inmersas en la matriz tridimensional. De esta forma, las moléculas proangiogénicas van a permitir la correcta vascularización en el seno del *scaffold*.

Por lo tanto, para la obtención de una buena vasculatura y osteogénesis en Ingeniería de Tejido Óseo, es necesario desarrollar distintas estrategias que incorporen sistemas de liberación de drogas osteoinductoras y angioinductoras en los *scaffolds*. Por ello, se ha puesto el foco en el desarrollo de sistemas que contengan factores de crecimiento, seguidos de oligoelementos y otros tipos de drogas y materiales angioconductores con capacidad angioinductora. En la Figura 5 se pueden observar distintas estrategias que se describen en estudios a fin de lograr una matriz ideal. A continuación, se analizarán algunos ejemplos de las diversas estrategias.

Una de las estrategias más utilizadas es la liberación de los factores de crecimiento VEGF y BMP-2, aunque también existen estudios con otros factores como bFGF, BMP-7, PDGF y TGF- β en distintos sistemas de liberación.¹⁵

El atrapamiento físico del factor de crecimiento es probablemente el método más simple para un sistema de liberación de droga.

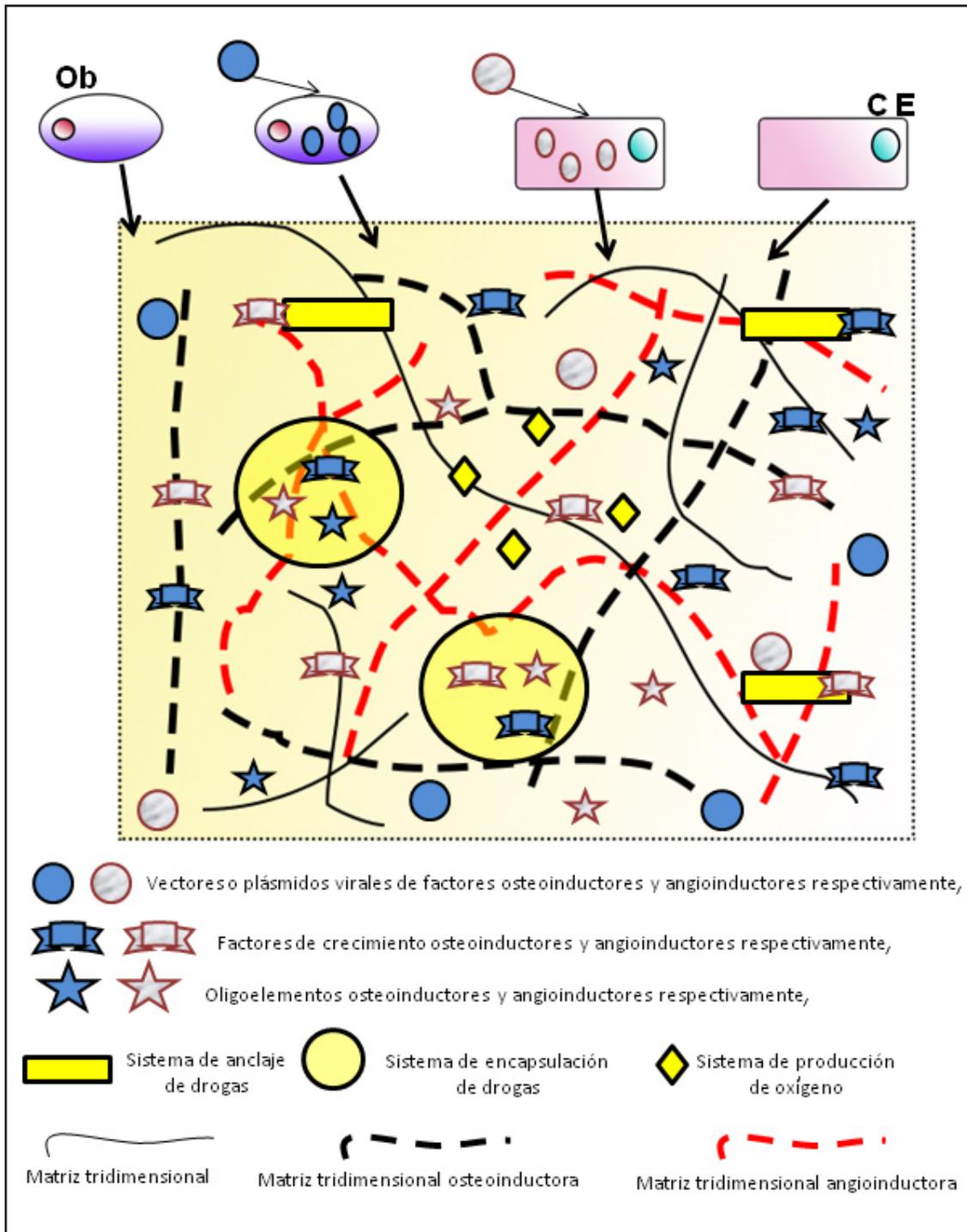


Figura 5. Distintas estrategias para favorecer la angiogénesis y la osteogénesis. Algunas de ellas incluyen genes en plásmidos virales dentro del *scaffold* o transfectados dentro de las células para que produzcan diversos factores de crecimiento, los cuales, a su vez, pueden estar incorporados dentro del *scaffold* asociados a la matriz tridimensional, a sistemas de anclajes o un sistema de encapsulación. Además, los *scaffolds* pueden estar compuestos por materiales que aportan las capacidades angioconductoras y osteoconductoras y que posean propiedades angiointectoras y osteointectoras.

Este método consiste en agregar el factor de crecimiento durante la síntesis del *scaffold*. A pesar de su simplicidad, la principal desventaja de este sistema es que puede no ser eficaz a la hora de necesitarse un sistema de liberación sostenida en el tiempo pues, en muchos casos, el perfil de liberación que se obtiene resulta ser discontinuo por liberar un alto porcentaje de la droga a tiempos iniciales, o contrariamente por quedar esta fuertemente retenida en la matriz polimérica. No obstante, los perfiles de liberación se pueden modificar variando parámetros estructurales y/o fisicoquímicos del *scaffold*.⁵¹ King y Krebsbach demostraron que la interacción del material y los BMPs, retenido en forma no covalente dentro de distintos tipos y formatos de *scaffolds*, producía cambios en la liberación de BMPs tanto *in vitro* como *in vivo*.⁵⁴ Existen otros sistemas de atrapamiento físico de factores de crecimiento además de las matrices poliméricas: Wernike y col. lograron desarrollar un sistema de liberación de VEGF utilizando TCP- β (fosfato tricálcico β) poroso, y encontraron que, en estudios *in vivo*, promovió la angiogénesis y reparación ósea con distinta cinética de liberación según la forma de retención del factor de crecimiento.⁵⁵ Otros estudios han enfocado la producción de sistemas de liberación de dos factores de crecimiento, siendo una estrategia común que uno de ellos sea osteoinductor y otro angiinductor, comparando luego sus efectos con liberación de uno solo de ellos. Patterson y col. utilizaron un hidrogel realizado con ácido hialurónico y metacrilato de glicidilo, reteniendo en su interior BMP-2 y VEGF. Ellos observaron en un modelo de reparación de herida de calota de rata, que la coliberación de ambos factores de crecimiento producía una mayor reparación del daño que cada uno por separado.⁵⁶ Interessantemente, Farokhi y col. lograron mejorar la reparación ósea en estudios *in vivo* utilizando un *scaffold* poroso que contenía los factores VEGF y PDGF.⁵⁷ Clásicamente, los sistemas de liberación es-

tán enfocados en contener factores de crecimiento proteicos; sin embargo, también se pueden incluir distintos iones metálicos pues muchos de ellos poseen capacidad osteoinductora y/o angiinductora.⁴⁹ Nuestro grupo de trabajo ha incorporado estroncio (Sr^{+2}) a una mezcla polimérica compatibilizada de poli ϵ caprolactona y polifumarato de diisopropilo, la cual fue previamente caracterizada.^{25,26} Este catión fue seleccionado debido a que posee actividad osteoinductora.^{8,59,60} Se prepararon *scaffolds* con dos concentraciones distintas de este catión, 1 y 5% p/p, encontrando una baja liberación del catión hacia el medio de cultivo, lo cual es un efecto benéfico pues el Sr^{+2} sistémico está asociado a eventos cardiovasculares.⁶¹ Encontramos que el agregado de 1% de Sr^{+2} promueve la capacidad osteoinductora tanto *in vitro* como *in vivo*, mientras que el agregado de 5% del catión conlleva efectos adversos, demostrando que al agregar una droga osteoinductora a los materiales hay que tener en cuenta tanto concentraciones mínimas como máximas de ellos.³⁵ Otro ejemplo muy interesante es el estudio realizado por Xia y col., quienes estudiaron cómo influyen distintos extractos de akermanita en el comportamiento celular. Utilizando un modelo de herida de tamaño crítico en calota de rata ovariectomizada, encontraron que este mineral (que contiene en su composición Ca, Mg y Si) promueve tanto la osteogénesis como la angiogénesis *in vivo*.⁶²

Otra forma de retener factores de crecimiento en una matriz tridimensional es mediante enlaces covalentes. Este tipo de uniones posee la ventaja de asegurar la entrega de factor de crecimiento a nivel local dentro del *scaffold* sin que se desaprovechen los factores por procesos de difusión, permitiendo así que se utilicen concentraciones menores de estos. No obstante, el riesgo de desnaturalización de los factores de crecimiento proteicos durante el proceso químico para lograr el atrapamiento covalente es la



principal limitación de esta estrategia. Zisch y col. desarrollaron un sistema utilizando polietilenglicol en el cual incorporaron, a la matriz, VEGF unido a una secuencia proteica con capacidad de ser clivada por metaloproteinasas de matriz. Este hidrogel produjo un aumento en la migración y proliferación de las células endoteliales crecidas sobre ellos, generando un tejido vascularizado cuando fue implantado en forma subcutánea en ratas.⁶³ Leslie-Barbick y col. unieron polietilenglicol a VEGF y a la secuencia de aminoácidos RGDS (arginina-glicina-asparagina-serina), la cual es una secuencia peptídica que aumenta la adhesión celular vía receptores integrinas. VEGF y RGDS pegilados fueron unidos a un hidrogel elaborado con diacrilato de polietilenglicol, agregándole previamente una secuencia de péptido sensible a colagenasa. La incorporación de VEGF al *scaffold* produjo un aumento en la migración celular, contacto célula-célula y tubulogénesis cuando en ellas crecieron células HUVEC (human umbilical vein endotelial cells), respecto de hidrogeles que solo contenían secuencias de adhesión.⁶⁴ Se encuentra en pleno desarrollo la unión de factores de crecimiento a *scaffolds* mediante uniones covalentes sensibles a radiación UV e IR cercano.⁴⁴ La aplicación de distintas longitudes de onda en forma exógena permitirá la liberación, en el cuerpo, de distintos factores de crecimiento unidos a secuencias moleculares sensibles a longitudes de ondas particulares, controlando en forma extracorpórea su liberación.

Los factores de crecimiento no solo pueden quedar retenidos en el *scaffold* por atrapamiento físico o mediante unión covalente, también pueden unirse mediante uniones electrostáticas. Esta estrategia permite retener factores de crecimiento agregados en forma exógena, con distintas afinidades por el sistema, sin el riesgo de la desnaturalización proteica, aunque puede derivar en un *scaffold* con distribución no homogénea de los factores de crecimiento. Una forma de

diseñar este tipo de sistema de liberación de drogas es la utilización de polisacáridos sulfatados cargados negativamente; el más usado resulta ser la heparina debido a que se pueden realizar modificaciones sobre ella variando su afinidad por distintos factores de crecimiento.^{65,66}

La utilización de nanopartículas que contienen factores de crecimiento resulta ser una estrategia muy interesante, pues –variando la relación superficie-volumen de estas– se puede controlar la velocidad de difusión de los factores que se encuentren en su interior, además de otorgarles a dichos factores una coraza que los protege del entorno. Recientemente, Kim y col. han utilizado un copolímero de ácido láctico y glicólico y polialcohol vinílico para generar nanopartículas que en su interior contenían BMP-2. Estas partículas fueron incorporadas en una matriz de poli ϵ caprolactona encontrando un aumento en la proliferación y marcadores de actividad osteoblástica cuando crecen células mesenquimales humanas sobre ellas.⁶⁷ Una forma de encapsular moléculas es mediante un sistema de vesículas y micelas poliméricas: recientemente, Besada y col. diseñaron un polimerosoma autoensamblable utilizando un polímero *triblock* de polibenzoato de vinilo y polietilenglicol, y encontraron que dicho polimerosoma no posee efectos tóxicos en estudios *in vitro*.⁶⁸

La liberación de factores de crecimiento proteicos a través de sistemas de liberación de droga posee algunas limitaciones o desventajas. Por ejemplo, una cinética de liberación inadecuada puede producir concentraciones proteicas indeseadas en el sitio para reparar. Concentraciones elevadas de BMPs y escape del sitio de dañado puede producir osificaciones ectópicas, al igual que fallas en la vasculatura o riesgo de desarrollo de tumores en el caso de liberación excesiva de VEGF. En el otro extremo, bajas concentraciones de los factores de crecimiento debido a una cinética de liberación demasiado lenta

pueden no producir el efecto deseado. Además, se lograrían efectos transitorios debido a que muchos de los factores proteicos poseen una baja vida media una vez implantados en el cuerpo, como es el caso del VEGF, el cual posee una vida media de 7 a 8 horas. Por ello, una estrategia en pleno desarrollo resulta ser la terapia génica agregando vectores virales de factores de crecimiento que produzcan la transfección de las células que proliferen en el *scaffold*, o modificación genética *ex vivo* de células, las cuales serán luego cultivadas en el *scaffold*.^{43,65} Recientemente, Hsieh y col. han transfectado células estromales de médula ósea con plásmidos de BMP-2 implantándolas luego en un defecto óseo crítico en calota de rata usando Matrigel® como *scaffold*. Encontraron un aumento en la reparación ósea con una buena vascularización, respecto de cuando implantaban células sin transfectar.⁶⁹ Otro interesante trabajo es el realizado por Khor sand y col., quienes implantaron en lesiones de tibia de conejos diabéticos, un *scaffold* a base de colágeno que contenía plásmidos de BMP-2 y FGF-2, y encontraron un efecto sinérgico en la reparación ósea en comparación con la implantación de *scaffolds* con un solo plásmido.⁷⁰

Además de los factores de crecimiento u oligoelementos, en la bibliografía se pueden encontrar referencias a otras drogas con capacidad osteoinductora o angiointductora. Una de ellas resulta ser la simvastatina, pues se ha demostrado que esta droga *in vitro* produce aumento de la migración y proliferación de células mesenquimales derivadas de médula ósea, así como la formación de tubos cuando crecen estas células en Matrigel. También se observó un aumento del factor de Von Willebrand y α actina de músculo liso cuando se administró simvastatina a un modelo de isquemia en ratones C57NL/6J.⁷¹ Se ha demostrado que, cuando se aplica localmente, la simvastatina aumenta la reparación de fracturas en ratones Balb-C.⁷²

Una estrategia muy interesante es la utilización de una matriz tridimensional constituida por materiales que además de ser osteoconductores y angioconductores, sean osteoinductores y angiointductores, lo cual evita la necesidad de utilización de sistemas de liberación de drogas. Kim y col. desarrollaron un *scaffold* poroso utilizando polvo de hueso bovino comercial y distintas concentraciones de fibrinógeno como aglutinante. Sus ensayos *in vivo* demostraron que estos materiales poseen una gran capacidad de reparación ósea.⁷³ Un *scaffold* de colágeno silificado fue desarrollado por Sun y col., quienes encontraron en ensayos *in vivo* un aumento en la reparación ósea que promovió tanto la osteogénesis como la angiogénesis.⁷⁴ Murphy y col. estudiaron cómo distintas proporciones de ClNa y fibrina producen distintos hidrogeles que permiten a las células mesenquimales encapsuladas en ellos diferenciarse a un fenotipo osteogénico o angiogénico. Observaron que, según el hidrogel formado, aumenta la reparación en estudios *in vivo*.⁷⁵

Todas estas y otras estrategias no son mutuamente excluyentes. Se puede utilizar una, o combinaciones de varias, para obtener *scaffolds* que liberen en diferentes momentos distintos factores de crecimiento, cada uno con una cinética de liberación acorde con la etapa del proceso de reparación en que interviene, controlando así la variable temporal. Además, pueden no ser homogéneos y estar formados por capas, en cada una de las cuales haya distintos factores de crecimiento controlando la variable espacial. Controlar las variables temporales y espaciales resulta clave pues, durante el proceso de reparación de la herida, no todos los factores de crecimiento se liberan al mismo tiempo ni todos en el mismo lugar, ya que existen distintos gradientes de concentración témporo-espaciales.⁴⁴ Barati y col. utilizaron diversos materiales para generar de manera separada nanocápsulas con



VEGF y BMP-2, cada una con distinta tasa de liberación. Luego diseñaron un *scaffold* con canales formado por un hidrogel que contenía células madres mesenquimales humanas con BMP-2 nanoencapsulados, y rellenaron los canales con otro hidrogel a base de gelatina que contenía células formadoras de colonia de células endoteliales y VEGF nanoencapsulados. Este sistema demostró que la velocidad de liberación de los factores de crecimiento puede ajustarse según la composición de los polímeros utilizados para las encapsulaciones, favoreciendo el acoplamiento témporo-espacial de la angiogénesis y osteogénesis en comparación con la administración directa de BMP-2 y VEGF.⁷⁶ En forma más simple que el anterior, Eğri y Eczacıoğlu generaron una matriz porosa de un polímero triblock de poliácido láctico y polietilenglicol para inmovilizar en forma física BMP-2 y VEGF logrando una liberación secuencial de estos.⁷⁷

Precauciones y perspectivas futuras

En esta revisión se han resumido algunos conceptos y estrategias para diseñar sistemas que, una vez implantados en el hueso dañado, puedan llevar a cabo la reparación ósea acoplada a una adecuada angiogénesis. Conocer la relación entre factores de crecimiento (u otras sustancias angio/osteoinductoras) *scaffolds*-células resulta crucial para el desarrollo de sistemas osteogénicos y angiogénicos (Figura 6). La cinética de liberación de los factores dependerá de su interacción con el conjunto, así como del método de preparación, química y geometría del *scaffold*/sistema de liberación de droga. Gran cantidad de trabajos muestran que los efectos producidos por los factores utilizados están en relación con varios aspectos donde se destacan su concentración y su combinación con otros factores de crecimiento. Además, la dosis requerida dependerá del modo de administración; por ello, concentraciones mínimas y máximas deben

ser determinadas en cada sistema para garantizar el efecto deseado sin el riesgo de desarrollar efectos adversos, reacciones tóxicas, formación de hueso ectópico, tumorigénesis, aterosclerosis o incluso retinopatía proliferativa. Debido a que tanto la angiogénesis como la osteogénesis en el organismo surgen de la acción coordinada de distintos factores de crecimiento y no de uno solo, el diseño de *scaffolds* con combinación de distintos factores de crecimiento ha demostrado en muchos casos un efecto sinérgico entre los factores utilizados permitiendo disminuir la dosis necesaria de estos, hecho que llama la atención de numerosos grupos de investigación alrededor del mundo. Dado que, en muchos casos, los mecanismos moleculares que producen el sinergismo no se conocen, su elección al momento debe realizarse con cuidado pues se ha descrito que pueden producirse resultados inhibitorios entre ellos. Un tema importante para tener en cuenta es la liberación secuencial o no de los factores seleccionados. Por otro lado, se debe considerar el tipo de hueso que se va a reparar (cortical o trabecular), pues los factores de crecimiento y sus combinaciones pueden poseer distintos efectos dependiendo del tejido óseo, sin descuidar asimismo consideraciones respecto de la variabilidad genética, edad y condiciones patológicas de los pacientes. La baja vida media de los factores de crecimiento, una vez que se implanta el *scaffold* en el organismo, ha impulsado a estudiar sistemas que utilicen herramientas de terapia génica; sin embargo, siempre existe un riesgo oncogénico asociado. Asimismo, muchos de los factores de crecimiento actúan no solo en forma paracrina y autocrina, sino también en forma intracrina, por lo que es necesario profundizar los estudios sobre las herramientas de terapias génicas para asegurar la bioseguridad de estos sistemas. Por otro lado, no solo existen interacciones de células endoteliales y osteoblastos, sino son estas las únicas cé-

lulas en intervenir sobre la reparación ósea. Otras células como las perivasculares, macrófagos, neutrófilos y osteoclastos desempeñan distintos roles en este proceso. Por ello, es necesario conocer cómo afectan a estas distintas células los factores de crecimiento que se liberarán, y cómo intervienen en su *cross talk* original. Naturalmente, las

células se encuentran adheridas a la matriz extracelular e interaccionan con ella; conocer este tipo de comunicación entre células y matriz extracelular resulta de interés a fin de diseñar *scaffolds* biomiméticos, teniendo en cuenta propiedades mecánicas, promoción de la adhesión celular y difusión de sustancias.^{15,42-45,50,65}

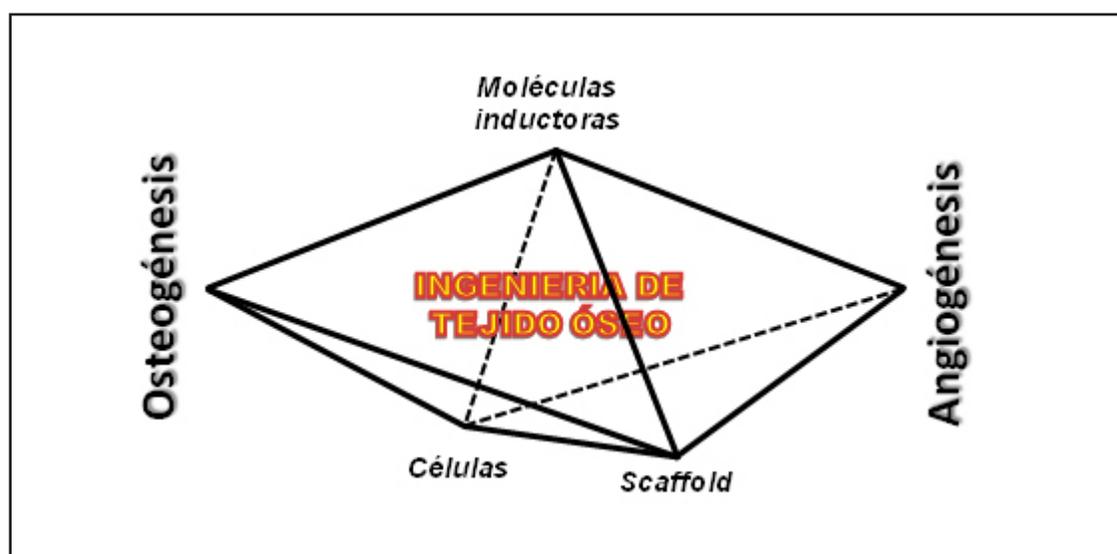


Figura 6. Los nuevos direccionamientos en Ingeniería de Tejido Óseo son favorecer tanto la formación de una nueva vasculatura como la formación ósea a fin de poder llevar a cabo la reparación del hueso dañado.

Conclusiones

La administración exitosa de factores de crecimiento para la angiogénesis y la osteogénesis se ve afectada por el sistema de liberación localizado, la cinética de liberación témporo-espacial, la concentración apropiada de cada uno de ellos y las combinaciones de factores de crecimiento seleccionados; claro que, sin dejar de prestar atención a la seguridad, la eficacia de su administración, la geometría ósea y de su lesión y el estado general del paciente. Por lo tanto, la matriz tridimensional o *scaffold* no solo debe ofre-

cer una matriz para el crecimiento de células osteoprogenitoras y vasos sanguíneos, sino también un sistema de liberación de droga que proporcionen los factores de crecimiento en la dosis y cinética correctas. Los avances científicos proporcionarán conocimientos para diseñar biomateriales no solo bioinspirados sino también biomiméticos, los cuales ayudarán a que la Ingeniería de Tejido sea una alternativa terapéutica real en el futuro para el tejido óseo dañado, garantizando que la osteogénesis y la angiogénesis se logren en forma coordinada.



Agradecimientos

FJM es miembro de la Carrera del Investigador de CONICET y Docente de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. El autor agradece las sugerencias y correcciones del Dr. Prof. Antonio D. McCarthy realizadas durante la redacción del presente artículo.

Conflicto de intereses: el autor declara no tener conflicto de intereses.

Recibido: noviembre 2020

Aceptado: enero 2021

Referencias

1. Lieberman JR, Friedlaender GE. Bone Regeneration and Repair, Biological and Clinical Application. Totowa, New Jersey: Human Press; 2005. p. 21.
2. Burr DB, Allen MR (2nd eds). Basic and Applied Bone Biology. Cambridge, MA: Academic Press; 2019. pp. 235-53.
3. Fazzalari NL. Bone fracture and bone fracture repair. *Osteoporos Int* 2011; 22: 2003-6.
4. Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: Mechanisms and Interventions. *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11:45-54.
5. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, Lin T-H, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone* 2016; 86:119-30.
6. Sözen T, Özisik L, Basaean NC. An overview and management of osteoporosis. *Eur J Rheumatol* 2017; 40:46-56.
7. Sánchez A. El caballero y la dama con osteoporosis. *Actual Osteol* 2010; 6:81-9.
8. Lino AB, Fernández JM, Molinuevo MS, Cortizo AM, McCarthy AD. Efecto *in vitro* del ranelato de estroncio sobre células progenitoras óseas de ratas diabéticas. *Actual Osteol* 2016; 12:78-86.
9. McCarthy AD, Molinuevo MS, Cortizo AM. AGEs and Bone ageing in Diabetes mellitus. *J Diabetes Metab* 2013; 4:276.
10. Salgado AJ, Coutinho O, Reis RL. Bone Tissue Engineering: State of art and future trends. *Macromol Biosci* 2004; 4:743-65.
11. Majidinia M, Sedeghpour A, Yousefi B. The role of signaling pathways in bone and regeneration. *J Cell Physiol* 2018; 233:2937-48.
12. Roddy E, DeBaun MR, Daoud-Gray A, Yang YP, Gardner MJ. Treatment of critical-size bone defect: clinical and tissue engineering perspectives. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2017; 28:351-62.
13. Rupp M, Biehl C, Budak M, Thormann U, Heiss C, Alt V. Diaphyseal long bone nonunions-types, aetiology, economics and treatment recommendations. *Int Orthop* 2017; 42:247-58.
14. Augat P, von Rüden C. Evolution of fracture treatment with bone plates. *Injury, Int J Care Injured* 2018; 49S1:S2-S7.
15. Rather HA, Jhala D, Vasita R. Dual functional approaches for osteogenesis coupled angiogenesis in bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C* 2019; 103:109761.
16. Henkel J, Woodruff MA, et al. Bone regeneration based on Tissue Engineering Conceptions – A 21st century perspective. *Bone Research* 2013; 3:216-48.
17. Bagde AD, Kuthe AM, et al. State of the art technology for bone tissue engineering and drug delivery. *Innovation and Research in BioMedical engineering* 2019; 40:133-44.
18. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260:920-6.
19. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, Mir HS, Yoon RS, Koval KJ. Autograft, Allograft, and Bone Graft

- Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *J Orthop Trauma* 2019; 33:201-13.
20. Klifto CS, Gandhi SD, Sapienza A. Bone graft options in upper-extremity surgery. *J Han Surg Am* 2018; 43:755-61.
 21. Alonzo M, Álvarez Primo F, et al. Bone tissue engineering technique, advances and scaffolds for treatment of bone defects. *Curr Opin Biomed Eng* 2021; 17:100248.
 22. Myeroff C, Archdeacon M. Autogenous bone graft: donor sites and techniques. *J Bone Joint Surg Aim* 2011; 93:2227-36.
 23. Querido W, Falcon JM, Kandel S, Pleshko N. Vibrational spectroscopy and imaging: applications for tissue engineering. *The Analyst* 2017; 142:1005-17.
 24. Fillingham Y, Jacobs J. Bone graft and their substitute. *Bone Join J* 2016; 98B (suppl A):6-9.
 25. Fernández JM, Molinuevo MS, Cortizo AM, McCarthy AD, Cortizo MS. Characterization of poly- ϵ -caprolactone/polyfumarate blends as scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomater Sci Polymer* 2010; 21:1297-312.
 26. Fernández JM, Cortizo MS, Cortizo AM, Abraham GA. Osteoblast behavior on novel porous polymeric scaffolds. *J Biomater Tissue Eng* 2011; 1:86-92.
 27. Cortizo AM, Ruderman G, Correa G, Mogilner IG, Tolosa EJ. Effects of surface topography of collagen scaffolds on cytotoxicity and osteoblast differentiation. *J Biomater Tissue Eng* 2012; 2:125-32.
 28. Lastra ML, Molinuevo MS, Lezak IB, Mijangos C, Cortizo MS. Nanostructured fumarate copolymer-chitosan crosslinked scaffold: An In vitro osteochondrogenesis regeneration study. *J Biomed Mater Res Part A* 2018; 106A:570-9.
 29. Carvalho MS, Silva JC. Co-culture cell-derived extracellular matrix loaded electrospun microfibrillar scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C* 2019; 99:479-90.
 30. López Álvarez M, Rodríguez Valencia C, Serra J, González P. Bio-Inspired ceramics: promising scaffolds for bone tissue engineering. *Procedia Eng* 2013; 59:51-8.
 31. Yoon BH, Choi WY, Kim HE, Kim JH, K JH. Aligned porous alumina ceramics with high compressive strengths for bone tissue engineering. *Scr Mater* 2008; 58:537-40.
 32. Lin Q, Zhang X, et al. The structural evolution of Bioglass after implantation in femoral defects. *J Non-Cryst Solids* 2021; 552:120439.
 33. Okasha A, Abdelghany AM, Wassel AR, Menazea AA. Bone bonding augmentation and synergetic attitude of gamma-irradiated modified borate bioglass. *Radiat Phys Chem* 2020; 17:109018.
 34. Fernández JM, Molinuevo MS, Cortizo MS, Cortizo AM. Development of an osteoconductive PCL-PDIPF-Hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2011; 5: e126-35.
 35. Lino AB, McCarthy AD, Fernández JM. Evaluation of Strontium-containing PCL-PDIPF scaffolds for bone tissue engineering: In vitro and in vivo studies. *Ann Biomed Eng* 2019; 47:902-12.
 36. Govindan R, Gu FL, Karthi S, Girija EK. Effect of phosphate glass reinforcement on the mechanical and biological properties of freeze-dried gelatin composite scaffolds for bone tissue engineering applications. *Mater Today Commun* 2020; 22:100765.
 37. Benedini L, Laiuppa J, Santillán G, Baldini M, Messina P. Antibacterial alginate/nano-hydroxyapatite composites for bone tissue engineering: Assessment of their bioactivity, biocompatibility, and antibacterial activity. *Mater Sci Eng C* 2020; 115: 111101.
 38. Bi YG, Lin ZT, Deng ST. Fabrication and characterization of hydroxyapatite/sodium alginate/chitosan composite microspheres for drug delivery and bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C* 2019; 100:576-83.
 39. Bongio M, van den Beucken JJJP, Leeuwenburgh SCG, Jansen JA. Development of bone substitute materials: from “biocompatible” to “instructive”. *J Mater Chem* 2010; 20: 8747-59.
 40. Hench LL, Thompson I. Twenty-first century challenges for biomaterials. *J R Soc Interface* 2010; 7:S379-S391.



41. Huang YZ, Xie HQ, Li X. Scaffolds in bone tissue engineering; research progress and current application. *Encyclopedia of Bone Biology*. Cambridge, MA: Academic Press; 2020. pp. 201-15.
42. Yin G, et al. Localized delivery of growth factors for angiogenesis and bone formation in tissue engineering. *Int Immunopharmacol* 2013; 16:214-23.
43. Saran U, Piperni SG, Chatterjee S. Role of angiogenesis in bone repair. *Arch Biochem Biophys* 2014; 561:102-17.
44. Mastrullo V, Cathery W, Velliou E, Madeddu P, Campagnolo P. Angiogenesis in Tissue Engineering: as Nature Intended? *Front Bioeng Biotechnol* 2020; 8: doi:10.3389/fbioe.2020.00188.
45. Collin-Osdoby P. Role of vascular endothelial cells in bone biology. *J Cell Biochem* 1994; 55:304-9.
46. Hausman MR, Schaffler MB, Majeska RJ. Prevention of fracture healing in rats by an inhibitor of angiogenesis. *Bone* 2001; 29:560-4.
47. Holstein JH, Klein M, et al. Rapamycin affects early fracture healing in mice. *Brit J Pharmacol* 2008; 154:1055-62.
48. Seebach C, Henrich D, et al. Endothelial progenitor cells improve directly and indirectly early vascularization of mesenchymal stem cell-driven bone regeneration in a critical bone defect in rats. *Cell Transplant* 2012; 21:1667-77.
49. Bose S, Fielding G, Tarafder S, Banyopadhyay A. Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics. *Trends Biotechnol* 2013; 31:594-603.
50. Almubarak S, Nethercott H, et al. Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration. *Bone* 2016; 83:197-209.
51. Deckers MM, van Bezooijen RL, et al. Bone morphogenetic proteins stimulate angiogenesis through osteoblast-derived vascular endothelial growth factor A. *Endocrinology* 2002; 143:1545-53.
52. Götz W, Reichert C, Canullo L, Jäger A, Heinemann F. Coupling of osteogenesis and angiogenesis in bone substitute healing - A brief overview. *Ann Anat* 2012; 194:171-3.
53. Maruotti N, Corrado A, Cantatore FP. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. *J Cell Physiol* 2017; 232: 2957-63.
54. King WJ, Krebsbach PH. Growth factor delivery: How surface interactions modulate release in vitro and in vivo. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; 64:1239-56.
55. Wernike E, Montjovent MO, et al. VEGF incorporated into calcium phosphate ceramics promotes vascularisation and bone formation in vivo. *Eur Cell Mater* 2010; 19:30-40.
56. Patterson J, Siew R, Herring SW, Lin ASP, Guldberg R, Stayton PS. Hyaluronic acid hydrogels with controlled degradation properties for oriented bone regeneration. *Biomaterial* 2010; 31:6772-81.
57. Farokhi M, Mottaghitlab F, Ai J, Shokrgozar MA. Sustained release of platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor from silk/calcium phosphate/PLGA based nanocomposite scaffold. *Int J Pharm* 2013; 454:216-25.
58. Fernández JM, Molinuevo MS, McCarthy AD, Cortizo AM. Strontium Ranelate stimulates the activity of bone-specific alkaline phosphatase: interaction with ZN^{+2} and Mg^{+2} . *Biometals* 2014; 27:601-7.
59. Fernández JM, Molinuevo MS, Sedlinsky C, Schurman L, Cortizo AM, McCarthy AD. Strontium ranelate prevents the deleterious action of advanced glycation endproducts on osteoblast cells via calcium channel activation. *Eur J Pharmacol* 2013; 706:41-7.
60. Álvarez-Lloret P, Fernández JM, et al. Multi-scale approach for the evaluation of bone mineralization in strontium ranelate-treated diabetic rats. *Biol Trace Elem Res* 2018; 186:457-66.
61. Molinuevo MS, Fernández JM, Cortizo AM, McCarthy AD, Schurman L, Sedlinsky C. Advanced glycation end products and strontium ranelate promote osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells in vitro: Preventive role of vitamin D. *Mol Cell Endocrinol* 2017; 450:94-104.

62. Xia L, Yin Z, et al. Akernamite bioceramics promote osteogénesis, angiogénesis and suppress osteoclastogenesis for osteoporotic bone regeneration. *Sci Rep* 2016; 6: 22005.
63. Zisch AH, Lutolf MP, et al. Cell-demanded release of VEGF from synthetic, biointeractive cell-ingrowth matrices for vascularized tissue growth. *FASEB J* 2003; 17:2260-2.
64. Leslie-Barbick JE, Moon JJ, West JL. Covalently-Immobilized Vascular Endothelial Growth Factor Promotes Endothelial Cell Tubulogenesis in Poly(ethylene glycol) Diacrylate Hydrogels. *J Biomater Sci* 2009; 20:1763-79.
65. García JR, García AJ. Biomaterial-mediated strategies targeting vascularization for bone repair. *Drug Deliv and Transl Res* 2015; 6:77-95.
66. Liang Y, Kiick KL. (2014). Heparin-functionalized polymeric biomaterials in tissue engineering and drug delivery applications. *Acta Biomater* 2014; 10:1588-600.
67. Kim BS, Yang SS, Kim CS. Incorporation of BMP-2 nanoparticles on the surface of a 3D-printed hydroxyapatite scaffold using an ϵ -polycaprolactone polymer emulsion coating method for bone tissue engineering. *Colloids Surf. B* 2018; 170:421-9.
68. Besada L, Peruzzo P, Cortizo AM, Cortizo MS. Preparation, characterization and in vitro activity evaluation of triblock copolymer-based polymerosomes for drugs delivery. *J Nanopart Res* 2018; 20: 67.
69. Hsieh MK, Wu CJ, et al. BMP-2 gene transfection of bone marrow stromal cells to induce osteoblastic differentiation in a rat calvarial defect model. *Mater Sci Eng C* 2018; 91: 806-16.
70. Khorsand B, Nicholson N, et al. Regeneration of bone using nanoplex delivery of FGF-2 and BMP-2 genes in diaphyseal long bone radial defects in a diabetic rabbit model. *J Control Release* 2017; 248:53-9.
71. Zhang Y, Zhang R, Li Y, He G, Zhang D, Zhang F. Simvastatin augments the efficacy of therapeutic angiogenesis induced by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a murine model of hindlimb ischemia. *Mol Biol Rep* 2012; 39:285-93.
72. Skoglund B, Aspenberg P. Locally applied Simvastatin improves fracture healing in mice. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8:98-103.
73. Kim BS, Sung HM, You HK, Lee J. Effects of fibrinogen concentration on fibrin glue and bone powder scaffolds in bone regeneration. *J Biosci Bioeng* 2014; 118:469-75.
74. Sun J, Jiao K, et al. Intrafibrillar silicified collagen scaffold modulates monocyte to promote cell homing, angiogenesis and bone regeneration. *Biomaterials* 2017; 113:203-16.
75. Murphy KC, Hughbanks ML, Binder BYK, Vissers CB, Leach JK. Engineered Fibrin Gels for Parallel Stimulation of Mesenchymal Stem Cell Proangiogenic and Osteogenic Potential. *Ann Biomed Eng* 2015; 43:2010-21.
76. Barati D, Shariati SRP, Moeinzadeh S, Meleiro-Martin JM, Khademhosseini A, Jabbari E. Spatiotemporal release of BMP-2 and VEGF enhances osteogenic and vasculogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and endothelial colony-forming cells co-encapsulated in a patterned hydrogel. *J Control Release* 2016; 223:126-36.
77. Eğri S, Eczacıoğlu N. Sequential VEGF and BMP-2 releasing PLA-PEG-PLA scaffolds for bone tissue engineering: I. Design and in vitro tests. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2017; 45:321-9.



ACTUALIZACIONES / *Reviews*

OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES ASOCIADA A MEDICAMENTOS (ONMM)

Guía redactada por expertos invitados por la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral y por la Sociedad Argentina de Osteoporosis

Rodolfo Guelman¹, María Silvia Larroude², José Luis Mansur³, Ariel Sánchez⁴, Eduardo Vega⁵, María Belén Zanchetta⁶, Silvana Noemí Picardo⁷, Sergio A. Rodríguez Genta⁸, Eduardo A. Rey⁹

1. Sector de Osteopatías Metabólicas, Sector de Infusiones de Bifosfonatos, Servicio de Endocrinología y Medicina Nuclear, Hospital Italiano de Buenos Aires. 2. Centro Rossi (ex Hospital Milstein), Buenos Aires. 3. Centro de Endocrinología y Osteoporosis, La Plata, Sociedad Argentina de Osteoporosis. 4. Centro de Endocrinología, Rosario. 5. Centro de Estudios en Salud, Alimentación y Nutrición, e Instituto Médico de Alta Tecnología, Buenos Aires. 6. Instituto de Investigaciones Metabólicas, Buenos Aires, Maestría en Osteología y Metabolismo Mineral, Universidad del Salvador. Buenos Aires. 7. Cátedra de Cirugía y Traumatología BMF II, Facultad de Odontología, UBA; Servicio de Odontología, Hospital Universitario, Fundación Favalaro, Buenos Aires. 8. Cátedra de Cirugía y Traumatología BMF II, Facultad de Odontología, UBA. 9. Academia Nacional de Odontología; Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires. Argentina.

Resumen

La osteonecrosis maxilar asociada a medicamentos (ONMM=MRONJ como se conoce en la literatura en inglés) se define como un área ósea expuesta al medio bucal con más de ocho semanas de permanencia, en pacientes tratados con antirresortivos y/o antiangiogénicos y sin antecedentes de radioterapia en cabeza y cuello.

Las fracturas ocasionan una morbimortalidad significativa y los antirresortivos son drogas eficaces y seguras para prevenirlas. Se utilizan principalmente en osteoporosis, pero también en enfermedades oncológicas como mieloma múltiple o metástasis óseas de tumores sólidos. La posología varía según el contexto clínico, siendo mayor la dosis y frecuencia de administración en oncología. Los antirresortivos actualmente más utilizados son los bifosfonatos (BF) y el denosumab (Dmab).

Si bien los BF persisten largo tiempo en el tejido óseo, el Dmab tiene un mecanismo de acción reversible y su suspensión abrupta conlleva importante pérdida de masa ósea y riesgo aumentado de fracturas vertebrales múltiples. Ninguna droga puede ser suspendida ni espaciada sin autorización médica, dado que no es de competencia del odontólogo.

El diagnóstico presuntivo de ONMM debe ser confirmado clínicamente por un odontólogo, quien solicitará imágenes radiológicas para establecer el estadio de la lesión. La anamnesis correcta permite establecer un diagnóstico diferencial entre ONMM, osteomielitis y osteorradionecrosis.

La presentación clínica es variable y puede mostrar distintos estadios. La mayoría de los casos están precedidos por un procedimiento quirúrgico odontológico. Suele ser asintomática, aunque puede haber dolor si se localiza

cerca de una estructura neuronal. La localización es variable: 62,3% se produce en el maxilar inferior.

La incidencia de ONMM es baja, en un rango de 0,001 a 0,01% y tiene relación con las dosis y el tiempo de administración.

La remoción de caries, la operatoria dental, la endodoncia y la rehabilitación protética fija o removible no se asocian a riesgo de ONMM.

Con menos de 3 años de tratamiento antirresortivo se pueden efectuar terapéuticas quirúrgicas como exodoncias, apicectomías, cistectomías, tratamientos periodontales de raspaje y alisado subgingival sin riesgo. Con más de 3 años se aconseja evitar la realización de exodoncias y manipulación de tejido óseo.

Ante la necesidad de realizar un procedimiento odontológico, no hay evidencia que avale que la suspensión transitoria del tratamiento antirresortivo pueda reducir el riesgo. Tampoco la medición de marcadores de remodelado óseo aporta datos de utilidad.

Existen pocos datos en la literatura sobre la colocación de implantes dentales en pa-

cientes que reciben drogas antirresortivas en dosis bajas; si bien existe ONMM asociada, su incidencia sería baja.

Antes de iniciar un tratamiento antirresortivo se recomienda realizar interconsulta con el odontólogo para evaluar potenciales necesidades quirúrgicas. Quienes reciben antirresortivos deben realizar controles orales periódicos (semestrales) y, ante cualquier síntoma compatible con un estadio incipiente de ONMM, deben consultar a su odontólogo.

El trabajo conjunto del médico y el odontólogo puede prevenir la aparición de la ONMM, un evento infrecuente, pero que puede generar elevada morbilidad en los pacientes. La comunicación fluida entre profesionales tenderá a evitar no solo la incertidumbre y desconfianza de los pacientes, sino también que se produzcan lesiones con la consecuente necesidad de tratamientos de mayor complejidad.

Palabras clave: osteonecrosis, maxilar, medicamentos, antirresortivos, bifosfonatos, denosumab.

Abstract

MEDICATION-RELATED OSTEONECROSIS OF THE JAW (MRONJ)

Guideline prepared by experts invited by the Argentine Association of Osteology and Mineral Metabolism, and the Argentine Society for Osteoporosis

Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ) is defined as a bone area exposed to the oral environment lasting more than eight weeks, in patients treated with antiresorptive and/or antiangiogenic drugs and without a history radiation therapy to the head and neck.

Fractures cause significant morbidity and mortality, and antiresorptives are effective

and safe drugs to prevent them. They are used to treat not only osteoporosis but also oncological diseases such as multiple myeloma or bone metastases from solid tumors. The dosage varies according to the clinical context; doses and frequencies of administration are higher in oncology. The most commonly used antiresorptive medications are bisphosphonates (BP) and denosumab (Dmab). Whereas BP persist for a long time in bone tissue, Dmab has a reversible mechanism of action and its discontinuation leads to significant loss of bone mass and an increased risk of multiple vertebral fractures. No drug can be suspended or spaced without medical authorization. Dentists should not take decisions about antiresorptive prescription.



The presumptive diagnosis of MRONJ must be clinically confirmed by a dentist, who will order radiological studies to establish the stage of the injury. The correct anamnesis helps differentiate MRONJ from osteomyelitis and osteoradionecrosis.

Clinical presentation is variable and can present different stages. Most of the cases are preceded by a dental surgical procedure. Usually MRONJ is asymptomatic although patients may feel pain if it is located near a neuronal structure. The location is variable: 62.3% occurs in the lower jaw.

The incidence of MRONJ is low, in the range of 0.001 to 0.01%, and is related to the dose and time of administration. Caries removal, dental surgery, endodontics, fixed or removable prosthetic rehabilitation are not associated with risk of MRONJ.

With less than 3 years of antiresorptive treatment, surgical therapies such as extractions, apicectomies, cystectomies, periodontal scaling treatments and subgingival smoothing can be performed without risk. With more than 3 years, it is advisable to avoid performing extractions and manipulating bone tissue.

Given the need to perform a dental procedure, there is no evidence to support

that the temporary suspension of antiresorptive treatment can reduce the risk. Nor does the measurement of bone turnover markers provide useful information.

There are few data in the literature on the placement of dental implants in patients receiving antiresorptive drugs at low doses; although there might be an associated risk of MRONJ, its incidence appears to be low.

Before starting antiresorptive treatment, consultation with the dentist is recommended to evaluate potential surgical needs. Patients receiving treatment with antiresorptive agents should undergo periodic oral controls (every six months) and in the event of any symptoms compatible with an early MRONJ stage, they should consult their dentists.

The collaboration between physician and dentist can prevent the appearance of MRONJ, that is an infrequent event, but can generate high morbidity in patients. Fluid communication between professionals will tend to avoid, not only the uncertainty and distrust of patients, but also the occurrence of injuries needing complex treatments.

Key words: *osteonecrosis, mandible, medication, antiresorptives, bisphosphonates, denosumab.*

Introducción

En los últimos años se ha tomado conocimiento de un evento adverso de los tratamientos antirresortivos, conocido como osteonecrosis del maxilar por medicamentos (ONMM), generalmente asociado a la realización de procedimientos quirúrgicos odontológicos.

En nuestra práctica asistencial, tanto médica como odontológica, es muy frecuente recibir un paciente al que ya se le ha realizado o se le plantea realizar algún procedimiento que involucre manipulación ósea maxilar, quien al mismo tiempo necesita iniciar o ya está bajo

tratamiento antirresortivo por alguna patología metabólica ósea.

Dado que la información disponible para la toma de decisiones por parte del médico y del odontólogo intervinientes es escasa y confusa, nuestro objetivo fue revisar los datos científicos disponibles para consensuar entre ambos profesionales el mejor tratamiento para el paciente y proponer un diálogo abierto e interdisciplinario, a fin de lograr la mejor atención de nuestros pacientes.

Los antirresortivos o anticatabólicos óseos son medicamentos utilizados principalmente en el contexto de osteoporosis, mieloma múltiple o

metástasis óseas de tumores sólidos. Las dosis y posologías utilizadas son diferentes en cada escenario.

Los dos grupos de antirresortivos más utilizados hoy en día son los bifosfonatos (BF) y el denosumab (Dmab).

Los BF logran su efecto principal sobre los osteoclastos activos, en los cuales producen una inhibición funcional de su actividad resortiva¹ y finalmente los conduce a una muerte celular programada o apoptosis.² Estos fármacos se administran por vía oral o intravenosa. Una vez que pasan al torrente sanguíneo, ingresan en el esqueleto y se depositan predominantemente sobre las superficies óseas con mayor actividad resortiva. Es durante el proceso de resorción ósea que los BF se incorporan en los osteoclastos y producen su acción inhibitoria.³

Los BF son una familia de drogas derivadas del pirofosfato. En su mayoría son sales que se diferencian entre sí por su vía de administración, por su potencia para inhibir la resorción ósea y por su afinidad por la hidroxiapatita. Esta avidez determinará su permanencia en hueso y la duración del efecto antirresortivo, que puede considerarse medianamente prolongado.⁴ Los BF son los fármacos más usados a nivel mundial para el tratamiento de la osteoporosis y la prevención de fracturas. Entre ellos, los más indicados son: alendronato, ibandronato (Iba), risedronato, pamidronato (Pam) y ácido zoledrónico (Zol). Algunos tienen vía de administración oral, otros intravenosa. El ibandronato puede administrarse por ambas vías. Los BF como el Pam, el Iba y el Zol también se utilizan en pacientes oncológicos que presenten metástasis óseas con hipercalcemia maligna o sin ella, con el objetivo de prevenir o tratar eventos óseos adversos y mejorar la sobrevida.

El Dmab, en cambio, es una proteína, un anticuerpo monoclonal. Actúa inhibiendo los osteoclastos por un mecanismo reversible. Para comprender este mecanismo

es necesario saber que, para que el osteoclasto resorba hueso, necesita recibir una señal pro-resortiva a través de su receptor llamado RANK (receptor activador del factor nuclear kappa-B). Esta señal surge cuando a este receptor se le une en forma específica un ligando, llamado RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-B), que es una proteína expresada por las células estromales osteoblásticas. Así, la unión del RANKL, producido por la progenie de osteoblastos, con el receptor RANK situado en la superficie de los osteoclastos, enciende la señal necesaria para la diferenciación, activación y sobrevida osteoclástica. El incremento de RANKL es responsable de la resorción ósea mediada por osteoclastos en un amplio rango de condiciones.

El Dmab es un anticuerpo monoclonal completamente humano IgG₂ que se une al RANKL con alta afinidad y especificidad y bloquea su interacción con el RANK. Esto impide la activación del RANK en la superficie de osteoclastos y en sus precursores, reduciendo su diferenciación, activación y sobrevida. Como consecuencia, se produce una muy potente disminución de la tasa de resorción del hueso cortical y trabecular.⁵ Su administración subcutánea hasta por 10 años se acompaña de un continuo aumento de la densidad mineral ósea (DMO) y reducción del riesgo de todos los tipos de fracturas osteoporóticas.⁶

Para el tratamiento de la osteoporosis, la dosis es semestral.⁷ Esto se debe a que su actividad antirresortiva presenta un tiempo de vida media limitado a 5-6 meses. Luego, dicha actividad cesa paralelamente a la desaparición de la droga. Este patrón de finalización de la actividad biológica es una diferencia muy importante en comparación con los BF. La incorporación de estos últimos en la matriz ósea les brinda una característica extinción gradual (más lenta) de su efecto, una vez suspendida su administración.



Definición de osteonecrosis maxilar

La *American Society for Bone and Mineral Research* (ASBMR) definió la osteonecrosis maxilar asociada a drogas antirresortivas como “área ósea expuesta al medio bucal con más de ocho semanas de permanencia, en pacientes tratados anteriormente o en la actualidad con agentes antirresortivos y/o antiangiogénicos y sin antecedentes de radioterapia en cabeza y cuello”.⁸

Los primeros reportes (2003) de la ONMM se relacionaban solo con el uso de BF (*BRONJ=Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw*). La nomenclatura de la entidad en la literatura se fue modificando a medida que se reportaron casos asociados a las nuevas terapéuticas.⁹ Así, en el año 2014, la *American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* (AAOMS) determinó que, además de los BF, el Dmab y las drogas antiangiogénicas también pueden causar osteonecrosis maxilar. Por ello, fue denominada genéricamente como Osteonecrosis Maxilar Asociada a Medicamentos (*ONMM=MRONJ, Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw*) y se la dividió en 4 estadios, del 0 al 3, de acuerdo con el aspecto clínico y radiológico de la lesión osteonecrótica: Estadio 0, lesión osteonecrótica sin evidencia signopatognomónica de osteonecrosis; Estadio 1, lesión osteonecrótica con signos clínicos y ausencia de sintomatología clínica; Estadio 2, lesión osteonecrótica con signología y sintomatología clínica evidente; Estadio 3, lesión osteonecrótica con signología y sintomatología evidente que compromete estructuras nobles (fracturas patológicas, anestesia del nervio dentario inferior, comunicación buco-nasal, comunicación buco-sinusal, fístulas cutáneas).⁹

Características clínicas

El aspecto clínico de la ONMM presenta las mismas características clínico-radiológicas que se evidencian en la osteomielitis u osteorradionecrosis: supuración, secreción hemorrágica, cambios mucosos, sinusitis, pa-

restesias, tumor (aumento de volumen), adenopatías, febrícula, etc. La exposición ósea en los eventos antes mencionados puede ser asintomática y/o espontánea (en caso de pacientes oncológicos); es autolimitada en su tamaño, siempre que no se manipule quirúrgicamente la zona afectada. En segundo lugar, puede acompañarse con dolor cuando la lesión osteonecrótica se desarrolla en la cercanía de alguna estructura neuronal, debido al proceso inflamatorio secundario, no dependiendo de su extensión volumétrica. Por otra parte, pueden hallarse secuestros óseos. En algunos casos no hay exposición ósea franca.⁸⁻¹⁰

Se debe realizar una anamnesis correcta del paciente para arribar a un diagnóstico diferencial entre ONMM, osteomielitis y osteorradionecrosis, indagando acerca del consumo de drogas antirresortivas y del posible antecedente de exposición a radiación local. Se debe determinar la etiología de la lesión para luego indicar una terapéutica correcta.

La osteomielitis de los maxilares es una afección relativamente frecuente. En general, se pueden distinguir dos grandes cuadros de osteomielitis: aguda y crónica, esta última como consecuencia de la primera. Las causas de la osteomielitis son múltiples y siempre están asociadas a procesos infecciosos. Pueden distinguirse aquellas de origen local (complicaciones de caries profundas, enfermedad periodontal, piezas dentarias retenidas, lesiones quísticas, traumatismos, lesiones por arma de fuego, osteomielitis posoperatorias) y las de origen sistémico: contaminación con mercurio, arsénico o fósforo; infección alejada (osteomielitis hematógena).¹¹

Cuando el paciente es sometido a radiaciones que exceden los 65 Gy se puede producir osteorradionecrosis, que se manifiesta generalmente sin exposición ósea intrabucal. En el hueso irradiado se observa una pasividad en las líneas de esparcimiento en la laguna de Howship junto a un daño microvascular del osteocito y del osteoclasto. Dichas células

sufren apoptosis. El problema se evidencia luego de la manipulación ósea maxilar.^{12, 13}

Clínicamente no existen diferencias diagnósticas significativas entre ONMM, osteomielitis u osteorradionecrosis. Hay algunas diferencias histopatológicas entre ellas según la etiología. Se reconoce que las ONMM presentan un patrón anatomopatológico distintivo, tanto en pacientes tratados con BF como con Dmab: patrón histológico pagetoide, con signos de remodelación y aspecto trabecular en mosaico, áreas de necrosis y colonias bacterianas en superficie y entre espacios medulares.¹⁴

La localización es variable: en 62,3% de los casos se produce solo en el maxilar inferior. En 29,4% de los casos se localiza solo en maxilar superior y en 8,2% en ambos maxilares.¹⁵

El diagnóstico presuntivo debe ser confirmado clínicamente por un odontólogo. En el momento oportuno se solicitan imágenes radiológicas adicionales (radiografía periapical, radiografía panorámica, tomografía axial computarizada o tomografía *Cone Beam*), para establecer el estadio de la lesión complementariamente con la clínica.¹⁶

Como ya se mencionó, se reconocen 4 estadios de la ONMM, los que se resumen en la Tabla I.

Fisiopatología

En primer lugar, algunas particularidades asociadas a la anatomía de la boca determinarían que la ONMM se produzca primariamente en los huesos maxilares y no en otras partes del esqueleto: los huesos maxilares tienen origen ectomesenquimático; las piezas dentarias están involucradas en la función masticatoria, toleran fuerzas oclusales y mantienen un equilibrio dinámico con la microbiota de la cavidad bucal, sobrecontaminada en pacientes con patología infecciosa preexistente.¹⁷ Las drogas antirresortivas inhiben la remodelación ósea y son un factor fundamental en el desarrollo de la ONMM.¹⁸ Otras drogas involucradas son los inhibidores de la angiogénesis, que disminuyen el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y así causan que la irrigación del hueso trabecular sea insuficiente.¹⁹⁻²¹ En un primer momento, el proceso es aséptico, pero al quedar expuesto el tejido óseo al medio bucal séptico mediante alguna maniobra odontológica que implique manipulación ósea, habría una infección secundaria debido a la patogenicidad de la microbiota.¹⁴ Se calcula que serían más de 700 las especies de microorganismos que conviven normalmente en cavidades bucales, según estudios con técnicas de biología molecular.²²

Tabla I. Estadios de osteonecrosis maxilar asociada a medicamentos ⁹

Estadio	Características
En riesgo	Sin evidencia de hueso necrótico en pacientes bajo administración actual o reciente de drogas antirresortivas
Estadio 0	Con hallazgo radiográfico de osteólisis, pero sin signos ni síntomas de necrosis
Estadio 1	Con signos clínicos de necrosis, aunque el paciente no manifieste sintomatología
Estadio 2	Con signosintomatología de necrosis e infección, con secreción purulenta o sin ella
Estadio 3	Con signosintomatología de necrosis: ídem estadio 2, que involucre en maxilar superior el piso del seno maxilar, evidenciando comunicación buco-sinusal, comunicación buco-nasal, fístula cutánea, o fractura patológica. En maxilar inferior: fístula cutánea, fractura patológica, anestesia en zona inervada por el nervio dentario inferior



Las citoquinas de origen microbiológico alterarían la homeostasis ósea normal de los maxilares.²³ Es preciso tener presente que el recambio óseo de los huesos maxilares en condiciones fisiológicas es diez veces mayor que el de los huesos largos. Por otro lado, en presencia de acumulación intraósea de drogas antirresortivas, la remodelación se ve dificultada.²⁴

La reducción exagerada de la remodelación ósea por consumo crónico de drogas antirresortivas conforman un hueso envejecido e hipermineralizado. Este hueso puede desarrollar microfracturas que desencadenarían ONMM.^{25,26} En un inicio, habría ONMM asintomática. Posteriormente, la disrupción de la integridad de la mucosa y la consecuente acción bacteriana desencadenarían procesos inflamatorios clínicamente evidentes, dando lugar a ONMM sintomática.²⁷

Los BF podrían alterar la función y supervivencia de monocitos y macrófagos, así como activar los linfocitos T- $\gamma\delta$, que producen citoquinas proinflamatorias, determinando una menor capacidad de protección frente a la infección local.²⁸ Esto dificultaría la curación de la mucosa. Una alteración en la estructura del macrófago desempeñaría un rol esencial en el desarrollo de ONMM. En este sentido, varios trabajos experimentales demuestran una disminución de los macrófagos medulares en presencia sistémica de BF.^{29, 30}

Por otra parte, si bien la fisiopatología de la ONMM no está totalmente comprendida, hay consenso sobre su etiología multifactorial en las publicaciones recientes. Posiblemente el efecto de los BF sobre la mucosa oral, la inmunodepresión, la producción local de citoquinas inflamatorias y los cambios en el pH local sean factores contribuyentes importantes.^{31, 32}

Se ha planteado también una posible susceptibilidad genética relacionada con un polimorfismo predisponente. Se ha estudiado la relación de diferentes alteraciones genómicas en diversas secuencias en pacientes con ONMM, pero ningún estudio arrojó resultados estadísticamente significativos.^{33, 34} En 2015 se realizó

el estudio GENVABO (*Genetic Variants as Biomarkers of Jaw Osteonecrosis Associated with Bisphosphonates*) que describió variables genómicas comunes en osteoclastos de pacientes con ONMM.³⁵

Factores desencadenantes de la ONMM

Más de la mitad de los casos diagnosticados como ONMM están precedidos por un procedimiento quirúrgico odontológico.³⁶ Según las revisiones más recientes,³⁰⁻³⁷ los eventos más frecuentemente asociados al desarrollo de esta alteración corresponden a las terapéuticas odontológicas (75% de los casos). Existe además un 25% de ONMM que se desarrolla en forma espontánea en pacientes tratados con antirresortivos por causa oncológica.¹⁵

Diversos estudios relatan ONMM asociadas a: periodontitis (5-24,3%); trauma en paciente portador de prótesis removible (7,4-7,9%), cirugías resectivas óseas (7,2%), periimplantitis (1,4-3,9%), tratamientos periodontales de bolsas profundas bajo curetaje y alisado radicular (0,2%). Por otra parte, en 13,6-14,8% de los casos la aparición de la ONMM fue espontánea, sin haberse encontrado un factor desencadenante odontológico local.^{30, 37-39}

Si bien la ONMM se puede producir en ambos maxilares (8,3%), el maxilar inferior tendría la mayor predisposición para ser afectado (lo es en el 62,3% de los casos) debido a las características anatómicas y vasculares que presenta, mientras que el maxilar superior está comprometido en el 29,4% de los casos.¹¹⁻¹⁵

Existen datos contradictorios sobre el posible papel predisponente de la carencia de vitamina D en esta patología,⁴⁰ aunque hay alguna evidencia experimental que favorece esta hipótesis.⁴¹ En un estudio argentino se observaron que en pacientes tratados con BF en forma crónica más del 50% de las mujeres y un porcentaje aún mayor de los hombres con diagnóstico de ONMM presentaron insuficiencia de vitamina D.¹⁵ Si bien está clínicamente aceptado que el tratamiento con BF es menos eficaz en

pacientes con deficiencia de vitamina D,⁴² no se demostró correlación de esta deficiencia con el desarrollo de ONMM.⁴³

La Tabla II resume los factores de riesgo. Se han relatado otros factores de riesgo, como otras enfermedades autoinmunes, inmunodepresión (sida), hepatitis crónica, patología oncológica severa y sepsis bucal.⁴⁴

Para el establecimiento del riesgo, el uso de las drogas antirresortivas ha sido tradicionalmente considerado de acuerdo con su vía de administración (oral, subcutánea, intravenosa). Sin embargo, actualmente se considera más importante la dosis que las vías

de su administración. Así, para las actuales consideraciones, las drogas antirresortivas, administradas a través de cualquiera de las tres vías, se clasifican en dosis bajas o altas. Primariamente, las dosis bajas son utilizadas para el tratamiento de la osteoporosis, mientras que las dosis altas se utilizan en pacientes con patología oncológica, ya sea con compromiso esquelético, con hipercalcemia o con ambas⁴⁵ (Tabla III).

Drogas antiangiogénicas

Las drogas antiangiogénicas son útiles para evitar la proliferación vascular y progresión del

Tabla II. Factores de riesgo de osteonecrosis de maxilar^{29, 30}

Drogas prescritas	Anamnesis Médica	Anamnesis odontológica
<ul style="list-style-type: none"> • Agentes antiangiogénicos: bevacizumab, sunitinib, sorafenib, pazopanib y axitinib • Agentes antirresortivos: bifosfonatos y denosumab 	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia • Artritis reumatoide • Diabetes mellitus • Edad avanzada • Glucocorticoides • Tabaquismo 	<ul style="list-style-type: none"> • Prótesis fija o removible desadaptada • Enfermedad periodontal • Mala higiene bucal • Procedimiento óseo maxilar invasivo

Tabla III. Dosis habituales de las drogas utilizadas en la patología metabólica ósea⁴⁶

DROGAS UTILIZADAS EN PATOLOGÍA METABÓLICA ÓSEA				
	Droga	Dosis	Vía de administración	Indicación
B A J A	Alendronato	70 mg semanal	Oral	Osteoporosis
	Risedronato	35 mg diario 150 mg mensual	Oral	Osteoporosis
	Pamidronato	60 mg trimestral	Intravenosa	Osteoporosis
	Ibandronato	150 mg mensual	Oral	Osteoporosis
	Ácido ibandronico	3 mg trimestral	Intravenosa	Osteoporosis
	Ácido zoledrónico	5 mg anual	Intravenosa	Osteoporosis - Enfermedad de Paget
	Denosumab	60 mg semestral	Subcutánea	Osteoporosis
A L T A	Pamidronato	90 mg mensual	Intravenosa	Eventos relacionados con el cáncer Mieloma múltiple
	Ácido Zoledrónico	4 mg cada 3 o 4 semanas	Intravenosa	Eventos relacionados con el cáncer
	Denosumab	120 mg mensual	Subcutánea	Eventos relacionados con el cáncer Tumor de células gigantes



cáncer, pero también inhiben la vascularización y, por lo tanto, la reparación de la zona maxilar afectada. Se ha demostrado también un efecto antiangiogénico transitorio con los BF, con mayor potencial cuando se indican en dosis altas.^{19, 47}

Incidencia de la osteonecrosis maxilar asociada a medicamentos antirresortivos (anticatabólicos) en dosis bajas

Bifosfonatos en dosis bajas

Detallamos los valores de incidencia arrojados por diferentes Consensos Internacionales:

- *Australian Oral and Maxillofacial Surgeons (OMS)*, refiere una incidencia en un rango de 0,01% a 0,04%, año 2007.⁴⁸
- *American Society for Bone and Mineral Research*, refiere una incidencia en un rango de 0,001% a 0,01%, año 2007.⁴⁹
- Estudio Horizon: Zol 5 mg anual, refiere una incidencia en un rango de 0,001% a 0,01%, año 2010.⁵⁰
- *Position paper from the Allied Task Force Committee of Japanese Society for Bone and Mineral Research, Japan Osteoporosis Society, Japanese Society of periodontology, Japanese Society for Oral and Maxillofacial Radiology, and Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons*, refiere una incidencia en un rango de 0,01% a 0,02%, año 2010.⁵¹
- Control de ONMM por bifosfonatos en Ontario (Canadá) por cirujanos orales y maxilofaciales, refiere una incidencia media de 0,001%, año 2011.⁵²
- Estudio epidemiológico escocés, refiere una incidencia media de 0,004%, año 2012.⁵³
- Estudio epidemiológico alemán, refiere una incidencia media de 0,00038%, año 2013.⁵⁴
- *Position paper of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons on medication-related osteonecrosis of the jaw: update*, refiere una incidencia media de 0,01%, año 2014.⁹

- *Position statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research and the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, refiere una incidencia en un rango de 0 a 0,186%, año 2015.⁵⁵
- Consenso Internacional, refiere una incidencia en un rango de 0,001 a 0,069%, año 2015.⁵⁶
- Informe de la *American Society for Bone and Mineral Research*, refiere una incidencia en un rango de 0,001 a 0,01%, año 2016.⁵⁷
- Informe de una fuerza de tareas internacional, refiere una incidencia en un rango de 0,001 a 0,069%, año 2017.⁵⁸

La experiencia argentina en un centro de alta derivación mostró que, en más de 25.000 pacientes atendidos en un período de 7 años, la incidencia de ONNM fue de 0,33% y su prevalencia fue de 31,15%.¹⁵

Denosumab en dosis bajas

Hasta el momento no existen estudios prospectivos, aleatorizados y a doble ciego que relacionen tratamientos con Dmab (sin presentar antecedentes de toma de BF o sin ser tratados con BF luego del Dmab), con respecto a la ONMM.

Durante el estudio FREEDOM (*Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis Every 6 Months*), que incluyó 4550 mujeres posmenopáusicas con osteoporosis que recibieron tratamiento con Dmab en bajas dosis (60 mg cada 6 meses), no hubo reporte de casos de ONMM.⁷ Cabe señalar que en dicho estudio no hubo evaluación prospectiva de odontólogos intervinientes durante el desarrollo de la investigación. Sin embargo, durante la fase *open-label* de extensión de este estudio por hasta 10 años, se reportaron 13 casos de ONMM (diagnosticada por los odontólogos particulares de cada paciente), lo que representa una incidencia de 5,2 por 10.000 pacientes-año.^{59, 60} El riesgo se incrementó

con la duración de la exposición al Dmab: 0,04% a 3 años; 0,06% a 5 años; 0,44% a 10 años.⁶¹

El estudio fase III ABCSG-18 (*Adjuvant Denosumab in Breast Cancer*) evaluó a 1711 mujeres con cáncer de mama y receptores hormonales positivos bajo tratamiento con dosis bajas de Dmab para prevención y/o tratamiento de osteoporosis asociada al tratamiento con inhibidores de aromatasa. En este estudio no se reportaron casos de ONMM.^{46, 61}

En datos previos, obtenidos de los informes de control de seguridad *post-marketing*, con una exposición estimada al Dmab de 1.252.566 pacientes-año, se encontraron reportes de 32 casos de ONMM, pero todos tenían antecedentes de uso de BF.⁶²

No hay otra información cierta sobre prevalencia de ONMM asociada al tratamiento con Dmab en baja dosis.³⁰

Numerosos estudios han revelado que la dosis y la duración de exposición a los agentes antirresortivos parecen ser importantes factores de riesgo, tanto en pacientes osteoporóticos como en oncológicos. Es conocido que el uso de dosis altas y/o frecuentes, principalmente de drogas antirresortivas de alta potencia, como ocurre en el caso de los pacientes oncológicos, se asocia a un riesgo muy superior para desarrollar ONMM en relación con el de los pacientes con patología ósea benigna, bajo tratamiento con dosis menores y/o menos frecuentes.⁶³

Incidencia de la osteonecrosis maxilar asociada a medicamentos antirresortivos (anticatabólicos) en dosis altas

Diversos estudios clínicos prospectivos de fase III indicaron que las incidencias de ONMM en pacientes con metástasis óseas tratados con Zol o Dmab son similares: en pacientes con cáncer de mama avanzado, la incidencia en los años 1, 2 y 3 fue de 0,5, 1,2 y 1,4%, respectivamente, con Zol, y 0,8, 1,9 y 2%, respectivamente, con Dmab.⁶⁴

Un estudio de fase III comparó el uso de Zol (4 mg cada 4 semanas) con el de Dmab (120 mg cada 4 semanas) para el tratamiento de metástasis óseas en 1776 pacientes con cánceres avanzados (excluyendo los de próstata o mama). Recibieron el tratamiento por un tiempo medio de 7 meses. Desarrollaron ONMM 1,3% de los tratados con Zol y 1,1% de los tratados con Dmab. Los autores destacaron que el 81% de los que desarrollaron ONMM estuvieron expuestos a factores de riesgo conocidos para esta complicación.⁶⁵

Fizazi y col. estudiaron la ONMM en pacientes con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración: su incidencia a 1 y 2 años fue de 1% y 1% en el grupo Zol (duración media del estudio: 11,2 meses) y 1% y 2% en el grupo Dmab, respectivamente (duración media: 12,2 meses).⁶⁶

Saad y col. evaluaron a pacientes con metástasis óseas secundarias a tumores sólidos o mieloma múltiple que fueron aleatorizados para recibir Dmab (120 mg) o Zol (4 mg) cada 4 semanas. Los investigadores realizaron examen bucal basal y cada 6 meses. De 5723 pacientes enrolados, 89 (1,6%) desarrollaron ONMM: Zol 37 (1,3%) y Dmab 52 (1,8%) ($p = 0,13$). El 61,8% de los pacientes con ONMM se había sometido a extracción dental. El tratamiento del problema oral fue conservador en más del 95% de los pacientes; remitieron el 36% de ellos: con Zol 29,7% y con Dmab: 40,4%.⁶⁷

En un metanálisis, Limones y col. no encontraron diferencias clínicas significativas en relación con las necrosis óseas asociadas a BF o a Dmab, coincidente con la prescripción a alta concentración.⁶⁸

Stopeck y col. publicaron un estudio abierto a 2 años, extensión de los estudios fase III descriptos, en los cuales los pacientes continuaron con Dmab o fueron cambiados de Zol a Dmab. La incidencia de ONMM (ajustada por pacientes-año de exposición) entre quienes recibieron Dmab fue de 1,1%



en el 1^{er} año, 3,7% en el 2^{do} año y 4,6% en adelante. Destacaron el incremento del riesgo de la complicación con mayor tiempo de tratamiento.⁶⁹

Otto y col. realizaron una revisión de los estudios que evaluaron la prevalencia de casos de ONMM en patología maligna y los factores precipitantes⁷⁰ (Tabla IV).

Tabla IV. Prevalencia de ONMM en diversas patologías malignas ⁷⁰

Autor y año	Tipo de estudio	Número	Diagnóstico	Prevalencia	Factor precipitante
Boonyapakorn 2008	Prospectivo	80	Cáncer	3,1	77% posexodoncia, 23% espontáneo
Vahtsevanos 2009	Retrospectivo	1621	Cáncer	8,5% mieloma múltiple; 4,9% cáncer de próstata; 3,1% cáncer de mama	No se detalla
Bahmias 2005	Prospectivo	252	Cáncer	9,9% mieloma múltiple; 6,5% cáncer de próstata; 2,9% cáncer de mama	Casi todas luego de procedimientos dentales
Dimopoulos 2006	Prospectivo	202	Mieloma múltiple	7,4%	No se detalla
Wang 2007	Retrospectivo	447	Cáncer	No se detalla	No se detalla
Hoff 2008	Retrospectivo	1888	Cáncer	No se detalla	No se detalla
Thumbigere-Math 2012	Retrospectivo	576	Cáncer	7,2% mieloma múltiple; 4,2% cáncer de mama; 2,4% cáncer de próstata	59% posexodoncia, 41% espontáneo
Assaf 2013	Retrospectivo	169	Cáncer	8,9%	No se detalla
Rugani 2014	Retrospectivo	63	Cáncer de mama	10,4%	No se detalla
Walter 2008	Prospectivo	43	Cáncer de próstata	18,6%	100% posexodoncia o lesión por prótesis
Walter 2009	Retrospectivo	75	Cáncer de mama	5,3%	77% posexodoncia, 23% espontáneo

Tiempo de exposición al tratamiento en dosis bajas

Jung y col.⁷¹ evaluaron retrospectivamente los casos de ONMM ocurridos en Corea entre los 13.730 nuevos usuarios de BF entre 2006 y 2013. El riesgo fue muy bajo en los usuarios de menos de 1 año y de 1-2 años, pero pasó a ser 3 veces mayor en los que los recibieron por más de 2 años.

Barasch y col.⁷² informaron que el riesgo de ONMM comienza dentro de 2 años de tratamiento y aumenta drásticamente después de 2 años. Este umbral de cambio de incidencia entre los 2

a 3 años de tratamiento también fue destacado por la AAOMS en 2014.⁹

En el estudio argentino ya mencionado se determinó que, en pacientes que tomaban bajas dosis de antirresortivos, la ONMM se produjo luego de 1,6 a 20 años desde el inicio del tratamiento, mientras que en los que tomaban dosis altas, la lesión se evidenció de 1,25 a 4 años de iniciado el tratamiento.¹⁵

Sobre la base de esta incidencia, distintas sociedades han hecho sus recomendaciones respecto de la conducta intervencionista (Tabla V).

Tabla V. Recomendaciones de las diferentes sociedades internacionales sobre cirugía odontológica sobre la base del tiempo de uso de antirresortivos

Sociedad	Año - primer autor	Recomendación
Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM) Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial (SECOM)	2009 - Sosa Henríquez ⁷³	Señalan un tiempo de uso límite de 3 años de tratamiento con BF para demorar o no una cirugía
<i>American Dental Association (ADA)</i>	2011 - Hellstein ⁷⁴	Con más de 2 años de uso, debería evaluarse si una cirugía debe posponerse o no. El riesgo aumenta especialmente después de 5 años de uso de BF orales para osteoporosis
<i>American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS)</i>	2014 - Ruggiero ⁹	Límite de 4 años para indicar realizar o retrasar cirugías en pacientes bajo BF

Conclusión

Dosis y tiempo de exposición al tratamiento

Si bien el riesgo de ONMM comienza a aumentar a partir de los 2 años, la mayoría de los consensos –incluidos los más recientes– coinciden en señalar el aumento del riesgo con el uso continuado de 3 años y más. Este período podría acortarse con la terapia crónica simultánea con glucocorticoides y con la presencia de otros factores de riesgo.⁷⁵

En dicha publicación se propone no posponer la cirugía dentoalveolar si el tiempo de consumo de BF fuera menor de 3 años, en ausencia de otros factores de riesgo, y suspenderlos por 3 meses en caso de que el tratamiento supere los 3 años.⁷⁵ Sin embargo, no habría beneficio clínico de la suspensión de los BF, debido a la acumulación de estos en hueso y a su efecto prolongado. El fundamento para la suspensión de la



terapéutica sería que podría haber recuperación de la función de monocitos y macrófagos y que podría mejorar la cicatrización de la mucosa oral,⁷⁶ además de permitir cierta recuperación angiogénica.⁹ No resulta clara la ventaja desde el punto de vista del recambio óseo osteoblasto-osteoclasto: es más, dicha suspensión podría eventualmente agravar la patología del paciente para la cual fue prescrito el tratamiento antirresortivo.

Además, cabe destacar que los odontólogos en la Argentina legalmente no pueden prescribir ni solicitar la suspensión de tratamientos médicos con antirresortivos. El odontólogo tiene la obligación de conocer el tratamiento sistémico comunicándose con el médico tratante, pero no puede involucrarse en la toma de decisiones que no competen a su profesión, ya que existen opciones alternativas para abordar la rehabilitación del sistema estomatognático.⁷⁷

¿Se deben suspender los bifosfonatos antes de un procedimiento odontológico para reducir el riesgo de ONMM?

Se ha recomendado vacaciones de la droga (suspensión de esta previamente y/o durante la terapia de implantes) en algunas guías clínicas publicadas.⁷⁸ Debido a la larga permanencia de los BF en hueso, ese descanso en la administración no asegura que se reanuda el recambio óseo normal. Algunos datos de un estudio muy reciente de Salgueiro y col. sugieren que una suspensión de la droga por 5 meses no es útil para prevenir ONMM en pacientes que reciben BF intravenosos.⁷⁹ Hasegawa y col. destacan la falta de evidencia que sostenga la eficacia de la interrupción de los BF orales durante plazos cortos.⁸⁰

En pacientes tratados con antirresortivos, los procedimientos odontológicos que no requieran manipulación ósea (remoción de caries, operatoria dental, endodoncia, rehabilitación protética fija o removible) pueden realizarse sin riesgo de inducir el desarrollo de ONMM.

Dado que el riesgo de complicaciones asociadas al tratamiento odontológico de cualquier tipo es similar al de la población general, en personas que recibieron un tratamiento antirresortivo durante menos de 3 años en baja dosis o durante menos de 1 año en dosis alta, se pueden efectuar terapéuticas quirúrgicas que impliquen: exodoncias, apicectomías, cistectomías, tratamientos periodontales de raspaje y alisado subgingival, así como la ortodoncia.

Si el paciente está recibiendo desde hace más de 3 años un antirresortivo en dosis baja o desde hace más de 1 año en dosis alta, se aconseja evitar la realización de exodoncias y toda aquella manipulación franca de tejido óseo, ya que tienen un mayor riesgo de desarrollar ONMM. Hay que priorizar, en cambio, tratamientos endodónticos o periodontales de detartraje supragingival.

Sin embargo, todo aquel foco séptico de gravedad con diseminación hacia planos profundos debe abordarse quirúrgicamente, independientemente del consumo de drogas antirresortivas, dado que podría evolucionar hacia mediastinitis y/o meningitis, con un riesgo significativo de mortalidad.⁷⁷⁻⁸¹ En cambio, los procedimientos odontológicos que no requieran manipulación ósea pueden realizarse con total habitualidad, sin riesgo de inducir el desarrollo de ONMM, independientemente de la dosis y del tiempo de tratamiento con antirresortivos. Estos procedimientos incluyen: remoción de caries, operatoria dental, endodoncia, rehabilitación protética fija o removible.

La ortodoncia, según la evidencia actual, no se asocia con el riesgo de ONMM. Por otra parte, dado que los antirresortivos disminuirían la generación de reabsorción y formación ósea ante las fuerzas de presión y tensión, es probable que no se produzca la movilización deseable de las piezas dentarias.

No existe evidencia publicada hasta el momento de ONMM en pacientes pediátricos.

La interrupción del tratamiento con drogas antirresortivas (“vacaciones de la droga”): ¿tiene algún impacto sobre la implantología?

La remodelación del hueso maxilar alrededor de un implante es mayor en comparación con la del hueso maxilar en ausencia de implantes. Su reabsorción y formación es constante ante diferentes estímulos, principalmente el estímulo oclusal. Es necesario tener presente que la oseointegración (relación íntima entre implante y tejido óseo) es parcial (“oseointegración amigable”, según refiere Cabrini)¹¹ y se limita a las necesidades puramente mecánicas.¹³

Esta situación condiciona que el hueso maxilar perimplantar presente aún mayor remodelación desde el punto de vista fisiológico. Dicha remodelación vitalicia es interrumpida, en algunos pacientes, por la prescripción de antirresortivos.⁸²

Tanto el consenso canadiense⁸³ como el de la AAOMS⁹ contraindican los tratamientos implantológicos en pacientes que reciben BF por indicación oncológica. El hueso perimplantar sufre remodelaciones continuas en la interfase implante-tejido óseo y existe la posibilidad de una ONMM a largo plazo. Si bien algunas publicaciones aseguran que no existe ninguna diferencia histológica significativa entre hueso perimplantario en pacientes tratados con BF respecto de los casos controles,⁸⁴ Picardo y Rey describieron que el 14% de las osteonecrosis asociadas a BF se originaron luego de la colocación de implantes.¹⁵

Por otra parte, existen pocos datos en la literatura sobre el tratamiento de implantes dentales en pacientes que reciben drogas antirresortivas en dosis bajas. Basados en datos epidemiológicos, si bien existe ONMM asociada, su incidencia sería baja.^{38,78}

Ante la necesidad de rehabilitar el sistema estomatognático se pueden utilizar diversos recursos protéticos (prótesis fija o removible) para evitar la utilización de implantes o la colocación de injertos para estabilizar la oclusión,

independientemente del agente antirresortivo que el paciente esté recibiendo.

¿Se puede suspender el denosumab?

Si bien tanto los BF como el Dmab son drogas antirresortivas y están indicadas para las mismas situaciones clínicas, hay que destacar que, por su mecanismo de acción, los BF permanecen un tiempo prolongado en el organismo, adheridos a los cristales de hidroxiapatita luego de suspendidos. En cambio, el Dmab tiene un efecto reversible y al suspenderlo se suele observar un “rebote” del efecto antirresortivo con un importante incremento en los marcadores de resorción y una consecuente pérdida ósea rápida y significativa.⁸⁵ Este estado de alto recambio transitorio, en algunos casos, se ha asociado a fracturas vertebrales durante el año posterior a la suspensión o por retraso de pocos meses en la siguiente dosis.⁸⁶⁻⁸⁹ Para ejemplificar este tema se ha reportado un caso clínico con una fractura vertebral en el sillón del odontólogo.⁹⁰ Por lo tanto, los tratamientos antirresortivos exigen una estricta adherencia y no deben suspenderse en ninguna circunstancia sin supervisión médica. Las guías internacionales recomiendan indicar un tratamiento con BF luego de decidir la suspensión del Dmab para prevenir la pérdida ósea y la potencial ocurrencia de fracturas vertebrales.^{91, 92}

¿Cómo proceder en un paciente bajo tratamiento con denosumab?

En caso de planificar un procedimiento invasivo sobre el maxilar en pacientes bajo tratamiento con Dmab cada 6 meses, varios referentes en el tema sugieren realizar la primera etapa quirúrgica a los 5 a 6 meses de la última aplicación de esta droga y postergar 2 meses la nueva inyección de esta (es decir, aplicar a los 7-8 meses de la previa) para permitir una mejor cicatrización ósea. Sin embargo, poniendo en evidencia que el tema no está dilucidado, Watts reanalizó la extensión del estudio FREEDOM hallando una incidencia de ONMM



de 0,05% (5 de cada 10.000) y de 0,68% en los que sufrieron maniobras invasivas. Como todos tuvieron buena evolución (e incluso 8/13 continuaron con Dmab), sugieren que no debería discontinuarse ante procedimientos invasivos.⁹³

En una reciente revisión, Romero-Ruiz y col. destacaron que el riesgo de desarrollo de ONMM debido a la colocación de implantes en pacientes que reciben antirresortivos (BF y Dmab), tanto en altas como en bajas dosis, sería similar en valores de incidencia en comparación con las exodoncias. Por este motivo, la colocación de implantes estaría contraindicada en estos pacientes.⁹⁴

Campisi y col. (SICMF/SIPMO: *Symposium of Italian Society of Oral Pathology and Medicine*), establecieron como buena práctica no realizar rehabilitación implantológica en pacientes con patología oncológica y consumo de antirresortivos (BF y Dmab) en alta dosis.⁹⁵

Si se decide suspender el antirresortivo, ¿tiene alguna utilidad la medición de los marcadores de remodelación ósea para evaluar cuándo iniciar un procedimiento oral invasivo?

Los marcadores bioquímicos del recambio óseo se clasifican en marcadores de formación ósea: osteocalcina e isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (FAO) y marcadores de resorción ósea: β -CrossLaps o CTX y N-Telopéptidos urinarios (NTX). Todos, salvo este último, se miden en suero. Los marcadores de resorción informan sobre la actividad osteoclástica de degradación o resorción ósea: aumentan en situaciones de pérdida esquelética y disminuyen cuando existe supresión o disminución de dicha actividad. Actualmente, el más usado de estos marcadores es el CTX sérico.

Marx y col. sugirieron que no debería realizarse cirugía dental sino hasta que los niveles de CTX sérico sean iguales a 150 pg/ml o mayores y que el tratamiento con BF debería ser suspendido por 4-6 meses, si fuera necesario,

para alcanzar ese nivel umbral.⁹⁶ Sin embargo, los niveles séricos de CTX no reflejan por sí solos el proceso de remodelación ósea,⁹⁷ por lo cual las evaluaciones bioquímicas, no solo del CTX sino también del NTX o TRAP (fosfatasa ácida tartrato-resistente), no serían válidas para predecir el índice de riesgo de ONMM.⁹⁷ Picardo y Rey no encontraron una disminución significativa en los niveles de CTX en aquellos pacientes con ONMM, respecto de aquellos pacientes bajo tratamiento con BF pero que no habían desarrollado dicha complicación.¹⁵

Lehrer y col. realizaron dos estudios sin ningún resultado que asociara CTX ni otros marcadores (NTX urinario, fosfatasa alcalina ósea u osteocalcina) con el riesgo de ONMM.⁹⁸

Por otra parte, Salgueiro y col. evaluaron el potencial beneficio de medir CTX antes de realizar procedimientos orales invasivos y concluyeron que no es un marcador fiable en la predicción o la prevención de ONMM.⁷⁹

En resumen, el nivel sérico de CTX no sería un predictor eficaz de ONMM en pacientes bajo tratamiento crónico con drogas antirresortivas, por lo cual no sería útil como parámetro aislado para decidir una intervención quirúrgica odontológica.⁹⁹ En tal sentido, está en estudio la utilidad de la biomarcación genómica.³⁵

Recomendaciones clínicas

Evaluación médico-odontológica en pacientes que iniciarán o que ya reciben tratamiento con bifosfonatos o denosumab:

- Antes de iniciar un tratamiento antirresortivo en baja o alta dosis, se recomienda realizar interconsulta con el odontólogo para evaluar potenciales necesidades quirúrgicas.

- Se debería recomendar a quienes reciben antirresortivos, que hagan controles orales periódicos (semestrales) y que, ante cualquier síntoma compatible con una fase temprana de ONMM, soliciten una consulta con su odontólogo.

La Historia Clínica odontológica debe incluir:

- A) Anamnesis con registro de:
- ✓ Enfermedades sistémicas.
 - ✓ Medicación antirresortiva (tipo y tiempo de uso, actual y/o previo, frecuencia de su administración).
 - ✓ Otros tratamientos farmacológicos concomitantes.
 - ✓ Antecedentes de tratamiento radiante en cabeza y/o cuello.
- B) Búsqueda de antecedentes o presencia actual de:
- ✓ ONMM.
 - ✓ Fracturas atípicas.
- C) Inspección clínica:
- ✓ Identificación de focos sépticos bucales para tratarlos antes de cumplir 3 años de tratamiento con dosis bajas de antirresortivos, o antes de cumplir un año, si recibió dosis altas.
 - ✓ Evaluar el estado de prótesis fijas o removibles.
- D) Inspección radiológica:
- ✓ Solicitar radiografía panorámica.
 - ✓ Solicitar TAC y/o tomografía *Cone Beam* en caso de haber sospecha de ONMM (estadios 0, 1, 2, 3); seguimiento imagenológico semestral con la finalidad de evaluar la secuestrectomía espontánea, si el paciente tuviera una ONMM.

Comentarios finales

Los antirresortivos son drogas eficaces y seguras, que los médicos deben indicar en forma responsable: se debería evitar su uso indiscriminado y limitar la duración del tratamiento al tiempo estrictamente necesario, de acuerdo con el riesgo de fractura.

Por otra parte, no administrar un tratamiento farmacológico adecuado para la patología ósea, cuando está correctamente indicado, conlleva un riesgo para la salud general del paciente: en los pacientes con osteoporosis, riesgo de sufrir fracturas de vértebras o de cadera; en los pacientes oncológicos, riesgo de padecer fracturas patológicas, propagación del cáncer, hipercalcemia, todos ellos asociados con deterioro de calidad de vida, complicaciones y mayor riesgo de muerte. Dicho riesgo excede en forma muy significativa el de las eventuales complicaciones odontológicas.

Creemos imprescindible que el médico y el odontólogo trabajen en conjunto para prevenir la aparición de la ONMM, un evento infrecuente, pero que puede generar elevada morbilidad en los pacientes.

Es recomendable la evaluación dental antes de instaurar un tratamiento crónico con drogas antirresortivas con el objeto de realizar las intervenciones odontológicas que sean necesarias.

La comunicación fluida entre profesionales puede evitar situaciones innecesarias de incertidumbre y desconfianza en el paciente.

Recibido: febrero 2021

Aceptado: marzo 2021

Referencias

1. Coxon FP, et al. Protein geranylgeranylation is required for osteoclast formation, function, and survival: inhibition by bisphosphonates and GGTI-298. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1467-76.
2. Benford HL, et al. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone* 2001; 28: 465-73.
3. Rodan GA, Reszka AA. Bisphosphonate mechanism of action. *Curr Mol Med* 2002; 2: 571-7.
4. Nancollas GH, et al. Novel insights into actions



- of bisphosphonates on bone: differences in interactions with hydroxyapatite. *Bone* 2006; 38: 617-27.
5. Lewiecki EM. Denosumab - An emerging treatment for postmenopausal osteoporosis. *Expert Opin Biol Ther* 2010; 10: 467-76.
 6. Bone HG, et al. 10 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the phase 3 randomised FREEDOM trial and open-label extension. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017; 5: 513-23.
 7. Cummings SR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361: 756-65.
 8. Burr DB. ASBMR Task Force. Summary of ASBMR Task Force on ONJ. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2007; 7: 354-5.
 9. Ruggiero SL, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw - 2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72: 1938-56.
 10. Junquera LM, Martín-Granizo R. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteonecrosis de los maxilares por bisfosfonatos: Recomendaciones de la Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial (SECOM). *Rev Esp Cir Oral Maxilofac* 2008; 30: 145-56.
 11. Cabrini RL. Anatomía Patológica Bucal. Buenos Aires: Editorial Munid. S.A.I.C. y F1980, p. 208-18.
 12. Nabil S, Samman N. Incidence and prevention of osteoradionecrosis after dental extraction in irradiated patients: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011; 40: 229-43.
 13. Chiapinotto Boff R, Gocalves Salum F, Figueiredo M. A, Cherubini K. Important aspects regarding the role of microorganisms in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Oral Biology* 2014; 59: 790-9.
 14. Paparella ML, Brandizzi D, Santini Araujo E, Cabrini RL. Osteonecrosis of the jaw associated with bisphosphonates. A histopathological study of 24 cases. *JMS Dent* 2014; 2: 1037.
 15. Picardo SN, Rey EA. Osteonecrosis of the jaw in patients undergoing long-term treatment with bisphosphonates: incidence and associated characteristics. *J Clin Med Case Stud* 2017; 2: 48-54.
 16. Bedogni A, et al. Staging of osteonecrosis of the jaw requires computed tomography for accurate definition of the extent of bony disease. *Brit J Oral Max Surg* 2014; 52: 603-8.
 17. Fleisher KE, Kontio R, Otto S (editors). Antiresortive drug-related osteonecrosis of the jaw (ARONJ) - a guide to research. Switzerland: AOCMF; 2016.
 18. Allen MR. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: moving from the bedside to the bench. *Cells Tissues Organs* 2009; 189: 289-94.
 19. Misso G, et al. Evaluation of the in vitro and in vivo antiangiogenic effects of denosumab and zoledronic acid. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 1491-500.
 20. Gao SY, et al. Zoledronate suppresses angiogenesis and osteogenesis by inhibiting osteoclasts formation and secretion of PDGF-BB. *PLoS One* 2017; 12(6): 1-15: e0179248.
 21. Santini D, et al. Repeated intermittent low-dose therapy with zoledronic acid induces an early, sustained, and long-lasting decrease of peripheral vascular endothelial growth factor levels in cancer patients. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4482-6.
 22. Negroni M. Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica, 2.^a ed, 2.^a reimp. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2014, p. 226.
 23. Ruggiero S, et al. Task Force on Design and Analysis in Oral Health Research: Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. *JDR Clin Trans Res* 2018; 3: 222-5.
 24. Bagan J, et al. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with intravenous bisphosphonates (BRONJ): A concise update. *Oral Oncol* 2009; 45: 551-4.
 25. Silverman SL, Landesberg R. Osteonecrosis of the jaw and the role of bisphosphonates: a critical review. *Amer J Med* 2009; 122: 33-45.
 26. Kassolis JD, et al. Histopathologic finding in bone from edentulous alveolar ridges: a role

- in osteonecrosis of the jaws? *Bone* 2010; 47: 127-30.
27. Hoefert S, et al. Importance of microcracks in etiology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a possible pathogenic model of symptomatic and non-symptomatic osteonecrosis of the jaw based on scanning electron microscopy findings. *Clin Oral Investig* 2010; 14: 271-84.
 28. Dieli F, et al. Induction of $\gamma\delta$ T-lymphocyte effector functions by bisphosphonate zoledronic acid in cancer patients in vivo. *Blood* 2003; 102: 2310-1.
 29. Escudero ND, Mandalunis PM. Influence of bisphosphonate treatment on medullary macrophages and osteoclasts: an experimental study. *Bone Marrow Res* 2012:526236.
 30. Kuroshima S, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw: a literature review. *J Oral Biosci* 2019; 61: 99-104.
 31. Otto S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: is pH the missing part in the pathogenesis puzzle? *J Oral Maxillofac Surg* 2010; 68: 1158-61.
 32. Compston J. Pathophysiology of atypical femoral fractures and osteonecrosis of the jaw. *Osteoporos Int* 2011; 22: 2951-61.
 33. Sarasquete ME, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood* 2008; 112: 2709-12.
 34. Wan JT, et al. Mitigating osteonecrosis of the jaw (ONJ) through preventive dental care and understanding of risk factors. *Bone Res* 2020; 8: 14.
 35. Fung PL. The GENVABO study. Genetic variants as biomarkers of jaw osteonecrosis associated with bisphosphonates: a large, multicentre genome-wide association study and detailed analyses of clinical phenotype Doctoral Thesis. London: University College; 2015.
 36. Woo SB, et al. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med* 2006; 144: 753-61.
 37. Shibahara T. Antiresorptive Agent-Related Osteonecrosis of the Jaw (ARONJ): a twist of fate in the bone. *Tohoku J Exp Med* 2019; 247: 75-86.
 38. Stavropoulos A, et al. The effect of antiresorptive drugs on implant therapy: systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res* 2018; 29; 18: 54-92.
 39. Pozzi S, et al. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ). *Stampa* 2014; 153-65.
 40. Leizaola-Cardesa IO, et al. Bisphosphonates, vitamin D, parathyroid hormone, and osteonecrosis of the jaw. Could there be a missing link? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2016; 21: 236-40.
 41. Hokugo A, et al. Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 1337-49.
 42. Sánchez A. Treatment of osteoporosis with bisphosphonates. Is vitamin D necessary? (Letter to the Editor). *J Bone Biol Osteoporos* 2019; 5: 132-4.
 43. Yamashita J, et al. Updates on osteonecrosis of the jaw. *Curr Opin Support Palliat Care* 2010; 4: 200-6.
 44. Dodson TB. The frequency of medication-related osteonecrosis of the jaw and its associated risk factors. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2015; 27: 509-16.
 45. Picardo SN, Rodríguez Genta SA, Rey EA. Osteonecrosis maxilar asociada a bifosfonatos en pacientes osteoporóticos. *Rev Esp Cir Oral Maxillofac* 2015; 37: 103-7.
 46. Nicolatou-Galitis O, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw: definition and best practice for prevention, diagnosis, and treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2019; 127: 117-35.
 47. Pimolbutr K, et al. Osteonecrosis of the jaw associated with antiangiogenics in antiresorptive-naive patient: a comprehensive review of the literature. *Biomed Res Int* 2018: 8071579.
 48. Mavrokokki T, et al. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of



- the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65: 415-23.
49. Khosla S, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 1479-91.
50. Grbic JT, et al. The incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. *J Am Dent Assoc* 2010; 141: 1365-70.
51. Yoneda T, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: position paper from the Allied Task Force Committee of Japanese Society for Bone and Mineral Research, Japan Osteoporosis Society, Japanese Society of Periodontology, Japanese Society for Oral and Maxillofacial Radiology, and Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons. *J Bone Miner Metab* 2010; 28: 365-83.
52. Khan AA, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in Ontario: a survey of oral and maxillofacial surgeons. *J Rheumatol* 2011; 38: 1396-402.
53. Malden N, Lopes V. An epidemiological study of alendronate-related osteonecrosis of the jaws. A case series from the south-east of Scotland with attention given to case definition and prevalence. *J Bone Miner Metab* 2012; 30: 171-82.
54. Hansen PJ, et al. Incidence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws (BRONJ) in patients taking bisphosphonates for osteoporosis treatment - a grossly underestimated risk? *Clin Oral Investig* 2013; 17: 1829-37.
55. Kim KM, et al. Medication Related Osteonecrosis of the Jaw: 2015 Position Statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research and the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. *J Bone Metab* 2015; 22: 151-65.
56. Khan AA, et al. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. *J Bone Miner Res* 2015; 30: 3-23.
57. Adler RA, et al. Managing osteoporosis in patients on long-term bisphosphonate treatment: report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2016; 31: 16-35.
58. Khan AA, et al. Case-based review of osteonecrosis of the jaw (ONJ) and application of the international recommendations for management from the International Task Force on ONJ. *J Clin Densitom* 2017; 20: 8-24.
59. Bone HG, et al. 10 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the phase 3 randomised FREEDOM trial and open-label extension. *Lancet Diab Endocrinol* 2017; 5: 513-23.
60. Anastasilakis AD, et al. Therapy Of Endocrine Disease: Denosumab vs bisphosphonates for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2018; 179: 31-45.
61. Gnant M, et al. Adjuvant denosumab in breast cancer (ABCSG-18): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2015; 386: 433-43.
62. Geller M, et al. SAT0479 Early findings from Prolia® post-marketing safety surveillance for atypical femoral fracture, osteonecrosis of the jaw, severe symptomatic hypocalcemia, and anaphylaxis. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 766-7.
63. Baim S, Miller PD: Assessing the clinical utility of serum CTX in postmenopausal osteoporosis and its use in predicting risk of osteonecrosis of the jaw. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 561-74.
64. Stopeck AT, et al. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5132-9.
65. Henry DH, et al. Randomized, double-blind study of denosumab versus zoledronic acid in the treatment of bone metastases in patients with advanced cancer (excluding breast and prostate cancer) or multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1125-32.

66. Fizazi K, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet* 2011; 377: 813-22.
67. Saad F, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Ann Oncol* 2012; 23: 1341-7.
68. Limones A, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ) in cancer patients treated with denosumab vs. zoledronic acid: a systematic review and meta-analysis. *Med Oral Patol Cir Bucal* 2020; 25: 326-33.
69. Stopeck AT, et al. Safety of long-term denosumab therapy: results from the open label extension phase of two phase 3 studies in patients with metastatic breast and prostate cancer. *Support Care Cancer* 2016; 24: 447-55.
70. Otto S. Medication-related osteonecrosis of the jaws: bisphosphonates, denosumab, and new agents. Berlin Heidelberg: Springer; 2015.
71. Jung S-M, et al. Dose-intensity of bisphosphonates and the risk of osteonecrosis of the jaw in osteoporosis patients. *Front Pharmacol* 2018; 9: 796.
72. Barasch A, et al. Risk factors for osteonecrosis of the jaws: a case-control study from the CONDOR dental PBRN. *J Dent Res* 2011; 90: 439-44.
73. Sosa Henríquez M, et al. Osteonecrosis de los maxilares: documento de consenso. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2009; 1: 41-51.
74. Hellstein JW, et al. Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc* 2011; 142: 1243-51.
75. Ruggiero SL, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws - 2009 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67 (5): 2-12.
76. Goncalves Da Silva A, et al. The effects of discontinuing long-term alendronate therapy in a clinical practice setting. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2011; 55: 272-8.
77. Picardo SN, Rey EA. Clinical healthcare protocol for bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Int J Dent Oral Health* 2017; 3: 42-4.
78. Schliephake H, et al. Drugs and diseases: summary and consensus statements of group 1. The 5th. EAO Consensus Conference 2018. *Clin Oral Implants Res* 2018; 29 (18): 93-9.
79. Salgueiro M, et al. Value of pre-operative CTX serum levels in the prediction of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): a retrospective clinical study. *EPMA J* 2019; 10: 21-9.
80. Hasegawa T, et al. A multicenter retrospective study of the risk factors associated with medication-related osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients receiving oral bisphosphonate therapy: can primary wound closure and a drug holiday really prevent MRONJ? *Osteoporos Int* 2017; 28: 2465-73.
81. Albanese M, et al. Conservative non-surgical management in medication related osteonecrosis of the jaw: a retrospective study. *Clin Exp Dent Res* 2020; 10:1002.
82. Gatti C y col. Manual Ilustrado de Implantología Oral. Caracas: AMOLCA; 2010.
83. Marx RE. Oral and intravenous bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, history, etiology, prevention and treatment (Canadian consensus). Canada: Quintessence Publishing; 2007.
84. Flichy-Fernández AJ, et al. Bisphosphonates and dental implants: current problems. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; 14: 355-60.
85. Zanchetta MB, et al. Significant bone loss after stopping long-term denosumab treatment: a post FREEDOM study. *Osteoporos Int* 2018; 29: 41-7.
86. Niimi R, et al. Rebound-associated vertebral fractures after discontinuation of denosumab for the treatment of maxillitis. *Osteoporos Int* 2018; 29: 769-72.
87. González-Rodríguez E, et al. Increased risk



- of multiple spontaneous vertebral fractures at denosumab discontinuation must be taken into account. *J Clin Oncol* 2020; 38: 1641-2.
88. Sánchez A, et al. Cascada de fracturas vertebrales en paciente osteoporótica al año de suspender denosumab. *Rev Med Rosario* 2018; 84: 22-5.
89. Buttazoni M, et al. Fracturas vertebrales múltiples post suspensión de denosumab. *Rev Arg Endocrinol Metab* 2017; 54 (suplemento)/ 117 y *Actual Osteol* 1; (1): 46-7, 2016.
90. Leaney A, Sztal-Mazer S. Rebound vertebral fracture in the dental chair during a tooth extraction whilst on a treatment holiday from denosumab to avoid ONJ. *Bone* 2018; 108: 43.
91. Tsourdi E, et al. Discontinuation of denosumab therapy for osteoporosis: a systematic review and position statement by ECTS. *Bone* 2017; 105: 11-7.
92. Nial ML, et al. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a literature review of UK policies versus international policies on the management of bisphosphonate osteonecrosis of the jaw. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2011; 49: 335-42.
93. Watts NB, et al. Invasive oral procedures and events in postmenopausal women with osteoporosis treated with denosumab for up to 10 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2019; 104: 2443-52.
94. Romero-Ruiz MM, Romero-Serrano M, Serrano-González A, Serrera-Figallo MA, Gutiérrez-Pérez JL, Torres-Lagares D. Proposal for a preventive protocol for medication-related osteonecrosis of the jaw. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2020; 9: 24197.
95. Campisi G, Mauceri R, Bertoldo F, et al. Medication-Related Osteonecrosis of Jaws (MRONJ) Prevention and Diagnosis: Italian Consensus Update 2020. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17: 5998.
96. Marx RE, et al. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2007; 65: 2397-410.
97. Cameron L, Susuki JB. CTX biochemical marker of bone metabolism. Is it a reliable predictor of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws after surgery? Part II: A Prospective Clinical Study. *Implant Dentistry* 2010; 19: 29-38.
98. Lehrer S, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67: 159-61.
99. Enciso R, et al. Assessing the utility of serum C-telopeptide cross-link of type 1 collagen as a predictor of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc* 2016; 147: 551-60.

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 16, Nº 1, enero / abril 2020

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Síndrome metabólico y masa ósea

Metabolic syndrome and bone mass

Ariel Sánchez

7

Comentario editorial

Editorial comment

Emilio J. A. Roldán

10

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Recidiva del hiperparatiroidismo secundario a enfermedad renal crónica en diálisis luego de la paratiroidectomía

Recurrence of secondary hyperparathyroidism in dialysis patients after parathyroidectomy

Betiana Mabel Perez, Ariela Verónica Kitaigrodsky, María Diehl, Guillermo Rosa-Diez, Marcelo Figari, Andrea Kozak, Luisa Carmen Plantalech

12

Demostración original de la interferencia de los efectos modeladores corticales expansivos de un entrenamiento sobre los de otro ulterior (La modelación 'marca el terreno' para la remodelación)

Original demonstration of the interference of the expansive cortical modeling effects of one training on those of another further training (Modeling 'sets limits' for remodeling)

Leandro Pisani, Nicolás Pilot, Sergio Lüscher, Leandro Mackler, Laura Marcela Nocciolino, José Luis Ferretti, Gustavo Roberto Cointry, Ricardo Francisco Capozza

26

La exposición prenatal a fluoruro induce cambios en la porción coronal de la cripta ósea y altera la erupción dental en crías lactantes

Prenatal fluoride exposure induces changes in the coronal portion of bony crypt and alters dental eruption in suckling rats

Victoria Interlandi, Pablo Fontanetti, Andrea Delgado, Rubén Ponce, Raquel Gallará, Viviana Centeno

35



ACTUALIZACIONES / Review

¿A qué pregunta responde “el hueso”? Una cuestión de direccionalidad estructural y organización biológica (hueso y huesos, del big-bang a la osteoporosis)

To which question is ‘bone’ the answer? A matter of structural directionality and biological organization (bone and bones, from the big bang to osteoporosis)

José Luis Ferretti, Nicolás Pilot, Leandro Pisani, Sergio Lüscher, Leandro Mackler, Gustavo Roberto Cointry, Ricardo Francisco Capozza **47**

Nuevos avances en el conocimiento de la historia natural de la displasia fibrosa

News advances in the knowledge of natural history of the fibrous dysplasia

Silvina Mastaglia, Diana González, Beatriz Oliveri **67**

REPORTE DE CASOS / Case Report

Hipoparatiroidismo y calcificaciones cerebrales: reporte de caso

Hypoparathyroidism and brain calcifications: a case report

Luis Agustín Ramírez Stieben, Noelia Andrea Pellizzon **77**

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Authors guidelines **83**

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 16, Nº 2, mayo / agosto 2020

ÍNDICE

EDITORIAL / *Editorial*

¿Son iguales todos los osteocitos? Diferencia en la función de los osteocitos dependiendo del sexo de los animales

Are all osteocytes the same? Different function of osteocytes depending on the sex of the experimental animals.

Lilian I. Plotkin

93

ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

Vertebral fractures in adult women with type 2 diabetes mellitus

Fracturas vertebrales en mujeres adultas con diabetes mellitus tipo 2

Luis Agustín Ramírez Stieben, Raquel Dobry, Adrián González, Lilian Anca, Salvador Bayo, María Isabel López, Ariel Sánchez, María Lorena Brance

95

Hipofosfatemia crónica persistente de causa no determinada y su repercusión músculo- esquelética

Persistent hypophosphatasemia and its musculoskeletal repercussion

Ariela Verónica Kitaigrodsky, Sebastián Marciano, Graciela Beatriz Jiménez, María Diehl, Luisa Plantalech

104

ACTUALIZACIONES / *Review*

Importancia de la vitamina D en la época de covid-19

Importance of vitamin D in the time of covid-19

Mariana Seijo, Beatriz Oliveri

116

Acciones óseas de las hormonas de la neurohipófisis

Bone actions of neurohypophyseal hormones

Armando Luis Negri

131



**Rol de los fitoestrógenos en la calcificación vascular
e interacciones óseo-vasculares**

*Role of phytoestrogens in vascular calcification
and bone-vascular interactions*

Marisa Julia Sandoval, Sabrina Belén Cepeda, Virginia Laura Massheimer **140**

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / *Authors guidelines* **154**

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 16, Nº 3, septiembre / diciembre 2020

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

- Bloqueo puberal en niños con disforia de género: ¿totalmente reversible?**
Pubertal suppression in children with gender dysphoria: fully reversible?
Fernando D. Saraví 163

COMENTARIO EDITORIAL / Editorial Comment

- Tratamientos para la osteoporosis y vacunación contra el Covid-19: recomendaciones conjuntas de las principales entidades científicas internacionales**
Osteoporosis treatments and COVID-19 vaccination: joint recommendations from main international scientific entities
Silvina Mastaglia 166

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

- Densidad mineral ósea y composición corporal en mujeres transgénero previamente al tratamiento hormonal cruzado. ¿Hay diferencias con hombres cisgénero?**
Bone mineral density and body composition in transgender females prior to cross-sex hormone treatment. Is there any difference with cisgender males?
Rubén Abdala, Alberto Nagelberg, Mariela Sesta, María Belén Zanchetta 167

ACTUALIZACIONES / Review

- Salud ósea en personas transgénero**
Bone health in transgender subjects
Rubén Abdala, Alberto Nagelberg, M. Lorena Brance 176



Micro-ARNs y células óseas

MicroRNAs and bone cells

**Marina Soledad Bonanno, Estefanía Magali Zeni Coronel,
Mariana Seijo, Susana Noemí Zeni**

188

**Importancia de la angiogénesis en el diseño de *scaffolds*
para Ingeniería de tejido óseo**

*Importance of angiogenesis in the design of scaffolds
for bone tissue engineering*

Juan Manuel Fernández

211

Osteonecrosis de los maxilares asociada a medicamentos (ONMM)

Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ)

**Rodolfo Guelman, María Silvia Larroudé, José Luis Mansur,
Ariel Sánchez, Eduardo Vega, María Belén Zanchetta,
Silvana Noemí Picardo, Sergio A. Rodríguez Genta, Eduardo A. Rey**

232

ÍNDICE ACUMULADO / *Cumulative Index*

253

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / *Authors guidelines*

259

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

El envío de un artículo a **Actualizaciones en Osteología** es considerado como una declaración tácita de que no ha sido enviado a evaluar al mismo tiempo o aceptado para su publicación en otro medio. En las directrices para la preparación de manuscritos, **Actualizaciones en Osteología** sigue los requisitos del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE) en la versión más reciente disponible en <http://www.icmje.org>.

Los manuscritos deben ser preparados usando Word, hoja A4 con márgenes de al menos 20 mm, espacio simple, en tipografía Arial 10 u otra de tamaño similar. El manuscrito **-en español o en inglés-** debe enviarse por correo electrónico a actualizaciones@osteologia.org.ar. Las páginas deben estar numeradas consecutivamente empezando por la que incluye el título. Abreviaturas y símbolos: sólo se deberán utilizar abreviaturas estándares, evitando su uso en el título y en el resumen.

*Los manuscritos que no se ajusten a los requisitos de **Actualizaciones en Osteología**, incluidos su organización, estructura y figuras serán devueltos a los autores sin revisión.*

La **primer página** debe contener: (a) Título del trabajo en español e inglés, (b) título abreviado para el encabezado de página, (c) nombre completo de los autores -subrayado el apellido-, (d) nombre de las instituciones en la cual se desempeña cada autor, (e) dirección de correo electrónico de un autor, (f) sección de la revista a la que corresponde el artículo y (g) conflicto de intereses.

Las secciones de la revista son: **Artículos Originales, Actualizaciones, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Editoriales, Cartas al Editor.**

Los **Artículos Originales** deben ser divididos en Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los títulos deben estar escritos en letra negrita. La extensión máxima del texto recomendado es de 5.000 palabras y hasta 5 figuras y 5 tablas. Se sugiere no incluir más de 50 referencias. Las **Actualizaciones** tienen una extensión máxima recomendada de 6.000 palabras y hasta 5 figuras y 5 tablas. Se sugiere no incluir más de 60 referencias. Para las **Comunicaciones Breves** y **Casuísticas** se sugiere un máximo de 3.000 palabras de extensión y hasta 4 figuras y 4 tablas. Se sugiere no incluir más de 30 referencias. La **Casuística** deben contener las siguientes secciones: Introducción, Caso Clínico y Discusión.

Para cualquier tipo de artículo mencionado anteriormente, se debe incluir un **resumen en español y en inglés** sin incluir tablas o figuras, cada uno con una extensión máxima de 250 palabras. Además, se requieren de 3 a 6 palabras clave en inglés y español.

AUTHOR GUIDELINES

Submission of a manuscript to "**Actualizaciones en Osteología**" is regarded as a tacit declaration that has not been submitted at the same time or accepted for publication elsewhere. In the guidelines for the preparation of manuscripts, "**Actualizaciones en Osteología**" follows the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in the most recent version available in <http://www.icmje.org>.

Manuscripts should be prepared using Word on A4 paper with margins of at least 20 mm, simple spacing, in letter font type Arial 10, or other of a similar size. The manuscript **-in Spanish or in English-** should be submitted by email to actualizaciones@osteologia.org.ar. Pages must be consecutively numbered starting with the title page. Units of measurement: metric units should be used, with decimal points. Abbreviations and Symbols: only standard abbreviations should be used, avoiding them in the title and abstract.

*Manuscripts that do not conform to "**Actualizaciones en Osteología**" requirements, including requirements for manuscript organization, format, and figure will be returned to the authors without review.*

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

The journal sections include: **Original Articles, Reviews, Brief Communications, Case Reports, Editorials, Letters to the Editor.**

Original Articles should be divided into Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. Titles must be written in bold type. The recommended maximum text extension is 5,000 words and up to 5 figures and 5 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 50 references. **Reviews** have a recommended maximum text extension of 6,000 words and up to 5 figures and 5 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 60 references. **Brief Communications** and **Case Reports** should have a recommended maximum of 3,000 words of text extension and up to 4 figures and 4 tables will be accepted. It is suggested not to include more than 30 references. **Case Reports** should be divided into Introduction, Clinical Case and Discussion.

For all type of article described previously, a **250-word Abstract in Spanish and in English**, not including tables or figures, must also be included. Also, 3 to 6 key words in English and Spanish are required. Authors who are not fluent in Spanish and,



En los **Artículos Originales** y **Casuísticas** detallar la solicitud de consentimiento informado. Además se solicita se indiquen las normas y directrices éticas y los métodos estadísticos utilizados (Originales).

Para las **Cartas al editor** y **Editoriales** se sugiere un máximo de 1.000 palabras y se admitirán para las Cartas al Editor hasta 2 figuras o tablas. Se sugiere no incluir más de 10 referencias. **Agradecimientos:** la ayuda técnica, el apoyo financiero y las contribuciones que no justifican la autoría se pueden enumerar en este ítem. **Conflicto de intereses:** los autores deben revelar cualquier relación financiera que podría conducir a un conflicto de intereses en relación con el artículo publicado.

Las **referencias** deben ser numeradas consecutivamente. Usar números en superíndices para indicar las referencias en el texto. Para las referencias seguir los siguientes ejemplos:

1. Revistas: Todos los autores serán incluidos si son seis o menos; si hay más de seis, el tercero será seguido de "et al". Los títulos de las revistas deben abreviarse de acuerdo con el estilo usado en el Index Medicus (disponible en <http://www.nlm.nih.gov>). Los nombres de las revistas deben ir en itálica. Ejemplo: T Diab, Wang J, S Reinwald, Guldborg RE, Burr DB. Efectos de la combinación de tratamiento de raloxifeno y alendronato en las propiedades biomecánicas de hueso vertebral. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 270-6.
2. Capítulo de libro: Rigalli A. Eutanasia. En: Rigalli A, Di Loreto VE (eds). *Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2009, p. 31-2.
3. Sitios Web: Organización Mundial de la Salud (OMS). The Stop TB Web Alert. (2000, Dec 6) <http://www.stoptb.org/updates/index.html>

Las **Tablas** con sus respectivos títulos explicativos se presentarán al final del manuscrito numeradas en números arábigos. Deben ser indispensables y comprensibles por sí mismas. No se utilizarán líneas verticales entre las columnas y sólo se emplearán líneas horizontales en los siguientes casos: parte superior de la tabla, parte inferior del encabezado de la tabla y final de la tabla. En el texto manuscrito se indicará la ubicación aproximada con la leyenda "Insertar Tabla aquí".

Las **Figuras** deben ser presentadas separadamente del texto. El manuscrito sólo incluirá una leyenda explicativa. El formato requerido de imágenes es ".jpg o .tif" en calidad no menor de 300 dpi de resolución. No se aceptarán imágenes en archivos de *Word* ni *Power Point*. En las micrografías se debe indicar la escala o el aumento que se usó. Tener en cuenta que en la versión *on line* la imagen se mostrará a color, mientras que en la versión impresa se observará en escala de grises. En el manuscrito se indicará la ubicación aproximada con la leyenda "Insertar Figura aquí".

therefore, are not able to include the abstract and keywords in this language, can submit the manuscript without them.

In **Original papers** and **Case Reports** record informed consent by patients. Ethical standards and guidelines followed will be indicated and statistical methods will be described (in Originals).

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

Acknowledgments: technical assistance, financial support, and contributions that do not justify authorship may be listed. **Conflict of interest:** authors must disclose any financial relationship that could lead to a conflict of interest in relation to the published article.

References should be numbered consecutively. Use superscript numerals for references in the text. References should be mention according to the following examples:

1. Journals: All authors will be included if they are six or less; if more than six, the third one will be followed by "et al". The titles of journals should be abbreviated according to the style used in Index Medicus (also available in <http://www.nlm.nih.gov>). The names of journals should be in italics. Example: Diab T, Wang J, Reinwald S, Guldborg RE, Burr DB. Effects of the combination treatment of raloxifene and alendronate on the biomechanical properties of vertebral bone. *J Bone Miner Res* 2011; 26:270-6.
2. Books chapter: Rigalli A. Euthanasia. In: Rigalli A, Di Loreto VE (eds). *Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat*. Boca Raton, Florida: CRC press, 2009, p. 31-2.
3. Web sites: World Health Organization (WHO). The Stop TB Web Alert. (2000, Dec 6) <http://www.stoptb.org/updates/index.html>

Tables and its legends will be presented at the end of the manuscript numbered in Arabic numerals. They should be indispensable and comprehensible by themselves. No vertical lines between columns and horizontal lines will be used, except in general three lines: one separating the Table title, another for the headings of the rest, and the last one indicating the end of the Table. The manuscript text will indicate the approximate location with the legend "Insert Table here".

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

Todos los artículos publicados en **Actualizaciones en Osteología** están sujetos a revisión por pares. La revisión se hace por un editor y al menos dos revisores con amplia experiencia en el tema. La identidad de los autores y revisores se mantiene confidencial. El editor devolverá a los autores, sin pasar por el proceso de arbitraje aquellos manuscritos que no se ajusten a las normas de preparación o que no coincidan con los propósitos de **Actualizaciones en Osteología**. El tiempo de evaluación dura entre 30 y 60 días. El autor será notificado por correo electrónico de la aceptación (con o sin correcciones) o rechazo del manuscrito. La decisión es definitiva sin posibilidad de apelar. El Comité Editorial se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, todos los cambios de redacción necesarios de acuerdo a reglas gramaticales y de diseño. Los trabajos aceptados serán devueltos a los autores con las modificaciones solicitadas y se les concederá un periodo no mayor de 30 días para el envío de la versión corregida. Después de la aceptación y el diseño del artículo, los autores dispondrán de 72 horas para revisar la prueba de galera.

POLÍTICAS EDITORIALES

Actualizaciones en Osteología es una revista de Acceso Abierto.

Costo de publicación: La publicación de artículos no tiene costo con excepción de las imágenes a color en caso de que esto sea requerido por los autores.

Derechos de autor. Actualizaciones en Osteología es la publicación oficial de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM) que posee los derechos de autor de todo el material publicado en dicha revista.

Responsabilidades éticas. Cuando se describan experiencias en seres humanos, los autores deberán indicar si los procedimientos realizados siguieron las normas éticas de un comité institucional o regional en la experimentación con seres humanos, y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki. Los autores también enviarán el modelo de consentimiento informado utilizado para el estudio. Cuando se describen experimentos con animales, se debe indicar si se siguieron los lineamientos de un Comité o Consejo sobre el cuidado y uso de animales de experimentación.

Duplicación/publicación redundante. Los autores son responsables de asegurar que el manuscrito -incluyendo todos los datos, figuras y tablas- no ha sido publicado anteriormente. Además, es responsabilidad de los autores asegurar que el manuscrito no ha sido, ni será, sometido a evaluación por otra revista mientras está bajo revisión por Actualizaciones en Osteología. Los artículos originales que proporcionan nuevos datos de los estudios que han sido objeto de publicaciones anteriores deben evitar la superposición de los mismos y los autores deberán enviar información sobre todas las publicaciones previas al Editor responsable.

All articles published in **Actualizaciones en Osteología** are subject to peer review. The review is made by an Editor and at least two reviewers with extensive experience in the particular subject. The identity of the authors and reviewers is kept confidential. The Editor will return to the authors, without going through the arbitration process those manuscripts that do not conform to the standards of preparation or that do not match the purposes and orientation of **Actualizaciones en Osteología**. Evaluation time takes between 30 and 60 days. The corresponding author will be notified by email on the acceptance (with or without corrections) or rejection of the manuscript. This decision is final. The Editorial Committee reserves the right to introduce, to the authors' knowledge, all editorial changes required by grammatical rules and layout needs. Accepted papers will be returned with modifications to authors for any corrections and they will be granted a return period of not more than 30 days. After acceptance and layout, authors will be awarded 72 hours to review the galley proof.

EDITORIAL POLICIES

Actualizaciones en Osteología is an Open Access Journal.

Page Fees: No charge for publication is required except for color figures if requested by authors.

Copyright. Actualizaciones en Osteología is the official journal of the Argentinean Association of Osteology and Mineral Metabolism (AAOMM), which holds copyright to all material published in the Journal.

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

Duplicate/Redundant Publication. The corresponding author is responsible for ensuring that the manuscript -including all data, figures, tables, and supplementary materials- has not been previously reported or published. Further, it is the responsibility of the corresponding author to ensure that the manuscript has not been, and will not be, submitted to another journal while under review by Actualizaciones en Osteología. Original Articles providing new data from studies that have been the subject of previous publications must avoid data overlap and authors must provide information on all previous publications to the Editor-in-Chief.



A.A.O.M.M.

(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)