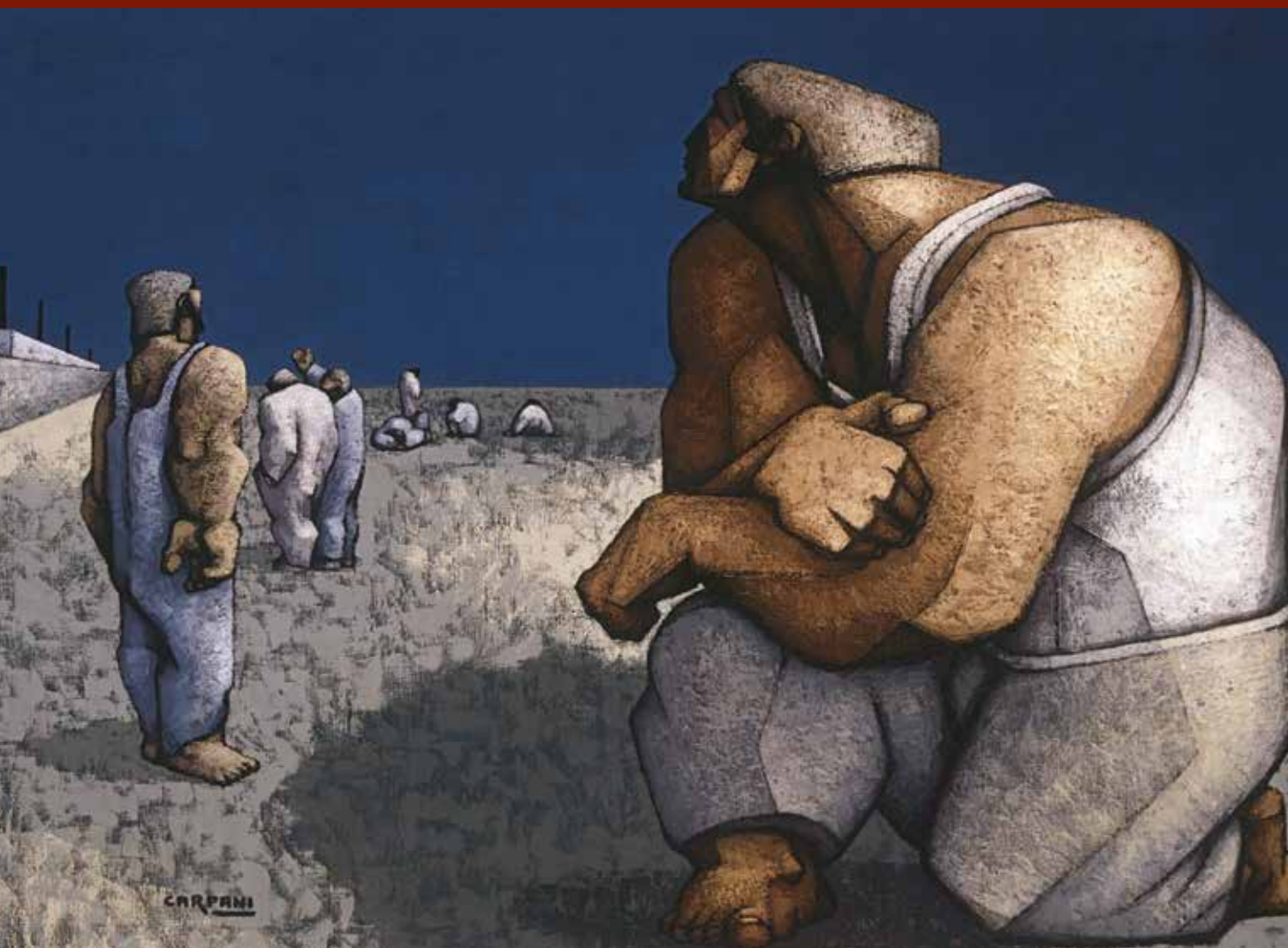


ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 12, Nº 3 - septiembre / diciembre 2016

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



A.A.O.M.M.

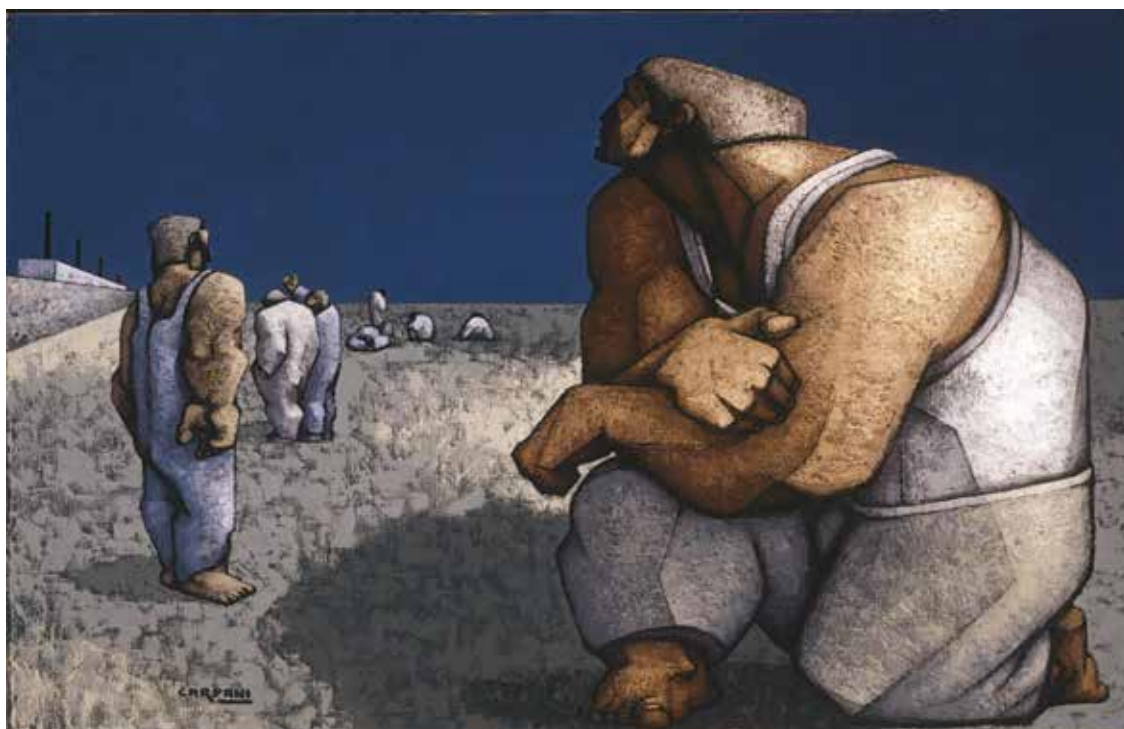
(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)

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

10 años de crecimiento y publicaciones ininterrumpidas sobre metabolismo óseo y mineral

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.



Ricardo Carpani
"Desocupados", 1959
Oleo sobre tela 112 x 162 cm
Agradecimiento: Doris Halpin de Carpani

VOL. 12, Nº 3

septiembre /diciembre 2016

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

www.osteologia.org.ar

Rosario (Santa Fe), Argentina

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



ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 12, Nº 3

septiembre / diciembre 2016

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

www.osteologia.org.ar

Rosario (Santa Fe), Argentina

Aparición: cuatrimestral

Editores responsables:

Luisa Carmen Plantalech: Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires. Juan D Perón 4190, Ciudad de Buenos Aires (C1181ACH), Argentina.

Lucas R. M. Brun: Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe 3100 (2000). Rosario, 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 de manuscritos 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), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) y SIIC Data Bases (Sociedad Iberoamericana de Información Científica).

Esta 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 con excepción del uso comercial. Sin embargo, los derechos de propiedad intelectual deben ser reconocidos, y para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciado, indicando la autoría y la fuente bibliográfica.

El contenido y las opiniones expresadas en los manuscritos son de entera responsabilidad del(de 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), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) and SIIC data Bases (Iberoamerican Society Scientific Information).

This is an Open Access journal. All content is freely available without charge. Users are allowed to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full text of the articles in this journal without asking prior permission from the publisher or the author except for commercial use. However, intellectual rights should be acknowledged, and to that purpose, any reproduction of the contents of any article of this Journal should be duly referenced, stating the authorship and the bibliographical source.

The content and opinions expressed in published articles are responsibility of the authors.

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

EDITORES RESPONSABLES

Luisa Carmen Plantalech

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

editora-responsable@osteologia.org.ar

Lucas R. M. Brun

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

editor-responsable@osteologia.org.ar

EDITORES ASOCIADOS

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.

SECRETARIAS DE REDACCIÓN

María Lorena Brance

Centro de Reumatología, Rosario, Argentina. redaccion@osteologia.org.ar

Mirena Buttazzoni

Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina. redaccion@osteologia.org.ar

ASISTENTES COMITÉ EDITORIAL

Manuel Rebón

Licenciado en Ciencias de la Comunicación y Magister en Comunicación y Cultura de la Facultad de Ciencias Sociales, UBA.

Prof. María Isabel Siracusa

Correctora de textos.

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. 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.

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 Hermeberg

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 (CE-MFoC). Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

Ana María Galich

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

Diana González

MAUTALEN, Salud e Investigación. 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.

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). Argentino.

Carlos Mautalen

MAUTALEN, Salud e Investigación. 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). Argentina.

Hans L Porias Cuéllar

Nuevo Sanatorio Durango. México.

Rodolfo Puche

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de 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). Argentina.

Emilio Roldán

Departamento de Investigaciones Musculoesqueléticas, Instituto de Neurobiología (IDNEU). Dirección Científica, Gador SA. Argentina.

Ana Russo de Boland

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

Nori Tolosa de Talamoni

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

José R. Zanchetta

Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Argentina.



**AUTORIDADES DE AAOMM
COMISIÓN DIRECTIVA 2016-2017**

Presidente

Dra. Cristina Tau

Vicepresidente

Dra. Susana Zeni

Secretaria

Dra. Patricia Mandalunis

Tesorera

Dra. María Diehl

Vocales

Dra. María Lorena Brance

Dra. Mirena Buttazzoni

Dra. Virginia Lezcano

Dra. María Pía Lozano

Dra. Ana María Marchionatti

Dra. Marcela Moran

Dra. Paula Rey

Dra. María Belén Zanchetta

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 12, Nº 3, septiembre / diciembre 2016

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Anticuerpos anti-FGF23 en el tratamiento del raquitismo hipofosfatémico ligado al X: luces y sombras

Anti FGF23 antibody treatment in X Linked hypophosphatemic rickets: lights and shadows

Oscar H. Brunetto

159

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Prevalencia de osteoporosis: discrepancia de acuerdo a las áreas esqueléticas de medición

Prevalence of osteoporosis: discrepancy according to the skeletal areas of evaluation

Silvina Rosana Mastaglia, Alicia Bagur, Carlos Alfredo Mautalen

162

El raloxifeno invierte fragilidad ósea inducida por el tratamiento anti-remodelación y aumenta la resistencia a la fatiga a través de mecanismos mediados no celulares

Raloxifene neutralizes bone brittleness induced by anti-remodeling treatment and increases fatigue life through non-cell mediated mechanisms

Matthew R. Allen, Mohammad W. Aref, Christopher L. Newman, Jay R. Kadakia, Joseph M. Wallace

169

Densidad ósea volumétrica vertebral obtenida sin fantoma en estudios de rutina de tomografía computarizada de abdomen: correlación con los valores medidos por densitometría ósea areal por rayos X

Phantom-less volumetric vertebral density obtained from routine abdominal CT studies: correlation with data obtained by DXA

Haraldo Claus Hermberg, Silvina De Luca, Fiorella Troncoso, María Pia Lozano,

Magdalena Rey, Silvana Boffa, María Josefina Pozzo

180

**Efecto de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*) sobre el hueso de ratas ovariectomizadas***Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on bone in ovariectomized rats*Lucas R. Brun, Mercedes Lombarte, María Cielo Maher, Candela Retamozo,
Verónica Di Loreto, Alfredo Rigalli

188

ACTUALIZACIONES / Reviews

Uso de agentes que suprimen la remodelación ósea para tratar o prevenir la osteoartrosis: ¿*quo vadis*?*Using agents that suppress bone remodeling to treat or prevent joint disease: quo vadis?*

David B. Burr

197

Efectos óseos de la cirugía bariátrica*Effects of bariatric surgery on bone*

Ariel Sánchez

215

CASUÍSTICAS / Case Reports

Hipoparatiroidismo primario de presentación tardía asociado a patologías autoinmunes*Late onset primary hypoparathyroidism associated with autoimmune disorders*

Jorge Eduardo Jacobo

221

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Authors Guidelines

228

ÍNDICE ACUMULADO / Cumulative Index

231

EDITORIAL / *Editorial*

ANTICUERPOS ANTI-FGF23 EN EL TRATAMIENTO DEL RAQUITISMO HIPOFOSFATÉMICO LIGADO AL X: LUCES Y SOMBRAS

Oscar H. Brunetto*

División Endocrinología Pediátrica. Hospital Gral de Niños Pedro de Elizalde. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina

El raquitismo hipofosfatémico representa la forma más común de raquitismo de causa hereditaria. Desde la primera comunicación de este cuadro se han caracterizado sus diferentes formas clínicas (ligada al X, AD, AR), las cuales varían en su fisiopatología, así como en los mecanismos moleculares subyacentes.^{1,2}

Sin duda, de todos estos cuadros, la forma más frecuentemente diagnosticada es la ligada al X, que se debe a una mutación del gen PHEX, el cual codifica una endopeptidasa de superficie celular cuya mutación aumenta la expresión del FGF23 en los osteocitos. Esta sustancia (FGF23), producida por los osteocitos, tiene como función fisiológica regular los niveles de fósforo plasmático, aumentando en condiciones de hiperfosfatemia y adecuándose en la normofosfatemia e hipofosfatemia.³ El exceso de FGF23 circulante es el responsable de la hipofosfatemia y los bajos niveles de 1-25(OH)₂ vitamina D [1,25(OH)₂D] y la clínica subyacente (raquitismo/osteomalacia, baja talla, trastornos dentarios) que podemos observar en esta entidad. El tratamiento actual de estos pacientes se basa en el uso de sales de fósforo y calcitriol, los cuales permiten un aceptable control de la sintomatología, pero sin lograr disminuir la presencia de algunas de las complicaciones que pueden aparecer (hipercalcemia, hiperparatiroidismo, nefrocalcinosis, entesopatía, etc.).⁴⁻⁸

El tratamiento con fósforo, como describieron recientemente Carpenter y cols., incrementa aún más los ya elevados niveles de FGF23 de los pacientes, con la consiguiente pérdida de fósforo urinario e inhibición aún mayor de los niveles de 1,25(OH)₂D endógenos.⁴⁻⁶

A partir del descubrimiento de la molécula de FGF23 como la principal fosfatona involucrada en la patogenia de la forma ligada al X, el grupo de Imel y col. comenzó el desarrollo de un anticuerpo anti-FGF23 (KRN 23) que, en modelos animales (ratón Hyp), demostró mejorar la reabsorción renal de fosfatos, aumentando los niveles de fósforo plasmático y los niveles de 1,25(OH)₂D con una aplicación de dicho anticuerpo.⁷

A partir de estos estudios promisorios en animales de experimentación se comenzó la investigación en adultos portadores de raquitismo hipofosfatémico. Los estudios farmacodinámicos y farmacocinéticos demostraron claramente que una dosis subcutánea en forma men-

* Dirección postal: División Endocrinología Pediátrica. Hospital Gral de Niños Pedro de Elizalde. Montes de Oca 40 (1274). Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.
Correo electrónico: oscar.brunetto@gmail.com



sual permitiría mantener adecuados niveles de fósforo en pacientes adultos, en tanto que los estudios de titulación de dosis en esta población la ubicarían entre 0,6-1 mg/kg/dosis. De este modo, los niveles pico de fósforo plasmático se alcanzarían en aproximadamente 7 días (en similar forma que el pico de reabsorción tubular de fósforo). En la cohorte de adultos (n=28), los cuales recibieron tratamiento durante 16 meses (4 meses se estudió la titulación de la dosis más un año abierto), los eventos adversos más observados relacionados con la medicación fueron diarrea (dos pacientes), artralgia (dos pacientes) y reacciones locales en el sitio de inyección (cinco pacientes).⁸

En la monitorización de seguridad de esta medicación se evaluó la presencia o la progresión de las calcificaciones en la población de estudio, o ambas. Si bien en los pacientes que presentaban nefrocalcinosis al inicio del estudio no se objetivaron cambios en ella, no sucedió lo mismo en la evaluación mediante tomografía computarizada de la región cardiovascular: tres pacientes presentaban calcificaciones al inicio del estudio, un sujeto durante la fase de titulación de la dosis y un sujeto durante la fase de extensión; todos incrementaron su nivel de calcificación (evaluada por la escala de Agatston que mide calcificación y presencia de estenosis en arterias coronarias), por lo que aún habrá que seguir atentamente la evolución en el tiempo de la cohorte tratada.^{8,9}

En la actualidad se está desarrollando la fase 2 del ensayo clínico para el uso de KRN 23 (anticuerpo monoclonal anti-FGF23) en pacientes pediátricos portadores de raquitismo hipofosfatémico ligado al X. Recientemente, en la reunión de la Sociedad Americana de Endocrinología (Boston) y en la reunión de la Sociedad Latinoamericana de Endocrinología Pediátrica realizada en nuestro país, el Dr. Carpenter mostró los primeros datos acerca de seguridad y eficacia en una cohorte de pacientes pediátricos prepuberales (edad entre 5 y 12 años) tratados durante 40 semanas divididos en dos cohortes (dosis quincenal vs. dosis mensual del anticuerpo), observando que en la semana 24 del tratamiento los niveles de fósforo y de calcitriol se encuentran normalizados y al fin de la semana 40, ocho de los once niños que completaron ese intervalo ya mejoraron significativamente sus lesiones raquílicas. El evento adverso más frecuente detectado durante el período de tratamiento fueron las reacciones locales en el sitio de inyección. No se observaron elevaciones de los niveles de calcio urinario y sí un discreto aumento de los niveles de PTH.¹⁰

La posibilidad de tratamiento del raquitismo hipofosfatémico utilizando este anticuerpo en adultos y niños, más la probabilidad teórica de su utilización en pacientes portadores de osteomalacia hipofosfatémica relacionada con tumores (TIO) representan indudablemente un avance, pero aún quedan algunas preguntas para responder acerca del efecto de dicho tratamiento sobre la aparición o la evolución de algunas de las complicaciones que presentan estos pacientes a lo largo de su vida, como por ejemplo las calcificaciones extraesqueléticas.

Conflicto de intereses: El autor declara no tener conflictos de intereses.

(Recibido: noviembre 2016.

Aceptado: diciembre 2016)

Referencias

1. Carpenter T, Imel E, Holm I, Jan de Beur S, Insogna KA. A Clinician s guide to X linked hypophosphatemia. *J Bone Min Res* 2011; 26:1381-8.
2. Linglart A, Bioisse-Duplan M, Briot K, et al. Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood. *Endocrine Connections* 2014; 3:R13-R30.
3. Liu S, Darryl Quarles L. How fibroblast growth factor 23 works. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1637-47.
4. Carpenter T, Insogna K, Zhang X, et al. Circulating levels of soluble klotho and FGF 23 in X linked hypophosphatemia: circadian variance, effects of treatment and relationship to parathyroid status. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:E352-7.
5. Goldsweig B, Carpenter T. Hypophosphatemic rickets: lessons from disrupted FGF23 control of the anti FGF 23-phosphorus homeostasis. *Curr Osteopor Rep* 2015; 13:88-97.
6. Imel E, Econs M. Approach to hypophosphatemic patient. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:696-706.
7. Carpenter T, Imel E, Ruppe M, et al. Randomized trial of the anti FGF 23 antibody KRN 23 in X linked hypophosphatemia. *J Clin Invest* 2014; 124:1587-97.
8. Econs M. Conventional therapy in adults with XLH improves dental manifestation but no enthesopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100:3622-4.
9. Imel E, Zhang X, Ruppe M, et al. Prolonged correction of serum phosphorus in adults with X-linked hypophosphatemia using monthly doses of KRN23. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100:2565-73.
10. Carpenter T, Hogler W, Boot AM, et al. Effects of KRN 23, a fully human anti FGF23 monoclonal antibody, on rickets in children with X linked hypophosphatemia (XLH): 40 weeks interim results from a randomized, open label phase 2 study. *Horm Res Pediatr* 2016; 86 (suppl 2):19-20.



ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

PREVALENCIA DE OSTEOPOROSIS: DISCREPANCIA DE ACUERDO A LAS ÁREAS ESQUELÉTICAS DE MEDICIÓN

Silvina Mastaglia^{1*}, Alicia Bagur¹, Carlos Alfredo Mautalen¹

¹Mautalen, Salud e Investigación. Instituto de Investigación en Salud Pública (IDISA) Buenos Aires, Argentina.

*Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas, Hospital de Clínicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEN) CONICET-UBA.

Resumen

Existe discrepancia en la elección de las áreas esqueléticas a evaluar para determinar la prevalencia de osteoporosis (OP). La International Society for Clinical Densitometry sugiere evaluar la columna lumbar (CL) y el fémur proximal (FT), mientras que la International Osteoporosis Foundation (IOF) sugiere medir solo el cuello femoral (CF). La estimación de la prevalencia de OP evaluada solo por CF en mujeres mayores de 50 años de Buenos Aires mostró un sub-diagnóstico del 53%. **Objetivo:** analizar la discrepancia en la prevalencia de OP, según el área esquelética evaluada por DXA, en los estudios internacionales disponibles. **Materiales y Métodos:** Se incluyeron los trabajos publicados en la literatura internacional, en idioma inglés que contenían: 1. Medición simultánea de CL y CF. 2. Análisis por décadas a partir de los 50 años

y hasta por lo menos la década 70-79. 3. Diagnóstico densitométrico de osteoporosis con el criterio de la OMS: T-score ≤ -2.5 . **Resultados:** fueron incluidos doce estudios. La evaluación de estos estudios arrojó un sub-diagnóstico global del 52 % si la prevalencia de OP fuera estimada solo por la densidad mineral ósea (DMO) de CF. Cuando analizamos por décadas la sub-estimación fue del 75% en la 6^a década, 58% en la 7^a década y del 22% en 8^a década, mostrando claramente que el sub-diagnóstico disminuye a medida que aumenta la edad y desaparece después de los 80 años. **Conclusión:** Estos resultados señalan que la prevalencia de OP debe ser determinada a través de la evaluación de la DMO de ambas áreas esqueléticas: CL y CF. **Palabras claves:** Prevalencia, osteoporosis, densitometría ósea, columna lumbar, fémur proximal.

* silvinamastaglia@hotmail.com

Abstract

PREVALENCE OF OSTEOPOROSIS: DISCREPANCY ACCORDING TO THE SKELETAL AREAS OF EVALUATION

There is discrepancy in the election of skeletal areas to be measured to determine the prevalence of osteoporosis. The International Society for Clinical Densitometry suggests evaluating the lumbar spine and proximal femur, while the International Osteoporosis Foundation (IOF) suggests measuring only the femoral neck. The estimate of the prevalence of osteoporosis (OP) evaluated only for femoral neck (FN) in women over 50 years of Buenos Aires showed underdiagnosis of 53%. **Objective:** To analyze the discrepancy on the prevalence of OP, according to the skeletal area evaluated by DXA, in international studies. **Material and Methods:** We included the works published in the international English literature that contained: 1- Simultaneous measurement of lumbar spine (LS) and fem-

oral neck (FN). 2- Analysis for decades from 50 years and up to at least the decade 70-79. 3- Densitometric diagnosis of osteoporosis according to WHO: T-score ≤ -2.5 . **Results:** Twelve studies were included. The evaluation of these studies showed an overall underdiagnosis of 52% if the prevalence of OP was estimated only for bone mineral density of the femoral neck. When we analyzed for decades the underestimation was 75% in the sixth decade, 58% in the seventh and 22% in the eighth decade, clearly showing that the underdiagnosis decreases as age increases and disappears after 80 years. **Conclusion:** This over-all review of 12 studies indicates that lumbar spine as well as femoral neck should be assessed by DXA to determine the prevalence of osteoporosis.

Key words: Prevalence, osteoporosis, bone mineral densitometry, lumbar spine, proximal femur.

Introducción

En los últimos quince años fueron publicados numerosos estudios sobre prevalencia de osteoporosis correspondientes a diferentes países, razas y grupos étnicos. La necesidad de una revisión periódica del tema se fundamenta en el origen multifactorial de la osteoporosis, factores susceptibles de sufrir cambios a través del tiempo, el incremento de la inmigración y la globalización cada vez más creciente. La variabilidad genética, étnica y el estilo de vida, muchas veces condicionado por patrones culturales, determinan la densidad mineral ósea (DMO) y la propensión a sufrir fracturas por fragilidad ósea. La importancia de establecer la prevalencia de la osteoporosis fue enfatizada recientemente por Gupta S¹.

Factores no modificables como el país, la raza o la etnicidad específica de una población, determinan la prevalencia de la osteoporosis y por ende la morbimortalidad asociada a ésta.

En la actualidad existe discrepancia en la elección de las áreas esqueléticas necesarias a medir para determinar la prevalencia de osteoporosis. Por un lado la International Society for Clinical Densitometry (ISCD)² sugiere evaluar la columna lumbar (CL) y el fémur proximal (FT), mientras que la International Osteoporosis Foundation (IOF)³ sugiere medir solo el cuello femoral (CF).

Mautalen C y col⁴ observaron recientemente que si solo se midiera el cuello femoral, como sugiere la IOF, se sub-diagnosticaría la prevalencia de osteoporosis en mujeres mayores de 50 años y enfatizaron la importancia de medir dos áreas esqueléticas (CL y CF) para una estimación más precisa de la prevalencia de la osteoporosis de la población en estudio.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la posible discrepancia en la prevalencia de osteoporosis observada en los estudios internacionales que habían evaluado simultáneamente y por separado la DMO de la CL y del CF.



Material y Métodos

Criterios de inclusión

Se analizaron en esta revisión los resultados de prevalencia de OP en mujeres publicados en la literatura internacional, en idioma inglés y que tuvieran las siguientes características:

- Medición simultánea por DXA de la columna lumbar y fémur proximal.
- Resultados analizados por décadas ó lustros de edad a partir de los 50 años y hasta por lo menos la década 70-79.
- Diagnóstico densitométrico de osteoporosis de acuerdo a lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS): T-score ≤ -2.5 (Desvíos estándar respecto a los valores normales en jóvenes, edad 20-40 años obtenidos en la población en estudio o similar).

En total se incluyeron doce estudios y se analizaron los datos correspondientes a mujeres.⁴⁻¹⁵

Criterios de exclusión

Se excluyeron aquellos estudios que para establecer el diagnóstico de OP medían una sola área^{16,17} o que combinaban los resultados conjuntos de CL y FP.¹⁸ Además se excluyó un meta-análisis de 91 estudios en China ya que no se proporcionan las referencias de cada uno de los trabajos incluidos.¹⁹ También se omitió una revisión con resultados extrapolados (ej. los valores de un estudio sin publicar en Francia fueron extrapolados a la población de Alemania).²⁰

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados en media y desvíos estándar ($X \pm DS$). La subestimación de la prevalencia de osteoporosis fue calculada por la siguiente fórmula: $[(\text{Prevalencia CL} - \text{Prevalencia CF}) \times 100 / \text{Prevalencia CL}]$ y expresada como porcentaje por década de la vida a partir de los 50 años y área esquelética analizada.

Resultados

La tabla 1 muestra los 12 estudios analizados⁴⁻¹⁵ indicando su año de publicación, el país de origen, edades y número de mujeres, indicando en algunos casos características especiales que se aclaran al pie de la tabla.

La tabla 2 muestra, la prevalencia obtenida en todos los estudios analizados. Se indica por separado la prevalencia tanto a nivel de la CL (2A) como del CF (2B). Los resultados observados están graficados en la figura 1.

El sub diagnóstico de osteoporosis, si se hubiera evaluado la prevalencia tomando en cuenta sólo la DMO del CF fue de 52% hasta los 80 años. Analizado por década, la subestimación fue la siguiente: 6ª década 75%, 7ª década 58% y 8ª década 22%. En cambio en el grupo de 80 y más años el diagnóstico fue mayor en el CF que en la CL.

Como no todos los estudios incluían el grupo mayor de 80 años, la figura 2 muestra los valores obtenidos graficando únicamente los estudios que incluían dicho grupo^{4-6,8-10}. Los resultados son similares a los observados analizando todas las investigaciones (Figura 1).

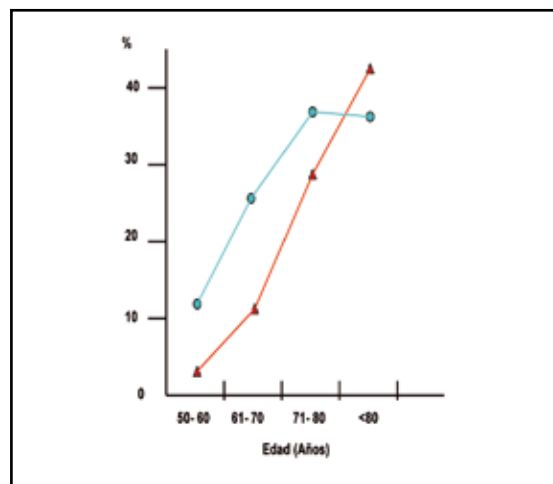


Figura 1. Prevalencia de osteoporosis en columna lumbar (●) y cuello femoral (▲). Porcentaje promedio por década de edad en todos los estudios analizados.

Tabla 1. Características poblacionales de los estudios incluidos indicando primer autor, (referencia), año de publicación, país de origen, número de mujeres incluidas y rango de edad.

Autor (Referencia)	Año de publicación	País	n	Edad
Henry y col ^{(5)*}	2000	Australia	1494 (20-80+)	50-80+
Tenenhouse y col ^{(6)**}	2000	Canadá	4761	50-80+
Ikeda y col ⁽⁷⁾	2002	Japón	366	50-70+
Yang y col ⁽⁸⁾	2004	Taiwan	3591	50-80+
Wu y col ^{(9)***}	2004	China	1166	50-90
Cheng y col ⁽¹⁰⁾	2007	China	5083	50-89
Cui y col ⁽¹¹⁾	2008	Corea	1806	50-79
Sanfélix y col ^{(12)*}	2010	España	824	50-75+
Lee y col ^{(13)#}	2014	Corea	5787	50-70+
Park y col ⁽¹⁴⁾	2014	Corea	4011	50-70+
Lu y col ^{(15)##}	2016	China	1712	50-70+
Mautalen y col ⁽⁴⁾	2016	Argentina	5448	50-80+

*Promedio de lustros

**Datos figuras 1 y 2

***Datos figura 2. Criterio OMS

#Datos figura 4. Criterio OMS comparada con los valores de la población local

Cuello femoral derecho (Se publican por separado CF derecho e izquierdo)

Tabla 2. Prevalencia de osteoporosis en Columba Lumbar (A) o Cuello Femoral (B) por década de edad en cada uno de los estudios incluidos, promedio y desvíos estándar.

Estudios (Referencia)	A-Columna Lumbar				B-Cuello Femoral			
	50-60	61-70	71-80	>80	50-60	61-70	71-80	>80
Henry y col ⁽⁵⁾	6,3	18,0	31,6	36,5	3,9	12,8	28,8	48,8
Tenenhouse y col ⁽⁶⁾	5,0	15,0	19,0	21,0	2,0	9,0	14,0	31,0
Ikeda y col ⁽⁷⁾	18,3	34,5	45,7	NE	1,5	9,2	26,7	NE
Yang y col ⁽⁸⁾	8,6	14,1	14,2	16,1	5,3	11,2	17,3	24,0
Wu y col ⁽⁹⁾	18,0	40,0	49,0	59,0	2,0	17,0	39,0	60,0
Cheng y col ⁽¹⁰⁾	14,2	36,7	50,1	65,5	3,9	15,2	33,9	63,6
Cui y col ⁽¹¹⁾	21,5	51,3	60,2	NE	1,7	11,4	36,7	NE
Sanfélix y col ⁽¹²⁾	15,5	23,3	38,4 ⁽¹⁾	NE	3,8	8,5	25,1 ⁽¹⁾	NE
Lee y col ⁽¹³⁾	11,0	21,0	45,0	NE	2,0	10,0	46,0	NE
Park y col ⁽¹⁴⁾	12,9	30,9	53,4	NE	5,1	17,0	54,3	NE
Lu y col ⁽¹⁵⁾	3,8	12,6	22,9	NE	2,1	5,3	19,8	NE
Mautalen y col ⁽⁴⁾	6,8	17,0	22,7	21,4	1,1	5,5	11,5	28,6
Promedio (X)	11,83	26,20	37,68	36,58	2,87	11,01	29,43	42,67
Desvío estándar (DS)	5,81	12,31	15,18	21,13	1,45	3,93	13,09	17,08

(1) Rango de edad: 71-75+

NE: no evaluado

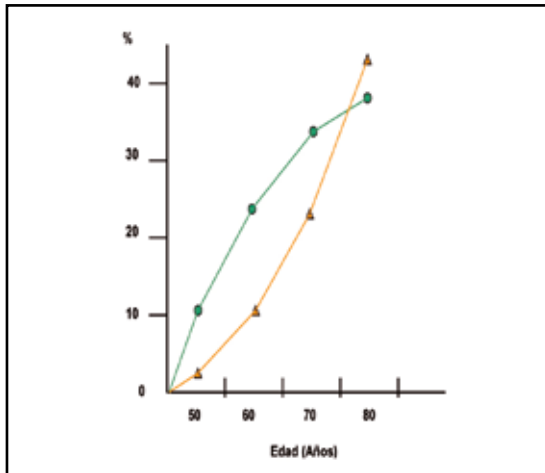


Figura 2. Prevalencia de osteoporosis en columna lumbar (●) y cuello femoral (▲). Porcentaje Promedio por década de edad en los 6 estudios que incluyeron el grupo etario mayor de 80 años.

Discusión

El conocimiento de la prevalencia de OP de una población específica es crucial para el desarrollo de políticas de salud pública más allá de los costos económicos implícitos que tienen las fracturas por fragilidad ósea.¹ Al respecto, nuestro medio carecía de datos fidedignos. Una investigación reciente de nuestro laboratorio observó una prevalencia de osteoporosis de 19,3% en una población de mujeres mayores de 50 años, de la ciudad de Buenos Aires y alrededores. Asimismo el estudio mostró un importante sub-diagnóstico de OP si se tomaban en cuenta sólo los valores del CF.⁴ Los valores fueron similares a los observados recientemente en la población caucásica de Estados Unidos.¹⁸

La prevalencia de OP para una población específica varía según las áreas esqueléticas consideradas para su estimación. En la actualidad existe discrepancia entre la ISCD² que sugiere realizar la estimación considerando tanto CL como FT y la IOF³ que propone evaluar solo CF.

La evaluación de 12 estudios de preva-

lencia de OP en mujeres mayores de 50 años analizados en el presente estudio, mostró un sub-diagnóstico global del 52 % si ésta fuera estimada solo por la DMO de CF. Este resultado es coincidente con los comunicados previamente por Mautalen C y col⁴ y Wright NC y col¹⁸ que encontraron un sub-diagnóstico del orden del 53 % y 54 % respectivamente. Estos resultados enfatizan la importancia de medir ambas áreas esqueléticas para una estimación más precisa de la prevalencia de la OP de la población en estudio.

El sub-diagnóstico de prevalencia de OP observado cuando es estimada únicamente por CF podría ser explicado por la tasa de remodelamiento diferente que tiene el hueso trabecular del hueso cortical. La magnitud de la tasa de remodelamiento óseo es determinada por la frecuencia de la activación de la unidad básica multicelular (BUN) de tal forma que la tasa de remodelamiento óseo dependerá del número de ciclos mientras que el efecto final sobre la masa ósea dependerá del balance focal en cada ciclo. El volumen óseo se encontrará condicionado no solo por la frecuencia de activación, sino también por el índice superficie/volumen.²¹

En la menopausia temprana (50-65 años) la tasa de pérdida ósea es mayor en el hueso trabecular de los cuerpos vertebrales comparado con el hueso trabecular de otros sitios esqueléticos y del hueso cortical, estimándose una tasa de pérdida aproximada de 1,0 a 1,4%/ anual, lo cual representaría a 15 años de inicio de la menopausia una pérdida de masa ósea de alrededor de 21%. Además la tasa de pérdida de masa ósea del hueso trabecular adyacente a la médula ósea roja (ej. vértebras) puede ser cinco veces mayor comparada con el hueso trabecular adyacente a la médula ósea amarilla (ej. cúbito) debido a las funciones hematopoyéticas de la primera.²² Por lo tanto, el criterio de incluir la DMO de CL en la estimación de la prevalencia de OP, principalmente en la sexta y séptima década de la vida, estaría fundamentado en la biología ósea.

Cuando analizamos por década la sub-estimación fue del 75% en la 6ª década, 58% en la 7ª década y del 22% en 8ª década mostrando claramente que el sub-diagnóstico disminuye a medida que aumenta la edad y desaparece después de los 80 años. A dicha edad, la disminución de la subestimación observada, cuando la prevalencia de OP es estimada solo por CF, podría explicarse por la calcificación de tejidos blandos y cambios anatómicos en CL asociados a la edad (osteofitos, calcificación de la aorta, artrosis, etc.). La prevalencia de estos cambios es observada en más del 61% de las imágenes radiológicas de CL correspondientes a mujeres mayores de 60 años²³, lo que conduce a una pérdida de la sensibilidad y especificidad de la CL como región anatómica para la estimación de la prevalencia de OP.

Por último y quizás el punto más relevante es si la medición de la DMO de una sola área o de múltiples áreas mejora la estimación de

la tasa de fracturas. Leslie WD y col mostraron que la combinación de la medición de la DMO de CL y CF en mujeres de 50 a 65 años, mejoró significativamente la predicción de fracturas vertebrales comparada con la sola evaluación del CF ($p < 0.001$).²⁴

En conclusión, la revisión de 12 estudios de prevalencia de OP en mujeres mayores de 50 años indica que la misma debe ser evaluada a través de la medición de la DMO de CL y CF. Si esta fuera estimada únicamente con la DMO de CF existiría un sub-diagnóstico aproximadamente del 50 % (principalmente entre la sexta y séptima década de la vida) según las características de la población en estudio.

Agradecimientos

A la señorita Magdalena Esteche por su asistencia técnica.

Conflicto de intereses: Los autores no tienen conflicto de intereses que declarar.

Referencias

1. Gupta SK. Editorial: Prevalence of Osteoporosis in Women in Buenos Aires Based on Bone Mineral Density at the Lumbar Spine and Femur. *J Clin Densitom* 2016; 19:405-406.
2. International Society for Clinical Densitometry. 2013. ISCD Official Positions-adult. Middletown, CT: International Society for Clinical Densitometry. <http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult/>
3. Kanis JA, Burlet N, Cooper C, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2008; 19:399-428.
4. Mautalen C, Schianchi A, Sigal D, et al. Prevalence of Osteoporosis in Women in Buenos Aires Based on Bone Mineral Density at the Lumbar Spine and Femur. *J Clin Densitom* 2016; 19:471-476.
5. Henry MJ, Pasco JA, Nicholson GC, et al. Prevalence of osteoporosis in Australian women: Geelong Osteoporosis Study. *J Clin Densitom* 2000; 3:261-268.
6. Tenenhouse A, Joseph L, Kreiger N, et al. Estimation of the prevalence of low bone density in Canadian women and men using a population-specific DXA reference standard: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos). *Osteoporos Int* 2000; 11:897-904.
7. Ikeda Y, Iki M, Morita A, et al. Age-specific values and cutoff levels for the diagnosis of osteoporosis in quantitative ultrasound measurements at the calcaneus with SAHARA in healthy Japanese women: Japanese population-based osteoporosis (JPOS) study. *Calcif Tissue Int* 2002; 71:1-9.
8. Yang TS, Chen YR, Chen YJ, Chang CY, Ng



- HT. Osteoporosis: prevalence in Taiwanese women. *Osteoporos Int*. 2004; 15:345-7.
9. Wu XP, Liao EY, Zhang H et al. Determination of age-specific bone mineral density and comparison of diagnosis and prevalence of primary osteoporosis in Chinese women based on both Chinese and World Health Organization criteria. *J Bone Miner Metab* 2004; 22:382-91.
 10. Cheng XG, Yang DZ, Zhou Q et al. Age-related bone mineral density, bone loss rate, prevalence of osteoporosis, and reference database of women at multiple centers in China. *J Clin Densitom* 2007; 10:276-84.
 11. Cui LH, Choi JS, Shin MH, et al. Prevalence of osteoporosis and reference data for lumbar spine and hip bone mineral density in a Korean population. *J Bone Miner Metab* 2008; 26:609-17.
 12. Sanf elix-Genoves J, Reig-Molla B, Sanf elix-Gimeno G, et al. The population-based prevalence of osteoporotic vertebral fracture and densitometric osteoporosis in postmenopausal women over 50 in Valencia, Spain (the FRAVO study). *Bone* 2010; 47:610-616.
 13. Lee KS, Bae SH, Lee SH, Lee J, Lee DR. New reference data on bone mineral density and the prevalence of osteoporosis in Korean adults aged 50 years or older: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2008-2010. *J Korean Med Sci*. 2014; 29:1514-22.
 14. Park EJ, Joo IW, Jang MJ, et al. Prevalence of osteoporosis in the Korean population based on Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES), 2008-2011. *Yonsei Med J* 2014; 55:1049-1057.
 15. Lu YC, Lin YC, Lin YK, et al. Prevalence of Osteoporosis and Low Bone Mass in Older Chinese Population Based on Bone Mineral Density at Multiple Skeletal Sites. *Sci Rep*. 2016; 6: 25206.
 16. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC, et al. Prevalence of low femoral bone in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1761-1768.
 17. Holt G, Khaw KT, Reid DM, et al. Prevalence of osteoporotic bone mineral density at the hip in Britain differs substantially from the US over 50 years of age: implications for clinical densitometry. *Br J Radiol* 2002; 75:736-742.
 18. Wright NC1, Looker AC, Saag KG, et al. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2520-2526.
 19. Zhang ZQ, Ho SC, Chen ZQ, Zhang CX, Chen YM. Reference values of bone mineral density and prevalence of osteoporosis in Chinese adults. *Osteoporos Int*. 2014; 25:497-507.
 20. Wade SW, Strader C, Fitzpatrick LA, Anthony MS, O'Malley CD. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries. *Arch Osteoporos*. 2014; 9:182.
 21. Parfitt AM. Skeletal heterogeneity and the purposes of bone remodeling. Implications for the understanding of osteoporosis. In: Marcus R, Feldman D and Kelsey J. (eds). *Osteoporosis*. Academic Press, 1996, p 315-329.
 22. Vay Dyke D. Similarity in distribution of skeletal blood flow and erythropoietic marrow. *Clin. Orthop* 1967; 52: 37-51.
 23. Liu G, Peacock M, Eilam O, Dorulla G, Braustein E, Johnston CC. Effect of osteoarthritis in the lumbar spine and hip on bone mineral density and diagnosis of osteoporosis in elderly men and women. *Osteoporos Int* 1997; 7:564-569.
 24. Leslie WD, Lix LM, Tsang JF, et al. Single-site vs. multisite bone density measurement for fracture prediction. *Arch Intern Med* 2007; 167:1641-1647.

ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

RALOXIFENE NEUTRALIZES BONE BRITTLENESS INDUCED BY ANTI-REMODELING TREATMENT AND INCREASES FATIGUE LIFE THROUGH NON-CELL MEDIATED MECHANISMS

Matthew R. Allen,^{1,2,3,4*} Mohammad W. Aref,¹ Christopher L. Newman,¹ Jay R. Kadakia,³ Joseph M. Wallace.³

1. Department of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis IN, United States. 2. Department of Medicine, Indiana University School of Medicine, Indianapolis IN, United States. 3. Department of Biomedical Engineering, Indiana University Purdue University of Indianapolis, Indianapolis, IN, United States. 4. Roudebush Veterans Administration Medical Center, Indianapolis, IN, United States.

Abstract

Pre-clinical data have shown that tissue level effects stemming from bisphosphonate-induced suppression of bone remodeling can result in bone that is stronger yet more brittle. Raloxifene has been shown to reduce bone brittleness through non-cellular mechanisms. The goal of this work was to test the hypothesis that raloxifene can reverse the bone brittleness resulting from bisphosphonate treatment. Dog and mouse bone from multiple bisphosphonate dosing experiments were soaked in raloxifene and then assessed for mechanical properties. Mice treated with zoledronate in vivo had lower post-yield mechanical properties compared to controls. Raloxifene soaking had significant positive effects on select mechanical properties of bones from both vehicle and zoledronate treated mice. Although the effects were

blunted in zoledronate bones relative to vehicle, the soaking was sufficient to normalize properties to control levels. Additional studies showed that raloxifene-soaked bones had a significant positive effect on cycles to failure (+114%) compared to control-soaked mouse bone. Finally, raloxifene soaking significantly improved select properties of ribs from dogs treated for 3 years with alendronate. These data show that ex vivo soaking in raloxifene can act through non-cellular mechanisms to enhance mechanical properties of bone previously treated with bisphosphonate. We also document that the positive effects of raloxifene soaking extend to enhancing fatigue properties of bone.

Keywords: bisphosphonate, toughness, mechanical properties, zoledronate, alendronate.

* Dept. of Anatomy and Cell Biology, MS 5035. Indiana University School of Medicine 635 Barnhill Dr. Indianapolis, IN 46202. E-mail: matallen@iupui.edu



Resumen

EL RALOXIFENO INVIERTE FRAGILIDAD ÓSEA INDUCIDA POR EL TRATAMIENTO ANTI-REMODELACIÓN Y AUMENTA LA RESISTENCIA A LA FATIGA A TRAVÉS DE MECANISMOS MEDIADOS NO CELULARES.

Los datos preclínicos han demostrado que los efectos a nivel de tejido que se derivan de la supresión del remodelado óseo inducida por bifosfonatos puede dar como resultado un hueso que es más fuerte pero más frágil. Está comprobado que el raloxifeno reduce la fragilidad ósea a través de mecanismos no celulares. El objetivo de este trabajo fue probar la hipótesis de que el raloxifeno puede revertir la fragilidad ósea resultante del tratamiento con bifosfonatos. Se emplearon huesos de perro y ratón de múltiples experimentos con diferentes dosis de bifosfonatos los cuales fueron sumergidos en raloxifeno y luego se evaluaron sus propiedades mecánicas. Ratones tratados con zoledronato in vivo mostraron propiedades mecánicas post-rendimiento más bajas en comparación con los controles. Luego de su-

mergirlos en raloxifeno se observaron efectos positivos significativos en algunas propiedades biomecánicas tanto en los huesos de ratones tratados con vehículo como con zoledronato. Aunque los efectos se atenuaron en los huesos tratados con zoledronato en relación con los tratados con vehículo, el raloxifeno fue suficiente para normalizar las propiedades a niveles basales. Estudios adicionales mostraron que los huesos sumergidos en raloxifeno tuvieron un efecto positivo significativo en los ciclos de fractura (+ 114%) en comparación con los huesos de ratón sumergido en vehículo. Finalmente, el raloxifeno mejoró significativamente las propiedades de costillas de perros tratados durante 3 años con alendronato. Estos datos muestran que la inclusión ex vivo en raloxifeno puede actuar a través de mecanismos no celulares para mejorar las propiedades mecánicas de huesos previamente tratado con bifosfonatos. También documentamos que los efectos positivos del raloxifeno mejoran las propiedades de fatiga del hueso.

Palabras clave: bifosfonato, dureza, propiedades mecánicas, zoledronato, alendronato.

Introduction

A bone's mechanical properties, specifically those related to displacement and energy absorption, can be described as being brittle or ductile.¹⁻³ A ductile bone is able to undergo significant displacement and absorb significant energy following the manifestation of permanent damage. Conversely, a brittle bone fails soon after the initiation of permanent damage. Classic clinical examples of these extremes are developing bone and osteopetrotic bone, respectively.⁴ In the laboratory, decalcification of a bone makes it extremely ductile,⁵ while removal of the organic material (using heat) makes it extremely brittle.⁶ In general, increasing the ductility of bone is advantageous for improving its resistance to fracture.¹

The goal of anti-osteoporotic interventions

is to reduce fracture.⁷ Whether or not a bone fractures depends on several factors, including bone mass, propensity to fall, and the mechanical properties of the bone tissue.¹ Interventions such as bisphosphonates primarily reduce fracture risk by increasing bone mass which leads to improvements in whole bone mechanical properties.⁸ In many cases though, improving bone mass and bone strength comes at the expense of changes to the tissue which are not completely positive. Pre-clinical data in dogs⁹⁻¹⁴ and mice (C57BL/6),¹⁵ have shown that suppression of bone remodeling by bisphosphonate treatment can result in bone that has higher ultimate force yet lower toughness. It has been hypothesized that this reduction in tissue toughness, brought about by deleterious changes to the tissue level properties

(altered mineral heterogeneity,^{16,17} properties of mineral crystals,¹⁶ collagen cross-linking,^{18,19} microdamage),^{9,20} is linked to atypical femoral fractures.^{21,22}

Enhancing the ductility of bone at the tissue level has been shown to occur with anabolic treatment due to its remodeling away older tissue and replacing it with new matrix. Raloxifene (RAL), an FDA approved selective estrogen receptor modulator, also reduces brittleness of bone,^{23,24} but through an alternative mechanism involving non-cellular mediated modification of tissue hydration.^{25,26} The goal of this work was to test the hypothesis that in vitro exposure to raloxifene is sufficient to neutralize the bone brittleness that occurs following bisphosphonate treatment.

Methods

Animal experiments. The bones utilized in this report come from three different experiments. All sample sizes can be found in the data tables and figures. In experiment one, designed to determine if zoledronate produced effects on mechanical properties, male C57BL/6 mice were treated saline or zoledronate (ZOL) for 8 weeks, from 16 to 24 weeks of age.¹⁵ At 24 weeks of age, bilateral femora were removed, wrapped in saline-soaked gauze, and frozen at -20 °C until analysis. Mechanical testing of the right femora was performed and these data have been previously reported.¹⁵ Left limbs, used in this current work, were thawed, soaked in RAL for 7 days and then subjected to mechanical testing. These results were compared to those from the contralateral femora that was tested without soaking.

In experiment two, bilateral femora from untreated 16 week old male C57BL/6 mice were collected to study the fatigue properties of mouse bone. A subset of these bones were used in the current work.

In experiment three, skeletally mature female beagles were treated for three years with daily oral saline (10 ml) or alendronate (ALN,

0.2 mg/kg/day in 10 ml).¹⁰ After three years of treatment, ribs were dissected free, wrapped in saline-soaked gauze, and frozen at -20 °C until analysis. All animal experiments were approved by the Indiana University School of Medicine IACUC prior to the live animal experiments.

Raloxifene soaking. RAL was purchased from Sigma and dissolved in DMSO following previously published protocols.²⁵ Bones were soaked in 1% penicillin-streptomycin/phosphate buffered saline solution, with either 2 µM DMSO or 2 µM RAL at 37 °C for 14 (experiment 3), 7 (experiments one) or 2 (experiment two) days, changing the solution every 2-3 days.

Peripheral quantitative and microcomputed tomography (pQCT, microCT). To normalize mechanical properties, one femur from each mouse in all experiments was scanned to determine cortical bone geometry at 50% of bone length. MicroCT scans were obtained using a Skyscan 1176 scanner at 9 micron resolution. Scan reconstruction and analysis at the mid-diaphysis were conducted using manufacturer software combined with a custom MATLAB program.²⁷ All ribs from experiment 3 were scanned using pQCT (Norland Stratec XCT Research SA+) at the spot of greatest curvature (approximately midrib).²⁸ A single slice was imaged at this spot using a scanning resolution of 0.07 x 0.07 x 0.50 mm. Anterior-posterior diameter (APdia, mm) and cross-sectional moment of inertia (CSMI, mm⁴) were obtained using standard scanner software for estimation of material properties.

Mechanical testing. Bones from experiment one were tested in four-point bending.²⁷ Bones were placed anterior surface down on a bottom support span of 9 mm; the upper support span was 3 mm wide centered at the mid-diaphysis. Testing occurred at a displacement rate of 2 mm/min and load/displacement



data collected. Analysis of mechanical data test curves was done using a custom MATLAB program that integrates the CT data with the load/displacement data to produce both structural (yield/ultimate load, stiffness, pre-yield/post-yield/total displacement, pre-yield/post-yield/total energy) and material (yield/ultimate stress, modulus, strain, toughness) properties. The geometric properties used for normalization of both right and left bones was based on CT scanning of only one bone. Based on unpublished data from our laboratory, as well as published studies,²⁹ there is minimal right/left difference in geometry within an animal, thus supporting our use of CT data from one bone within an animal for normalization of the contralateral bone.

Mouse femora in experiment two were subjected to fatigue loading in four-point bending. Ten paired femurs were soaked in either PBS (left) or RAL (right) and then tested in fatigue using a sinusoidal waveform (loading between the force corresponding to 15% and 85% of the ultimate stress (determined from monotonic test on another set of bones) with a frequency of 0.5 Hz for the first ten preconditioning cycles and 4 Hz for the rest of the test. Femurs were hydrated throughout the test with the use of a heated saline bath (37°C) that contained 2% Pen-Strep. Any tests that reached 300,000 were terminated without failure.

Dog ribs were tested in three-point bending.²⁸ After thawing to room temperature, specimens were placed on a three-point bending fixture (bottom support span = 25 mm) with the convex surface of the rib facing up. The upper support contact point was at the midpoint of the specimen, matching the site of pQCT analyses. Specimens were loaded to failure at a displacement rate of 20 mm/minute, and load vs. displacement data were collected. Structural mechanical properties were determined and material property estimations were calculated as outlined above.

Statistics. All statistical tests were performed using SAS software. Data from experiments one and three were compared using two-way ANOVA with repeated measures (to account for right/left limbs). Statistically significant effects of in vivo treatment, soaking, and interactions (followed by analysis of simple main effects) between those two variables were determined using a $p < 0.05$. Data from experiment two were compared using paired t-tests. All data are presented as mean and standard deviations.

Results

Experiment 1. There was a significant main effect of in vivo ZOL treatment for pre-yield (+27%), post-yield (-37%), and total displacement (-27%) and all estimates of material properties relative to animals treated with vehicle (VEH) (Table 1, Figure 1). There was a significant main effect of RAL-soaking on post-yield displacement (+10%), total displacement (+10%), and total strain (+26%) relative to the contralateral limbs that were not soaked. Significant interactions existed for ultimate load, post-yield energy and total energy where, in all three cases, the effect of RAL-soaking was significantly greater in bones from animals treated with VEH in vivo compared to those treated with ZOL. In summary, the effects of raloxifene soaking were less effective in ZOL-treated animals, yet sufficient to return select mechanical properties to those of normal untreated animals.

Experiment 2. PBS-soaked control bones subjected to fatigue loading failed at $116,005 \pm 90,767$ cycles. RAL-soaked bones had 1.7-fold longer fatigue life ($p = 0.019$), $202,894 \pm 125,607$ cycles (Figure 2A). One of ten PBS-soaked bones (10%) and five of ten RAL-soaked bones (50%) were stopped at 300,000 cycles without failure. The majority of paired bones followed the trend of RAL being higher than PBS yet there were three sets that were either unchanged (both reached 300,000 cycles) or showed modest reductions

Table 1. Mechanical properties of mouse femora in 4-point bending.

	Vehicle-treatment		Zoledronate-treatment		In vivo treatment (VEH vs ZOL)	Soaking (None or RAL)	Interaction
	Control (n=20)	RAL – soaking (n=20)	Control (n=17)	RAL – soaking (n=17)			
Ultimate Load, N	21.3±3.7	23.4±3.8 *	27.8±4.1	25.8±6.4	0.001	0.500	0.0001
Stiffness, N/mm	115±36	133±47 *	153±45	162±60	0.189	0.917	0.025
Yield energy, mJ	0.72±0.38	1.06±0.64	1.48±0.63	1.63±1.1	0.0004	0.170	0.622
Post-yield energy, mJ	9.57±3.5	13.2±4.5 *	8.3±3.6	9.4±3.9	0.021	0.0004	0.047
Energy to failure, mJ	10.3±3.4	14.2±4.5 *	9.8±3.3	11.0±3.6	0.073	0.0002	0.038
US, MPa	252±25	266±33	286±31	286±45	0.001	0.119	0.551
Strain to failure, μ E	94,084±26,788	123,289±43,715	73,113±18,473	87,851±25,203	0.002	0.286	0.595
Modulus, MPa	9.07±1.6	9.67±2.5	9.22±1.9	9.23±1.8	0.0005	0.002	0.267
Toughness, , MJ/m ³	17.2±5.2	22.9±6.3	14.9±5.3	17.7±5.3	0.001	0.159	0.880

* vs control within treatment in post-hoc test following significant interaction in two-way ANOVA. Data presented as mean and standard deviation. RAL – raloxifene; VEH – vehicle; ZOL – zoledronate.

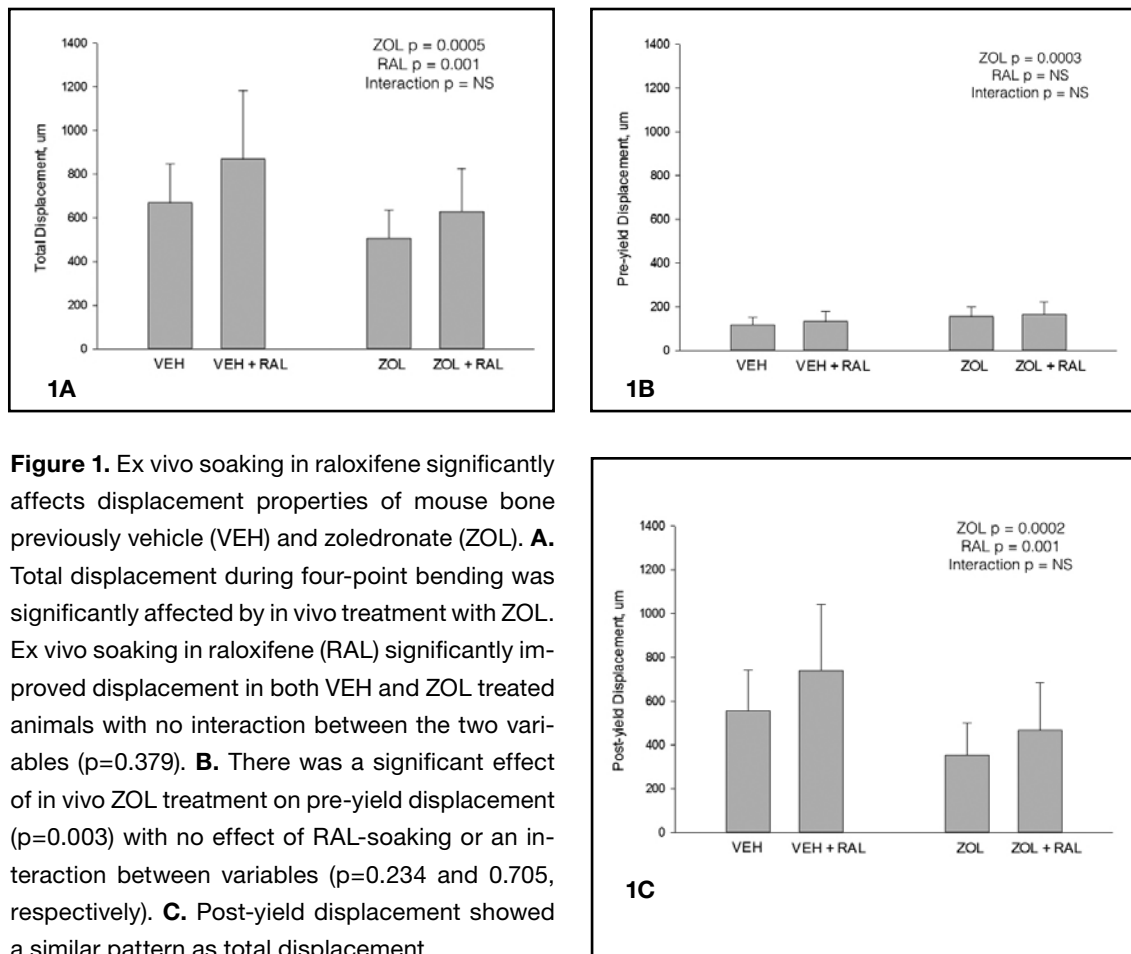


Figure 1. Ex vivo soaking in raloxifene significantly affects displacement properties of mouse bone previously vehicle (VEH) and zoledronate (ZOL). **A.** Total displacement during four-point bending was significantly affected by in vivo treatment with ZOL. Ex vivo soaking in raloxifene (RAL) significantly improved displacement in both VEH and ZOL treated animals with no interaction between the two variables (p=0.379). **B.** There was a significant effect of in vivo ZOL treatment on pre-yield displacement (p=0.003) with no effect of RAL-soaking or an interaction between variables (p=0.234 and 0.705, respectively). **C.** Post-yield displacement showed a similar pattern as total displacement.

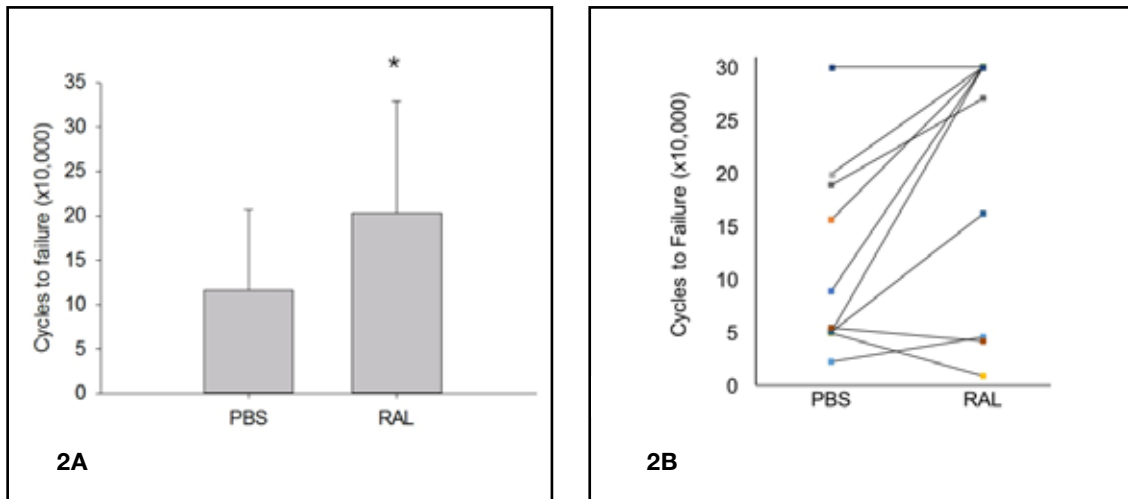


Figure 2. Ex vivo soaking in raloxifene (RAL) significantly improves fatigue properties of mouse bone. **A.** Cycles to failure were significantly higher in bones soaked in raloxifene compared to contralateral controls soaked in PBS. Data presented as mean and standard deviation. * $p < 0.05$ in paired t-test versus PBS. **B.** Number of cycles to failure of individual sets of paired bones with each set representing the right and left bone of a given mouse. Note that bones not failing by 300,000 cycles were stopped.

with RAL (Figure 2B). The RAL-soaked bones had an ~114% average increase in cycles to failure versus their contralateral PBS-soaked control bone.

Experiment 3. There were no significant main effects of alendronate treatment (Table 2). There was a significant main effect of RAL soaking on energy to failure (+16%), post-yield energy (+21%), toughness (+38%) and post-yield toughness (+43%) (Figure 3).

Discussion

A bone made of brittle material is at an increased risk of fracture even if bone mass is increased. There are several illustrative examples, such as the clinical condition of osteopetrosis, where bone mass is high yet fractures are quite prevalent,³⁰ and pre-clinical models of osteogenesis imperfecta when drugs that increase bone mass are insufficient to normalize mechanical properties.^{31,32} We and other have documented that bisphosphonates result in tissue brittleness,

both in dogs and more recently in C57BL/6 mice.^{13,15,28} Given that bisphosphonates have long-lasting effects even after treatment withdrawal,^{33,34} finding active ways to neutralize/reverse the brittleness brought on by remodeling suppression necessitate new approaches. In this proof-of-concept study, we show that raloxifene can overcome the tissue brittleness caused by bisphosphonates through non-cellular mechanisms.

Raloxifene has a long history of having positive effects on bone.³⁵ It is FDA approved for the treatment and prevention of fracture in post-menopausal women.³⁶⁻³⁸ Although the mechanism of action was originally thought to be related to suppressed osteoclast action, there remained a known disconnect between changes in bone mass and fracture risk reduction.³⁹ Recently, our lab has documented a potential explanation for this disconnect by showing that raloxifene can act through non-cellular mechanisms to increase tissue hydration.^{25,26} This effect is associated with

Table 2. Mechanical properties of dog ribs in 3-point bending.

	Vehicle-treatment		Alendronate-treatment		In vivo treatment (VEH vs ALN)	Soaking (PBS or RAL)	Interaction
	PBS-soaking (n=9)	RAL-soaking (n=9)	PBS-soaking (n=10)	RAL-soaking (n=10)			
Ultimate Load, N	88±25	100±21	90±22	89±16	0.617	0.285	0.184
Stiffness, N/mm	165±53	200±35	176±51	174.5±42	0.687	0.209	0.131
Post yield displacement, mm	4.26±1.46	4.74±0.66	3.85±1.39	4.23±1.77	0.363	0.119	0.865
Total displacement, mm	4.59±1.43	5.16±0.74	4.19±1.34	4.56±1.19	0.325	0.087	0.697
Post-yield energy, mJ	312±91	404 ±134	286±119	319±84	0.234	0.012	0.188
US, MPa	114±53	148±49	128±85	124±70	0.859	0.196	0.085
Modulus, MPa	6049±2526	7868±2067 *	7240±4023	6790±3120	0.966	0.239	0.041
Post-yield toughness, MJ/m ³	13.6±4.4	22.6±10.8	12.3±7.6	14.7±8.1	0.175	0.006	0.073

* vs control within treatment in post-hoc test following significant interaction in two-way ANOVA. Data presented as mean and standard deviation. PBS – phosphate buffered saline; RAL – raloxifene; VEH – vehicle; ALN – alendronate.

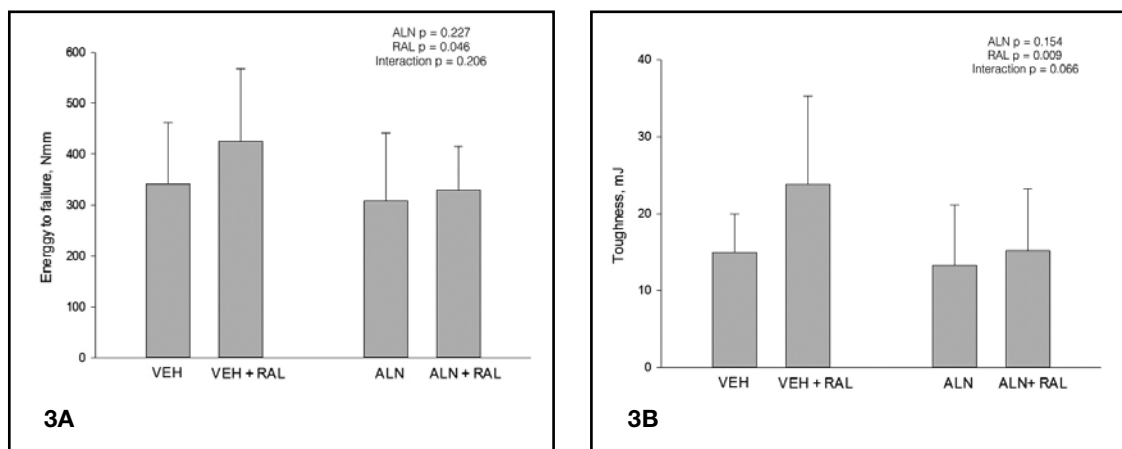


Figure 3. Ex vivo soaking in raloxifene restores displacement properties of ribs from vehicle (VEH) and alendronate (ALN)-treated dogs. Energy to failure (A) and toughness (B) were both significantly higher in bones soaked in raloxifene (RAL) compared to those soaked in PBS.

improvements in mechanical properties, specifically post-yield properties.²⁵ Although the details regarding how raloxifene increases hydration remain to be clearly elucidated, the most recent findings point to binding of raloxifene at the mineral/collagen interface.²⁶

In the experiments described herein, raloxi-

fene soaking of the bones from animals treated with vehicle (thus normal animals) resulted in robust positive responses to properties that are influenced by post-yield behavior. This is consistent with previous work from both dog and human tissue soaked in raloxifene.²⁵ Raloxifene’s significant positive effect on post-



yield and total displacement carried over to bones from animals treated with zoledronate *in vivo*. This effect resulted in RAL-soaked bones from zoledronate-treated animals having similar post-yield and total displacement values as normal bones. Simply stated, RAL-soaking normalized the mechanical phenotype of zoledronate bone. There were other mechanical properties where the positive effects of raloxifene soaking were significantly attenuated in bones from animals treated *in vivo* with zoledronate as evident by the significant interaction in ultimate load, post-yield and total energy.

Contrary to previous work from these same animals,^{12,13,28} the mechanical tests of dog ribs did not reveal significant effects of *in vivo* alendronate treatment. Properties most often noted as being negatively affected by alendronate, such as toughness, were non-significantly lower (-10%; $p=0.15$ main effect). Of note is that sample sizes here were lower than in previous reports ($n=12/\text{group}$) because specimens from some animals were no longer available, thus reducing the power in the statistical tests. It is also possible that soaking itself affected the ability to see effects of ALN as several of the parameters from PBS-soaked bones were qualitatively different compared to previous work²⁸ although it should be acknowledged that these were different ribs and thus different properties might not be unexpected. Despite the lack of significant differences brought about by ALN, there remained significant main effects of raloxifene soaking on post-yield and total displacement and energy absorption. Consistent with the mouse bones in experiment 1, there was a suggestion of an interaction in the effect of RAL-soaking, being mainly driven by the response of bones from VEH-treated animals. One plausible explanation is that changes to mineral and collagen brought about by bisphosphonate-treatment^{16,18,19} alter the ability for raloxifene to modify hydration and this is more evident in a species that undergo intracortical remodeling

(and thus suppressed intracortical remodeling). Alternatively, differences in bisphosphonate (alendronate vs zoledronate), duration of treatment (two months in mouse vs 3 years in dog), or bone (rib versus femur) could be the underlying reason for differences between the two experiments.

The precise mechanisms underlying tissue-level brittleness with bisphosphonates remains unclear. Altered mineral heterogeneity,^{16,17} properties of mineral crystals,¹⁶ collagen cross-linking,^{18,19} microdamage^{9,20} have all been documented in various model systems (including humans). Many of the changes in cortical bone are associated with the change in intracortical remodeling, yet data exist showing lower tissue mechanical properties independent of the degree of remodeling suppression in dogs. Furthermore, we and others have shown reductions in bone toughness with bisphosphonates in rodents, where intracortical remodeling does not take place under normal circumstances. The goal of the current work does not address the underlying mechanism for tissue brittleness with bisphosphonates, but rather focuses on the ability of raloxifene to neutralize whatever effect has occurred. Our results suggest modification of hydration (the presumed effect of raloxifene) is sufficient to overcome negative tissue-level changes with bisphosphonates.

Although monotonic mechanical tests provide valuable information regarding properties of the tissue, fatigue loading tests the tissue's ability to resist the initiation and propagation of damage leading to fracture.⁴⁰ The ability of *in vitro* raloxifene exposure to alter fatigue properties in normal C57/B6 femora was clear. Raloxifene-soaked bones had nearly 2x longer fatigue life than normal animals, and even this was likely an underestimate as half of the raloxifene bones were stopped at 300K cycles (compared to one untreated bone). Interestingly, 7 of the 10 matched pairs showed higher properties in the raloxifene limb while three showed nearly identical or slightly values

across the two limbs. Previous work assessing fatigue properties of RAL bone is limited to experiments of cortical bones from in vivo treated dogs. Although monotonic tests from these same animals showed dramatic effects of in vivo treatment on mechanical properties, there were no differences when assessed using a cyclic relaxation test.²⁴ The cyclic relaxation test differs in several ways from a traditional fatigue test, most notably in that it loads to progressively higher loads with the goal of inducing damage and then testing the ability of the tissue to resist accumulation.⁴¹ The link between altered hydration (the presumptive mechanism of effect in current soaking studies) and microdamage propagation remains unclear but it is possible that benefits of hydration are more apparent in traditional fatigue tests.

The data presented here should be considered in the context of various limitations. The original experiments (from which the bones were used) tested only males and only a single dose of zoledronate. Due to the matched design of experiment one, we did not have bones soaked for 7 days in control solution as is traditionally done in these experiments. We have previously shown that soaking in solution does not cause the tissue to decalcify (which if it occurred could cause improved ductility).²⁵ Although we have previously shown the main non-cellular effect of

raloxifene is to increase hydration – measures of hydration in these bones was not possible. Finally, our fatigue data were conducted at a single stress level and cycle rate and cannot be assumed to be generalizable.

In conclusion we have shown that ex vivo soaking in raloxifene can act through non-cellular mechanisms to normalize the zoledronate-induced brittle behavior of mouse bone tissue. Less robust effects were noted in bones from alendronate-treated dogs and these differences need to be further explored. We also document the positive effects of raloxifene soaking on fatigue properties of bone.

Acknowledgements: This work was supported by NIH grants AR62002 (MRA), DK108554 (F32 support for EM), DK100093 (F30 support for CLN), AR65971 (T32 support for MWA) and AR067221 (K25 support for JMW). The authors thank Mr. Drew Brown for his help on various technical aspects of this work. The microCT utilized in this experiment was purchased through a NIH S10 grant (OD 016208).

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Recibido: junio 2016.

Aceptado: octubre 2016.

References

1. Burr DB. Why bones bend but don't break. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2011; 11(4).
2. Currey JD. Bone strength: what are we trying to measure? *Calcif Tissue Int* 2001; 68:205-10.
3. Currey JD. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. *Osteoporos Int* 2003;14 Suppl 5:S29-36.
4. Turner CH. Bone strength: Current concepts. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006; 1068:429-46.
5. Burstein AH, Zika JM, Heiple KG, Klein L. Contribution of collagen and mineral to the elastic-plastic properties of bone. *J Bone Joint Surg Am* 1975; 57:956-61.
6. Wang X, Bank RA, Tekoppele JM, Agrawal CM. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res* 2001; 19:1021-6.
7. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377:1276-87.



8. Allen MR, Burr DB. Bisphosphonate effects on bone turnover, microdamage, and mechanical properties: what we think we know and what we know that we don't know. *Bone* 2011; 49:56-65.
9. Allen M, Iwata K, Phipps R, Burr D. Alterations in canine vertebral bone turnover, microdamage accumulation, and biomechanical properties following 1-year treatment with clinical treatment doses of risedronate or alendronate. *Bone* 2006; 39:872-9.
10. Allen M, Burr D. Three years of alendronate treatment results in similar levels of vertebral microdamage as after one year of treatment. *J Bone Miner Res* 2007; 22:1759-65.
11. Allen MR, Burr DB. Changes in vertebral strength-density and energy absorption-density relationships following bisphosphonate treatment in beagle dogs. *Osteoporos Int* 2008; 19:95-9.
12. Bajaj D, Geissler JR, Allen MR, Burr DB, Fritton JC. The resistance of cortical bone tissue to failure under cyclic loading is reduced with alendronate. *Bone* 2014; 64(C):57-64.
13. Burr DB, Liu Z, Allen MR. Duration-dependent effects of clinically relevant oral alendronate doses on cortical bone toughness in beagle dogs. *Bone* 2015; 71:58-62.
14. Acevedo C, Bale H, Gludovatz B, et al. Alendronate treatment alters bone tissues at multiple structural levels in healthy canine cortical bone. *Bone* 2015; 81(C):352-63.
15. Aref MW, McNerny EMB, Brown DM, Jepsen KJ, Allen MR. Zoledronate treatment has different effects in mouse strains with contrasting baseline bone mechanical phenotypes. *Osteoporos Int* 2016;1-29.
16. Gourion-Arsiquaud S, Allen M, Burr D, Vashishth D, Tang S, Boskey A. Bisphosphonate treatment modifies canine bone mineral and matrix properties and their heterogeneity. *Bone* 2010; 46:666-72.
17. Zoehrer R, Roschger P, Paschalis EP, et al. Effects of 3- and 5-year treatment with risedronate on bone mineralization density distribution in triple biopsies of the iliac crest in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2006; 21:1106-12.
18. Tang SY, Allen MR, Phipps R, Burr DB, Vashishth D. Changes in non-enzymatic glycation and its association with altered mechanical properties following 1-year treatment with risedronate or alendronate. *Osteoporos Int* 2009; 20:887-94.
19. Allen MR, Gineyts E, Leeming D, Burr DB, Delmas P. Bisphosphonates alter trabecular bone collagen cross-linking and isomerization in beagle dog vertebra. *Osteoporos Int* 2008; 19:329-37.
20. Stepan J, Burr DB, Pavo I, et al. Low bone mineral density is associated with bone microdamage accumulation in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone* 2007; 41:378-85.
21. Shane E, Burr D, Abrahamsen B, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2014; 29:1-23.
22. Ettinger B, Burr DB, Ritchie RO. Proposed pathogenesis for atypical femoral fractures: lessons from materials research. *Bone* 2013; 55:495-500.
23. Allen MR, Iwata K, Sato M, Burr DB. Raloxifene enhances vertebral mechanical properties independent of bone density. *Bone* 2006; 39:1130-5.
24. Allen M, Hogan H, Hobbs W, Koivuniemi A, Koivuniemi M, Burr D. Raloxifene enhances material-level mechanical properties of femoral cortical and trabecular bone. *Endocrinology* 2007; 148:3908-13.
25. Gallant MA, Brown DM, Hammond M, et al. Bone cell-independent benefits of raloxifene on the skeleton: A novel mechanism for improving bone material properties. *Bone* 2014; 61:191-200.
26. Bivi N, Hu H, Chavali B, et al. Structural features underlying raloxifene biophysical interaction with bone matrix. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2015; 1-11.
27. Berman AG, Clauser CA, Wunderlin C, Ham-

- mond MA, Wallace JM. Structural and mechanical improvements to bone are strain dependent with axial compression of the tibia in female C57BL/6 mice. *PLoS ONE* 2015; 10(6):e0130504-16.
28. Allen MR, Reinwald S, Burr DB. Alendronate reduces bone toughness of ribs without significantly increasing microdamage accumulation in dogs following 3 years of daily treatment. *Calcif Tissue Int* 2008; 82:354-60.
 29. Margolis DS, Lien Y-HH, Lai L-W, Szivek JA. Bilateral symmetry of biomechanical properties in mouse femora. *Medical Engineering and Physics* 2004; 26: 349-53.
 30. Waguespack S, Hui S, DiMeglio L, Econs M. Autosomal dominant osteopetrosis: clinical severity and natural history of 94 subjects with a chloride channel 7 gene mutation. *J Clin Endo&Metab* 2007; 92:771.
 31. Sinder BP, Eddy MM, Ominsky MS, Caird MS, Marini JC, Kozloff KM. Sclerostin antibody improves skeletal parameters in a *Brtl*+ mouse model of osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res* 2012; 28:73-80.
 32. Uveges TE, Kozloff KM, Ty JM, et al. Alendronate treatment of the *Brtl* osteogenesis imperfecta mouse improves femoral geometry and load response before fracture but decreases predicted material properties and has detrimental effects on osteoblasts and bone formation. *J Bone Miner Res* 2009; 24:849-59.
 33. Reid IR, Lyles K, Su G, et al. A single infusion of zoledronic acid produces sustained remissions in paget disease: Data to 6.5 years. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2261-70.
 34. Fuchs RK, Phipps RJ, Burr DB. Recovery of trabecular and cortical bone turnover after discontinuation of risedronate and alendronate therapy in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2008; 23:1689-97.
 35. Bryant HU, Glasebrook AL, Yang NN. A pharmacological review of raloxifene. *J Bone Miner Metab* 1996; 14:1-9.
 36. Recker RR, Mitlak BH, Ni X, Krege JH. Long-term raloxifene for postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin* 2011; 27:1755-61.
 37. Kanis JA, Johnell O, Black DM, et al. Effect of raloxifene on the risk of new vertebral fracture in postmenopausal women with osteopenia or osteoporosis: a reanalysis of the multiple outcomes of Raloxifene Evaluation trial. *Bone* 2003; 33:293-300.
 38. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. *JAMA* 1999; 282:637-45.
 39. Riggs B, Melton L III. Bone turnover matters: the raloxifene treatment paradox of dramatic decreases in vertebral fractures without commensurate increases in bone density. *J Bone Miner Res* 2002; 17:11-4.
 40. Fyhrie DP, Christiansen BA. Bone material properties and skeletal fragility. *Calcif Tissue Int* 2015; 97:213-28.
 41. Tommasini SM, Nasser P, Schaffler MB, Jepsen KJ. Relationship between bone morphology and bone quality in male tibias: Implications for stress fracture risk. *J Bone Miner Res* 2005; 20:1372-80.



ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

DENSIDAD ÓSEA VOLUMÉTRICA VERTEBRAL OBTENIDA SIN FANTOMA EN ESTUDIOS DE RUTINA DE TOMOGRAFÍA COMPUTARIZADA DE ABDOMEN: CORRELACIÓN CON LOS VALORES MEDIDOS POR DENSITOMETRÍA ÓSEA AREAL POR RAYOS X

Haraldo Claus Hermberg,^{1*} Silvina De Luca,² Fiorella Troncoso,² María Pia Lozano,¹ Magdalena Rey,¹ Silvana Boffa,³ María Josefina Pozzo.¹

1. Servicio de Endocrinología. 2. Servicio de Diagnóstico por Imágenes. 3. Servicio de Densitometría. Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina.

Resumen

La densidad mineral ósea (DMO) por tomografía computarizada cuantitativa (QCT) mide con exactitud y precisión de corto plazo la densidad volumétrica (DMOv) de secciones axiales de los cuerpos vertebrales lumbares valiéndose de un fantoma de calibración. Existe evidencia de que la densitometría por TC sin fantoma convirtiendo las unidades Hounsfield en g/cm³ aplicando un coeficiente específico para cada equipo, presenta muy alta correlación con la DMO por QCT y que es confiable para evaluar la densidad ósea vertebral. Apoyándonos en ello, correlacionamos DMO y CMO estimados a partir de estudios de TC con los obtenidos por DXA. Se incluyeron 28 mujeres (edad: 63,4±10,3 años, rango: 37-85) que habían realizado una TC de abdomen y previamente una DMO en un lapso previo no mayor de 6 meses. Se midieron: 1) TC: DMOv promedio integral (trabecular + cortical) en un corte axial medio vertebral de 10 mm de espesor y el área en cm². Se multiplicó la densidad por el área, obteniendo un valor equivalente al CMO de la sección (CMO-TC) y 2)

DXA: se consideraron la DMOa y CMO en una RI de 10 mm de altura a nivel del centro de la vértebra L3. Las correlaciones entre los parámetros homólogos obtenidos por ambos métodos fueron significativas: resultó superior para CMO [DMOv vs. DMOa r: 0,67 (p=0,005) y CMO-TC vs. CMO-DXA r: 0,75 (p=0,00063)]. El estudio complementa los ya existentes y abre la posibilidad de utilizar estudios de rutina de TC de abdomen para evaluar la densidad ósea, para lo cual deberán establecerse valores de referencia sexo y edad específicos.

Palabras claves: densidad mineral ósea, tomografía computarizada, contenido mineral óseo, densidad volumétrica sin fantoma.

Abstract

PHANTOM-LESS VOLUMETRIC VERTEBRAL DENSITY OBTAINED FROM ROUTINE ABDOMINAL CT STUDIES: CORRELATION WITH DATA OBTAINED BY DXA

Conventional quantitative computed tomography (QCT) uses a calibration phantom

* E-mail: hclaus@fibertel.com.ar

scanned simultaneously with the anatomical region of interest and measures bone density accurately and with short-term high precision. Evidence supports that phantom-less volumetric BMD highly correlates with QCT BMD and is a reliable method for assessing bone density of vertebral bodies. Assessment of BMD in routine abdominal CT scans has been investigated in recent years. The aim of the study was to correlate BMD and bone mineral content (BMC) obtained from CT studies with data obtained by DXA. Twenty eight women (age 63.4±10.3 years old, range: 37-85) who underwent abdominal CT for different reasons and DXA measurements within 6 months were included. A simple manual region of interest (RI) which delineated the edge of the vertebral body was applied to L3. We measured 1) CT: Volumetric integral density (BMDv) -trabecular and cortical bone- of the axial section and area (A) in cm². Density was multiplied by area to obtain a value equivalent to BMC. 2) DXA: BMD and BMC in a RI of 10 mm height in the middle of L3. All parameters obtained by CT correlated significantly with the corresponding to DXA : BMDv vs BMDa r: 0.67 (p=0.005) y BMC-CT vs BMC-DXA: r: 0.75 (p=0.00063). This study complements previous reports and opens the possibility of using routine abdominal CT studies to assess bone density. For that purpose reference values (age and gender) must be established.

Key words: bone mineral density, quantitative computed tomography, bone mineral content, phantom-less volumetric density.

Introducción

La densitometría ósea volumétrica (DMOV) vertebral por tomografía computarizada cuantitativa (QCT) emplea un fantoma de referencia que le permite convertir en mg/cm³ de calcio de hidroxiapatita las unidades Hounsfield (UH) de la región (volumen) de interés de cada una de las sección vertebrales seleccionadas.¹⁻³ El fantoma contiene concentraciones conoci-

das de hidroxiapatita (K₂HPO₄) equivalentes a 0, 100, 150 y 200 mg/cm³. La relación lineal perfecta de la concentración mineral vs. las unidades UH de su medición por tomografía computarizada (TC) permite obtener con exactitud la DMOv a partir del valor promedio de UH de una región de interés correspondiente al área del cuerpo vertebral. DMOv (UH del cuerpo vertebral x coeficiente de regresión) (Figura 1).

Recientemente se iniciaron investigaciones con la finalidad de estimar la DMOv sin fantoma para utilizar, como un aporte secundario, los estudios de TC de abdomen y tórax realizados con otros objetivos. Estos demostraron una alta correlación (r=0,98) entre las UH y los correspondientes valores de DMOv estimados en g/cm³; sin embargo, se observaron coeficientes de regresión algo diferentes según el modelo de equipo de cada fabricante.⁴⁻⁷ En un estudio se analizó la calibración de 14 equipos de TC, lo que le permitió proponer un método para estandarizar y obtener resultados comparables de DMOv sin fantoma con distintos equipos.⁸ De acuerdo con la opinión de los autores de los estudios citados, la validación de los resultados está aún en fase de investigación.

Una forma de contribuir a la validación de la DMOv sin fantoma es ampliar las investigaciones hasta ahora centradas en cuestiones técnicas de la TC, comparándolas con parámetros densitométricos medidos por DXA, lo que le otorgaría además una proyección clínica por ser el método asistencial de referencia. La DMO vertebral tiene una precisión de 1-1,5%. Un estudio que correlacionó los valores de DMOv con la DMO areal (DMOa) por DXA de las correspondientes vértebras obtuvo un adecuado coeficiente de correlación.⁹ Es difícil juzgar si esta correlación es metodológicamente aceptable o no, dado que la DMOa es una medida bidimensional de un objeto tridimensional, por lo que un factor geométrico aleatorio puede ser responsable de que vértebras de igual DMOv puedan

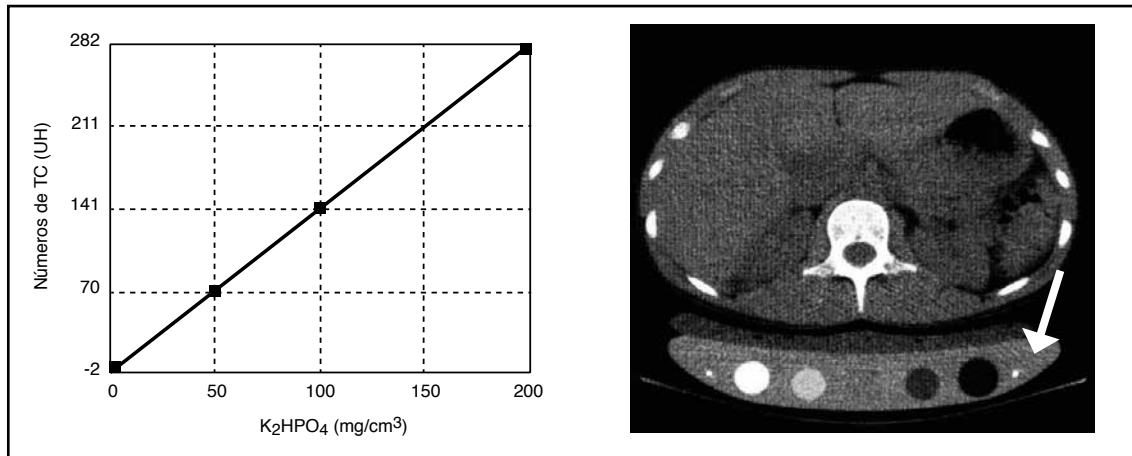


Figura 1. Determinación de DMOv por QCT. En el fantoma de plástico colocado debajo de la zona lumbar (flecha) hay tubos con concentraciones conocidas de hidroxiapatita (K_2HPO_4) equivalentes a cero, 100, 150 y 200 mg/cm^3 . La relación lineal perfecta de la concentración mineral vs. las unidades Hounsfield (UH) de su medición por TC permite obtener con exactitud la DMOv a partir del valor promedio de UH de una región de interés correspondiente al área del cuerpo vertebral. $DMOv = UH \text{ del cuerpo vertebral} \times \text{coeficiente de regresión}$.

tener distintas DMOa.¹⁰ El contenido mineral óseo (CMO) estimado por DXA, en cambio, no está influenciado por el área de proyección, por lo que su correlación con la estimación del CMO derivado de la DMOv integral del cuerpo vertebral debería exhibir una dispersión menor que la de las respectivas densitometrías volumétrica y areal. Por otra parte, es importante establecer si la DMOv es un subrogado confiable de la DMO real estimada por QCT. Otro aspecto de relevancia clínica es evaluar si la DMOv sin fantoma respeta la correlación negativa con la edad bien establecida para la DMOa y la DMO por QCT.

El propósito de nuestro trabajo fue complementar los estudios de validación de la DMOv sin fantoma basados en recursos propios de la TC, y dar un primer paso proyectando sus conclusiones provisionales al terreno de la evaluación clínica y comparar los parámetros densitométricos obtenidos por TC con los correspondientes informados por DXA de la misma vértebra. Un objetivo secundario fue evaluar la correlación de la DMOv sin fantoma con la edad.

Materiales y métodos

Se incluyeron 28 mujeres (edad: $63,4 \pm 10,3$ años, rango: 37-85) a las que se les había solicitado una TC de abdomen con fines diagnósticos o control de una enfermedad y que previamente habían realizado una DMO (DXA) en un plazo no mayor de 6 meses. Se excluyeron pacientes con metástasis óseas o enfermedades oncohematológicas.

Estimamos la DMOv sin fantoma de acuerdo con el método de estandarización propuesto por el estudio mencionado precedentemente, a partir del cual calculamos el CMO.⁸

Los equipos empleados fueron un tomógrafo computarizado multidetector (320 detector CT scanner) Toshiba Aquilion One® y un densitómetro Lunar Prodigy Advance®. Los estudios tomográficos de abdomen se adquirieron con un voltaje del tubo de 120 kVp. Basados en el topograma de referencia se realizaron cortes axiales medio-vertebrales de 10 mm de espesor paralelos a los platillos superior e inferior de L3. En la imagen así obtenida (antes de la administración del contraste) se demarcó manualmen-

te una región de interés (RI) correspondiente al contorno externo del cuerpo vertebral sin los pedículos ni los procesos posteriores (Figura 2).

Se midieron en:

- Tomografía computarizada de abdomen: 1) la densidad volumétrica (DMOv) promedio integral –trabecular más cortical– multiplicando las UH por 0,903 (coeficiente de conversión para Aquilion One calculado por uno de los estudios de calibración de los equipos para convertirlos en g/cm³ de calcio de hidroxapatita⁸), 2) el área (cm²) y 3) el CMO de la sección (CMOv) determinado mediante la multiplicación de la densidad por el área.

- Densitometría por DXA: 1) la DMOa y 2) CMO de una RI de 10 mm de altura a nivel del centro de la vértebra L3 que estimamos coincidente con el espesor de la sección del cuerpo vertebral definidas por TC (Figura 3).

- Se calculó la participación de CMO-TC del cuerpo vertebral en el CMO-DXA mediante la relación porcentual: $[\text{CMOv}/\text{CMOa}] \times 100$.

En el análisis estadístico se muestran los análisis descriptivos de las variables estudiadas (media y desvío estándar). Se realizaron

correlaciones univariadas de los siguientes parámetros densitométricos (correlación de Pearson): DMOv vs. DMOa, CMO-TC vs. CMO-DXA y DMOv vs. edad. Se consideró significancia estadística con $p < 0,05$.

Resultados

Se evaluaron 28 mujeres por ambos métodos (TC y DXA) la vértebra lumbar 3 para los parámetros DMOv, DMOa, CMOv y CMOa, según los métodos referidos. Se establecieron las medias y desvíos estándares de estas mediciones y se ponderó la relación CMOa/CMOv, estableciendo que la contribución del CMOv al CMOa es del $40 \pm 10\%$ (Tabla 1).

Todas las correlaciones entre parámetros homólogos obtenidos por TC y por DXA (DMO y CMO) fueron positivas y significativas (DMO: $r = 0,67$ $p < 0,001$), especialmente al considerar la relación CMO por ambos métodos ($r = 0,75$, $p < 0,0001$) (Figura 4 A y B).

La densidad integral de la sección (DMOv) correlacionó negativamente con la edad ($r = -0,5$, $p = 0,014$) en consonancia con la conocida influencia de la edad sobre la DMO por QCT y DXA (Figura 5).

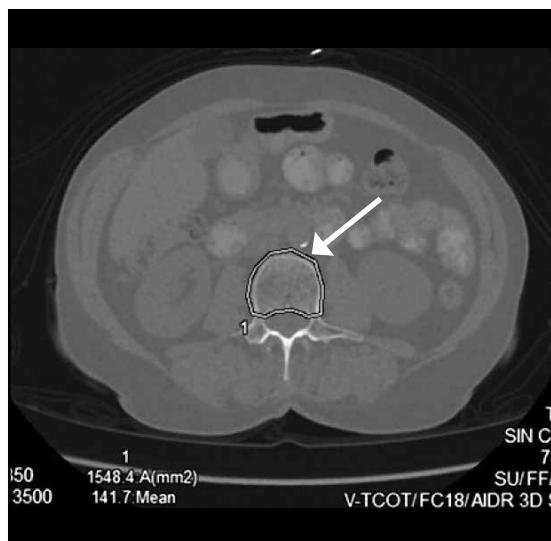


Figura 2. Tomografía computarizada de abdomen. Se señala la región de interés en la vértebra lumbar 3.

Tabla 1. Estadística descriptiva de las mediciones de densitometría volumétrica y areal y contenido mineral óseo determinadas por tomografía computarizada y DXA en la vértebra lumbar 3 de 28 mujeres que realizaron TC de abdomen y densitometría por DXA.

Parámetro	Media \pm DS
DMOa-DXA (g/cm ²)	1,086 \pm 0,25
CMO-DXA (g)	4,4 \pm 1,1
DMOv (g/cm ³)	0,152 \pm 0,051
CMO-TC (DMOv x Área) (g)	1,78 \pm 0,7
CMO-TC/CMO-DXA (%)	40 \pm 10

Abreviaturas: CMO: contenido mineral óseo; DMO: densidad mineral ósea, v= volumétrica, a= areal; TC: tomografía computarizada; DXA: densitometría areal por rayos X.

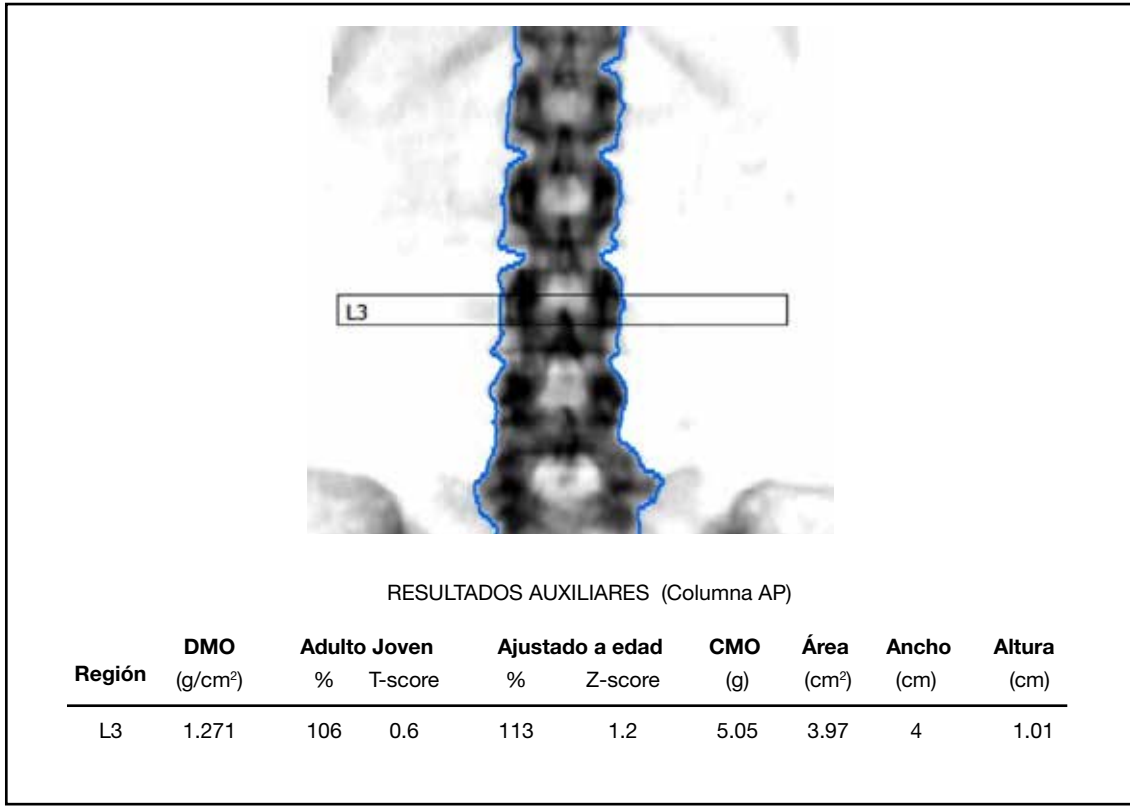


Figura 3. Densitometría por DXA. Se señala la región de interés de la vértebra lumbar 3.

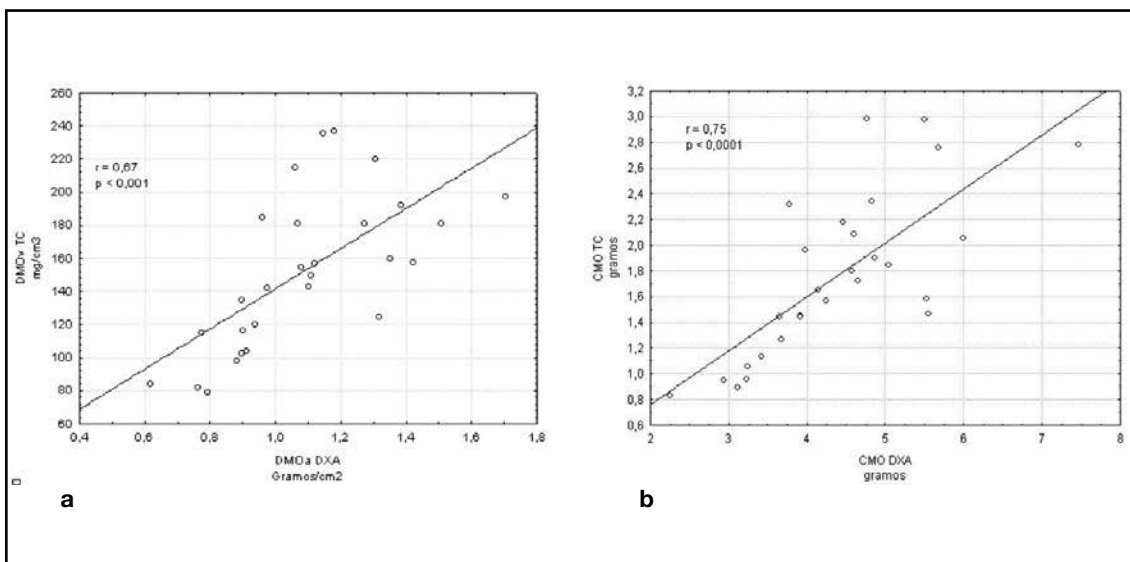


Figura 4. Coeficientes de correlación de a) densitometría volumétrica y areal, b) contenido mineral óseo medidos por tomografía computarizada y DXA en una población de 28 mujeres.

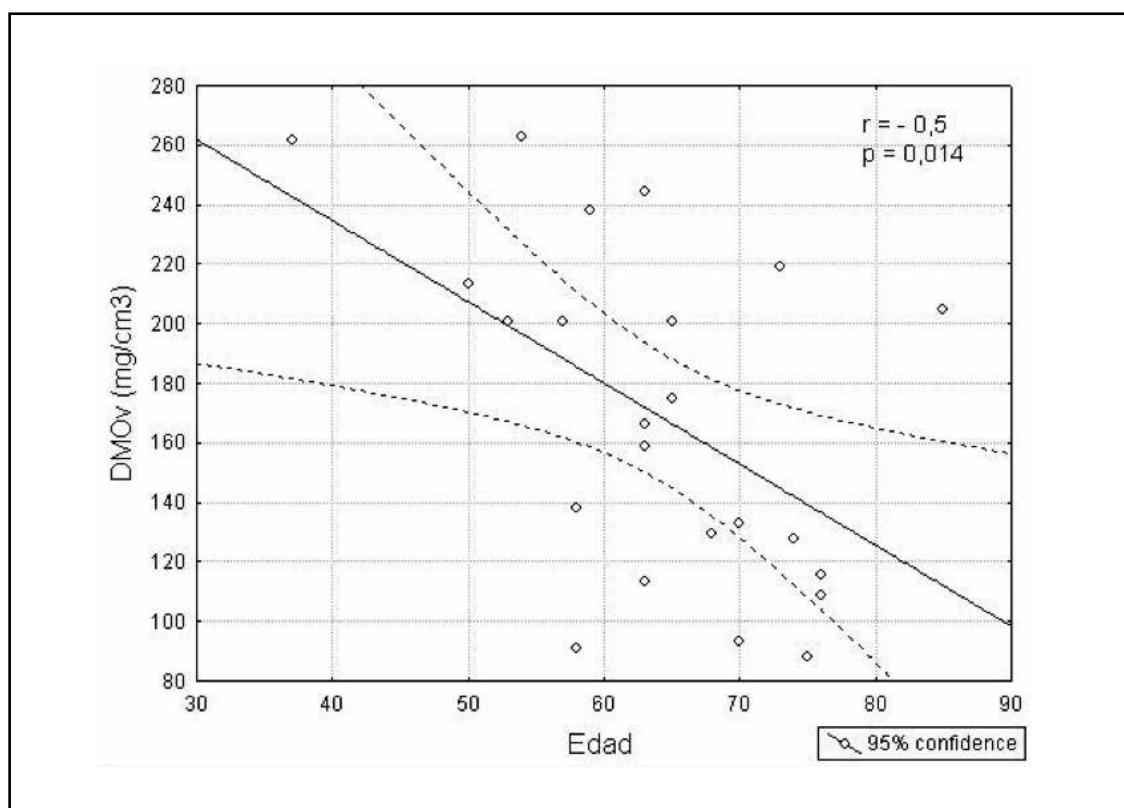


Figura 5. Coeficiente de correlación de la densitometría ósea volumétrica medida por tomografía computarizada (L3) y edad de 28 mujeres adultas.

Discusión

La densitometría por tomografía computarizada cuantitativa mide con exactitud y alta precisión de corto plazo (CV 0,8%) la DMO volumétrica de las secciones axiales de los cuerpos vertebrales lumbares.¹⁻³ Para ello se vale de un fantoma de calibración que permite determinar un coeficiente para la conversión de las unidades Hounsfield en mg/cm^3 de calcio de hidroxapatita. La posibilidad de medir la DMO vertebral sin fantoma a partir de estudios clínicos de tomografía computarizada de abdomen como un análisis adicional de este puede resultar de interés en determinados contextos clínicos.

Las investigaciones para abordar este propósito fueron realizadas en estudios con diferentes diseños. En algunos centros, que

adicionaron el fantoma de calibración a estudios de TC de abdomen o columna, encontraron una muy alta correlación entre las UH y la resultante DMOv de la región de interés estudiada. Esto es un indicio de que los factores de conversión son válidos entre estudios del mismo centro efectuados con el mismo equipo.⁴⁻⁷ Un estudio de similares características, multicéntrico, evaluó un gran número de pacientes con el accesorio del fantoma y entre otros análisis, correlacionó la DMOv en mg/cm^3 así obtenidos con los datos crudos de las UH de las correspondientes vértebras, escaneadas con 14 modelos distintos de 5 fabricantes de tomógrafos computados, entre ellos el Aquilion One, con similares condiciones de escaneo que en el presente trabajo. Si bien había pequeñas diferencias



entre modelos de tomógrafos en el valor del coeficiente de conversión, la correlación entre los valores de UH y los de la DMOv de la vértebra era muy alta ($r=0.98$).⁸ Esto permitió una standardización del factor de conversión para el Aquilion One. Este factor (0,903, coeficiente de variación 3,6%) fue aplicado en el presente trabajo. Otros autores, en lugar de utilizar un fantoma, obtuvieron una regresión a partir de las densidades de determinadas estructuras como músculo y grasa, con la que calcularon el factor de conversión y utilizaron la DMO por DXA como medida referencial para validar la DMOv así obtenida. El coeficiente de correlación entre la DMO DXA vs. DMOv resultó 0,634.⁹

El presente es un estudio exploratorio de las posibilidades de utilizar la DMOv sin fantoma en estudios clínicos de TC de abdomen. Siendo la DMO por DXA el método de referencia para la valoración clínica de masa ósea, también hemos elegido los parámetros densitométricos que brinda para cotejarlos con los obtenibles por TC.

En nuestro estudio comprobamos que la DMOv medida sin fantoma en la vértebra lumbar 3 tiene una buena correlación con la DMOa de la misma vértebra ($r=0,67$), corroborando los resultados de Pickhardt y cols.⁹ A diferencia del estudio mencionado y por las razones expuestas en la introducción se puso énfasis en el CMO, correlacionando este parámetro obtenido por las dos diferentes metodologías; así se obtuvo una mejor correlación que con la DMO ($r=0,75$). Para estimar el CMO hemos definido una RI que abarcara el cuerpo vertebral en forma integral y no solo la porción trabecular de la vértebra de acuerdo con la técnica habitual de DMO por QCT. No obstante, persisten diferencias en los objetos involucrados en la cuantificación del CMO por ambos métodos pues, mientras el CMO por TC se refiere solamente al cuerpo vertebral, el CMO por DXA abarca además los procesos posteriores de la vértebra.^{11,12} Esto explicaría la diferencia

en los valores de CMO obtenidos por uno y otro método. Un estudio enfocado en determinar la proporción de CMO atribuible a los procesos posteriores indica que esta es muy variable, lo que definitivamente atenta para que la correlación entre CMO-TC (cuerpo vertebral) y CMO-DXA (vértebra completa) sea aún mayor.¹² En ese aspecto, el presente estudio también está en línea con aquel estudio al encontrar que un $40\pm 10\%$ del CMO medido por TC corresponde al cuerpo vertebral.¹²

En pos de la claridad de la exposición y para satisfacer nuestra estrategia de estudio hemos convertido las UH en g/cm^3 , pues el producto UH x área hubiera derivado en una magnitud no existente hasta donde alcanza nuestro conocimiento. Es relevante el CV de 3,6% para equipos Aquilion One.⁸ Este valor indica una precisión menor que la DMO por QCT pero es una evidencia que las UH, variable madre de los parámetros que derivan de ella, correlacionan fuertemente con el valor real de la DMO por QCT.

Como un argumento más para verificar la factibilidad del objetivo del estudio hemos evaluado si la relación de la DMO-TC con la edad está en concordancia con lo conocido epidemiológicamente. Nuestros resultados verifican el descenso de masa ósea ya establecidos por QCT y DXA. Asimismo, la mayor correlación del CMO estimado por TC y DXA que sus respectivos DMO son indicadores indirectos de que las UH son un subrogado confiable clínicamente de la real DMOv.

Conclusiones

El presente estudio complementa, desde una visión clínica, la posibilidad de evaluar adicionalmente la DMO en estudios clínicos de TC de abdomen. Para que esta práctica pueda ser incorporada con fines asistenciales, se requieren investigaciones adicionales, destinadas a asegurar la confiabilidad de sus determinaciones y valores de referencia de sexo y edad específicos.

La potencialidad de su aplicación clínica se adscribe a la detección y seguimiento de osteoporosis secundaria a las patologías y tratamientos para cuyo diagnóstico y seguimiento se indican los estudios de TC de abdomen.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Recibido: abril 2016.

Aceptado: noviembre 2016.

Referencias

1. Cann CE. Quantitative CT for determination of bone mineral density: a review. *Radiology* 1988; 166:509-22.
2. Adams JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol* 2009;71:415-2.
3. Prior JC, Vigna YM, Wark JD, et al. Premenopausal ovariectomy-related bone loss: a randomized, double-blind, one-year trial of conjugated estrogen or medroxyprogesterone acetate. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1851-63.
4. Schwaiger BJ, Gersing AS, Baum T, Noël PB, Zimmer C, Bauer JS. Bone mineral density values derived from routine lumbar spine multidetector row CT predict osteoporotic vertebral fractures and screw loosening. *Am J Neuroradiol* 2014; 35:1628-33.
5. Hopper KD, Wang MP, Kunselman AR. The use of clinical CT for baseline bone density assessment. *J Comput Assist Tomogr* 2000; 24:896-9.
6. Papadakis AE, Karantanas AH, Papadokostakis G, Petinellis E, Damilakis J. Can abdominal multi-detector CT diagnose spinal osteoporosis? *Eur Radiol* 2009; 19:172-6.
7. Mueller DK, Kutscherenkob A, Bartel H, Vlasenbroek A, Ourednicek P, Erckenbrecht J. Phantom-less QCT BMD system as screening tool for osteoporosis without additional radiation. *Eur J Radiol* 2011; 79:375-81.
8. Budoff MJ, Malpeso JM, Zeb I, et al. Measurement of phantomless mineral density on coronary artery calcium CT scans acquired with various CT scanner models. *Radiology* 2013; 267:830-6.
9. Pickhardt PJ, Lee LJ, del Rio AM, et al. Simultaneous screening for osteoporosis at CT colonography: bone mineral density assessment using MDCT attenuation techniques compared with the DXA reference standard. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2194-203.
10. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *J Bone Miner Res* 1992; 7:137-42.
11. Lang TF, Guglielmi G, van Kuijk C, De Serio A, Cammisa M, Genant HK. Measurement of bone mineral density at the spine and proximal femur by volumetric quantitative computed tomography and dual-energy X-ray absorptiometry in elderly women with and without vertebral fractures. *Bone* 2002; 30:247-50.
12. Lee DCL, Campbell PP, Gilsanz V, Wren TA. Contribution of the vertebral posterior elements in anterior-posterior DXA spine scans in young subjects. *J Bone Miner Res* 2009; 24:1398-403.



ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

EFECTO DE LA YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) SOBRE EL HUESO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Lucas R. Brun,^{1,2*} Mercedes Lombarte,^{1,2} María Cielo Maher,¹ Candela Retamozo,¹ Verónica Di Loreto,¹ Alfredo Rigalli.^{1,2,3}

1. Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. 2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 3. Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Rosario (CIUNR). Argentina.

Resumen

El consumo de yerba mate (*Ilex paraguayensis*) es habitual en la Argentina y otros países de América del Sur. La yerba mate, al igual que el café y el té, contiene xantinas y polifenoles. El consumo de café ha mostrado tener impacto negativo sobre la densidad mineral ósea (DMO), mientras que el té ha mostrado tener efecto protector. En mujeres posmenopáusicas tomadoras de mate se halló mayor DMO de columna lumbar y cuello femoral en comparación con controles que no bebían mate. La DMO también fue mayor en ratas que recibieron una infusión de yerba mate y dieta baja en calcio; sin embargo, este incremento no fue capaz de revertir el efecto negativo del bajo contenido de calcio sobre las propiedades biomecánicas y la conectividad trabecular. El objetivo de este trabajo fue estudiar el tejido óseo de ratas ovariectomizadas (OVX) luego de recibir una infusión de yerba mate por 90 días en reemplazo del agua de bebida. Se utilizaron ratas Sprague Dawley (n=16) hembras divididas en 2 grupos: OVX+agua y OVX+yerba. Otro grupo de ratas (n=6) fue so-

metido a una cirugía simulada (Sham). El estudio mostró claramente el efecto deletéreo de la ovariectomía sobre todos los parámetros estudiados (DMO, histomorfometría ósea, conectividad trabecular y biomecánica) respecto del grupo Sham. El grupo OVX+yerba no mostró diferencias con el grupo OVX+agua en ninguno de los parámetros analizados, por lo que la yerba mate no produciría efecto alguno sobre el hueso de ratas adultas ovariectomizadas.

Palabras clave: yerba mate, *Ilex paraguayensis*, hueso.

Abstract

EFFECT OF YERBA MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) ON BONE IN OVARIECTOMIZED RATS

Yerba mate (Ilex paraguayensis) consumption is common in Argentina and other South American countries. Like coffee and tea, yerba mate contains xanthines and polyphenols. It has been reported that caffeine consumption has a negative impact on bone mineral den-

* E-mail: lbrun@unr.edu.ar

sity (BMD) while tea has been shown to have a protective effect. On the other hand, in postmenopausal women that usually consumed yerba mate, lumbar spine and femoral neck BMDs were higher than in non-consumers. BMD was also higher in rats that received a yerba mate infusion and low calcium diet. However, this increase was not sufficient to reverse the negative effect of a low calcium diet on bone biomechanical properties and trabecular connectivity. The aim of this work was to study bone tissue in ovariectomized (OVX) rats receiving an infusion of yerba mate instead of drinking water for 90 days. Female Sprague Dawley rats (n=16) were divided into 2 groups: OVX+water and OVX+yerba. A third group of rats (n=6) was submitted to sham surgery (Sham). Results clearly showed the deleterious effect of ovariectomy on all studied parameters (BMD, bone histomorphometry, trabecular connectivity and biomechanical properties) compared to Sham group. The OVX+yerba group showed no difference with OVX+water group in all analyzed parameters. It is concluded that yerba mate does not produce any effect on the bone of ovariectomized adult rats.

Keywords: yerba mate, *Ilex paraguariensis*, bone.

Introducción

El consumo de yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es habitual en la Argentina (5 kg/persona/año) y otros países de América del Sur, especialmente Uruguay, Brasil y Paraguay.¹ Aunque la concentración de cafeína en el mate es baja (~300-400 mg/l) en comparación con el café (~600 mg/l), en la Argentina el volumen promedio ingerido de mate supera ampliamente al de café por lo que la incorporación de cafeína a través del consumo de yerba mate excede la ingesta de cafeína aportada por el café.²

Se ha reportado que el consumo de cafeína tiene impacto negativo sobre la densidad

mineral ósea (DMO) y el riesgo de fractura, particularmente cuando la ingesta de calcio está por debajo de los requerimientos.^{3,4} Un metanálisis de diez estudios prospectivos que en conjunto incluyeron a más de 200.000 participantes mostró que el consumo de café está ligera pero significativamente asociado, en forma dosis-dependiente, a un mayor riesgo de fracturas, especialmente en las mujeres.⁵ Este efecto negativo también se observó en animales de experimentación.^{6,7} El mecanismo no está claro, pero hay trabajos que reportan que la administración de cafeína aumenta la osteoclastogénesis y la resorción ósea *in vivo*.⁸

Por otro lado, el consumo de té (*Camellia sinensis*) ha mostrado tener un efecto protector sobre la densidad mineral ósea y el riesgo de fractura, aunque el efecto parece ser poco significativo.^{9,10} Este efecto positivo es atribuido a la presencia de polifenoles con capacidad antioxidante.¹¹ Un estudio previo comparando ratas adultas con ratas jóvenes mostró correlación entre la pérdida de DMO y la actividad de la enzima superóxido dismutasa, lo que sugiere que el estrés oxidativo induciría la pérdida de hueso relacionada con la edad.¹² Adicionalmente, se ha demostrado que alimentos ricos en antioxidantes pueden representar una estrategia para disminuir la pérdida ósea relacionada con la edad, y que los alimentos ricos en polifenoles se encuentran asociados a una mejor salud ósea, atribuible a su capacidad antioxidante.^{11,13,14}

Dado este efecto diferencial entre el café y el té, se plantea la necesidad de conocer el efecto de la yerba mate sobre el hueso. La yerba mate, por su parte, contiene polifenoles tanto flavonoides como cafeoil-derivados. Entre los flavonoides predomina la rutina, seguido de quercetina, kaempferol y miricetina. Entre los cafeoil-derivados predomina el ácido clorogénico; en menor proporción también se encuentran el ácido 4,5-dicafeolquínico, el ácido 3,4-dicafeolquínico y el ácido 3,5-dicafeolquínico. Entre las xantinas



se destacan la cafeína y la teobromina y, en menor medida, la teofilina.^{15,16,17}

En un trabajo previo se halló mayor DMO (+9,7%) de columna lumbar en mujeres posmenopáusicas que tomaban al menos 1 litro de mate/día (n=146) en comparación con controles que no bebían mate (n=146) (0,952 g/cm² vs. 0,858 g/cm², respectivamente; p<0,0001). Datos similares se observaron en cuello femoral donde la DMO fue mayor (+6,2%) en las mujeres tomadoras de mate en comparación con las pacientes controles (0,817 g/cm² vs. 0,776 g/cm², respectivamente; p=0,0002).¹⁸

Por otra parte, nuestro grupo llevó a cabo un trabajo en ratas Sprague Dawley de 30 días de edad donde se evaluó el efecto de la yerba mate sobre el tejido óseo a través de estudios de densitometría, morfometría, histomorfometría, conectividad trabecular y biomecánica ósea.¹⁹ Los animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales (n=6/grupo): Agua+calcio 0,2 g%; Agua+calcio 0,9 g%; Yerba+calcio 0,2 g%; Yerba+calcio 0,9 g%. Los grupos Yerba recibieron *ad libitum* una infusión de yerba mate (25 g de yerba mate en 1 litro de agua a 90°C) en reemplazo del agua de bebida. La yerba mate mostró un efecto positivo sobre la DMO, congruente con lo hallado por Conforti y col.,¹⁸ y también en el volumen de hueso trabecular pero solo en el grupo con bajo contenido de calcio en la dieta. Esto podría indicar que el efecto negativo de la baja ingesta de Ca en el volumen óseo se contrarresta en parte por la yerba mate. Sin embargo, la yerba mate no fue capaz de revertir el efecto negativo del bajo contenido de Ca sobre las propiedades biomecánicas y la conectividad trabecular.¹⁹

Objetivo

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades biomecánicas y microestructurales del tejido óseo en ratas ovariectomizadas expuestas a una infusión de yerba mate.

Material y métodos

Animales y procedimientos generales

Ratas Sprague Dawley (n=16) hembras de 7 semanas fueron sometidas a ovariectomía bilateral y aleatoriamente se dividieron en dos 2 grupos: OVX+agua, que recibió agua como bebida y OVX+yerba, que recibió una infusión de yerba mate (25 g de yerba mate en 1 litro de agua a 90 °C previamente filtrada y enfriada) en reemplazo del agua. La administración de la infusión de yerba mate se realizó inmediatamente post-OVX. Otro grupo de ratas (n=6) fue sometido a una cirugía simulada (Sham) para comprobar el efecto de la OVX sobre el tejido óseo. La duración del experimento fue de 90 días y, finalizado ese tiempo, se extrajeron las tibias y los fémures para realizar los estudios óseos.

El manejo de animales se llevó a cabo bajo las normas internacionales de cuidado y uso de animales de laboratorio.²⁰ Todos los experimentos realizados fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Densidad mineral ósea

La densidad mineral ósea (mg Ca/cm²) se determinó en las tibias por absorciometría de rayos X (WorkRay 70 KV, Workman SRL, Argentina) simultáneamente con un patrón de aluminio previamente calibrado con concentraciones de Ca conocidas.^{17,21} La DMO se determinó en un área de 2 mm² a 1 mm del cartílago de crecimiento coincidente con la zona donde se llevaron a cabo los estudios histomorfométricos que se describen a continuación.

Histomorfometría ósea

La tibia izquierda se fijó en formol-PBS al 10% durante 72 horas. Posteriormente se descalcificó en EDTA 10% a 4 °C y se procesaron histológicamente para la inclusión en parafina. Se realizaron cortes histológicos de 5-7 μm con un micrótopo (Minot-Mikrotop)

1212[®]. Leitz, Wetzlar, Alemania) y posterior tinción con hematoxilina-eosina. Se tomaron imágenes digitales a 1 mm en dirección distal del borde inferior del cartílago de crecimiento en un área de 2 mm² con un microscopio (Olympus[®], Alemania) y una cámara fotográfica adaptada (Olympus SP-350[®], China). Las imágenes obtenidas (40x) fueron posteriormente analizadas con un software específico (Image J 1.40[®], NIH, Maryland, Estados Unidos) con el cual se determinó en forma directa: el área total de tejido analizado: TV (mm²); área ocupada por hueso: BV (mm²), y perímetro de dicha área: BS (mm). Con estos valores se calcularon los siguientes parámetros: porcentaje de tejido óseo: BV/TV (%), espesor trabecular: Tb.Th (mm) = $[2/(BS/BV)]$, número de trabéculas: Tb.N (1/mm) = $[(BV/TV)/(Tb.Th)]$ y separación trabecular: Tb.Sp (mm) = $[(1/Tb.N)-Tb.Th]$.²²

Conectividad trabecular

Sobre las mismas imágenes digitales donde se evaluaron los parámetros histomorfométricos, se determinaron los siguientes parámetros de conectividad trabecular (Image J 1.40): número total de nodos (Nd), número de ramas de nodo a nodo (NNd), número de nodo a ramas terminales (NNdTm), número de árboles (T), número de terminales (Tm) y el número de ramas con dos terminales (NTm) es decir trabéculas que no presentan nodos. Con estos parámetros se calcularon los siguientes parámetros de interconectividad: índice interconectividad $ICI=(Nd*NNd)/T*(NNdTm+1)$; relación nodo-terminal $[R=Nd/Tm]$, y el nuevo índice de interconectividad $[NDX (\%/mm) = (R*NNd*(BV/TV)*Tb.Th)/((NTm+NNdTm)*Dist*Tb.Sp)]$.^{19,23}

Evaluación de la resistencia ósea

La evaluación de la resistencia ósea se realizó en los fémures a través de dos ensayos: ensayo de flexión a tres puntos, a nivel de la diáfisis, para medir la resistencia del hueso cortical, y ensayo de compresión en un corte

transversal a nivel de la epífisis proximal, para medir la resistencia del hueso trabecular.^{17,24,25}

Se utilizó un instrumento para ensayos biomecánicos con una celda de carga de 300 N y una sensibilidad de 0,01 N. Al someter al hueso a la acción de una fuerza se produce un desplazamiento y la fuerza aplicada genera un voltaje que es proporcional a dicha fuerza. El desplazamiento se determinó con una precisión de 10 µm. Estos datos son adquiridos por un software (*Data Acquisition Suite* 1.0, Argentina, 2011) que permite obtener los siguientes parámetros: fuerza de fractura, fuerza máxima soportada, rigidez del hueso, energía absorbida, deformación, tensión, y módulo de Young.

Análisis estadístico

Los datos se muestran como media±error estándar. La distribución de los datos se analizó con el test de Kolmogorov-Smirnov. La comparación de los datos se realizó utilizando análisis de la variancia (ANOVA) para datos independientes y postest de Bonferroni para la comparación entre grupos (GraphPad Prism 2.0, San Diego, Estados Unidos). Las diferencias se consideraron significativas cuando $p<0,05$.

Resultados

El grupo Sham ($1,47\pm 0,09$ mg Ca/cm²) presentó mayor DMO en forma significativa respecto de los grupos OVX (OVX+agua= $1,26\pm 0,07$ mg Ca/cm²; OVX+yerba= $1,22\pm 0,16$ mg Ca/cm²). No se observaron diferencias significativas entre los grupos OVX.

De manera congruente con la DMO, el volumen óseo trabecular (BV/TV) evaluado por histomorfometría fue significativamente menor en los grupos ovariectomizados (OVX+agua: $11,39\pm 1,84\%$; OVX+yerba: $11,05\pm 2,34\%$) respecto del grupo Sham ($29,38\pm 4,23\%$). Esta disminución en el volumen óseo trabecular fue a expensas del número de trabéculas, sin diferencias en el espesor trabecular (Figura 1). La comparación entre los dos grupos OVX no

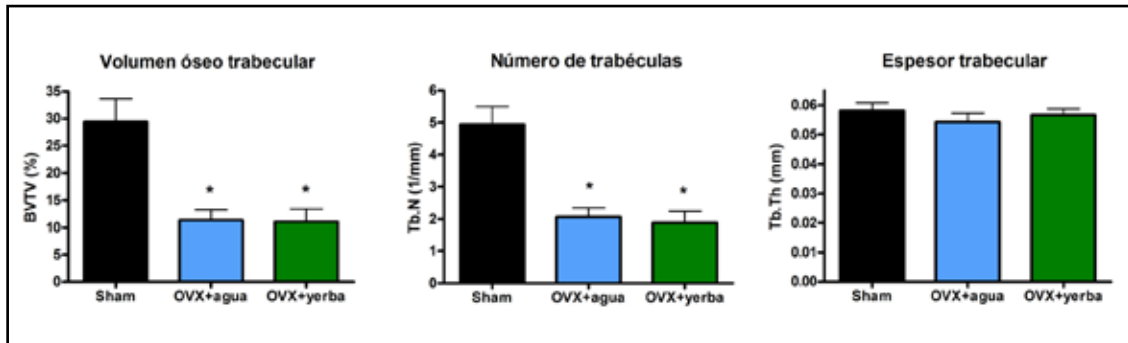


Figura 1. Variables histomorfométricas evaluadas en el hueso trabecular. * Indica diferencia significativa con respecto a Sham ($p < 0,05$).

mostró diferencias en ninguna de las variables estudiadas.

Del análisis de las variables de conectividad trabecular (Tabla 1) se infiere que el parámetro de conectividad (ICI), si bien presenta valores menores en los grupos OVX en comparación con el grupo Sham, no mostró diferencias significativas entre los 3 grupos. Por su parte, el parámetro de conectividad NDX, que contempla en su cálculo además de parámetros de conectividad, algunos parámetros histomorfométricos, sí mostró diferencias estadísticas entre el grupo Sham y los grupos OVX, sin observarse diferencias entre los grupos OVX+agua y OVX+yerba. Por último, se destaca que solo el grupo OVX+agua presenta menor relación nodoterminal (R) en comparación con el grupo Sham. El grupo OVX+yerba no fue diferente del grupo Sham, lo que demuestra una leve mejoría en la conectividad trabecular en el grupo OVX+yerba en comparación con el grupo OVX+agua.

La fuerza de fractura, la rigidez y el módulo de Young obtenidos del ensayo de compresión se hallaron disminuidos en forma significativa en los grupos OVX respecto del grupo Sham (Tabla 2), sin diferencias entre los grupos OVX. Por su parte, la energía absorbida no mostró variaciones entre los grupos estudiados.

Casi todos los parámetros biomecánicos del ensayo de flexión a 3 puntos fueron afectados negativamente por la ovariectomía (Tabla 3). Si bien el CSMI no mostró diferencias significativas, se observa una tendencia a valores mayores en los grupos OVX ($p = 0,07$). Al comparar el grupo OVX+agua con el grupo OVX+yerba no se hallaron diferencias significativas en los parámetros biomecánicos óseos (fuerza de fractura, fuerza máxima, energía absorbida y rigidez). Los parámetros indicadores de calidad del material, como estrés máximo y módulo de Young, tampoco mostraron diferencias significativas entre los grupos OVX.

Discusión

Debido al efecto negativo de la cafeína sobre el hueso, particularmente cuando la cantidad de calcio en la dieta es insuficiente, podría esperarse que el consumo de yerba mate fuera perjudicial para el hueso debido a su contenido de cafeína. El efecto negativo de la cafeína (más de 200-300 mg/día = ~400-500 ml de café) sobre la DMO se observó particularmente en mujeres que consumían Ca por debajo de 750 mg/día.^{3,4,5} Por su parte, el té (negro o verde) ha mostrado tener un leve efecto protector sobre la DMO.^{8,9,26} El hecho de que ambas bebidas que contienen cafeína muestren efectos

Tabla 1. Conectividad trabecular.

	Sham (n=6)	OVX+agua (n=8)	OVX+yerba (n=8)
ICI	0,82±0,14	0,23±0,09	0,45±0,23
NDX (%/mm)	12,53±4,01	0,35±0,22 *	1,06±0,90 *
R	0,36±0,06	0,16±0,03 *	0,22±0,05

* Indica diferencias significativas respecto del grupo Sham ($p < 0,05$). Abreviaturas: ICI: índice de interconectividad; R: relación nodo-terminal; NDX: nuevo índice de interconectividad.

Tabla 2. Propiedades biomecánica óseas (ensayo de compresión).

Ensayo de compresión	Sham (n=6)	OVX+agua (n=8)	OVX+yerba (n=8)
Fuerza de fractura (N)	60,5±12,4	18,6±4,0*	10,9±1,3*
Energía absorbida (mJ)	2,3±0,6	2,9±1,0	1,2±0,3
Rigidez (N/mm)	679,0±190,8	43,0±8,3*	41,7±10,4*
Módulo de Young (GPa)	0,2±0,07	0,01±0,003*	0,01±0,004*

* Indica diferencias significativas respecto del grupo Sham ($p < 0,05$).

Tabla 3. Propiedades biomecánicas óseas (ensayo de flexión a 3 puntos).

Ensayo de flexión	Sham (n=6)	OVX+agua (n=8)	OVX+yerba (n=8)
Fuerza de fractura (N)	152,5±8,6	117,5±3,7*	121,4±2,2*
Fuerza máxima (N)	163,1±6,3	119,6±4,1*	124,5±2,5*
Energía absorbida (mJ)	107,4±11,9	59,6±6,8*	67,9±6,2*
Rigidez (N/mm)	403,7±67,7	167,8±20,4*	207,3±25,8*
CSMI (mm ⁴)	7,7±1,0	9,7±2,3	9,7±1,9
Estrés máximo (MPa)	116,0±5,0	72,8±7,7*	75,6±11,0*
Módulo de Young (GPa)	1,8±0,6	0,6±0,2*	0,8±0,3*

* Indica diferencias significativas respecto del grupo Sham ($p < 0,05$).

contrarios podría deberse a diversos factores: cantidad de cafeína, concentración total ingerida de cafeína en función del volumen ingerido, cantidad de calcio en la dieta, o también la cantidad y tipo de polifenoles con potencial efecto beneficioso sobre el hueso.²⁷

En consecuencia, resulta de interés conocer el efecto de la yerba mate sobre el tejido óseo. Si bien el contenido de cafeína del mate es menor que el del café, el volumen ingerido de mate en nuestra región es muy superior al de café; esto lleva a que sea el mate el que



aporta el 50% de cafeína consumida, relegando al café al segundo lugar con el 36%.²⁸

Este estudio evaluó el efecto de la yerba mate sobre el hueso de ratas OVX que recibieron una infusión de yerba mate en comparación con un grupo de ratas OVX que recibieron agua. Ambos grupos fueron comparados con un grupo Sham para evaluar el efecto de la OVX. El estudio muestra claramente el efecto deletéreo de la OVX sobre todos los parámetros estudiados (DMO, histomorfometría ósea, conectividad trabecular y biomecánica) respecto del grupo Sham. El grupo OVX+yerba no mostró diferencias con el grupo OVX+agua en ninguno de los parámetros analizados en el diseño experimental del presente trabajo, por lo que la yerba mate no produciría efecto alguno sobre el hueso de ratas adultas ovariectomizadas. Solamente se destaca que el grupo OVX+agua presentó menor relación nodo-terminal (R) en comparación con el grupo Sham, mientras que el grupo OVX+yerba no fue diferente del grupo Sham. Este resultado indicaría una leve mejoría en la conectividad trabecular en el grupo OVX+yerba en comparación con el grupo OVX+agua. En este mismo sentido, los parámetros ICI y NDX mostraron valores más altos en el grupo OVX+yerba respecto del grupo OVX+agua; tal vez la amplia dispersión de los datos y el número bajo de animales no permitió hallar diferencias significativas. En un estudio previo donde se evaluó el volumen óseo en ratas OVX que consumieron yerba, la pérdida ósea en el hueso subcondral fue menor en comparación con los animales OVX que solo consumieron agua; sin embargo, el estudio biomecánico no mostró diferencias en las propiedades estructurales de la diáfisis femoral. Histológica e histomorfométricamente se observó que la yerba mate disminuyó la cantidad de médula ósea amarilla en animales OVX, probablemente inhibiendo la diferenciación de células mesenquimáticas a adipocitos y favoreciendo de esta manera la osteoblastogénesis.^{29,30}

En un estudio previo empleando el mismo

modelo de nuestro trabajo se evaluó el efecto de la cafeína sobre el tejido óseo y se mostró un efecto favorable de la cafeína sobre el sistema esquelético de las ratas, ya que observaron aumento de la mineralización ósea y mejor resistencia y estructura del hueso trabecular así como también mejores propiedades mecánicas del hueso compacto. En ratas no OVX se observó una tendencia a mejorar las propiedades mecánicas tanto del hueso esponjoso como del hueso compacto.³¹ El alto consumo de café ha sido asociado con efectos adversos sobre la masa ósea particularmente en las mujeres posmenopáusicas. Esto indicaría la posibilidad de que el efecto de la cafeína sea antagonizado por los estrógenos. Por lo tanto, se ha hipotetizado que los estrógenos podrían bloquear la vía de PKA dependiente de AMPc que es compartida por la cafeína.^{31,32}

Como limitación del presente estudio se puede plantear que la yerba mate fue administrada posteriormente a la OVX, cuando lo habitual es que las mujeres comiencen a tomar mate antes de su menopausia. Sin embargo, en un estudio previo se evaluó el efecto de la yerba mate sobre el hueso de ratas jóvenes.¹⁹ Estos animales recibieron durante 90 días una infusión de yerba mate (25 g de yerba mate/litro de agua) que contenía 370 mg/l de cafeína y cantidad diferente de Ca en la dieta (0,2% y 0,9%). Debido al crecimiento de los animales, el consumo de cafeína diario varió a lo largo del experimento entre 2-7 mg/100 g, lo cual se considera una dosis baja/moderada.^{31,33} En dicho trabajo se observó un leve efecto positivo de la yerba mate sobre la DMO y el volumen de hueso trabecular solo en el grupo con bajo contenido de calcio en la dieta pero que no logró revertir el efecto negativo del bajo contenido de Ca sobre las propiedades biomecánicas y la conectividad trabecular. En un estudio anterior donde se evaluó el efecto de la ingesta materna de cafeína durante el embarazo y la lactancia en la osificación endocondral de las crías, se reportaron efec-

tos adversos con todas las dosis estudiadas en forma dosis-dependiente.³⁴ Sin embargo, en ese estudio se emplearon dosis de cafeína de 25 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg. Considerando que en una persona de 60 kg la dosis de 25 mg/kg correspondería a 1500 mg de cafeína (~2 litros de café/día), se requiere un estudio con dosis más cercanas al consumo promedio para obtener mejores conclusiones.

Otra limitación de este estudio es la forma de administración de la infusión de yerba mate la cual fue suministrada en forma continua, mientras que el mate se incorpora en períodos breves a lo largo del día por lo cual la concentración plasmática de cafeína y polifenoles podría presentar un patrón diferente.

En conclusión, la yerba mate no produjo efecto alguno sobre los parámetros óseos

analizados en ratas adultas ovariectomizadas, por lo tanto, no tendría efecto ni negativo ni positivo sobre el hueso una vez instalada la menopausia. Probablemente un efecto positivo de los polifenoles sobre el tejido óseo logre contrarrestar el efecto negativo de la cafeína.

Agradecimiento

Este trabajo fue financiado por la Fundación Alberto J. Roemmers.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Recibido: junio 2016.

Aceptado: noviembre 2016.

Referencias

1. Bracesco N, Sánchez AG, Contreras V, Menini T, Gugliucci A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J Ethnopharmacol* 2011; 136:378-84.
2. Olmos V, Bardoni N, Ridolfi AS, Villaamil-Lepori EC. Caffeine levels in beverages from Argentina's market: application to caffeine intake assessment. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2009; 26:275-81.
3. Kiel DP, Felson DT, Hannan MT, Anderson JJ, Wilson PW. Caffeine and the risk of hip fracture: the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1990;132:675-84.
4. Harris SS, Dawson-Hughes B. Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:573-8.
5. Liu H, Yao W, Zhang W, Zhou J, Wu T, He C. Coffee consumption and risk of fractures: a meta-analysis. *Arch Med Sci* 2012; 8:776-83.
6. Huang TH, Yang RS, Hsieh SS, Liu SH. Effects of caffeine and exercise on the development of bone: a densitometric and histomorphometric study in young Wistar rats. *Bone* 2002; 30:293-9.
7. Lacerda SA, Matuoka RI, Macedo RM, Petenusci SO, Campos AA, Brentegani LG. Bone quality associated with daily intake of coffee: a biochemical, radiographic and histometric study. *Braz Dent J* 2010; 21:199-204.
8. Liu SH, Chen C, Yang RS, Yen YP, Yang YT, Tsai C. Caffeine enhances osteoclast differentiation from bone marrow hematopoietic cells and reduces bone mineral density in growing rats. *J Orthop Res* 2011; 29:954-60.
9. Hegarty VM, May HM, Khaw KT. Tea drinking and bone mineral density in older women. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:1003-7.
10. Devine A, Hodgson JM, Dick IM, Prince RL. Tea drinking is associated with benefits on bone density in older women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86:1243-7.
11. Hubert PA, Lee SG, Lee SK, Chun OK. Dietary polyphenols, berries, and age-related bone



- loss: A review based on human, animal, and cell studies. *Antioxidants (Basel)* 2014; 3:144-58.
12. Zhang YB, Zhong ZM, Hou G, Jiang H, Chen JT. Involvement of oxidative stress in age-related bone loss. *J Surg Res* 2011; 169:e37-42.
 13. Sacco SM, Horcajada MN, Offord E. Phytonutrients for bone health during ageing. *Br J Clin Pharmacol* 2013; 75:697-707.
 14. Shen CL, Chyu MC, Wang JS. Tea and bone health: steps forward in translational nutrition. *Am J Clin Nutr* 2013; 98:1694S-9S.
 15. Dall'Orto VC. Comparison of tyrosinase biosensor and colorimetric method for polyphenol analysis in different kinds of teas. *Anal Lett* 2005; 38:19-33.
 16. Filip R, López P, Giberti G, Coussio J, Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia* 2001; 72:774-8.
 17. Athayde ML, Coelho GC, Schenkel EP. Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Phytochemistry* 2000; 55:853-7.
 18. Conforti AS, Gallo ME, Saraví FD. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) consumption is associated with higher bone mineral density in postmenopausal women. *Bone* 2012; 50:9-13.
 19. Brun LR, Brance ML, Lombarte M, Maher C, Di Loreto VE, Rigalli A. Effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on histomorphometry, biomechanics, and densitometry on bones in the rat. *Calcif Tissue Int* 2015; 97:527-34.
 20. Guide to the care and use of experimental animals. Vol1.2nd ed. Canadian Council on animal Care Guidelines, 1993.
 21. Moreno H, Lombarte M, Di Loreto VE. Bones and bone tissue. In: Rigalli A, Di Loreto V (eds). *Experimental Surgical Models in the Laboratory rat*. Taylor & Francis Group. Boca Ratón, USA: CRC Press, 2009, p.229-32.
 22. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR histomorphometry nomenclature committee. *J Bone Miner Res* 1987; 2:595-609.
 23. Harrar K, Hamami L. An interconnectivity index for osteoporosis assessment using X-Ray images. *J Med Biol Eng* 2012; 33:569-75.
 24. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone* 1993; 14:595-608.
 25. Hogan HA, Ruhmann SP, Sampson HW. The mechanical properties of cancellous bone in the proximal tibia of ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2000; 15:284-92.
 26. Shen CL, Yeh JK, Cao JJ, Wang JS. Green tea and bone metabolism. *Nutr Res* 2009; 29:437-56.
 27. Saraví FD. Cafeína y salud ósea. *Actual Osteol* 2014; 10:119-21.
 28. Olmos V, Bardoni N, Ridolfi AS, Villaamil-Lepori EC. Caffeine levels in beverages from Argentina's market: application to caffeine intake assessment. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2009; 26:275-81.
 29. Nervegna MT, Lewicki M, Orzuza R, Friedman SM, Mandalunis PM. Yerba mate consumption reduces bone loss in ovariectomized animals. *J Dent Res* 2013; 92(C):157 [Abstract].
 30. Nervegna MT, Lewicki M, Rodríguez J, Bozzini C, Mandalunis PM. Efecto de la yerba mate sobre la médula ósea amarilla y biomecánica de huesos largos en ratas ovariectomizadas. *Actual Osteol* 2014; 10:60 [Abstract].
 31. Folwarczna J, Pytlík M, Zych M, Cegiela U, Kaczmarczyk-Sedlak I, Nowiska B, Sliwiński L. Favorable effect of moderate dose caffeine on the skeletal system in ovariectomized rats. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57:1172-84.
 32. Zhou Y, Zhu ZL, Guan XX, Hou WW, Yu HY. Reciprocal roles between caffeine and estrogen on bone via differently regulating cAMP/PKA pathway: the possible mechanism for caffeine-induced osteoporosis in women and estrogen's antagonistic effects. *Med Hypotheses* 2009; 73:83-5.
 33. Ohta M, Cheuk G, Thomas KA, et al. Effects of caffeine on the bones of aged, ovariectomized rats. *Ann Nutr Metab* 1999; 43:52-9.
 34. Sena Reis AM, Moura Batista AC, De Melo Ocarino N, Serakides R. Effects of caffeine intake in mothers on maternal cortisol levels and offspring endochondral ossification. *Actual Osteol* 2014; 10:20-36.

ACTUALIZACIONES / Reviews

USING AGENTS THAT SUPPRESS BONE REMODELING TO TREAT OR PREVENT JOINT DISEASE: QUO VADIS?#

David B. Burr*

Department of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine and Department of Biomedical Engineering, Indiana University – Purdue University Indianapolis, Indianapolis, IN, USA.

Abstract

Treatment of osteoarthritis (OA) with anti-remodeling agents has had a mixed record of results. It is likely that remodeling suppression is only effective when used in the early phases of OA, before significant progression. Animal and human studies largely bear this out. Treatment of young mice with a RANKL inhibitor suppresses bone resorption and prevents OA progression. Likewise, bisphosphonate treatments in rodents and rabbits with induced injury or inflammatory arthritis, reduced cartilage degeneration when administered pre-emptively, but later administration did not. The increased prevalence of OA in women after the menopause, and presence of estrogen receptors in joint tissues, suggests that treatment with estrogens or Selective Estrogen Receptor Modulators may be effective. However, in clinical trials of knee and hip, results show decreased or increased risk for OA, or no effect. Raloxifene had positive effects in animal models, but no effect in human studies. More recent potential treatments such as strontium

ranelate or cathepsin-K inhibitors may be effective, but may work directly on the cartilage rather than through their well-known effects on bone. The conclusion from these studies is that anti-remodeling agents must be administered pre-emptively or in the very early stages of disease to be effective. This means that better imaging techniques or identification of early structural changes in bone that occur before progressive cartilage destruction must be developed.

Key Words: Osteoarthritis, bisphosphonate, estrogen, cartilage, bone.

Introduction

Treatment of osteoarthritis (OA) with agents that suppress overall bone remodeling that were originally developed for the treatment of postmenopausal osteoporosis has had a mixed record of results. When bone anti-remodeling (or anti-catabolic) treatments have been used to reduce the effects of human OA,

* Dirección postal. Dept. of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine. 635 Barnhill Dr. Indianapolis, IN 46202. E-mail: dburr@iupui.edu

A version of this paper was given at the ORS/AAOS Research Symposium on "Tackling Joint Disease by Understanding Crosstalk between Cartilage and Bone", Chicago, IL, April 28-30, 2016.



the trials have almost universally failed.^{1,2} The idea of anti-catabolic treatment is that suppression of early phase subchondral bone remodeling can prevent or ameliorate vascular invasion to the cartilage, and subsequent effects of cartilage fibrillation and loss. To understand why the results of animal studies and human clinical trials have mixed results, it is important to understand the phases of OA development.³

Historically, OA was thought to be associated with subchondral sclerosis which was considered by some to be causative.⁴⁻⁶ The theory was that dense subchondral bone, being stiffer and less able to absorb joint stresses, caused increased stress in the deep layers of the cartilage,^{7,8} initiating the progressive process of cartilage fibrillation and loss. There was some experimental evidence that this was the case.^{9,10} More recent observations have demonstrated that in early OA, conversely, there is subchondral plate thinning, and cancellous bone loss caused by an increase in remodeling rate (Figure 1).^{11,12} This is followed by reduced remodeling with an imbalance between resorption and formation in favor of formation.¹³ This later phase reduction in remodeling causes the subchondral plate to thicken¹⁴ giving the radiologic appearance of sclerosis, even though the mineralization of the tissue itself may be reduced,¹⁵ and the subchondral cancellous bone beneath it may remain osteopenic.¹⁶

Because subchondral sclerosis is an end-stage product of the disease, it is likely that anti-catabolic treatments can only be effective when used in the early phases of OA development, before significant progression has occurred. Certainly, giving an anti-catabolic treatment when bone density is already greatly increased would make little sense. Animal experiments show that inducing subchondral sclerosis without permitting the prior stage of increased bone remodeling can prevent progressive cartilage fibrillation and loss,¹⁷⁻²⁰ demonstrating that the early phase increased remodeling, together with

the increased vascularity that accompanies it, is a necessary pathogenetic condition for progressive OA to develop.

Even so, clinical studies using anti-catabolic agents provide conflicting and inconsistent results^{2,21} and research into both the safety and the efficacy of these agents continues. The confusion over the potential use of these agents is reflected by the recent position paper from the American College of Rheumatology for use of non-pharmacologic and pharmacologic therapies in OA of the hand, hip and knee,²² which did not recommend any anti-catabolic therapies for the treatment or prevention of OA.

Clinical Studies

Bisphosphonate (BP) treatments for OA

One of the earliest prospective trials using the BP risedronate (RIS) enrolled 284 subjects with mild to moderate OA into a double-blind placebo controlled study.²³ Subjects were treated with 5 or 15 mg/day. Although the study found more subjects with radiographic evidence of joint space narrowing in the untreated group, the numbers were small (placebo n=7; 5 mg RIS n=4; 15 mg RIS n=1) and not statistically significant.

A large multi-center study was initiated RIS at doses of 5, 15 or 35 mg/week in Europe and 50 mg/week in the U.S. Nearly 2,500 patients with established medial compartment knee OA were identified and treated for two years.¹ Progression of OA was identified by an increase of joint space narrowing (JSN) in the knee joint, assessed by radiography, greater than 0.6 mm over the treatment period. Although the treatment appeared to reduce pain (assessed by WOMAC score) and reduced CTX-II, a measure of cartilage catabolism, in both the U.S. and Europe, it had no effect on progression of OA at any dose on either continent (Figure 2). For all treatment groups, about 10-13% of the subject population continued to progress.

Earlier, Carbone et al.²⁴ had used MRI to

compare knee and patello-femoral pain and bone in women either with or without existing OA who were using anti-catabolic agents (estrogen, raloxifene or RIS) or were treatment naïve. They were unable to identify any

relationship between anti-resorptive use and radiographic evidence that progression of knee OA was slowed by any of the specific anti-remodeling agents for knee OA, or when the treatment groups were pooled. However,

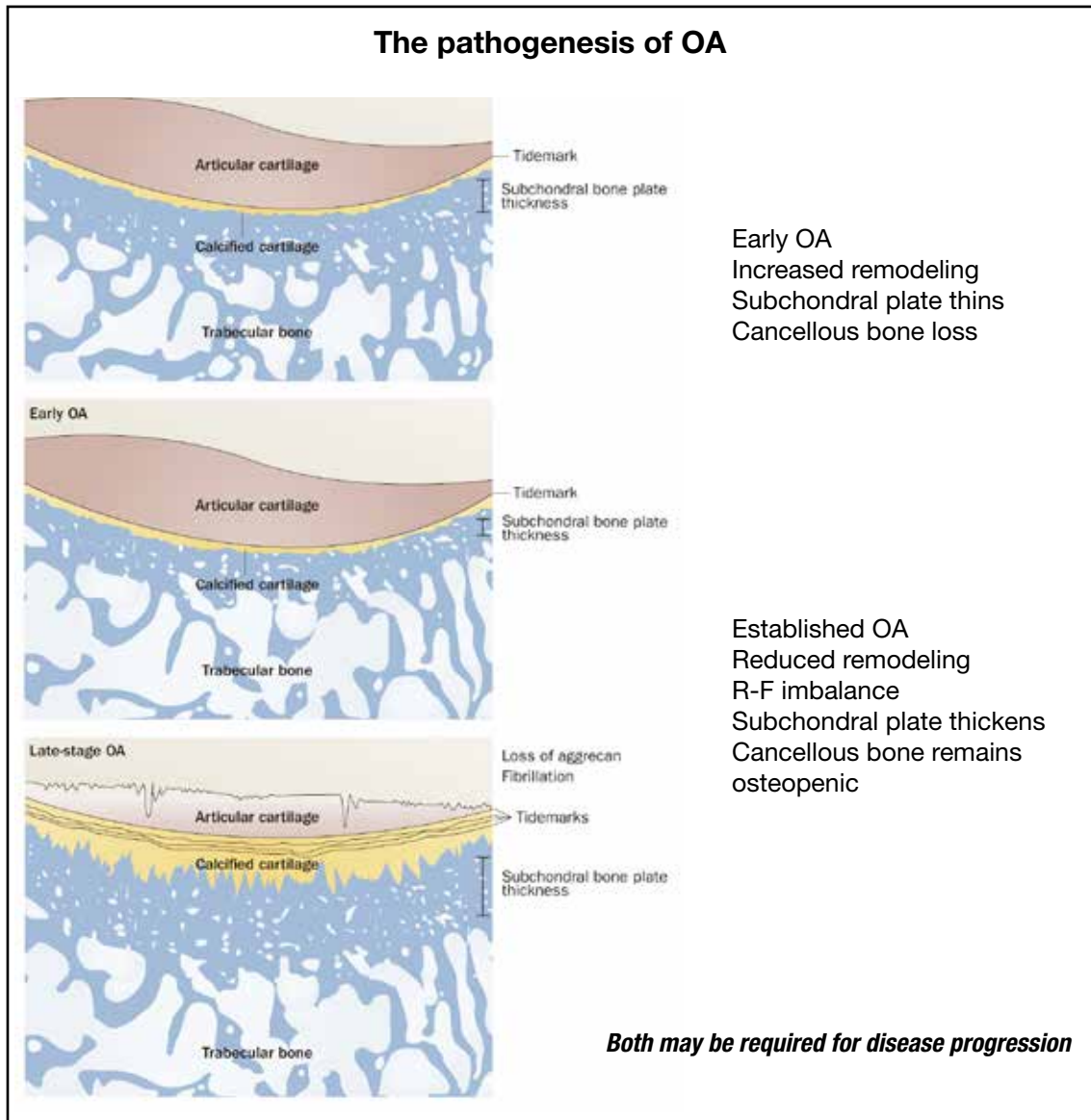


Figure 1. The initiation of osteoarthritis (OA) and the progression of OA are associated with distinctly different processes in the subchondral bone. In early phases of OA, there is an increased rate of bone turnover, leading to a loss of bone volume and thinning of the subchondral plate. In established OA, this process is reversed, with reduced bone remodeling and an imbalance in favor of bone formation. This leads to the subchondral sclerosis that is characteristic of established OA. R-F: resorption-formation (Reproduced with permission from Ref 3).



they did find a reduction in pain and less marrow edema – what we would now call bone marrow lesions (BMLs) – in those who used either estrogen or alendronate (ALN), but a more pronounced reduction in those using ALN, with an 89% reduction in odds ratio after adjusting for co-variables. This is probably not surprising given ALN's potent anti-remodeling effects. However, they were not able to detect any significant change in cartilage lesions, and did not examine changes in joint space width, and so were unable to correlate the prevention of bone changes associated with OA with cartilage loss itself. The duration of the use of the medications was not specified, and likely varied widely among the 214 women who were using anti-remodeling therapies.

A more recent study compared patients with early stage radiographic knee OA who were classified as either BP users (ALN or RIS) or BP-naïve.²⁵ This study showed significantly fewer patients with OA progression in

those taking BPs after three years of observation ($p=0.041$), although this significance was lost in year four ($p=0.057$). Further, a trend towards reduced joint space narrowing by year three was also observed ($p=0.083$ in year 3, and 0.057 in year 4) (Figure 3). This suggests that the duration of treatment may be important to identifying the efficacy of BPs for OA progression, which makes logical sense given the long period required for OA to develop.

Estrogen and Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs)

The increased prevalence of OA in women after the menopause,²⁶ and presence of estrogen receptors in joint tissues,²⁷⁻²⁹ suggests that treatment with estrogens or SERMs may be an effective treatment for OA progression with direct effects on both bone and cartilage or synovial tissues. However, in clinical trials of both knee and hip, results of hormone replacement therapy have been mixed,

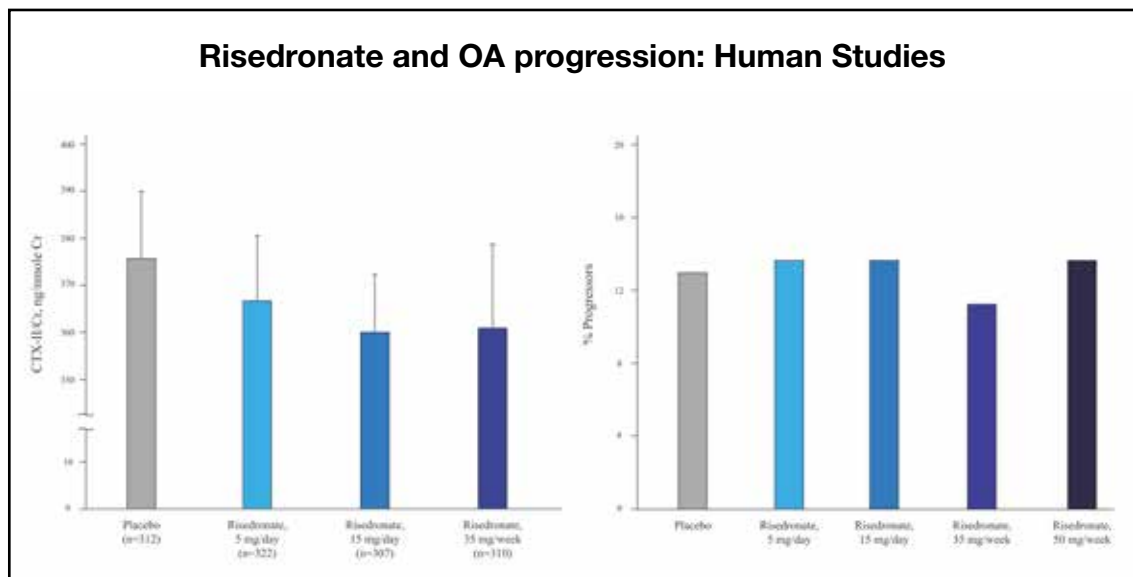


Figure 2. An early clinical study showed that treatment with the bisphosphonate risedronate led to a non-significant reduction in Type II collagen (CTXII) degradation in cartilage, but had no effect on progression of OA even at higher doses (Data from Ref 1).

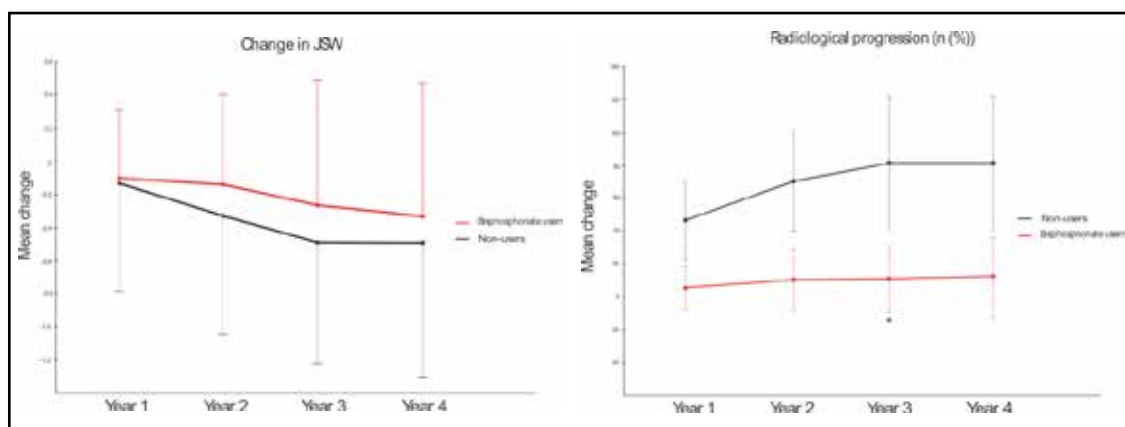


Figure 3. Patients with early stage OA who were had been BP showed no significant change in joint space width (JSW) on average after a 3 year observation period. However, there was some evidence that BP slowed progression of OA. This difference reached statistical significance in year 3, but significance was lost in year 4, probably due to the large variation in the patient population. It is worth noting, however, that OA tended to progress in only about 10% of BP users, compared with nearly 80% of those not taking BPs (Data from Ref 25).

with reports of decreased prevalence of OA [the Chingford study for radiologic OA of the knee;^{30,31} the SOF study with a longer duration of treatment for hip OA^{32,33}]; increased risk for OA [for radiologic OA of the knee;^{34,35} and the Rancho Bernardo study for clinical OA of the hip³⁶]; or of no effect of treatment on radiologic^{37,38} or clinical^{24,39,40} OA of the knee or hip. The inconsistent results may in part reflect a dose-response effect as higher doses of estrogens are known to have catabolic effects, whereas lower doses have been shown to be chondroprotective in some instances.⁴¹⁻⁴³ In the Framingham study, although the odds ratio for a protective effect of HRT on OA was not significant, there appeared to be a duration effect with use of > 5 years associated with a lower risk of knee OA than shorter-term use.⁴⁴ This is consistent with a separate study which showed that women taking HRT for more than 5 years had greater tibial cartilage volume, measured by a T1-weighted fat-suppressed MRI image and adjusted for covariates, than women who had never taken

estrogen therapy.⁴⁵ In the following two years of observation, average tibial cartilage volume decreased by 2.4% per year compared to 3.2% annually in non-users, but the difference was not statistically significant.⁴⁶ This may be due to the small cohort size, inability to accurately measure cartilage volume, or disease that was only slowly or not progressing.

It is probably not worthwhile to review these studies here in detail, given that many of them are older studies performed when estrogen-replacement therapy was more common before the Women's Health Initiative identified side effects that reduced patients' and physicians' confidence about its safety. However, an excellent review of this literature can be found in de Klerk et al.,⁴⁷ who concludes that the preponderance of evidence suggests no effect of "exogenous hormone use" for the treatment of hand, hip or knee OA.

SERMS, on the other hand, appear to prevent cartilage degradation, at least when measured against changes in biochemical markers such as CTX-II. Both Levormeloxi-



fene⁴⁸ and raloxifene²⁴ reduced CTX-II following 12 months of treatment, although no effect was evident on cartilage structure by MRI.^{24,49} Once treatment was stopped, CTX-II reverted to pre-treatment levels, suggesting that the effect was short-term. However, raloxifene had no effect in human studies of postmenopausal women.⁴⁹

What does this tell us?

There are several reasons that differences between treatment groups may not have been detected in many of these studies. First, OA is a condition that progresses very slowly, and it is possible that a two year treatment period is insufficient. Second, the patient populations were ones in which medial compartment OA was already well established. An anti-resorptive treatment may only be beneficial in controlling the initial stages of the disease at a time when vascular invasion from the subchondral bone is active. The study by Laslett et al.²⁵ is instructive in showing that longer treatment periods are needed to demonstrate an effect, and that even in this case it is necessary to start with a population in which the disease has not progressed to a moderate or severe level. Third, radiographic measurements are insensitive to small changes in joint space width; changes over a short period of time are unlikely to be detectable.

It is possible, however, that BPs or estrogens have a direct effect on cartilage constituents. BPs have been suggested to stimulate both collagen synthesis and aggrecan formation.⁵⁰ BPs at high doses also have been shown to block metalloproteinases (MMP-9 and MMP-13) which are known to cleave type II collagen, and BPs may act directly on cartilage as a chondroprotective agent.⁵¹ Unlike their effects in bone which tend to be sustained after treatment withdrawal, effects of ALN on CTX-II levels return to baseline relatively quickly,⁵² suggesting independent effects on bone and cartilage.

Likewise, IGF-1 has been associated with

radiographic OA in the Rotterdam study,⁵³ and synovial IGF-1 and -2 levels are increased when estrogen is given unopposed by progesterone.⁵⁴ Further, estradiol has an effect on IL-6 production by chondrocytes,⁵⁵ although it is not clear whether this affects the catabolic activity of the chondrocytes. Moreover, estrogens may decrease the catabolic activity of MMP 1,⁵⁶ protecting the cartilage from degradation. Their role in proteoglycan synthesis is less clear, with reports that proteoglycan synthesis is either increased⁵⁷ or decreased.^{58,59} These differences are likely the result of different doses and treatment of different chondrocytic cell lines. For in vivo studies, whether estrogens increase or decrease proteoglycan synthesis is likely dependent on whether the treatment is effective at reducing cartilage loss, which in turn is partially dependent on when the treatment is initiated.

Still, as Goldring and Berenbaum⁶⁰ point out in a recent review, agents that directly attack enzymes that degrade cartilage are not completely effective, or have significant side effects, causing their use to be discontinued. They suggest that prevention of disease progression may be a more effective strategy, although it is necessary to identify the disease process early in order to manage this.

Pre-clinical models using BPs to prevent OA

BPs and RANKL inhibitors

These human trials provide no evidence that BPs will be effective treatment modalities, although the studies were limited by duration of treatment and by insufficient methods of imaging and quantifying progressive cartilage loss in vivo. Animal models in which timing and dose of treatments can be more easily manipulated, and in which histological changes can be assessed instead of relying on imprecise imaging techniques, can shed light the importance of these variables in assessing the efficacy of treatment.

Hayami et al.⁶¹ showed a significant reduction in cartilage damage 10 weeks following

ACL transection in Sprague-Dawley rats with ALN administered at two different doses starting immediately after injury. They were further able to show an association with vascular invasion of calcified cartilage, which was significantly reduced especially with the higher dose (240 µg/kg s.c./week). Pamidronate treatment reduces cartilage degeneration that occurs within 6 weeks following complete or partial medial meniscectomy in ovariectomized (OVX) C57BL/6 (C57) mice and in mice genetically modified to overexpress Runx2 that have rapid bone turnover,^{62,63} but not in C57 mice crossed with Balb/c mice (B6CF strain). The reduction in cartilage degeneration may be caused by reduced cleavage of the proteoglycans as markers of cartilage catabolism (ADAMTS-4 and 5) are also reduced.⁶² Although pamidronate prevented cartilage destruction in the Runx2 over-expressing mice, there was no initial difference in cartilage deterioration between the wild-type B6CF mice and the over-expressers following partial meniscectomy, suggesting that the rapid bone turnover was not an underlying factor in the cartilage deterioration. In this study, it could be that pamidronate had direct effects on cartilage, and that the reduced bone turnover was not the cause of the improvement.

Likewise, ALN partially protects rabbits from cartilage deterioration following ACL transection (ACLT).⁶⁴ More potent BPs such as zoledronate (ZOL) completely prevented progression of cartilage damage in rabbits with ACLT when started immediately after injury.⁶⁵ This may indicate that there is a dose effect required for prevention. Other studies show similar effects with BPs following injury-induced OA in rabbits⁶⁶ and dogs,⁶⁷ although the effect on morphometric lesions is inconsistent.⁶⁸ Not surprisingly, in all cases the chondroprotective effects of BPs are accompanied by reduced subchondral resorption, leading some to imply a causative association,⁶⁶ but causation cannot be clearly demonstrated by these studies. Nevertheless, these studies are compelling in suggesting that BP treatment started soon after injury is effective in preventing

subsequent progressive cartilage disease.

Fewer studies have been done with other potent anti-catabolic treatments such as RANKL inhibitors. Treatment of young mice with osteoprotegerin (OPG), a decoy receptor for RANKL, potently suppresses bone resorption and has been shown to prevent the progression of OA in mice [Kadri et al., 2008]. Following medial meniscectomy, 10 week old C57 mice were treated 2x/week with OPG or an interleukin receptor antagonist (IL-RA). Cartilage in the OPG-treated group was maintained with almost no degradation, significantly healthier than cartilage in the IL-RA treated or saline-treated groups. ADAMTS-4 and -5 positive cells were significantly fewer in OPG-treated mice, and of course there were fewer osteoclasts and greater subchondral bone volume. Again, this suggests that an agent that suppresses early remodeling following joint injury can prevent subsequent progressive cartilage degradation.

First generation BPs (clodronate and YM175) also have been shown to be effective in rat models of inflammatory arthritis induced either by collagen or by adjuvant.⁶⁹⁻⁷¹ This set the stage for investigating the efficacy of more potent recent generation BPs such as ZOL, which has been shown to be effective at reducing cartilage loss and pain in chymopapain-induced OA in rabbits,⁷² and mono-iodoacetate (MIA)-induced OA in rats.^{19,73}

These studies suggest the benefits of BPs as chondroprotective agents, but the timing of treatment initiation may be critical to the effectiveness of the treatment. Yu et al.¹⁸ showed that both the timing of treatment and the dose used are significant factors in effectiveness. They induced medial meniscus tears in adult Sprague-Dawley rats and observed changes over a 12 week experimental period. They treated the rats with 100 µg/kg s.c. of ZOL twice a week starting either immediately following the injury, or 4 or 8 weeks after injury. This model showed progressive cartilage change over the 12 week period, but initiating ZOL treatment either immediately or within 4 weeks of injury caused significantly



less cartilage destruction than when ZOL was started 8 weeks after injury. A separate experiment using a low dose (10 µg/kg s.c.) or the higher dose (100 µg/kg s.c.) administered starting immediately after injury showed both doses of ZOL to be effective in significantly reducing cartilage damage by the end of 4 weeks, but with a clear dose response. This provides convincing evidence that pre-emptive administration of a potent anti-catabolic agent may be effective at preventing subsequent progressive disease.

Early administration may be effective even when using less potent BPs.²⁰ ALN was used to prevent OVX-induced loss of cartilage over an 18 week period and was administered either immediately after OVX, or 8 weeks after OVX. ALN administered immediately completely prevented cartilage erosion following 10 weeks of treatment, but ALN initiated 8 weeks following OVX was not effective in reducing cartilage lesions with 10 weeks of treatment, even though it prevented subchondral bone loss. This suggests that the timing of initiation of treatment is critical to efficacy. This study also implies that rescue of subchondral bone is insufficient to prevent the changes of OA, but the prevention of early bone loss (and the vascularity that accompanies it) is associated with prevention of progressive cartilage disease. Whether this is because the bone changes were prevented, or that ALN acted directly on the cartilage during the early phases of disease cannot be determined. In this case, MMP-9 and MMP-13 levels were reduced^{20,64} as were some other cartilage catabolic agents such as vascular endothelial growth factor, VEGF, which can have an effect on both vascular invasion to the deep cartilage layers but is also produced by chondrocytes superficially.⁶⁴

Other studies are suggestive, but have significant problems with experimental design. Pre-emptive treatment was recently shown to be important in treatment of MIA-induced inflammatory arthritis in rat knees.¹⁹ In this case, treatment with ALN (15 µg/kg s.c. 2x/week)

was started pre-emptively (0-2 weeks after induction), early (2-6 weeks after induction) or late (6-10 weeks after induction). Pre-emptive treatment partially prevented cartilage degeneration, whereas early or delayed treatment had no effect. The modest effect of ALN, even when given pre-emptively, may in part be due to its less potent activity than ZOL. However, the study was flawed because animals treated pre-emptively were sacrificed after 2 weeks, whereas those treated early or later were sacrificed at 6 and 12 weeks respectively. Nevertheless, this implies that pre-emptive treatment may be effective for inflammatory arthritides as well as for OA.

All of these studies suggest that early administration of an anti-catabolic agent reduced cartilage degeneration, but later administration did not. This indicates that timing of treatment with an anti-remodeling agent is critical to prevent the progression of early cartilage fibrillation to frank OA.

Estrogen and SERMS

Similar to human studies, the effects of estrogen treatment on OA in animals is unclear. Only half of the 22 animal studies reviewed by Sniekers et al.¹¹ showed protective effects of estrogen treatment in mice, rats, rabbits and sheep. More than 25% of the studies reviewed showed estrogen actually to be detrimental to cartilage health. Delayed administration of estrogen in OVX rats was less effective than immediate administration,⁷⁴ again suggesting that even in the event that estrogen has benefits for cartilage health, treatment of established OA with estrogens will be ineffective. Timing is key, as estrogen – or any hormonal or pharmaceutical treatment – might be able to downregulate the catabolic functions of chondrocytes, and prevent vascular invasion from bone, but cannot restore cartilage matrix once it is damaged. No known agent can stimulate chondrocytes to functionally repair cartilage that has already become fibrillated.

Studies with larger animal models, and

those closer taxonomically to humans may be better indicators of whether treatment will work in humans. Three years of estrogen treatment of cynomolgus monkeys begun immediately following OVX was associated with less severe OA than in controls, when adjusted for age and weight.⁷⁵ Either increased proteoglycan production by chondrocytes shown in the monkey study,⁷⁶ or possibly reduced proteoglycan degradation as shown in sheep treated with estradiol pellets⁷⁷ may account for the chondroprotective effects in these studies. A subsequent study in nonhuman primates, however, found neither changes in proteoglycans or any effect on cartilage degradation.⁷⁸

Changes in proteoglycan content may account for a positive mechanical outcome even in cases when there is no apparent effect on cartilage structure. Treatment of OVX sheep with estradiol implants, similar to the subsequent Richmond study, was associated with restoration of articular cartilage modulus (stiffness) to sham values, significantly greater than the modulus of untreated OVX sheep.⁷⁹

In contrast, most studies using SERMs to reduce cartilage degradation have shown positive results. In collagen-induced arthritis in mice with a mutated *ncf1* gene, either estrogen or a raloxifene analogue reduced cartilage deterioration,⁸⁰ as did levormeloxifene in rats,⁴⁸ and tamoxifen in meniscectomized rabbits.⁸¹⁻⁸³ Interestingly, in the mouse model of collagen-induced inflammatory arthritis, the raloxifene analogue and estrogen both were demonstrated to have positive effects on established arthritis, with fewer animals presenting evidence of arthritic changes and with significantly less cartilage degradation.⁸⁰ The precise mechanism for this effect is unclear, but various signaling pathways have been implicated in the beneficial effects of SERMS. One suggestion is that, because both raloxifene and tamoxifen are known to be GPER1 agonists, both affect PI3K/Akt and PKC/MAPK pathways.

Potential new therapies

More recent potential treatments such as strontium ranelate (SrRan) or cathepsin-K inhibitors (CatK) may be more effective than existing anti-catabolic treatments,^{84,85} but may act directly on cartilage rather than through their well-known effects on bone. Interestingly, SrRan has been shown to reduce gene expression for CatK in a canine OA model,⁸⁶ and in vivo studies using CatK in the canine model also demonstrated some beneficial effect.^{87,88}

SrRan

Several human trials using SrRan for the treatment of OA have shown encouraging results. An early study (TROPOS) demonstrated that SrRan decreased CTX-II regardless of whether the patient had OA.⁸⁹ This provided encouragement for larger and more extensive trials focused on OA. The SEKOIA trial was an international, multi-center randomized double-blind placebo-controlled phase 3 trial of knee OA in patients with primary knee OA.^{85,86} MRIs were used at baseline and 1, 2 and 3 years following treatment to evaluate cartilage volume and bone marrow lesions (BMLs). Treatment with SrRan at the higher dose (2 g/day, which is the osteoporosis dose) was associated with significantly less cartilage loss and both doses were associated with less joint space narrowing than in placebo controls. BMLs were reduced following three years of treatment, a significant finding given that BMLs have been shown to be an early indicator of progressive OA.⁹⁰

A study in the ACL transection model in dogs, in which cartilage could be evaluated histologically rather than with imaging techniques, supports the conclusions that SrRan may reduce cartilage lesions and preserve the collagen network, assessed by picrosirius red staining. The dosages used in this study (25, 50 and 75 mg/kg/day) span the range used for human osteoporosis (2 g/day or about ~25-40 mg/kg/day), but the greatest



effects were found for the higher dosages (50 and 75 mg/kg/day) suggesting that any beneficial effect of SrRan in OA may require doses higher than those used for postmenopausal osteoporosis. This could create negative side effects as high doses of Sr are known to suppress mineralization, but it is not clear whether the doses used in this study are sufficiently high to cause this. Interestingly, however, the thickness of the subchondral plate was reduced at all doses of SrRan compared to placebo treated dogs, an interesting finding for an agent that is used in postmenopausal osteoporosis to retain bone.

The mechanism for the beneficial effect of SrRan on cartilage is not entirely clear, but several possibilities exist. Early observations showed that SrRan helped to promote the aggregation of proteoglycans with the hyaluronic backbone to form the large aggrecan molecules that give cartilage its compressive stiffness.⁹¹ There is also some evidence in vitro that Sr may enhance the effects of IGF-1.⁹² Recent evidence in a canine model shows that SrRan downregulates metalloproteinases (MMP-1, 3 and 13), and ADAMTS5 in cartilage, as well as IL-1 β in synovium.⁸⁶ Downregulation of IL-1 β was also shown in vitro in chondrocytes.⁹² Both in vitro and in vivo studies suggest that SrRan may somehow re-balance an imbalance between chondrocyte-mediated cartilage catabolic and anabolic functions. The observation that higher doses of SrRan cause less loss of cartilage volume both at 1 and 3 years of treatment also could reflect a retention of water rather than, or in addition to, a retention of the organic and protein matrix.

*Cathepsin-K inhibitors***

Interestingly, one of the effects of SrRan is a significant reduction in CatK at high doses (75 mg/kg/day).⁸⁶ This raises the possibility that CatK inhibitors, which have mild anti-resorptive effects on bone, could be effective chondroprotective agents (Figure 4). This could counter the effect in human osteoarthritic cartilage of increased intracellular CatK activity⁹³ that occurs primarily in the superficial regions of cartilage which are most likely to become fibrillated,^{94,95} and in OA synovium.⁹⁶ CatK is known to be able to cleave collagen at sites that are different from those cleaved by MMPs^{93,97} and can degrade aggrecan.⁹⁶ Preclinical studies using transgenic mouse models show overexpression of CatK in a model that develops OA,⁹⁸ and a delay⁹⁹ or prevention⁸⁸ of cartilage loss in CatK knockout mice subjected to joint instability. In the latter studies, two different knockout models were used (Ctsk^{-/-} and CatK^{-/-} respectively) and two different models of joint instability (partial medial meniscectomy with transection of both MCL and ACL, vs. only an ACL transection, respectively), reinforcing the idea that the prevention of OA progression in these models was the result of the absence of CatK. Whether CatK expression is a cause or an effect of cartilage deterioration is not clear, but given its catabolic effects on type II collagen, its overexpression in association with cartilage deterioration at least suggests that it may be involved in the process of progressive cartilage loss. These roles for CatK do not preclude that inhibition of this cysteine protease may also prevent subchondral bone remodeling and vascular invasion to cartilage, and CatK may be a dual-acting treatment that can affect both cartilage and bone catabolism.

** The Editorial Committee of **Actualizaciones en Osteología** recognizes that the studies performed using the cathepsin K inhibitor odanacatib in the osteoarthritis model contribute to our understanding of the mechanism of action of the drug in this pathology. However, it should be noted that the company that developed odanacatib decided not to continue filing for FDA approval or any further development of the drug, due to the increased risk of stroke in post-menopausal women during the Phase 3 trial.

A short-term, 28 day experiment in partially-menisectomized female beagles treated with a CatK inhibitor (GlaxoSmithKline) also suggests some effect of this treatment, especially on the medial side of the weight bearing area of the tibial plateau,⁸⁷ in the area of the pre-existing meniscus. A >75% reduction in urinary CTX-II was also observed within one week following meniscectomy and in animals treated with the inhibitor, suggesting that this may prevent cleavage of Type II collagen and be chondroprotective.

Head to head studies comparing another CatK inhibitor (Merck and Co.) to ALN in an ACLT model in rabbits suggest that CatK inhibition at the higher dose (50 mg/kg/day, p.o., 5x higher than the dose used to retain bone in

OVX rats) was as effective as ALN (200 µg/kg, 3x/week, s.c., 3 times higher than the OVX dose) eight weeks after surgery.⁸⁸ As the CatK inhibitor at low dose resulted in greater retention of bone volume than ALN, but was not as effective at preventing cartilage changes, the effect of CatK inhibitors may be directly on the cartilage matrix itself, rather than through suppression of subchondral bone remodeling. Both doses of CatK inhibitor reduced urinary CTX-II, although the higher dose was more effective, and consistent with the reduction in CTX-II with ALN treatment. Therefore, the effect of CatK inhibitor in this case is likely through an inhibition of type II collagen degradation.

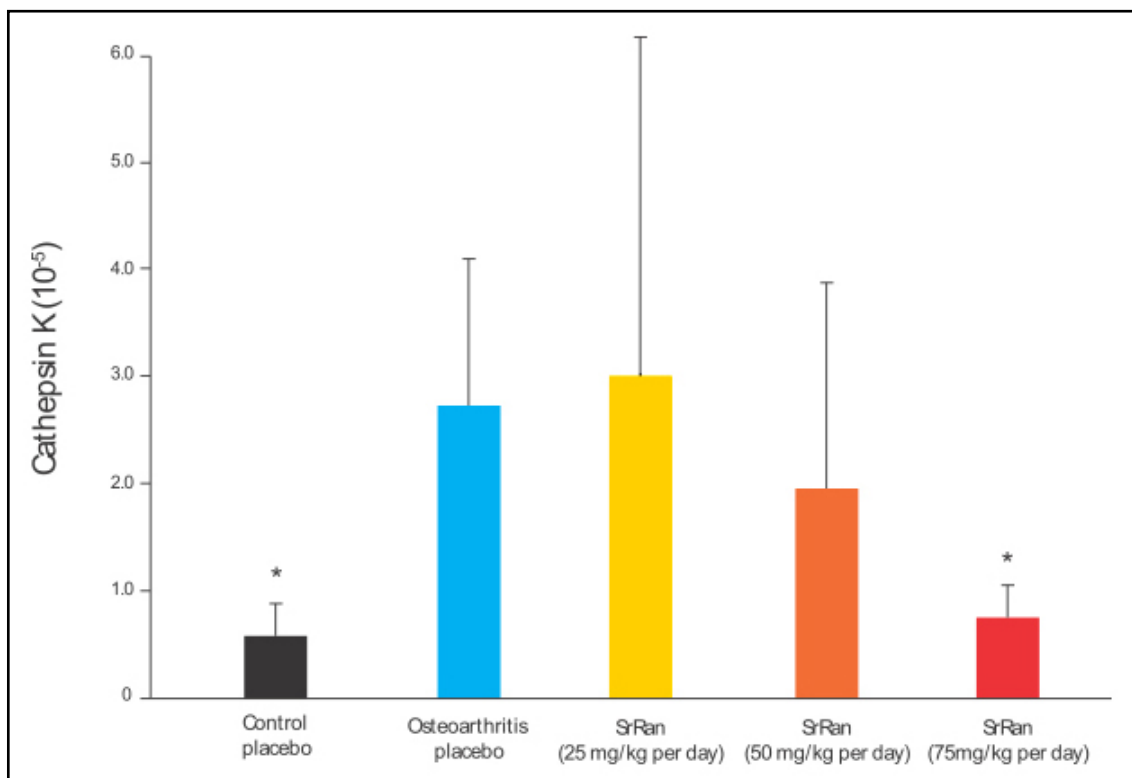


Figure 4. CatK is upregulated in articular cartilage chondrocytes in the early phases of OA, and the digestion of type II collagen by CatK may be associated with cartilage fibrillation. SrRan suppresses the production of CatK significantly, especially at high doses, and may protect the cartilage from deterioration (Data from Ref 86).



Conclusion

The conclusion from many of these studies is that anti-resorptive agents must be administered pre-emptively or in the very early stages of disease to be effective. This has several important implications. First, it suggests that remodeling suppressive treatments for OA will be most effective in cases of post-traumatic injury, when the timing of the occurrence of injury is well known. It will probably not be a terribly useful therapy in age-related joint degeneration, which develops over a long period of time and in which the timing of events initiating the cartilage loss cannot be determined. Second, better and earlier detection methods for joint disease would be useful, with an emphasis on biochemical or structural markers for early cartilage changes.¹⁰⁰ Imaging techniques that can be used to identify early structural changes in bone that pre-sage the progressive development of cartilage destruction must be developed. Recent evidence⁹⁰ suggests this may be on the near horizon. This study showed that progression of OA could be detected and predicted as long as two years before the appearance of radiographic OA by identifying synovitis (hazard ratio (HR) = 1.76-1.81) or damage to the medial meniscus (HR = 1.83). Bone marrow lesions apparent one year before the radiologic appearance of OA were an even stronger indicator (HR = 6.50). As BPs have been shown to have an effect on BMLs,²⁴ using BMLs as an indicator to begin treatment with an anti-catabolic agent may have some merit. However, it may not be possible in the near future to predict progression of cartilage disease with sufficient precision or sufficient lead time to make the use of bone anti-remodeling treatments aimed to prevent vascular invasion feasible. Therefore, in the near future, we should concentrate on those situations in which the onset of progressive cartilage changes is known, and progressive OA changes are predictable. Thus, for now, these treatments may be more beneficial in cases of ligament tears (e.g. ACL disruption) or

post-traumatic osteoarthritis (PTOA). However, it will still be necessary to determine in these cases whether the treatment is actually effective, and when treatment should be initiated.

Newer treatments that are incidentally anti-catabolic on bone, such as SrRan and CatK inhibitors, may also have direct effects on cartilage that are not dependent on bone. The mechanism of action of these agents is important to know and understand as well. Performing experiments that are time-sensitive in relation to the development of OA may also contribute to our understanding of the mode of action of the various different anti-remodeling agents. If some or all of them are effective, are they effective because of their action on bone, because of direct effects on cartilage catabolism/anabolism, or through a combination of these effects that may entail some feedback or cross talk between the bone and cartilage?

What do we need to do experimentally?

To fully evaluate the utility of bone anti-remodeling treatments in preventing the onset or progression of cartilage deterioration that eventually leads to OA, temporal changes in cartilage degradation should be evaluated using an animal model of OA exposed at different times (and perhaps for different durations) to remodeling-suppressive therapies. Because the beneficial effects of such therapies seem to depend on preventing the early phases of disease that involve vascular invasion of the deep layers of cartilage, an acute model of OA, such as the ACL transection model or a model of post-traumatic OA, should be used. Treatment with an anti-catabolic agent at three different time points could elucidate the value of the anti-remodeling therapy at different phases of OA progression. Treatment at three timepoints could be suggested:

- 1) Prior to evidence of aggrecan loss or cartilage clefting/fibrillation.
- 2) Following superficial clefting and loss of aggrecan in the superficial layers of the articular cartilage.

3) Following frank subchondral sclerosis Such a study could identify the appropriate timing for treatment in these common human conditions that are known to lead, over time, to progressive cartilage deterioration, and which have the advantage of a clear initiating time point at which treatment could be most effectively begun – a clinically valuable outcome. And, as pointed out above, such a study might help to further expose the target tissues and mechanism of action of the various compounds used for chondroprotection – a mechanistically-valuable outcome.

Acknowledgements

The author wishes to thank Drew Brown for his help in preparing figures for this review article.

Conflict of interest: The author is an expert witness for plaintiffs in litigation surrounding the use of bisphosphonates for the treatment of osteoporosis. He has received research funding in the past three years from Eli Lilly and Amgen, has served as a consultant for Agnovos and Abt Associates, and is in the speaker bureau for the Japan Implant Practice Society. In the past, the authors has received research funding from Procter and Gamble Pharmaceuticals and The Alliance for Better Bone Health, and received a Material Transfer Agreement from Merck. He receives royalties from Elsevier and Springer. DBB serves on the Board of Directors of FASEB, and on the Scientific Advisory Board for the Fibrous Dysplasia Foundation.

Recibido: septiembre16.
Aceptado: noviembre 2016.

References

1. Bingham CO, Buckland-Wright JD, Garner P, et al. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms of slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee. Results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study. *Arth Rheum* 2006; 54:3493-507.
2. Roman-Blas JA, Castañeda S, Largo R, Lems WF, Herrero-Beaumont G. An OA phenotype may obtain major benefit from bone-acting agents. *Sem Arthr Rheum* 2014; 43:421-8.
3. Burr DB, Gallant MA. Bone remodeling in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8:665-73.
4. Radin EL, Paul IL, Rose RM. Mechanical factors in osteoarthritis. *Lancet* 1972; 1:519-22.
5. Radin EL, Rose RM. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin Orthop Rel Res* 1986; 213:34-40.
6. Burr DB, Schaffler MB. The involvement of subchondral mineralized tissues in osteoarthritis: Quantitative microscopic evidence. *Microscopy Res Tech* 1997; 37:343-57.
7. Radin EL, Parker HG, Pugh JW, Steinberg RS, Paul IL, Rose RM. Response of joints to impact loading: III. Relationship between trabecular microfractures and cartilage degeneration. *J Biomech* 1973; 6:51-7.
8. Radin EL, Boyd RD, Martin RB, Burr DB, Caterson B, Goodwin C. Mechanical factors influencing articular cartilage damage. Osteoarthritis. Current clinical and fundamental problems. Peyron JG (ed). Proceedings of a Workshop held in Paris, 9-11 April 1984. Paris: Geigy, 2014, p. 90-9.
9. Radin EL, Martin RB, Burr DB, Caterson B, Boyd RD, Goodwin C. Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee. *J Orthop Res* 1984; 2:221-34.



10. Brown TD, Radin EL, Martin RB, Burr CB. Finite element studies of some juxtarticular stress changes due to localized subchondral stiffening. *J Biomech* 1984; 17:11-24.
11. Sniekers YH, Weinans H, Bierma-Zeinstra SM, van Leeuwen JPTM, van Osch GJVM. Animal models for osteoarthritis: the effect of ovariectomy and estrogen treatment – a systematic approach. *OA Cart* 2008; 16:533-41.
12. Intema F, Sniekers YH, Weinans H, et al. Similarities and discrepancies in subchondral bone structure in two differently induced canine models of osteoarthritis. *J Bone Miner Res* 2010; 25:1650-57.
13. Kuliwaba JS, Findlay DM, Atkins GL, Forwood MR, Fazzalari NL. Enhanced expression of osteocalcin mRNA in human osteoarthritic trabecular bone of the proximal femur is associated with decreased expression of interleukin-6 and interleukin-11 mRNA. *J Bone Miner Res* 2000; 15:332-41.
14. Brandt KD, Myers SL, Burr D, Albrecht M. Osteoarthritic changes in canine articular cartilage, subchondral bone, and synovium fifty-four months after transection of the anterior cruciate ligament. *Arth Rheum* 1991; 34:1560-70.
15. Li B, Aspden RM. Mechanical and material properties of the subchondral bone plate from the femoral head of patients with osteoarthritis or osteoporosis. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:247-54.
16. Dedrick DK, Goldstein SA, Brandt KD, O'Connor BL, Goulet RW, Albrecht M. A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months. *Arth Rheum* 1993; 36:1460-7.
17. Kadri A, Ea HK, Bazille C, Hannouche D, Lioté, Cohen-Solal ME. Osteoprotegerin inhibits cartilage degradation through an effect on trabecular bone in murine experimental osteoarthritis. *Arth Rheum* 2008; 58:2379-86.
18. Yu D-g, Yu B, Mao Y-q et al. Efficacy of zoledronic acid in treatment of teoarthritis [sic] is dependent on the disease progression stage in rat medial meniscal tear model. *Acta Pharm Sin* 2012; 33:924-34.
19. Mohan G, Perilli E, Parkinson IH, Humphries JM, Fazzalari NL, Kuliwaba JS. Pre-emptive, early, and delayed alendronate treatment in a rat model of knee osteoarthritis: effect on subchondral trabecular bone microarchitecture and cartilage degradation of the tibia, bone / cartilage turnover, and joint discomfort. *OA and Cart* 2013; 21:1595-604.
20. Zhu S, Chen K, Lan Y, Zhang N, Jiang R, Hu J. Alendronate protects against articular cartilage erosion by inhibiting subchondral bone loss in ovariectomized rats. *Bone* 2013; 53:340-49.
21. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y, Matsumoto H. Effects of risedronate on osteoarthritis of the knee. *Yonsei Med J* 2010; 51:164-70.
22. Hochberg MC, Altman RD, April KT, et al. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee. *Arth Care and Res* 2012; 64:465-74.
23. Spector TD, Conaghan PG, Buckland-Wright JC, et al. Effect of risedronate on joint structure and symptoms of knee osteoarthritis: results of the BRISK randomized, controlled trial [ISRCTN01928173]. *Arthr Res Ther* 2005; 7:R625-33.
24. Carbone LD, Nevitt MC, Wildy K, et al. The relationship of antiresorptive drug use to structural findings and symptoms of knee osteoarthritis. *Arth Rheum* 2004; 50:3516-25.
25. Laslett LL, Kingsbury SR, Hensor EMA, Bowers MA, Conaghan PG. Effect of bisphosphonate use in patients with symptomatic and radiographic knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative. *Ann Rheum Dis* 2014; 73:824-30.
26. Felson CT, Nevitt MC. The effects of estrogen on osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10:269-72.
27. Liu SH, al-Shaikh R, Panossian V, et al. Primary immunolocalization of estrogen and progesterone target cells in the human anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 1996; 14:526-33.

28. Ushiyama T, Ueyama H, Innoue K, et al. Expression of genes for estrogen receptors alpha and beta in human articular chondrocytes. *OA and Cart* 1999;560-6.
29. Dietrich W, Haitel A, Holzer G, Huber JC, Kolbus A, Tschugguel W. Estrogen receptor-beta is the predominant estrogen receptor subtype in normal human synovia. *J Cos Gynecol Invest* 2006; 13:512-7.
30. Spector TD, Nandra D, Hart DJ, Doyle DV. Is hormone replacement therapy protective for hand and knee osteoarthritis in women? The Chingford Study. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:432-44.
31. Lane NE, Williams EN, Hung YY, Hochberg MC, Cummings SR, Nevitt MC. Association of nitrate use with risk of new radiographic features of hip osteoarthritis in elderly white women: the study of osteoporotic fractures. *Arth Rheum* 2003; 49:752-758.
32. Nevitt MC, Cummings SR, Lane NE, et al. Association of estrogen replacement therapy with the risk of osteoarthritis of the hip in elderly white women. Study of osteoporotic fractures research group. *Arch Intern Med* 1996; 156:2073-80.
33. Hart DJ, Doyle DV, Spector TD. Incidence and risk factors for radiographic knee osteoarthritis in middle-aged women: the Chingford Study. *Arth Rheum* 1999; 427-24.
34. Sandmark H, Hogstedt C, Lewold S, Vingard E. Osteoarthrosis of the knee in men and women in association with overweight, smoking and hormone therapy. *Ann Rheum Dis* 1999; 58:151-5.
35. Sowers M, Hochberg M, Crabbe JP, Muhich A, Crutchfield M, Updike S. Association of bone mineral density and sex hormone levels with osteoarthritis of the hand and knee in premenopausal women. *Am J Epidemiol* 1996; 143:38-47.
36. Samanta A, Jones A, Regan M, Wilson S, Doherty M. Is osteoarthritis in women affected by hormonal changes or smoking? *Br J Rheumatol* 1993; 32:366-70.
37. Hannan MT, Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, Kannel WB. Estrogen use and radiographic osteoarthritis of the knee in women: the Framingham Osteoarthritis Study. *Arth Rheum* 1990; 33:525-32.
38. Cicuttini FM, Wluka AE, Wang Y, Stuckey SL, Davis SR. Effect of estrogen replacement therapy on patella cartilage in healthy women. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21:79-82.
39. Von Muhlen D, Morton D, Von Muhlen CA, Barrett-Connor E. Postmenopausal estrogen and increased risk of clinical osteoarthritis at the hip, hand, and knee in older women. *J Womens Health Gend Based Med* 2002; 11:511-8.
40. Vingard E, Alfredsson L, Malchau H. Lifestyle factors and hip arthrosis. A case referent study of body mass index, smoking and hormone therapy in 503 Swedish women. *Acta Orthop Scan* 1997; 68:216-20.
41. Tsai CL, Liu TK. Estradiol-induced knee osteoarthrosis in ovariectomized rabbits. *Clin Orthop Rel Res* 1993; 291:295-302.
42. Richette P, Corvol M, Bardin T. Estrogens, cartilage, and osteoarthritis. *Joint Bone Spine* 2003; 70:257-62.
43. Tanko LB, Sondergaard BC, Oestergaard S, Karsdal MA, Christiansen C. An update review of cellular mechanisms conferring the indirect and direct effects of estrogen on articular cartilage. *Climacteric* 2008; 11:4-16.
44. Zhang Y, McAlindon TE, Hannan MT et al. Estrogen replacement therapy and worsening of radiographic knee osteoarthritis: the Framingham Study. *Arth Rheum* 1998; 41:1867-73.
45. Wluka AE, Davis SR, Bailey M, Stuckey SL, Cicuttini FM. Users or oestrogen replacement therapy have more knee cartilage than non-users. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:332-6.
46. Wluka AE, Wolfe R, Davis SR, Stuckey S, Cicuttini FM. Tibial cartilage volume change in healthy postmenopausal women: a longitudinal study. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:444-9.
47. De Klerk BM, Schiphof D, Groeneveld FP, et al. Limited evidence for a protective effect of unopposed oestrogen therapy for osteoarthritis of the hip: a systematic review. *Rheumatol* 2009; 48:104-12.



48. Christgau S, Tanko LB, Cloos PA. Suppression of elevated cartilage turnover in postmenopausal women and in ovariectomized rats by estrogen and a selective estrogen-receptor modulator (SERM). *Menopause* 2004; 11:508-18.
49. Karsdal MA, Bay-Jensen AC, Henriksen K, Christiansen C. The pathogenesis of osteoarthritis involves bone, cartilage and synovial inflammation: may estrogen be a magic bullet? *Menopause Int* 2012; 18:139-46.
50. Guenther HL, Guenther HE, Fleisch H. The effects of 1-hydroxyethane-1, 1-diphosphonate and dichloromethanediphosphonate on collagen synthesis by rabbit articular chondrocytes and rat bone cells. *Biochem J* 1981; 196:293-301.
51. Stearns ME, Wang M. Alendronate blocks metalloproteinase secretion and bone collagen I release by PC-3 ML cells in SCID mice. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16:693-702.
52. Lehman HJ, Mouritzen U, Christgau S, Cloos PA, Christiansen C. Effect of bisphosphonates on cartilage turnover assessed with a newly developed assay for collagen type II degradation products. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:530-3.
53. Muelenbelt I, Bijkerk C, Miedema HS et al. A genetic association study of the IGF-1 gene and radiological osteoarthritis in a population-based cohort study (the Rotterdam Study). *Ann Rheum Dis* 1998; 57:371-4.
54. Fernihough JK, Richmond RS, Carlson CS, Cherpes T, Holly JM, Loeser RF. Estrogen replacement therapy modulation of the insulin-like growth factor system in monkey knee joints. *Arth Rheum* 1999; 42:2103-11.
55. Guerne PA, Carson DA, Lotz M. IL-6 production by human articular chondrocytes. Modulation of its synthesis by cytokines, growth factors, and hormones in vitro. *J Immunol* 1990; 144:499-505.
56. Lee YJ, Lee EB, Kwon YE, et al. Effect of estrogen on the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-1, MMP-3, and MMP-13 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in osteoarthritis chondrocytes. *Rheumatol Int* 2003; 23:282-8.
57. Kinney RC, Schwartz Z, Week K, Lotz MK, Boyan BD. Human articular chondrocytes exhibit sexual dimorphism in their responses to 17beta-estradiol. *OA Cart* 2005; 13:330-7.
58. Claassen H, Schluter M, Schunke M, Kurz B. Influence of 17beta-estradiol and insulin on type II collagen and protein synthesis of articular chondrocytes. *Bone* 2006; 39:310-317.
59. Mackintosh D, Mason RM. Pharmacological actions of 17 beta-oestradiol on articular cartilage chondrocytes and chondrosarcoma chondrocytes in the absence of oestrogen receptors. *Biochim Biophys Acta* 1988; 964:295-302.
60. Goldring MB, Berenbaum F. Emerging therapies in osteoarthritis therapy. *Curr Opin Pharmacol* 2015; 22:51-63.
61. Hayama T, Pickarski M, Wesolowski GA, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis. Reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. *Arth Rheum* 2004; 50:1193-206.
62. Funck-Brentano T, Lin H, Hay E, et al. Targeting bone alleviates osteoarthritis in osteopenic mice and modulates cartilage catabolism. *PLoS ONE* 2012; 7:e33543.
63. Kadri A, Funck-Brentano T, Lin H, et al. Inhibition of bone resorption blunts osteoarthritis in mice with high bone remodeling. *Ann Rheum Dis* 2010; 69:1533-8.
64. Shirai T, Kobayashi M, Nishitani K, et al. Chondroprotective effects of alendronate in a rabbit model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 2011; 29:1572-7.
65. Lampropoulou-Adamidou K, Dontas I, Stathopoulos IP, et al. Chondroprotective effect of high-dose zoledronic acid: An experimental study in a rabbit model of osteoarthritis. *J Orthop Res* 2014; 32:1646-51.
66. Zhang L, Hu H, Tian F, Song H, Zhang Y. Enhancement of subchondral bone quality by alendronate administration for the reduction of cartilage degeneration in the early phase of experimental osteoarthritis. *Clin Exp Med* 2011; 11:235-43.

67. Pelletier J-P, Troncy E, Bertaim T, et al. Treatment with tiludronic acid helps reduce the development of experimental osteoarthritis lesions in dogs with anterior cruciate ligament transection followed by reconstructive surgery: A 1-year study with quantitative magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 2011; 38:118-28.
68. Moreau M, Rialland P, Pelletier J-P, et al. Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arth Res Ther* 2011; 13:R98.
69. Kinne RW, Schmidt-Weber CB, Hoppe R Buchner E, Palombo-Kinne E, Nurnberg EF. Long-term amelioration of rat adjuvant arthritis following systemic elimination of macrophages by clodronate-containing liposomes. *Arth Rheum* 1995; 38:1777-90.
70. Österman T, Kippo K, Lauren L, Hannuniemi R, Sellman R. Effect of clodronate on established adjuvant arthritis. *Rheumatol Int* 1994; 14:139-47.
71. Zhao H, Shuto T, Hirata G, Iwamoto Y. Aminobisphosphonate (YM175) inhibits bone destruction in rat adjuvant arthritis. *J Orthop Sci* 2000; 5:397-403.
72. Muehleman C, Green J, Williams JM, Kuettner KE, Thonar EJ-MA, Sumner DR. The effect of bone remodeling inhibition by zoledronic acid in an animal model of cartilage matrix damage. *OA Cart* 2002; 10:226-33.
73. Strassle BW, Mark L, Leventhal L, et al. Inhibition of osteoclasts prevents cartilage loss and pain in a rat model of degenerative joint disease. *OA Cart* 2010; 18:1319-28.
74. Oestergaard S, Sondergaard BC, Hoegh-Andersen P et al. Effects of ovariectomy and estrogen therapy on type II collagen degradation and structural integrity of articular cartilage in rats. *Arth Rheum* 2006; 54:2441-51.
75. Ham KD, Loeser RF, Lindgren BR, Carlson CS. Effects of long-term estrogen replacement therapy on osteoarthritis severity in cynomolgus monkeys. *Arth Rheum* 2002; 46:1956-64.
76. Richmond RS, Carlson CS, Register TC, Shanker G, Loeser RF. Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. *Arth Rheum* 2000; 43:2081-90.
77. Parker D, Hwa SY, Sambrook P, Ghosh P. Estrogen replacement therapy mitigates the loss of joint cartilage proteoglycans and bone mineral density induced by ovariectomy and osteoarthritis. *APLAR J Rheumatol* 2003; 6:116-27.
78. Ham KD, Carlson CS. Effects of estrogen replacement therapy on bone turnover in subchondral bone and epiphyseal metaphyseal cancellous bone of ovariectomized cynomolgus monkeys. *J Bone Miner Res* 2004; 19:823-9.
79. Turner AS, Athanasiou KA, Zhu C-F, Alvis MK, Bryant HU. Biochemical effects of estrogen on articular cartilage in ovariectomized sheep. *OA Cart* 1997; 5:63-69.
80. Jochems C, Islander U, Erlandsson M, et al. Role of endogenous and exogenous female sex hormones in arthritis and osteoporosis development in B10.Q-ncf1^{-/-} mice with collagen-induced chronic arthritis. *BMC Musculoskel Dis* 2010; 11:284.
81. Rosner IA, Boja BA, Goldberg VM, Moskowitz RW. Tamoxifen therapy in experimental osteoarthritis. *Curr Ther Res* 1983; 34:409-14.
82. Colombo C, Butler M, Hickman L, Selwyn M, Chart J, Steinetz B. A new model of osteoarthritis in rabbits. II. Evaluation of anti-osteoarthritic effects of selected antirheumatic drugs administered systematically. *Arth Rheum* 1983; 26:1132-9.
83. Tsai CL, Liu TK. Inhibition of estradiol-induced early osteoarthritic changes by tamoxifen. *Life Sci* 1992; 50:1943-51.
84. Pelletier J-P, Roubille C, Raynauld J-P, et al. Disease-modifying effect of strontium ranelate in a subset of patients from the Phase III knee osteoarthritis study SEKOIA using quantitative MRI: reduction in bone marrow lesions protects against cartilage loss. *Ann Rheum Dis* 2015; 74:422-9.



85. Reginster J-Y, Badurski J, Bellamy N, et al. Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2013; 72:179-86.
86. Pelletier J-P, Kapoor, M, Fahmi H, et al. Strontium ranelate reduces the progression of experimental dog osteoarthritis by inhibiting the expression of key proteases in cartilage and of IL-1 β in the synovium. *Ann Rheum Dis* 2013; 72:250-7.
87. Connor JR, LePage C, Swift BA, et al. Protective effects of a cathepsin K inhibitor, SB-553484, in the canine partial medial meniscectomy model of osteoarthritis. *OA Cart* 2009; 17:1236-43.
88. Hayami T, Zhuo Y, Weslowski GA, Pickarski M, Duong LT. Inhibition of cathepsin I reduces cartilage degradation in the anterior cruciate ligament transection rabbit and murine models of osteoarthritis. *Bone* 2012; 1250-9.
89. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, et al. Strontium ranelate reduces the risk of non-vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2816-22.
90. Roemer F, Kwok CK, Hannon MJ, et al. What comes first? Multitissue involvement leading to radiographic osteoarthritis. *Arth Rheum* 2015; 67:2085-96.
91. Reinholt F, Engfeldt B, Heinegard D, Hjerpe A. Proteoglycans and glycosaminoglycans of normal and strontium ranelate epiphyseal cartilage. *Collagen Res Res* 1985; 5:41-53.
92. Henrotin Y, LaBasse A, Zheng SX et al. Strontium ranelate increases cartilage matrix formation. *J Bone Miner Res* 2001; 16:299-308.
93. Dejica VM, Mort JS, Lavery S et al. Cleavage of type II collagen by cathepsin K in human osteoarthritis cartilage. *Am J Pathol* 2008; 173:161-9.
94. Kontinen YT, Mandelin J, Li TF, et al. Acidic cysteine endoproteinase cathepsin K in the degeneration of the superficial articular hyaline cartilage in osteoarthritis. *Arth Rheum* 2002; 46:953-60.
95. Kozawa E, Cheng XW, Urakawa H, et al. Increased expression and activation of cathepsin K in human osteoarthritic cartilage and synovial tissues. *J Orthop Res* 2016; 34:127-34.
96. Hou WS, Li W, Keyszer G, et al. Comparison of cathepsins K and S expression within the rheumatoid and osteoarthritic synovium. *Arth Rheum* 2002; 46:663-74.
97. Kafienah W, Bromme D, Buttle DJ, et al. Human cathepsin K cleaves native type I and II collagens at the N-terminal end of the triple helix. *Biochem J* 1998; 331:727-32.
98. Morko JP, Soderstrom M, Saamanen AM, Salminen HJ, Vuorio EI. Up regulation of cathepsin K expression in articular chondrocytes in a transgenic mouse model for osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:649-55.
99. Kozawa E, Nishida Y, Cheng XW, et al. Osteoarthritic change is delayed in a *Ctsk*-knockout mouse model of osteoarthritis. *Arth Rheum* 2012; 64:454-64.
100. Chu CR, Andriacchi TP. Dance between biology, mechanics, and structure: A Systems-based approach to developing osteoarthritis prevention strategies. *J Orthop Res* 2015; 33:939-47.

ACTUALIZACIONES / Reviews

EFFECTOS ÓSEOS DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA

Ariel Sánchez*

Centro de Endocrinología, Rosario

Resumen

La cirugía bariátrica es un recurso terapéutico cuyo uso para el manejo de la obesidad mórbida crece rápidamente. La intervención induce varios cambios en el perfil hormono-metabólico de los pacientes: disminuye la absorción de calcio, caen los niveles de vitamina D, se produce un hiperparatiroidismo secundario que acelera el recambio óseo, aumentan algunas citoquinas como la adiponectina, el GLP-1 y la esclerostina, y disminuyen otras como la leptina, la ghrelina, el GIP y la amilina. El estradiol cae por disminución de la aromatización periférica de la testosterona. Hay disminución de la carga mecánica en el esqueleto, especialmente en los miembros inferiores. Todo esto lleva a pérdida de la masa ósea, que es variable y más marcada en el fémur proximal que en la columna. El riesgo de fractura aumenta, aunque no todas las series lo han demostrado. Los pacientes con marcada disminución del peso corporal poscirugía deberían ser controlados, procurandoun buen aporte de calcio y otros nutrientes, la suplementación con vitamina D y el monitoreo de la densitometría ósea.

Palabras clave: obesidad, cirugía bariátrica, osteoporosis, fracturas, riesgo.

Abstract

EFFECTS OF BARIATRIC SURGERY ON BONE

Bariatric surgery is a therapeutic resource for the management of morbid obesity; its use is growing rapidly. The intervention induces several changes in the hormonal and metabolic profile of patients: decreased calcium absorption, falling levels of vitamin D, secondary hyperparathyroidism which accelerates bone turnover; increased level of some cytokines such as adiponectin, GLP-1 and sclerostin, and decreased levels of others such as leptin, ghrelin, GIP and amylin. Estradiol falls due to decreased peripheral aromatization of testosterone. There is a decrease in the mechanical load on the skeleton, especially in the lower limbs. All this leads to loss of bone mass, which is variable and more marked in the proximal femur than in the spine. The risk of fracture increases, although it has not been shown in all series. Patients with marked decrease in body weight after bariatric surgery should be controlled carefully to insure a good supply of calcium and other nutrients, vitamin D supplementation, and the monitoring of bone mineral density.

Key words: obesity, bariatric surgery, osteoporosis, fractures, risk.

* E-mail: asanvir@gmail.com



Introducción

La cirugía como medida terapéutica para la obesidad ha hecho notables avances en los últimos años. Por ejemplo en Gran Bretaña, los procedimientos más usados (bando gástrico ajustable y *bypass* gástrico en Y de Roux), excepcionales entre 1990 y 2004, alcanzaban la cifra de 250 anuales cada uno hacia 2010.¹

En nuestro país se realizan unas 4500 cirugías bariátricas por año, según la Asociación Argentina de Cirugía (A. Ghione Pelayo, expresidente de la Sociedad Argentina de Obesidad y Trastornos Alimentarios; comunicación personal).

Los pacientes obesos tienen, en general, mayor densidad mineral ósea (DMO), la que se asocia significativamente con el índice de masa corporal (IMC) y la masa grasa.² A pesar de ello, presentan mayor índice de fracturas, que son sitio-específicas (por ejemplo predominan en miembros superiores y en tobillo), quizá por influencias regionales de la obesidad sobre la geometría y la estructura óseas, y por distintos patrones de caídas.³

Los sujetos obesos constituyen un grupo de riesgo de carencia de vitamina D.⁴ Una revisión sistemática de la literatura encontró en 29 de 51 estudios que el nivel preoperatorio promedio de 25-hidroxivitamina D (25OHD) era inferior a 30 ng/ml (y en 17 estudios era <20 ng/ml).⁵ Al año de la cirugía bariátrica, más de la mitad de los pacientes presentan niveles deficientes de 25-hidroxivitamina D (<20 ng/ml) contra una prevalencia de 11% en controles.⁶ Esta deficiencia agrava la malabsorción de calcio en el período posquirúrgico: su absorción fraccional cae desde un promedio de 30% antes de la cirugía al 8% luego de 6 meses.⁷

¿Qué ocurre con el hueso luego de estas cirugías restrictivas?

La consecuencia de la menor entrada de calcio al organismo es un hiperparatiroidismo secundario, que causa mayor resorción ósea:

los niveles de CTX sérico, un marcador de la función osteoclástica, están marcadamente elevados a los 12-18 meses de la cirugía, aunque tienden a descender y normalizarse a los 2-3 años.⁶ Se ha estudiado la respuesta del CTX sérico luego de una comida estándar en un grupo de sujetos con *bypass* gástrico en Y de Roux, comparándola con la observada en un grupo testigo: este marcador desciende más en los operados, coincidiendo con una mayor secreción posprandial de insulina.⁸

Cambios densitométricos por diferentes técnicas

La pérdida de densidad mineral ósea (DMO) en el fémur proximal es de alrededor del 14% al año de la operación.⁹ Los cambios de DMO en columna lumbar son variables (-8 a +6%), quizá por problemas técnicos: se sabe desde los inicios de la densitometría ósea por absorciometría dual de fotones o de rayos X (DXA) que la interposición de tejido adiposo tiende a falsear la medición del contenido mineral vertebral. Tampoco la tomografía axial computarizada (TAC) cuantitativa ha mostrado grandes cambios en vértebras.⁹ Sin embargo, Yu y col. demostraron caídas significativas en la DMO vertebral areal por DXA y por TAC cuantitativa; además, con esta última técnica comprobaron no solo la caída en la DMO integral de las vértebras sino también una pérdida en el compartimento trabecular. Lo mismo encontraron estos autores en el fémur proximal.¹⁰ Utilizando densitometría de cuerpo entero por DXA se pudo comprobar un descenso en la DMO del esqueleto total de un 25% al cabo de 2 años, tanto en sujetos sometidos a *bypass* gástrico como a gastrectomía en manga.¹¹

El hueso periférico también se deteriora. Con empleo de ultrasonido se halló un descenso en la atenuación de la banda ancha en el calcáneo, que promedió 4% a los 9 meses de la cirugía bariátrica.¹² Al estudiar un grupo de pacientes obesos tratados quirúrgicamente mediante tomografía cuantitativa periférica

de alta resolución (HR-pQCT), un equipo de la Universidad de Columbia (Nueva York) halló una caída significativa en el compartimento cortical de la tibia distal. Este deterioro en el hueso compacto estaba en relación directa con la elevación de la PTH circulante y el descenso de peso.¹³ Mediante la misma técnica, otro grupo comprobó el adelgazamiento cortical, y además cambios microarquitecturales en el compartimento trabecular de hueso periférico: menor número de trabéculas y mayor separación entre ellas, y falta de homogeneidad de la conectividad trabecular. La estimación de la resistencia ósea a los 12 meses de la cirugía mostró una disminución significativa.¹⁴

Fisiopatología

La malabsorción de calcio y la deficiencia de vitamina D llevan a un hiperparatiroidismo secundario, como se ha dicho antes. Hay aumento de la adiponectina y disminución de la leptina. El estradiol sérico tiende a disminuir (por menor aromatización de la estrona en tejidos periféricos) y la testosterona sérica tiende a aumentar en los varones. Hay un cambio en el perfil de hormonas gastrointestinales (disminución de la ghrelina, del polipéptido inhibidor gástrico, de la insulina y de la amilina, y aumento del péptido glucagón-símil 1 y de la serotonina).^{9,15} Además de estos cambios hormonales y en las citoquinas, hay disminución de la carga mecánica que debe soportar el hueso, con disminución de la actividad de la vía Wnt/ β -catenina.¹⁶ En el año posoperatorio, la esclerostina y el Dkkopf-1 suben y se asocian al aumento en la resorción ósea evaluada por NTX.¹⁷ Más adelante disminuye paulatinamente el Dkkopf, sugiriendo cambios compensatorios en el sistema Wnt.¹¹

Debe recordarse acá que en la obesidad hay alteraciones en el eje somatotrófico, tan importante para la adquisición de masa ósea.¹⁸

La malabsorción de ácidos grasos no saturados (alfa-linolénico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico) puede contribuir a

la pérdida ósea, ya que tienen propiedades antiinflamatorias y ejercen un freno sobre los osteoclastos.¹⁹

El magnesio es otro de los minerales cuya absorción se ve comprometida, ya que sus sales también necesitan un medio ácido para su hidrólisis; además el magnesio puede formar complejos no absorbibles con los ácidos grasos poliinsaturados.¹⁹ Ya se sabe que este elemento resulta osteoprotector.²⁰

La Tabla 1 resume estos cambios hormono-metabólicos.

Tabla 1. Cambios en el perfil hormono-metabólico después de la cirugía bariátrica.

Malabsorción de calcio y otros nutrientes
Deficiencia de vitamina D
Hiperparatiroidismo secundario
Aumento del recambio óseo
Incremento de la testosterona sérica en hombres
Caída del estradiol sérico en ambos sexos
↓ Leptina, ghrelina, GIP, insulina y amilina
↑ Adiponectina, GLP-1 y serotonina
↑ Esclerostina
↑ Dkkopf-1
↓ Actividad de la vía Wnt/ β -catenina

¿Qué ocurre con el riesgo de fracturas?

En el registro británico no se observó aumento del riesgo fracturario en comparación con un grupo testigo, en un seguimiento a 2,2 años (promedio). En algunos pacientes seguidos durante mayor tiempo (5 años) hubo algunas fracturas, pero no se halló significación estadística.¹ En el estudio retrospectivo de una cohorte del condado de Olmsted (Minnesota, Estados Unidos), con 282 pacientes (82% mujeres; 92% *bypass* gástrico) se observó una duplicación en el RR de fracturas.²¹ Un artículo reciente describe el patrón de fracturas antes y después de la cirugía bariátrica según



el registro de Quebec (Canadá) con más de 9000 pacientes (72% mujeres) seguidas entre 2004 y 2006. En los 4 años previos a la cirugía, los pacientes tuvieron el doble de fracturas (4,4%) que los controles obesos y no obesos (2,7 y 2,1%, respectivamente); las predominantes se registraron en la parte distal de los miembros inferiores. Luego de la intervención, el RR ajustado de fracturas fue mayor en los sometidos a cirugía que en los grupos control (1,38 y 1,44), y el patrón de fracturas varió, con aumento en las vertebrales clínicas, de miembros superiores, pélvicas, de cadera o fémur. El aumento en la tasa de fracturas fue significativo solo en los pacientes sometidos a derivación biliopancreática, pero no en los otros tipos de cirugía bariátrica.²²

Una experta duda sobre la calidad de la evidencia que trata de demostrar un aumento del riesgo fracturario poscirugía bariátrica, y propone que se realicen protocolos de estudios aleatorizados y controlados en mayor número de pacientes para llegar a conclusiones definitivas.¹⁵

Prevención de la osteopenia en pacientes operados

El Instituto Bariátrico y Metabólico de la *Cleveland Clinic* dice que el 30% de los pacientes obesos quirúrgicamente tratados tienen deficiencias nutricionales, que pueden prevenirse si se mantiene un adecuado aporte de vitaminas y minerales.¹⁹

Las principales deficiencias son las de vitaminas liposolubles (A, D, E, K), vitamina B₁₂, calcio, magnesio, hierro, ácidos grasos no saturados, oligoelementos, proteínas, etcétera.¹⁹

En 2012 la Sociedad Argentina de Nutrición publicó un Consenso sobre el manejo nutricional de pacientes poscirugía bariátrica,²³ que ha sido actualizado recientemente y está disponible en Internet. Se recomienda incluir lácteos de fácil digestión en la dieta posoperatoria (leche o yogur descremado, quesos magros, postres *light*). La cantidad aportada de calcio

debería ser de 1200-1500 mg/día, y de 2000 mg/día en la derivación biliopancreática (DBP). En caso de indicarse comprimidos de calcio como suplemento, se recomiendan los que contienen citrato cálcico. La recomendación de suplementos de vitamina D (ergocalciferol o colecalciferol) es de 1000-2000 UI/día, cifras que se deben duplicar después de la DBP. Para el tratamiento de la deficiencia de vitamina D aconseja dar 50.000 UI/semana vía oral, por 8 semanas, y, si los niveles continúan bajos, continuar con 3000 UI/día. Se ha observado que la malabsorción de calcio puede persistir a pesar del mantenimiento de niveles séricos óptimos de 25OHD.²⁴

Un artículo reciente revisó los niveles de 25OHD obtenidos en pacientes ya operados con diferentes regímenes de suplementación con vitamina D. Se encontró que los niveles séricos aumentaron 9-13 ng/ml en promedio, con dosis diarias de vitamina D de 1500-9100 UI, sin diferencias importantes entre los diferentes procedimientos quirúrgicos.⁵

El mismo grupo revisó varias Guías publicadas entre 2010 y 2014 y, en lo que respecta a la suplementación posoperatoria con vitamina D, encontró un amplio rango de dosis recomendadas, desde 3000 UI/semana hasta 50.000 UI tres veces por semana. Sin embargo, los autores de esta revisión opinan que la calidad de la evidencia publicada es baja y que se necesitan nuevos estudios aleatorizados y controlados en mayor número de pacientes para establecer futuras recomendaciones.²⁵

Conclusión

Los pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica tienen riesgo de sufrir carencia de vitamina D y otras deficiencias nutritivas (calcio, magnesio, hierro, ácidos grasos no saturados, oligoelementos, proteínas, etc.).

La tasa de recambio óseo aumenta y la DMO disminuye, por lo que se recomienda el control periódico, reconociendo las limitaciones de la DXA y la TAC cuantitativa central.

Según algunos estudios, está aumentado el riesgo de fracturas.

Agradecimiento: a las Dras. María Belén Zanchetta y María Diehl por su aporte de bibliografía.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflictos de intereses.

Recibido: agosto 2016.
Aceptado: noviembre 2016.

Referencias

1. Lalmohamed A, de Vries F, Bazelier MT, et al. Risk of fracture after bariatric surgery in the United Kingdom: population based, retrospective cohort study. *Brit Med J* 2012; 345:e5085.
2. Ho-Pham LT, Nguyen UDT, Nguyen TV. Association between lean mass, fat mass, and bone mineral density: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99:30-8.
3. Compston JE, Flahive J, Hosmer DW, et al. (GLOW Investigators). Relationship of weight, height, and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW). *J Bone Miner Res* 2014; 29:487-93.
4. Sánchez A, Oliveri B, Mansur JL, Fradinger E, Mastaglia S. Diagnóstico, prevención y tratamiento de la hipovitaminosis D. Guía práctica de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2013; 50:140-56.
5. Chakhtoura MT, Nakhoul N, Shawwa K, Mantzoros K, El Hajj Fuleihan GA. Hypovitaminosis D in bariatric surgery: A systematic review of observational studies. *Metabolism* 2016; 65:574-85.
6. Costa TL, Paganotto M, Radominski RB, Kulak CM, Borba VC. Calcium metabolism, vitamin D and bone mineral density after bariatric surgery. *Osteoporos Int* 2015; 26:757-64.
7. Schafer AL, Weaver CM, Black DM, et al. Intestinal calcium absorption decreases dramatically after gastric bypass surgery despite optimization of vitamin D status. *J Bone Miner Res* 2015; 30:1377-85.
8. Valderas JP, Padilla O, Solari S, Escalona M, González G. Feeding and bone turnover in gastric bypass. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99:491-7.
9. Scibora LM. Skeletal effects of bariatric surgery: examining bone loss, potential mechanisms and clinical relevance. *Diabetes Obes Metab* 2014; 16:1204-13.
10. Yu EW, Bouxsein ML, Roy AE, et al. Bone loss after bariatric surgery: discordant results between DXA and QCT bone density. *J Bone Miner Res* 2014; 29:542-50.
11. Muschitz C, Kocijan R, Marterer C, et al. Sclerostin levels and changes in bone metabolism after bariatric surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100:891-901.
12. Coates P, Fernstrom J, Fernstrom M, et al. Gastric bypass surgery for morbid obesity leads to an increase in bone turnover and a decrease in bone mass. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:1061-5.
13. Stein EM, Carrelli A, Young P, et al. Bariatric surgery results in cortical bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:541-9.
14. Frederiksen KD, Hanson S, Hansen S, et al. Bone structural changes and estimated strength after gastric bypass surgery evaluated by HR-pQCT. *Calcif Tissue Int* 2016; 98:253-62.



15. Uebelhart B. Effects of bariatric surgery on bone. *Joint Bone Spine* 2016; 83:271-5.
16. Hage MP, El-Hajj Fuleihan G. Bone and mineral metabolism in patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass. *Osteoporos Int* 2014; 25:423-39.
17. Hofsø D, Bollerslev J, Sandbu R, et al. Bone resorption following weight loss surgery is associated with treatment procedure and changes in secreted Wnt antagonists. *Endocrine* 2016; 53:313-21.
18. Savastano S, DiSomma C, Barrea L, Colao A. The complex relationship between obesity and the somatotropic axis: the long and winding road. *Growth Horm IGF Res* 2014; 24:221-6.
19. Pizzorno L. Bariatric surgery: Bad to the bone, Part 1. *Integr Med (Encinitas)* 2016; 15(1):48-54.
20. Sánchez A, Maffei L, Poudes G. Nutrientes y hueso. *Rev Arg Endocrinol Metab* 2001; 38:205-18.
21. Nakamura KM, Haglund EGC, Clowes JA, et al. Fracture risk following bariatric surgery: a population-based study. *Osteoporos Int* 2014; 25:151-8.
22. Rousseau C, Jean S, Gamache P, et al. Change in fracture risk and fracture pattern after bariatric surgery: Nested case-control study. *Brit Med J* 2016; 354:i3794.
23. Pampillón N, Reynoso C, Pagano C, et al. Consenso Argentino de Nutrición en Cirugía Bariátrica. *Actual Nutr* 2012; 12:98-141.
24. Pizzorno L. Bariatric surgery: Bad to the bone, Part 2. *Integr Med (Encinitas)* 2016; 15:35-46.
25. Chakhtoura MT, Nakhoul N, Akl EA, Mantzoros CS, El Hajj Fuleihan GA. Guidelines on vitamin D replacement in bariatric surgery: Identification and systematic appraisal. *Metabolism* 2016; 65:586-97.

CASUÍSTICAS / Case Reports

HIPOPARATIROIDISMO PRIMARIO DE PRESENTACIÓN TARDÍA ASOCIADO A PATOLOGÍAS AUTOINMUNES

Jorge Eduardo Jacobo*

Centro Médico Diagnos, Comodoro Rivadavia. Chubut.

Resumen

Se presenta una paciente que, en la sexta década de su vida, debuta con episodios de espasmo carpopedal espontáneo. Los valores bajos de calcemia (6,1 mg/dl) y de PTH (8 pg/ml) confirmaron el diagnóstico de hipoparatiroidismo. No había sido sometida a cirugías de cuello ni radioterapia. No existían antecedentes familiares vinculantes.

Durante 11 años de seguimiento, la paciente presenta asociación con otras patologías que permiten sospechar la etiología autoinmune del hipoparatiroidismo: candidiasis de piel y uñas, hipotiroidismo por tiroiditis de Hashimoto, penfigoide y psoriasis. Finalmente fallece por una neumonía adquirida en la comunidad, complicada.

Palabras clave: hipocalcemia, hipoparatiroidismo, tiroiditis autoinmune, candidiasis.

Abstract

LATE ONSET PRIMARY HYPOPARATHYROIDISM ASSOCIATED WITH AUTOIMMUNE DISORDERS

A patient who develops hypoparathyroidism during her sixth decade of life is reported. It was detected due to spontaneous carpopedal spasms. Low calcium (6.1 mg/dl) and PTH (8 pg/ml) levels confirmed the diagnosis. She had not undergone neck surgery or irradiation. There was no relevant family history. Throughout the 11 years follow up she presented association of other pathologies that allow the suspicion of autoimmune etiology of hypoparathyroidism: candidiasis of skin and nails, autoimmune thyroiditis, pemphigoid and psoriasis. She eventually died of complicated community-acquired pneumonia.

Key words: hypocalcemia, hypoparathyroidism, autoimmune thyroiditis, candidiasis.

* Dirección postal: Domingo Miranda 763 9* B, (9000) Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.
Correo electrónico: jjacobo54@hotmail.com



Introducción

El hipoparatiroidismo (HipoPT) es un trastorno endocrino poco frecuente caracterizado por calcio sérico bajo, fósforo elevado y parathormona (PTH) ausente o inapropiadamente disminuida. El cuadro puede ser adquirido o hereditario. La causa adquirida más común es la resección o lesión de las paratiroides durante una cirugía de cuello, pero puede deberse a otras causas adquiridas (autoinmunes, infiltración de paratiroides) congénitas y hereditarias.

Existen escasos datos sobre la prevalencia de la enfermedad. En un trabajo publicado por Julia Powers y col.¹ estimaron alrededor de 77.000 casos de HipoPT, incluyendo transitorios y definitivos, en Estados Unidos en el período 2007-2008. Teniendo en cuenta la investigación de Clarke y col. se considera una prevalencia de 37 por 100.000 habitantes, siendo el 78% posquirúrgico, 7% familiar y 6% idiopático.²

El hipoparatiroidismo no quirúrgico es una forma poco habitual de presentación. Según el estudio dinamarqués de epidemiología, la prevalencia es de 2,3/100.000 habitantes.³

El HipoPT primario autoinmune es menos frecuente: su incidencia global es de 1/1.000.000 personas pero varía en diferentes países: 1 cada 90.000 nacimientos en Noruega y 1/130.000 en Irlanda; las mayores se observan en Finlandia: 1/25.000, Cerdeña: 1/14.000 y en judíos iraníes 1/9000.^{4,5} Esta entidad se manifiesta habitualmente en los primeros años de la vida.

Se describe el caso clínico de una paciente con hipoparatiroidismo primario no quirúrgico de inicio tardío, asociado a diferentes patologías de etiología autoinmune de posterior aparición.

Caso clínico

Se presenta la historia de una mujer de 61 años al momento del diagnóstico (abril de 2002), que debuta con un cuadro de parestesias y tetania. Era descendiente de alemanes

y vivía en Comodoro Rivadavia. No tenía antecedentes personales o familiares relevantes. No había sido sometida a cirugía o irradiación de cuello o mediastino. No había tenido hijos y tuvo su menopausia espontánea a los 45 años.

El laboratorio inicial y posterior confirmó la presencia de hipocalcemia por hipoparatiroidismo: calcemia 6,1 mg/dl (8,1-10,4), fosfatemia 4,9 mg mg/dl (2,5-4,8), PTH 8 pg/ml (VN: 12-72) y creatinina, magnesio y albúmina séricos normales. Recibió calcio intravenoso y posteriormente el tratamiento habitual con calcio, calcitriol, vitamina D₂ o D₃ y diuréticos tiazídicos para reducir la hipercalciuria. Presentó a lo largo del seguimiento varios episodios de hipocalcemia sintomática, debidos a la escasa adherencia al tratamiento.

A los 3 meses del diagnóstico del HipoPT aparecieron lesiones descamativas en la piel de las manos y los pies asociadas a uñas quebradizas. El cultivo de las lesiones mostró *Candida albicans*. Inicia tratamiento con fluconazol 200 mg/día con escasa respuesta inicial al tratamiento. Las lesiones de la piel mejoraron a los 3 meses, no así las de las uñas, que persistieron.

Aproximadamente al año aparecen lesiones descamativas en palmas de manos de características diferentes de las previamente descritas. Por biopsia se diagnostica psoriasis.

A los 2 años presenta síntomas típicos de hipotiroidismo confirmados por el laboratorio: TSH: 44 uUI/ml (0,27-4,2), T4: 3,8 µg/dl (4,5-12) e inicia tratamiento con levotiroxina. Los estudios previos de la función tiroidea eran normales; sin embargo, se habían observado marcadores para autoinmunidad tiroidea positivos: ATPO: 76 UI/l (VN 0-32) y AMS: 1/1600.

Se investigó enfermedad de Addison en distintos períodos, que no se confirmó porque los niveles de cortisol séricos eran normales. Los anticuerpos para enfermedad celíaca fueron negativos.

A los 7 años del diagnóstico de HipoPT, la paciente presentó lesiones ampollares en la piel de los miembros, interpretadas como penfigoide, por lo que inició tratamiento con corticoides.

Al mismo tiempo se observaron altos niveles séricos de las enzimas hepáticas: TGO 44 UI/l, TGP 89 UI/l (VN 0-31) y aumento de la fosfatasa alcalina 659 UI/l (VN 35-105) y GGT 159 UI/l (VN 11-50). La ecografía abdominal era normal y los marcadores virales e inmunológicos fueron negativos (HbsAg, anticuerpo antiHbsAg, anticuerpo antiHCV, FAN, anticuerpos antiDNA y anticuerpo anti-

mitocondrial y antimúsculo liso). Las alteraciones del hepatograma mejoraron sin lograr la normalización de TGO/TGP y fosfatasa alcalina 3 años después. No se realizó biopsia hepática por lo cual la etiología no fue aclarada.

La paciente continuó con tratamiento para el HipoPT, el hipotiroidismo y el penfigoide, este con dosis variables de corticoides.

A los 11 años del diagnóstico del HipoPT falleció por neumonía adquirida de la comunidad.

En la Tabla 1 se resumen los parámetros de laboratorio y su evolución.

Tabla 1. Evolución de los parámetros de laboratorio de una paciente con hipoparatiroidismo primario de aparición tardía.

	02/02	11/02	07/03	03/05	08/09	12/09	06/10	04/12	03/13
Calcemia (8,1-10,4 mg/dl)	6,1	8,8	10,2	7	7,5	7,6	9,5	10,1	8,2
Fosfatemia (2,5-4,8 mg/dl)	4,9	3,5	3,8		5,1	4,1	5,9	3,5	
Calciuria (60-200 mg/24 h)			373	398	163	121		57	76
PTH (12-72 pg/ml)	8/8,8								
Creatinina (0,5 -1,10 mg/dl)	0,98	0,94		0,86					
TSH (0,27- 4,2 UI/ml)			1,5	44				0,59	0,41
T4 total (4,5 -12 µg/dl)				3,8					
Cortisol plasmático (5-25 µg/dl)				12,3	13	15,5			
TGO (0-31 UI/l)						44	83		78
TGP (0-31UI/l)						89	87		67
Fosfatasa alcalina (35-105 UI/l)						659	136		187
GGT (11-50 UI/l)						159	175		
ATPO (0-32 UI/ml)				76		181			
ATC antimicrosomales				1/1	600				



Discusión

Motiva la presentación de este caso la edad tardía de presentación de un HipoPT no asociado a cirugía de cuello o terapia radiante que orientó al diagnóstico de hipoparatiroidismo primario. A lo largo de la evolución aparecieron una serie de enfermedades autoinmunitarias que hicieron sospechar similar etiología del HipoPT. Estas asociaciones fueron candidiasis de piel y uñas resistente

al tratamiento, hipotiroidismo por enfermedad de Hashimoto, daño hepático, psoriasis y penfigoide.

Las diferentes causas de hipoparatiroidismo se pueden agrupar en: trastornos de la formación de las paratiroides, daños adquiridos, funcionamiento reducido, resistencia a la acción de la hormona paratiroides y varias. Esta paciente se clasificaría en el segundo grupo por lo antes referido (Tabla 2).

Tabla 2. Causas de hipoparatiroidismo. Adaptado de Rubin M y Levine M. En: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 8th ed. 2013; Chapter 72: 579-89.

Alteración	Defecto genético
1. Trastornos de la formación de las glándulas paratiroides	
Secuencia de DiGeorge/Catch 22	22q11; <i>TBX1</i>
Síndrome HDR (hipoparatiroidismo, sordera, displasia renal)	10p; <i>GATA3</i>
Hipoparatiroidismo-retardo-dismorfismo (Sanjad-Sakati y Kenney Caffey)	1q42-43; <i>TBCE</i>
Hipoparatiroidismo autosómico aislado	6p23-24; <i>GCM2</i>
Hipoparatiroidismo ligado al cromosoma X	Xq27
2. Daño de las glándulas paratiroides	
Cirugía	
Terapia radiante e infiltración	
Poliendocrinopatía autoinmune - Candidiasis -Distrofia ectodérmica. APECED	21q22.3; <i>AIRE</i>
3. Disminución de la función de las glándulas paratiroides	
Hipocalcemia hipercalcúrica autosómica dominante	3q13.3 -21; <i>CASR</i>
Mutación en el gen de PTH	11p15, <i>PTH</i>
Mutaciones en el gen del receptor del Ca	
4. Resistencia a la PTH	
Pseudohipoparatiroidismo	<i>GNAS</i>
Hipomagnesemia	
5. Otras causas	
Enfermedades mitocondriales	ARN t mitocondrial
Quemaduras	

La segunda causa de hipoparatiroidismo adquirido en adultos es la autoinmune.⁵

Puede afectar únicamente a la glándula paratiroides o formar parte del síndrome autoinmune poliglandular tipo 1: APS 1 o APECED (*autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy*). La poliendocrinopatía autoinmune tipo 1 es una rara enfermedad genética monogénica autosómica recesiva causada por la mutación de un gen llamado AIRE (*autoimmune regulator gene*) ubicado en el cromosoma 21 (21q22.3) y que codifica para una proteína que tiene un papel regulador de transcripción nuclear. Esta proteína se expresa en células estromales de los tejidos linfoides, incluyendo a las células epiteliales tímicas. El gen AIRE regula la transcripción de antígenos restringidos a ciertos tejidos y se ha relacionado con la tolerancia inmunitaria central y periférica. Se han descrito más de 40 mutaciones en el gen AIRE y cuando estas mutaciones están presentes se pierde la tolerancia a antígenos propios.^{4,5} Desde el punto de vista inmunológico, el trastorno se caracteriza por infiltración linfocitaria de los órganos blanco y aparición de autoanticuerpos contra diferentes antígenos específicos, los cuales correlacionan y predicen el fallo funcional.

El defecto inmunitario puede estar asociado con anticuerpos citotóxicos que dañan o destruyen las paratiroides. Se ha identificado un autoantígeno paratiroideo, llamado NALP 5 (Familia NACHT, *leucine-rich-repeat protein 5*), cuyos anticuerpos están presentes solo en los pacientes con APS1 que tienen hipoparatiroidismo.⁶ El dominio extracelular de receptor del sensor de calcio (CaSR) ha sido identificado como autoantígeno en el hipoparatiroidismo autoinmune.⁷ Anticuerpos activantes contra esta porción del CaSR han sido descritos en APS 1; estos existen en una minoría en la cual el hipoparatiroidismo es el resultado de la supresión funcional de las paratiroides más que de la destrucción de estas.⁸

APECED se manifiesta típicamente durante la infancia o la adolescencia temprana,

pero nuevos componentes de la enfermedad pueden aparecer más tardíamente hasta la quinta década.

Típicamente se inicia en la infancia con candidiasis, luego hipoparatiroidismo en la primera década de vida y entre la segunda y la tercera década puede aparecer el fallo suprarrenal.^{4,5,9,10}

Aunque es una enfermedad monogénica, el cuadro clínico se caracteriza por una amplia heterogeneidad y el fenotipo varía en la gravedad y el número de componentes entre los miembros afectados, incluso en gemelos con el mismo genotipo AIRE.⁹ Esta variabilidad en la expresión clínica implica un verdadero desafío diagnóstico, pues muchas veces existe retraso entre este y la aparición de los síntomas. La tríada característica, conocida como complejo HAM, está integrada por hipoparatiroidismo, candidiasis mucocutánea crónica y enfermedad de Addison. El diagnóstico se establece con 2 de las 3 enfermedades asociadas.

Además de la tríada clásica, el fenotipo de APECED incluye varias patologías autoinmunes endocrinas y no endocrinas. El espectro de endocrinopatías diferentes del hipoparatiroidismo y de la insuficiencia suprarrenal autoinmune incluye: hipogonadismo hipergonadotrófico (generalmente presente solo en mujeres afectadas), diabetes tipo 1, enfermedad tiroidea e hipofisitis autoinmunes. Otras manifestaciones autoinmunes no endocrinas comunes son: malabsorción intestinal, gastritis atrófica, hepatitis autoinmune, alopecia y vitiligo.^{4,5,9,10}

Siguiendo al grupo de Corrado Betterle, la confirmación se basa en: 1) el cuadro clínico junto a bajos valores de PTH, 2) historia familiar de enfermedades autoinmunes 3) antecedentes personales de otras enfermedades autoinmunes 4) la determinación de autoanticuerpos y 5) el estudio genético buscando las mutaciones del gen AIRE.¹¹

En el presente caso no fue posible la determinación de anticuerpos ni el estudio genéti-



co; esta ha sido la limitación más importante de este caso presentado. La paciente tenía 2 de los componentes que definen el complejo HAM: candidiasis cutánea e hipoparatiroidismo. Este último, a diferencia de la presentación habitual en la segunda década de la vida, se inició en la sexta década. Presentó hipotiroidismo como otra endocrinopatía autoinmunitaria asociada. El daño hepático no fue tipificado, pero es de destacar que los parámetros de laboratorio mostraron mejoría en relación con el tratamiento con corticoides que recibía por el pénfigo. Las lesiones dermatológicas no vinculadas a la candidiasis son de características autoinmune (psoriasis y penfigoide) y, si bien no han sido descritas como parte del fenotipo APECED, es de interés consignarlas.

El tratamiento para el HipoPT que recibió la paciente fue el clásico: compuestos de calcio, vitamina D en formas y dosis variables (calcitriol, ergocalciferol o colecalciferol) y diuréticos tiazídicos para evitar la hipercalcemia y minimizar el riesgo de nefrocalcinosis y calcificación en tejidos blandos.¹²

Aunque hubiese estado disponible el tratamiento sustitutivo con PTH1-34 o PTH 1-84 como se ha descrito en importantes traba-

jos,¹³⁻¹⁶ tampoco cumplía con los requisitos de la FDA para casos de muy difícil manejo y uso de PTH 1-84 recientemente aprobada.¹⁷ La paciente no presentó alteraciones de su calidad de vida importantes por el HipoPT como se evidencia en el estudio PARADOX que describe un impacto negativo en el 45% de los pacientes estudiados.¹⁸ Se destaca que las situaciones de hipocalcemia sintomáticas que presentó durante su evolución se resolvieron satisfactoriamente con una mejor adherencia al tratamiento.

Conclusión

El hipoparatiroidismo primario autoinmune es una entidad para considerar entre los diagnósticos diferenciales de hipocalcemia aun en edades avanzadas, especialmente en los pacientes con predisposición a las enfermedades autoinmunes.

Conflictos de interés: El autor declara no tener conflictos de interés.

Recibido: febrero 2016.

Aceptado: noviembre 2016.

Referencias

1. Powers J, Joy K, Ruscio A, Lagast H. Prevalence and incidence of hypoparathyroidism in the United States using a large claims database. *J Bone Miner Res* 2013; 28:2570-6.
2. Clarke BL, Leibson C, Emerson J, Ransom JE, Lagast H. Co-morbid medical conditions associated with prevalent hypoparathyroidism: a population-based study [abstract SA0170]. *J Bone Miner Res* 2011; 26:S182.
3. Underbjerg L, Sikjaer T, Mosekilde L, Rejnmark L. The epidemiology of nonsurgical hypoparathyroidism in Denmark: A nationwide case finding study. *J Bone Miner Res* 2015; 30:1738-44.
4. Rubin MR, Levine MA. Hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism. In: Rosen C (ed.). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th edition. American Society for Bone and Mineral Research. Clifford Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2013. Chapter 72: 579-9
5. Bilezikian JP, Khan A, Potts JT Jr, et al. Hypoparathyroidism in the adult: Epidemiology,

- diagnosis, pathophysiology, target-organ involvement, treatment and challenges for future research. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2317-7.
6. Alimohammadi M, Björklund P, Hallgren A, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 and NALP5, a parathyroid autoantigen. *N Engl J Med* 2008; 358:101828.
 7. Brown EM. Anti-parathyroid and anti-calcium sensing receptor antibodies in autoimmune hypoparathyroidism. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2009; 38:437-45.
 8. Kemp EH, Gavalas NG, Krohn KJE, Brown EM, Watson PF, Weetman AP. Activating autoantibodies against the calcium-sensing receptor detected in two patients with autoimmune polyendocrine syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:4749-56.
 9. Capalbo D, De Martino L, Giardino G, et al. Autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy: Insights into genotype-phenotype correlation. *Int J Endocrinol* 2012; 2012:353250.
 10. Husebye ES, Perheentupa J, Rautemaa R, Kämpe O. Clinical manifestations and management of patients with autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Intern Med* 2009; 265:514-29.
 11. Betterle C, Zanchetta R. Update on autoimmune polyendocrine syndromes (APS). *Acta BioMedica* 2003; 74:9-33.
 12. Shoback D. Clinical practice. Hypoparathyroidism. *N Engl J Med* 2008; 359:391-403.
 13. Winer KK, Ko CW, Reynolds JC, et al. Long-term treatment of hypoparathyroidism: A randomized controlled study comparing parathyroid hormone-(1-34) versus calcitriol and calcium. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4214-20.
 14. Sikjaer T, Rejnmark L, Rolighed L, Heickendorff L, Mosekilde L. Hypoparathyroid study group. The effect of adding PTH (1-84) to conventional treatment of hypoparathyroidism: A randomized, placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2358-70.
 15. Cusano NE, Rubin MR, McMahon DJ, et al. Therapy of hypoparathyroidism with PTH (1-84): A prospective four-year investigation of efficacy and safety. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:137-44.
 16. Mannstadt M, Clarke BL, Vokes T, et al. Efficacy and safety of recombinant human parathyroid hormone (1-84) in hypoparathyroidism (REPLACE): a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 3 study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2013; 1:275-83.
 17. FDA News Release. FDA approves Natpara to control low blood calcium levels in patients with hypoparathyroidism. January 23, 2015.
 18. Hadker N, Egan J, Sanders J, Lagast H, Clarke B. Understanding the burden of illness associated with hypoparathyroidism reported among patients in the Paradox study. *Endocrine Practice* 2014; 20: 671-9.



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 negra. 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.

ÍNDICE ACUMULADO

VOL. 12, N° 1
enero / abril 2016

EDITORIAL / Editorial

El estroncio en el tratamiento de la osteoporosis

Strontium in the treatment of osteoporosis

Ariel Sánchez

7

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

El complejo β -arrestina/conexina 43 (Cx43) retiene ERKs fuera del núcleo: un paso necesario para el efecto anti-apoptótico de los bisfosfonatos mediado por Cx34/ERK en osteocitos.

β -arrestin/connexin 43 (Cx43) complex anchors ERKs outside the nucleus: a pre-requisite for bisphosphonate anti-apoptotic effect mediated by Cx43/ERK in osteocytes

Lilian I. Plotkin, Arancha R. Gortazar, Teresita Bellido

11

Características morfológicas del proceso de reparación de un defecto experimental en diáfisis de huesos largos postimplantación de material bifásico osteoplástico

Morphological features of healing of experimental defect of long bones diaphysis under the conditions of implantation of biphasic osteoplastic material

Alexsey Korenkov

21

Utilidad del tratamiento secuencial con teriparatide y denosumab en la osteoporosis de alto riesgo: nuestra experiencia asistencial

Benefits of sequential treatment of high risk osteoporosis with teripartide and denosumab: our experience

Marcelo Sarli, Paula Gabriela Rey

27

ACTUALIZACIONES / Reviews

Biomecánica de las fracturas por stress

Biomechanical features of stress fractures

José L. Ferretti, Laura M. Nocciolino, Gustavo R. Cointry, Sergio H. Lüscher, Ricardo F. Capozza

35



Aspectos clínicos de las fracturas por stress

Clinical features of stress fractures

Haraldo Claus Hermberg, María Josefina Pozzo

47

CASUÍSTICAS / Case Reports

Displasia fibrosa poliostótica: revisión de la literatura y reporte de caso

Polyostotic fibrous dysplasia: literature review and case report

Mayra L. Rivera-Paico, Virgilio E. Failoc-Rojas, Juan A. Leguía-Cerna

57

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

64

VOL. 12, N° 2
mayo / agosto 2016

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Influencia de las variaciones genéticas en los niveles de 25-hidroxivitamina D

Influence of genetic variations of 25-hydroxyvitamin D levels

Beatriz Oliveri

75

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Efectos *in vivo* del ranelato de estroncio sobre células progenitoras de médula ósea de ratas diabéticas

*In vivo effects of strontium ranelate
on bone marrow progenitor cells of diabetic rats*

**Agustina Berenice Lino, Juan Manuel Fernández, María Silvina Molinuevo,
Ana María Cortizo, Antonio Desmond McCarthy**

78

Validación posoperatoria en la selección asistida por computadora de aloinjertos de fémur distal

*Postoperative assessment in computer assisted selection
of femur osteoarticular allograft*

**Federico Edgardo Milano, José Ignacio Albergo, Germán Luis Farfalli, Luis Alberto Aponte-Tinao,
Miguel Ángel Ayerza, Domingo Luis Muscolo, Lucas Eduardo Ritacco**

87

La diabetes mellitus experimental produce aumento en la expresión de iNOS y altera la vía paracelular de la absorción intestinal de calcio

*Experimental diabetes mellitus produces increased iNOS
expression and alters the paracellular pathway of intestinal calcium absorption*

María Angélica Rivoira, Lucía Raquel Corball, Valeria Andrea Rodríguez

97



ACTUALIZACIONES / Reviews

Guías para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la osteoporosis inducida por glucocorticoides en el adulto

Guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis in adults

Oswaldo Daniel Messina, Luis Fernando Somma, María Inés Tamborenea, Graciela Edith Castelli, Augusto Martín Riopedre, Gustavo Lancioni, María Silvia Larroudé. Grupo de Estudio de la Sociedad Argentina de Osteoporosis (GE-OIC-SAO).

107

Calcificación vascular en aterosclerosis: posibles funciones de macrófagos y micro-ARNs no codificantes

Vascular calcification in atherosclerosis: potential roles of macrophages and non-coding micro-RNAs

Prabhatchandra Dube, Guillermo Vazquez

126

CASUÍSTICAS / Case Reports

Tuberculosis osteoarticular y osificaciones heterotópicas: reporte de un caso

Heterotopic ossification and osteoarticular tuberculosis: case report

Bárbara Braun, Ignacio Javier Gandino, María Eugenia Oregui, Alejandro Luis Cayetti, Sebastián Andrés Muñoz, Marta Gianni, José Luis Presas.

136

Síndrome TAR en paciente adulto sin diagnóstico previo: presentación de un caso

TAR syndrome in an adult patient without previous diagnosis, a case report

Carina Colombo Berra, Sebastián Bruera, Marilin Destéfano Hartman, Victoria Dupuy, Sabrina Bourguez, Elisa Novatti, Federico Baldoma, Mauro Tortolo, Juan Ferrer.

142

CARTAS AL COMITÉ DE REDACCIÓN / Letters to the Editor

El manejo de la osteoporosis en pacientes tratados con bifosfonatos a largo plazo

The management of osteoporosis in patients with long term bisphosphonates treatment

Ariel Sánchez

147

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Authors Guidelines

149

VOL. 12, N° 3
septiembre / diciembre 2016

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

Anticuerpos anti-FGF23 en el tratamiento del raquitismo hipofosfatémico ligado al X: luces y sombras

Anti FGF23 antibody treatment in X Linked hypophosphatemic rickets: lights and shadows

Oscar H. Brunetto

159

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

Prevalencia de osteoporosis: discrepancia de acuerdo a las áreas esqueléticas de medición

Prevalence of osteoporosis: discrepancy according to the skeletal areas of evaluation

Silvina Rosana Mastaglia, Alicia Bagur, Carlos Alfredo Mautalen

162

El raloxifeno invierte fragilidad ósea inducida por el tratamiento anti-remodelación y aumenta la resistencia a la fatiga a través de mecanismos mediados no celulares

Raloxifene neutralizes bone brittleness induced by anti-remodeling treatment and increases fatigue life through non-cell mediated mechanisms

Matthew R. Allen, Mohammad W. Aref, Christopher L. Newman, Jay R. Kadakia, Joseph M. Wallace

169

Densidad ósea volumétrica vertebral obtenida sin fantoma en estudios de rutina de tomografía computarizada de abdomen: correlación con los valores medidos por densitometría ósea areal por rayos X

Phantom-less volumetric vertebral density obtained from routine abdominal CT studies: correlation with data obtained by DXA

Haraldo Claus Hermberg, Silvina De Luca, Fiorella Troncoso, María Pia Lozano,

Magdalena Rey, Silvana Boffa, María Josefina Pozzo

180



Efecto de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*) sobre el hueso de ratas ovariectomizadas

*Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on bone in ovariectomized rats*

Lucas R. Brun, Mercedes Lombarte, María Cielo Maher, Candela Retamozo,
Verónica Di Loreto, Alfredo Rigalli

188

ACTUALIZACIONES / Reviews

Uso de agentes que suprimen la remodelación ósea para tratar o prevenir la osteoartrosis: *¿quo vadis?*

Using agents that suppress bone remodeling to treat or prevent joint disease: quo vadis?

David B. Burr

197

Efectos óseos de la cirugía bariátrica

Effects of bariatric surgery on bone

Ariel Sánchez

215

CASUÍSTICAS / Case Reports

Hipoparatiroidismo primario de presentación tardía asociado a patologías autoinmunes

Late onset primary hypoparathyroidism associated with autoimmune disorders

Jorge Eduardo Jacobo

221

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Authors Guidelines

228

ÍNDICE ACUMULADO / Cumulative Index

231

Impreso en Graphic Team
graphicteam@ciudad.com.ar
CUIT: 20-21825110-3

Tirada: 1.000 ejemplares

Derecho Nacional de Derecho de Autor
Exp N° 5289263 (16-05-2016)