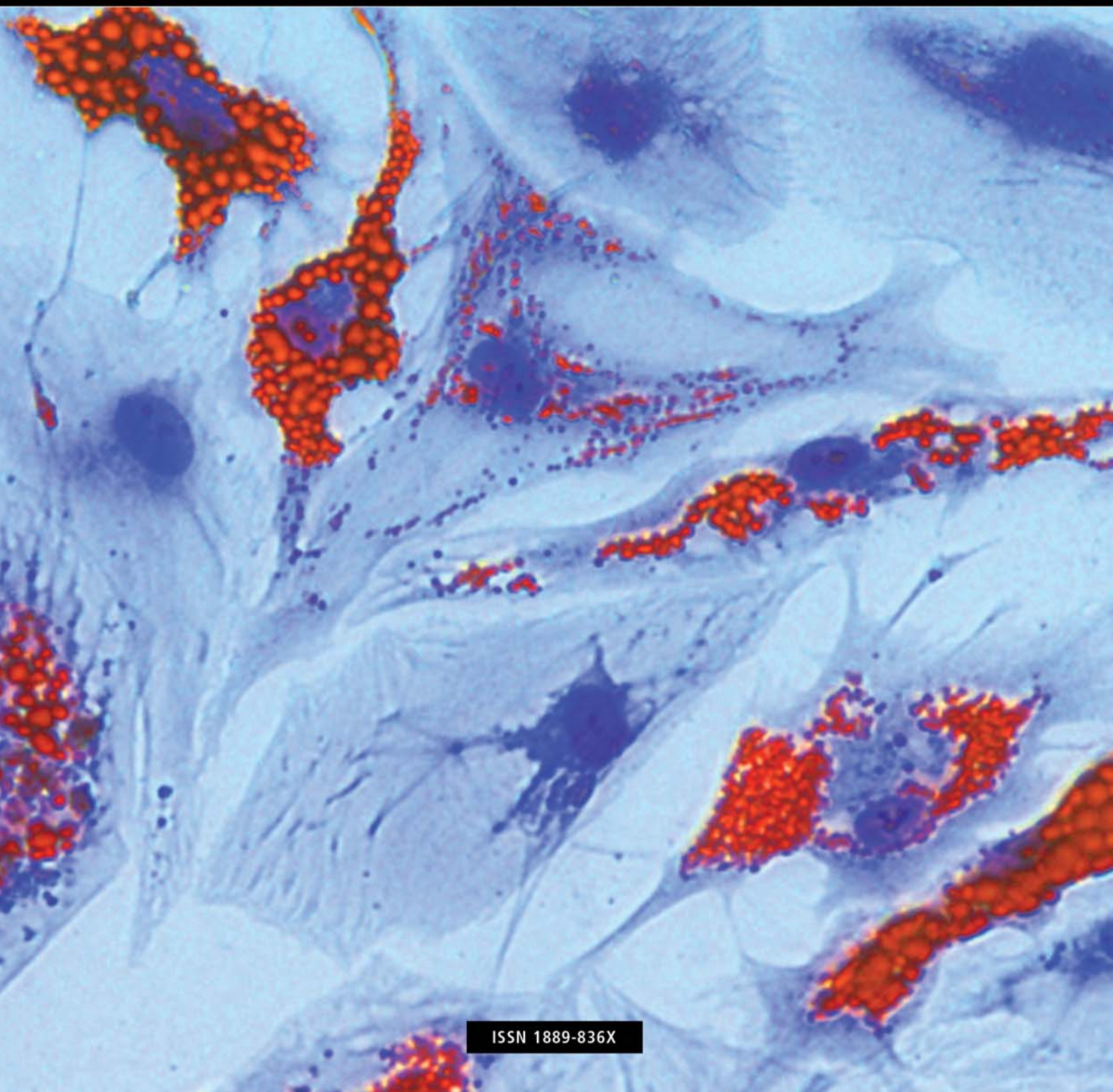
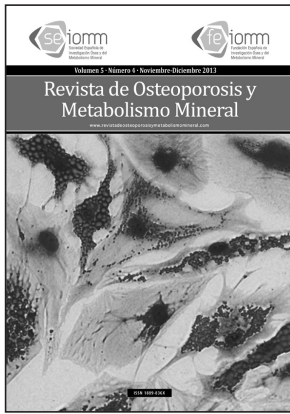


Volumen 5 · Número 4 · Noviembre-Diciembre 2013

# Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

[www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com](http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com)





Revista de Osteoporosis y  
Metabolismo Mineral

### Nuestra portada

Vesículas de grasa teñidas mediante *oil red* en cultivos de adipocitos derivados de la diferenciación de células estromales mesenquimales

#### Autores:

Antonio Casado Díaz,  
Raquel Santiago Mora y  
José Manuel Quesada  
Gómez

*Director*

**Manuel Sosa Henríquez**

*Redactora Jefe*

**M<sup>a</sup> Jesús Gómez de Tejada Romero**

### Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)

*Presidente*

**Francesc Xavier Nogués Solán**

*Vicepresidente*

**José Manuel Olmos Martínez**

*Secretaria*

**Carmen Gómez Vaquero**

*Tesorera*

**Aranha Rodríguez de Cortazar**

*Vocal 1*

**Cristina Carbonell Abella**

*Vocal 2*

**Antonio Cano Sánchez**

Paseo de la Castellana, 135 (7<sup>a</sup> planta)  
28046 Madrid

Tel: +34-917906834

Fax: +34-917906869

e-mail: [seiommm@seiommm.org](mailto:seiommm@seiommm.org)

<http://www.seiommm.org>

*Edición*

**ibáñez & Plaza** Asociados, S.L.  
EDITORIAL TÉCNICA Y COMUNICACIÓN

Avda. Reina Victoria, 47 (6<sup>o</sup> D)  
28003 Madrid

Tel. +34-915 538 297

e-mail: [correo@ibanezyplaza.com](mailto:correo@ibanezyplaza.com)

<http://www.ibanezyplaza.com>

*Maquetación*

**Concha García García**

*Traducción inglés*

**Andrew Stephens**

*Impresión*

**Gráficas 82, S.L.**

*SopORTE Válido*

**32/09-R-CM**

*Depósito Legal*

**M-3643-2013**

**ISSN 1889-836X**

## SUMARIO

Vol. 5 - Nº 4 - Noviembre-Diciembre 2013

**125**

### EDITORIAL

**Osteoporosis esteroidea y antagonistas de la vía Wnt**

Olmos JM, Hernández JL

**127**

### ORIGINALES

**Esclerostina y Dkk-1 séricos en pacientes que inician tratamiento con glucocorticoides. Resultados preliminares**

Gifre L, Ruiz-Gaspà S, Monegal A, Nomdedeu B, Guañabens N, Peris P

**133**

**Respuesta de preosteoblastos a compuestos de estroncio o calcio: proliferación, diferenciación, mineralización y respuesta génica global**

Fernández-Murga ML, Serna E, Sanz-Salvador L, Hervás-Lorente A, Portero J, Cano A

**141**

**La realidad de la osteoporosis en el paciente hospitalizado en Medicina Interna**

Neila Calvo S, Nan Nan D, García Ibarbia C, Olmos Martínez JM, González Macías J, Hernández Hernández JL

**147**

### NOTA CLÍNICA

**Múltiples eventos relacionados con el esqueleto en una paciente con cáncer de mama**

Herrero Vicent C, Pascual Pla FJ, Samper Hiraldo JM, Gavilá Gregori J

**151**

### ARTÍCULO ESPECIAL

**Historia de la SEIOMM (1987-2013)**

Roig Escofet D, García Borrás J.

Con la colaboración de: del Pino Montes J, Sosa Henríquez M, González Macías J, Moro Álvarez MJ, Herrero L, Calvo Catalá J, Giménez Úbeda E, Quesada Gómez M, Díaz Curiel M, Lluch Mesquida P, Gómez Alonso C, Olmos Martínez JM, Torrijos Eslava A, Guañabens Gay N, Nogués Solán X

**158**

### NORMAS DE PUBLICACIÓN

Envío de originales:  
[revistadeosteoporosisymetabolismomineral@ibanezyplaza.com](mailto:revistadeosteoporosisymetabolismomineral@ibanezyplaza.com)

Versión on-line:

<http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com>

**Comité Editorial****Teresita Bellido. Ph.D.**

Department of Medicine, Division of Endocrinology. Indiana University School of Medicine. Indianapolis, Indiana. Estados Unidos

**Ernesto Canalis. MD, PhD**

St Francis Hospital and Medical Center, Hartford, Connecticut. University of Connecticut. School of Medicine, Farmington, Connecticut. Estados Unidos

**Patricia Clark Peralta. MD, PhD**

Facultad de Medicina, UNAM. Unidad Clínica Epidemiológica. Hospital Infantil Federico Gómez. México DF. México

**Dr. Javier del Pino Montes**

Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. Sección de Reumatología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. España

**Dr. Manuel Díaz Curiel**

Universidad Autónoma de Madrid. Unidad de Metabolismo Óseo. Hospital Fundación Jiménez Díaz. Instituto de Investigación FJD. Fundación Hispana de Osteoporosis y Metabolismo Mineral (FHOEMO). Madrid. España

**Dr. Adolfo Díez Pérez**

Universidad de Barcelona. Servicio de Medicina Interna. Instituto Municipal de Investigación Médica. (IMIM). Hospital del Mar. Barcelona. España

**Dr. Oswaldo Daniel Messina**

Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Hospital Cosme Argerich. Buenos Aires. Argentina

**Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero**

(Redactora Jefe)

Universidad de Sevilla. Departamento de Medicina. Sevilla. España

**Dr. Manuel Sosa Henriques**

(Director)

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Insular. Servicio de Medicina Interna. Unidad Metabólica Ósea. Las Palmas de Gran Canaria. España

**Comité de Expertos**

Pilar Aguado Acín  
 Javier Alegre López  
 María José Américo García  
 Abdón Arbelo Rodríguez  
 Miguel Arias Paciencia  
 Emilia Aznar Villacampa  
 Chesús Beltrán Audera  
 Pere Benito Ruiz  
 Santiago Benito Urbina  
 Miguel Bernard Pineda  
 Pedro Betancor León  
 Josep Blanch i Rubió  
 José Antonio Blázquez Cabrera  
 José Ramón Caeiro Rey  
 Javier Calvo Catalá  
 M<sup>a</sup> Jesús Cancelo Hidalgo  
 Jorge Cannata Andía  
 Antonio Cano Sánchez  
 Cristina Carbonell Abella  
 Jordi Carbonell Abelló  
 Pedro Carpintero Benítez  
 Enrique Casado Burgos  
 Santos Castañeda Sanz  
 Fidencio Cons Molina  
 Sonia Dapia Robleda  
 Jesús Delgado Calle  
 Bernardino Díaz López  
 Casimira Domínguez Cabrera  
 Anna Enjuanes Guardiola  
 Pedro Esbrit Argüelles  
 Fernando Escobar Jiménez  
 José Filgueira Rubio  
 Jordi Fiter Areste  
 Juan José García Borrás  
 Juan Alberto García Vadillo  
 Eduardo Girona Quesada  
 Carlos Gómez Alonso  
 Milagros González Béjar  
 Jesús González Macías  
 Emilio González Reimers  
 Jenaro Graña Gil  
 Silvana di Gregorio  
 Daniel Grinberg Vaisman  
 Nuria Guañabens Gay  
 Roberto Güerri Fernández  
 Federico Hawkins Carranza  
 Diego Hernández Hernández  
 José Luis Hernández Hernández  
 Gabriel Herrero-Beaumont Cuenca  
 Esteban Jódar Gimeno

Fernando Lecanda Cordero  
 Pau Lluç Mezquida  
 José Andrés López-Herce Cid  
 M<sup>a</sup> Luisa Mariñoso Barba  
 Guillermo Martínez Díaz-Guerra  
 María Elena Martínez Rodríguez  
 Julio Medina Luezas  
 Leonardo Mellivobsky Saldier  
 Manuel Mesa Ramos  
 Pedro Mezquita Raya  
 Ana Monegal Brancos  
 Josefa Montoya García  
 María Jesús Moro Álvarez  
 Manuel Muñoz Torres  
 Laura Navarro Casado  
 Manuel Naves García  
 José Luis Neyro Bilbao  
 Xavier Nogués Solán  
 Joan Miquel Nolla Solé  
 José Antonio Olmos Martínez  
 Norberto Ortego Centeno  
 Santiago Palacios Gil-Antuñano  
 Esteban Pérez Alonso  
 Ramón Pérez Cano  
 José Luis Pérez Castrillón  
 Luis Pérez Edo  
 Pilar Peris Bernal  
 Concepción de la Piedra Gordo  
 José Manuel Quesada Gómez  
 Enrique Raya Álvarez  
 Rebeca Reyes García  
 José Antonio Riancho Moral  
 Luis de Río Barquero  
 Luis Rodríguez Arboleya  
 Minerva Rodríguez García  
 Antonia Rodríguez Hernández  
 Manuel Rodríguez Pérez  
 Montaña Román García  
 Inmaculada Ros Villamajó  
 Rafael Sánchez Borrego  
 Armando Torres Ramírez  
 Antonio Torrijos Eslava  
 Carmen Valdés y Llorca  
 Carmen Valero Diaz de Lamadrid  
 Ana Weruaga Rey  
 Jaime Zubieta Tabernero

**METODOLOGÍA Y DISEÑO DE DATOS**

Pedro Saavedra Santana  
 José María Limiñana Cañal

**SUMMARY Vol. 5 - Nº 4 - November-December 2013****125 EDITORIAL**

**Osteoporosis and steroid antagonists of the Wnt way**  
 Olmos JM, Hernández JL

**127 ORIGINAL ARTICLES**

**Blood sclerostin and Dkk-1 in patients who start treatment with glucocorticoids. Preliminary results**  
 Gifre L, Ruiz-Gaspà S, Monegal A, Nomdedeu B, Guañabens N, Peris P

**133 Response of osteoblasts to compounds of strontium or calcium: proliferation, differentiation, mineralisation and whole genome response**

Fernández-Murga ML, Serna E, Sanz-Salvador L, Hervás-Lorente A, Portero J, Cano A

**141 The reality of osteoporosis in patients hospitalized in Internal Medicine**

Neila Calvo S, Nan Nan D, García Ibarbia C, Olmos Martínez JM, González Macías J, Hernández Hernández JL

**147 CLINICAL NOTE**

**Multiple skeletal-related events in a patient with breast cancer**  
 Herrero Vicent C, Pascual Pla FJ, Samper Hiraldo JM, Gavilá Gregori J

**151 SPECIAL ARTICLE**

**The History of SEIOMM (1987-2013)**

Roig Escofet D, García Borrás J

**Revisores Volumen 5 (2013)**

Pilar Aguado Acín  
 M<sup>a</sup> José Américo García  
 Emilia Aznar Villacampa  
 Teresita Bellido  
 Chesús Beltrán Audera  
 Santiago Benito Urbina  
 Josep Blanch i Rubió  
 Jorge Cannata Andía  
 Antonio Cano Sánchez  
 Enrique Casado Burgos  
 Manuel Díaz Curiel  
 Jesús Delgado Calle  
 Casimira Domínguez Cabrera  
 José Filgueira Rubio  
 Jordi Fiter Areste  
 Milagros González Béjar  
 Jesús González Macías  
 Emilio González Reimers  
 Nuria Guañabens Gay  
 Federico Hawkins Carranza  
 José Luis Hernández Hernández  
 José Andrés López-Herce Cid  
 M<sup>a</sup> José Montoya García  
 Manuel Muñoz Torres  
 Joan Miquel Nolla Solé  
 José Antonio Olmos Martínez  
 Santiago Palacios Gil-Antuñano  
 José Luis Pérez Castrillón  
 Manuel Quesada Gómez  
 Diego Luis Ravelo Salazar  
 Juana Redondo Sánchez  
 Antonia Rodríguez Hernández  
 M<sup>a</sup> Elena Rodríguez Martínez  
 Inmaculada Ros Villamajó  
 Pedro Saavedra Santana  
 Manuel Sosa Henriques  
 Oscar Torregrosa Suau  
 Antonio Torrijos Eslava

*La Junta Directiva de la SEIOMM y la Dirección de la Revista les agradece su inestimable colaboración.*

# Osteoporosis esteroidea y antagonistas de la vía Wnt

Olmos JM, Hernández JL

Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IFIMAV - Universidad de Cantabria - RETICEF - Santander

Correspondencia: José M. Olmos - Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla - Avda. Valdecilla s/n - 39008 Santander (España)

Correo electrónico: miromj@humv.es

La asociación entre el exceso de glucocorticoides y la osteoporosis fue señalada hace más de 80 años por Harvey Cushing al describir la enfermedad que lleva su nombre. Posteriormente, tras la introducción de los glucocorticoides como fármacos antiinflamatorios, se pudo comprobar que el hipercortisolismo exógeno era también perjudicial para el esqueleto, de manera que actualmente se considera la osteoporosis esteroidea como la forma más común de osteoporosis secundaria en nuestro medio<sup>1</sup>. La osteopenia inducida por corticoides afecta predominantemente al hueso trabecular y es más intensa durante los primeros meses de tratamiento, en los que puede llegar a perderse más de un 10% de la masa ósea<sup>2</sup>. Además de inducir la pérdida de hueso, los glucocorticoides alteran su calidad, lo que explicaría el notable aumento de fracturas (cerca del 75%) durante los tres primeros meses de tratamiento, antes incluso de que descienda la densidad mineral ósea.

Los mecanismos que se han implicado en la reducción de la cantidad y de la calidad del tejido óseo son diversos. Los glucocorticoides actúan directamente sobre los osteoblastos inhibiendo su replicación, diferenciación y actividad funcional y favoreciendo tanto su apoptosis como la de los osteocitos<sup>3,4</sup>. También actúan sobre los osteoclastos reduciendo su proliferación pero prolongando su supervivencia<sup>3,5</sup>. Por otra parte, los glucocorticoides ejercen un efecto indirecto sobre la generación de células osteoblásticas al suprimir la expresión de proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y del factor de transcripción Runx2, que se requieren para inducir la diferenciación osteoblástica de las células madres mesenquimales<sup>6</sup>. Además, estos fármacos aumentan la expresión de PPAR $\gamma$ , lo que favorece la diferenciación de las células madres hacia adipocitos y frena su diferen-

ciación osteoblástica, contribuyendo a aumentar la grasa en la médula ósea a costa de los osteoblastos y del hueso trabecular<sup>7</sup>.

Finalmente, los corticoides podrían también intervenir sobre la vía Wnt (*wingless*), que actúa modulando la diferenciación y actividad de las células óseas. Esta compleja vía de señalización está integrada por numerosos componentes, incluyendo ligandos, receptores de membrana, efectores intracelulares y antagonistas<sup>8</sup>. Los mecanismos mejor conocidos de transmisión de la señal de los ligandos Wnt se incluyen en la llamada vía canónica, en la cual la  $\beta$ -catenina desempeña un papel central, aunque existen otras vías alternativas o no canónicas que emplean mediadores diferentes<sup>9</sup>.

Los ligandos Wnt son glucoproteínas capaces de fijarse a su receptor e iniciar la activación de la vía. Los receptores de membrana están constituidos por las proteínas *frizzled* y las proteínas relacionadas con el receptor de las lipoproteínas de baja densidad tipo 5 y 6 (LRP5 y LRP6). Finalmente, se han descrito diversos tipos de moléculas con acción inhibitoria sobre la vía Wnt. En algunos casos se trata de moléculas que actúan como señuelos que se fijan a los ligandos Wnt y compiten así por su fijación al receptor. Es el caso de algunas proteínas solubles tipo *frizzled* que son segregadas al medio extracelular. Otra molécula inhibitoria es la esclerostina, glucoproteína de 190 aminoácidos codificada por el gen SOST que se expresa en los osteocitos y que se fija al LRP5/6, impidiendo la formación del complejo LRP5/6-*frizzled*-Wnt. La esclerostina se libera a la circulación sanguínea, siendo posible determinar su concentración en el suero<sup>10</sup>. Existe una fuerte correlación entre el contenido óseo de esclerostina y sus valores circulantes, lo que indicaría que la producción de esta proteína se lleva a cabo en el hueso y que su medición en suero podría reflejar su actividad tisular<sup>11</sup>.

Otras moléculas capaces de antagonizar las señales Wnt por unirse a los co-receptores LRP5/6 y *kremen* son las de la familia *dickkopf*. Hay al menos cuatro miembros de esta familia, de los cuales el tipo 1 (Dkk-1) es especialmente importante en el hueso<sup>9,12,13</sup>. Al igual que la esclerostina, el Dkk-1 puede determinarse también en el suero, habiéndose descrito una mayor concentración de este antagonista en mujeres postmenopáusicas o con baja masa ósea. También se ha sugerido que la disminución del efecto de la teriparatida sobre la formación ósea podría guardar relación con un aumento en las concentraciones de este antagonista<sup>14</sup>.

En este número de la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral, Grifé y cols.<sup>15</sup> analizan los valores séricos de esclerostina y Dkk-1 en pacientes que inician tratamiento con glucocorticoides, comprobando que, contrariamente a lo que sucede en los estudios experimentales, el tratamiento esteroideo se asocia a una disminución del Dkk1, mientras que no se observan cambios en las concentraciones de esclerostina. Tal y como comentan los autores, son varias las razones que pueden justificar estos hallazgos. El sexo, la edad, la función renal, el estado estrogénico, la existencia de enfermedades asociadas o la cantidad de masa ósea son factores determinantes en los niveles de esclerostina y probablemente también de Dkk-1<sup>14,16,17</sup>. Por otra parte, cabe también la posibilidad de que los valores séricos de ambos antagonistas no reflejen adecuadamente su expresión tisular. Además, en contra de lo que *a priori* cabría esperar, no hubo relación entre las concentraciones séricas de los antagonistas de la vía Wnt y la de los marcadores de la remodelación. Sin embargo, conviene señalar que los datos publicados hasta el momento han sido discordantes, habiéndose descrito en unos casos una relación inversa entre los niveles de esclerostina y algunos marcadores de formación<sup>17</sup>, mientras que en otros estudios no se ha podido confirmar esta relación<sup>16,18,19</sup>. En cualquier caso, los resultados de este excelente trabajo invitan a seguir realizando estudios que analicen el efecto de los glucocorticoides sobre los antagonistas de la vía Wnt, así como su relación con la masa ósea y los marcadores de la remodelación, lo que sin duda ayudará a esclarecer el papel que desempeñan los antagonistas de la vía Wnt en el desarrollo de la osteoporosis esteroidea.

### Bibliografía

1. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: Pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int* 2007;18:1319-28.
2. Weinstein RS. Glucocorticoid-induced bone disease. En: Rosen CJ. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th Ed. Iowa: Wiley & Sons Inc.; 2013. p.473-81.
3. Weinstein RS. Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis. *Endocrinol Clin Metab North Am* 2012;41:595-611.
4. O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. *Endocrinol* 2004;145:1835-41.
5. Jia D, O'Brien CA, Stewart SA, et al. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their lifespan and reduce bone density. *Endocrinol* 2006;147:5592-9.
6. Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C. Genetic control of bone formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2009;25:629-48.
7. Abdallah BM, Kassem M. New factors controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis. *Bone* 2012;50:540-5.
8. Velasco J, Riancho JA. La vía Wnt y el hueso. *Rev Esp Enf Metab Oseas* 2008;17:5-9.
9. Baron R, Kneissel M. Wnt signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med* 2013;19:179-92.
10. McNulty M, Singh RJ, Li X, Bergstrahl EJ, Kumar R. Determination of serum and plasma sclerostin concentrations by enzyme-linked immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1156-62.
11. Alonso G, García-Martín A, Muñoz-Torres M. Vía Wnt y esclerostina como nuevas dianas para la evaluación y el tratamiento de la osteoporosis. *Med Clin (Barc)* 2012;139:634-9.
12. Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003;349:2483-94.
13. Morvan F, Bouloukos K, Clemen-Lacroix P, Roman S, Suc-Royer I, Vayssier B, et al. Deletion of single allele of the Dkk1 gene leads to increase in bone formation and bone mass. *J Bone Miner Res* 2006;21:934-45.
14. Gatti D, Viapiana O, Idolazzi L, Fracassi E, Rossini M, Adami S. The waning of teriparatide effect on bone formation markers in postmenopausal osteoporosis is associated with increasing serum levels of DKK1. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1555-9.
15. Grife L, Ruiz-Gaspa S, Monegal A, Nomdedeu B, Guañabens N, Peris P. Esclerostina y Dkk-1 séricos en pacientes que inician tratamiento con glucocorticoides. Resultados preliminares. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2014;4:127-32.
16. García-Martín A, Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Varsavsky M, Luque-Fernández I, Avilés-Pérez MD, et al. Variables que influyen en las concentraciones de esclerostina en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y su asociación con el metabolismo óseo. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2012;4:109-15.
17. Gaudio A, Pennisi P, Bratengier C, Torrisi V, Lidner B, Mangiafico RA, et al. Increased sclerostin levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2248-53.
18. Möder UI, Clowes JA, Hoey K, Peterson JM, McCready L, Ousler MJ, et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and men. *J Bone Miner Res* 2011;26:27-34.
19. Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1991-7.

Gifre L<sup>1</sup>, Ruiz-Gaspà S<sup>2</sup>, Monegal A<sup>1</sup>, Nomdedeu B<sup>3</sup>, Guañabens N<sup>1,2</sup>, Peris P<sup>1,2</sup>

1 Servicio de Reumatología - Unidad de Patología Metabólica Ósea - Hospital Clínico de Barcelona

2 CIBERehd - Hospital Clínico de Barcelona

3 Servicio de Hematología - Hospital Clínico de Barcelona

## Esclerostina y Dkk-1 séricos en pacientes que inician tratamiento con glucocorticoides. Resultados preliminares

Correspondencia: Laia Gifre - Servicio de Reumatología - Hospital Clínic - c/Villarroel, 170 - 08036 Barcelona (España)  
Correo electrónico: lgifre@clinic.ub.es

Fecha de recepción: 17/07/2013

Fecha de aceptación: 19/11/2013

*Trabajo becado por la SEIOMM para asistir al 34 Congreso de la ASBMR (Minneapolis, Minnesota 2012).*

### Resumen

**Fundamento y objetivos:** La vía Wnt y sus inhibidores (esclerostina y Dkk-1) tienen un papel primordial en la regulación de la masa ósea y la osteoblastogénesis. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto del tratamiento con glucocorticoides (GCC) sobre los inhibidores de la vía Wnt y su relación con la masa ósea y los parámetros de recambio óseo.

**Métodos:** Estudio transversal que incluyó 15 pacientes (9 mujeres y 6 hombres) con una edad media de 51±21 años al inicio del tratamiento con GCC (≥7,5 mg/día, ≤6 meses). En todos ellos se determinó: esclerostina, Dkk-1 séricos y marcadores séricos del recambio óseo (propéptido N-terminal del procolágeno I [PINP], osteocalcina [OC] y telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I [CTX]), y se les realizó una densitometría ósea en columna lumbar y fémur (DXA). Los resultados se compararon con un grupo control.

**Resultados:** La dosis media de glucocorticoides fue de 58±21 mg/día, en la mayoría de los pacientes indicado por una púrpura trombocitopénica idiopática (73%). Los pacientes tratados con glucocorticoides tenían una disminución de los parámetros de formación ósea comparado con el grupo control (OC: 7,4±2,8 vs. 24,4±6,2 ng/ml, p<0,01) y una disminución del Dkk-1 sérico (29,6±23,6 vs. 48,3±15,6 pmol/L, p=0,02). No se observaron diferencias significativas en los valores esclerostina sérica, aunque ésta se correlacionó positivamente con la dosis de GCC recibida y la densidad mineral ósea lumbar.

**Conclusión:** Contrariamente a lo que sucede en estudios experimentales, el inicio del tratamiento con glucocorticoides se asocia a una disminución de los valores séricos de Dkk-1. Estos resultados indican la necesidad de analizar estos inhibidores y su relación con el remodelado y la masa ósea en este proceso a largo plazo.

**Palabras clave:** esclerostina, Dkk-1, glucocorticoides.

## Blood sclerostin and Dkk-1 in patients who start treatment with glucocorticoids. Preliminary results

### Summary

**Background and objectives:** The Wnt pathway and its inhibitors (sclerostin and Dkk-1) have a primary role in the regulation of bone mass and osteoblastogenesis. The objective of this study was to analyse the effect of treatment with glucocorticoids (GCC) on the inhibitors of the Wnt pathway and their relationship with bone mass and the parameters for bone turnover.

**Methods:** A transverse study including 15 patients (9 women and 6 men) with an mean age of 51±21 years at the start of treatment with GCC ( $\geq 7.5$  mg/day,  $\leq 6$  months). Levels of sclerostin, blood Dkk-1 and blood markers for bone turnover (procollagen 1 N-terminal propeptide [P1NP], osteocalcin [OC], and carboxy-terminal telopeptide of collagen type 1 [CTX]) were determined, and bone densitometry (DXA) in the lumbar spine was carried out, in all patients. The results were compared with a control group.

**Results:** The mean dose of glucocorticoids was 58±21 mg/day, in the majority of patients (73%) indicated by idiopathic thrombocytopenic purpura. The patients treated with glucocorticoids had a reduction in the parameters for bone formation compared with a control group (OC: 7.4±2.8 vs 24.4±6.2 ng/ml,  $p < 0.01$ ) and a reduction in blood Dkk-1 (29.6±23.6 vs 48.3±15.6 pmol/L,  $p = 0.02$ ). No significant differences were observed in values for blood sclerostin, although this correlated positively with the dose of GCC received and lumbar bone mineral density.

**Conclusion:** Contrary to what is seen in experimental studies, the start of treatment with glucocorticoids is associated with a reduction in blood levels of Dkk-1. These results indicate the necessity of analysing these inhibitors and their relationship with remodelling and bone mass during this process over the long term.

**Key words:** sclerostin, Dkk-1, glucocorticoids.

### Introducción

El tratamiento con glucocorticoides (GCC) se asocia a una marcada pérdida de masa ósea y al desarrollo de fracturas en las fases iniciales del tratamiento, siendo además, una de las causas más frecuentes de osteoporosis secundaria<sup>1</sup>. Los GCC actúan especialmente sobre los osteoblastos y osteocitos, disminuyendo la replicación, diferenciación y función de los osteoblastos e induciendo la apoptosis de los osteoblastos y osteocitos. Estas alteraciones conducen a la larga a una disminución de la formación y de la calidad ósea, lo que constituye el hallazgo más característico de la osteoporosis inducida por GCC<sup>2-4</sup>.

La vía Wnt, una vía de señalización celular, tiene un papel fundamental en la modulación de la actividad osteoblástica. Esta vía está integrada por varios componentes que incluyen ligandos, receptores de membrana, efectores intracelulares y antagonistas. Los antagonistas de la vía Wnt, entre los que destacan la esclerostina y el Dkk-1, se unen a los receptores de membrana (fundamentalmente LRP-5 y -6) e inhiben la activación de dicha vía y, consecuentemente, la actividad osteoblástica.

Estudios experimentales recientes, tanto *in vitro* como *in vivo*, indican que el tratamiento con GCC disminuye la diferenciación de los osteoblastos a través de la vía Wnt, mediante un aumento de sus inhibidores, esclerostina y Dkk-1<sup>5-7</sup>. Sin embargo, actualmente apenas existen datos clínicos sobre el efecto del tratamiento con GCC en dichos inhibidores.

Por ello, el objetivo de este estudio ha sido analizar los valores séricos de esclerostina y Dkk-1 en pacientes con inicio reciente de tratamiento con GCC y valorar su relación con los marcadores de remodelado óseo y la densidad mineral ósea (DMO).

### Pacientes y métodos

#### Población del estudio

Estudio transversal que incluyó pacientes que iniciaban (<3 meses) tratamiento con dosis superiores o iguales a 7,5 mg/día de prednisona o equivalente. Los pacientes fueron remitidos por el Servicio de Hematología del Hospital Clínico de Barcelona (agosto 2010 a enero 2012) y reclutados de forma consecutiva.

Todos los pacientes cumplieron los siguientes criterios de inclusión: edad superior a 18 años y valores normales de creatinina, función hepática, calcio y fósforo. Se excluyeron los pacientes que seguían tratamiento con GCC durante más de 6 meses, aquellos con enfermedades o procesos que afectaran el metabolismo óseo (enfermedad ósea de Paget, artritis reumatoide, hiperparatiroidismo, hipercortisolismo, síndrome malabsortivo, tumores malignos, trasplante, embarazo o lactancia reciente) y/o que siguieran tratamiento con fármacos que interfirieran el metabolismo óseo (bisfosfonatos, ranelato de estroncio, moduladores selectivos del receptor estrogénico, calcitonina, terapia estrogénica, denosumab, osteoformadores, tiazidas o anticonvulsivantes).

En todos los pacientes se valoraron los factores de riesgo de osteoporosis incluyendo: antecedentes

familiares de fractura de fémur, historia personal de fracturas, consumo de tabaco y alcohol, edad de la menopausia, ingesta de calcio por dieta (mg/día) y antecedentes de litiasis renal. Además, se recogió la causa del tratamiento con GCC, dosis y la pauta de tratamiento con GCC (dosis acumulada [mg] y duración [días]).

Los resultados se compararon con un grupo control sano de edad y sexo similar.

El estudio se realizó con la aprobación del Comité de Ética del hospital y se ajustó a las directrices pertinentes para la investigación en humanos. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para su inclusión.

*Determinaciones analíticas*

En todos los pacientes se realizó una extracción sanguínea entre las 8 y 10 horas de la mañana, tras ayuno nocturno. Se realizó un perfil de bioquímica que incluía calcio, fosfato, creatinina y fosfatasa alcalina total (FA), determinados por técnicas estándar.

Se determinaron los siguientes marcadores bioquímicos de formación: osteocalcina (OC, radioinmunoensayo, Elsa-Osteo-Cis, Gif-sur-Yvette, Francia) y propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP, método automatizado Cobas e411, Roche), y de resorción ósea: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I (CTX, método automatizado Cobas e411, Roche).

Los valores séricos de esclerostina y Dkk-1 fueron medidos mediante ELISA (Biomedica, Austria), con un coeficiente de intravariación de 4-6% y 7-8% respectivamente, y un coeficiente de intervariación de 5-7% y 9-12%.

*Densidad mineral ósea*

La DMO de columna lumbar y fémur fue determinada en todos los pacientes mediante absorciometría dual de rayos X (DXA; Lunar Prodigy, Radiation Corporation Madison, WI). Las categorías densitométricas de riesgo (DMO normal, osteopenia y/o osteoporosis) fueron definidas según los criterios de la OMS<sup>8</sup>.

*Análisis estadístico*

Los resultados se han expresado mediante la media ± desviación estándar de la media (DE). Las

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes tratados con GCC

	Pacientes con GCC (n=15)
Edad (años)	51±21
Sexo (mujer/hombre)	9/6
<b>Factores de riesgo de osteoporosis:</b>	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25±5
Ingesta de calcio por dieta (mg/día)	593±305
Antecedentes de litiasis renal (%)	13
Tabaquismo activo (%)	7
Consumo de alcohol habitual (%)	13
<b>Antecedentes familiares:</b>	
Fractura de fémur (%)	27
<b>Pauta de tratamiento con GCC:</b>	
Dosis diaria de GCC (mg/día)	58±21
Duración del tratamiento con GCC (días)	42±24
Dosis acumulada de GCC (g)	2,5±1,3
<b>DMO (g/cm<sup>2</sup>):</b>	
Lumbar	1,122±0,156
Cuello femoral	0,927±0,113
Fémur total	0,958±0,109

GCC: glucocorticoides; IMC: índice de masa corporal; DMO: densidad mineral ósea.

diferencias entre medias de las variables continuas se analizaron mediante la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney, y las diferencias entre proporciones mediante la prueba de Fisher. Para valorar asociación entre variables se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Los valores p<0,05 fueron considerados estadísticamente significativo. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa SPSS (versión 18.0, Chicago, EE.UU.).

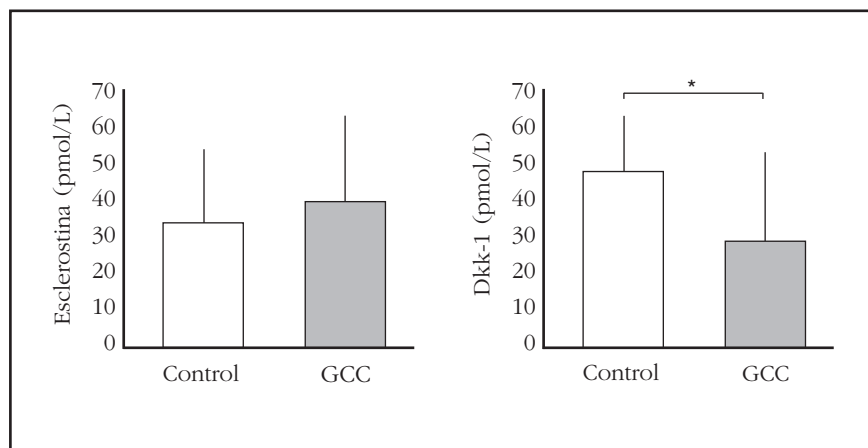
**Resultados**

Las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio se muestran la Tabla 1.

Se incluyeron 15 pacientes (9 mujeres [4 postmenopáusicas] y 6 varones), con una edad media de 51±21 años. La dosis media de GCC utilizada fue de 58±21 mg/día (rango: 20-100 mg/día) y la

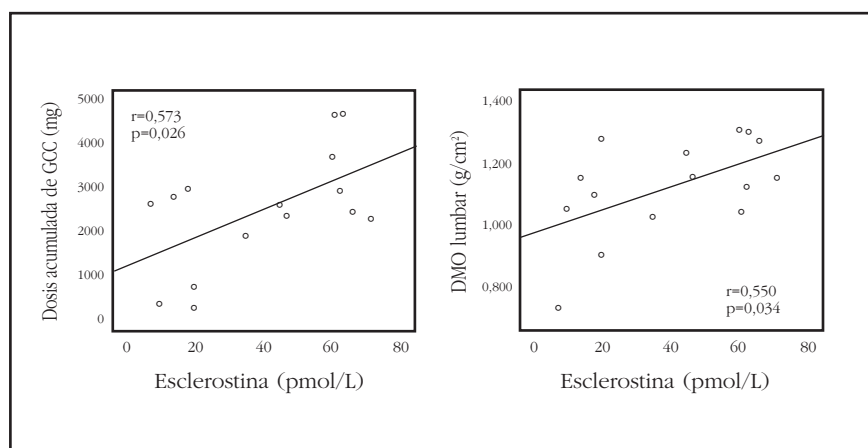


Figura 1. Niveles séricos de esclerostina y Dkk1 en los pacientes en tratamiento con GCC (gris) en comparación con los controles sanos (blanco)



\*  $p=0,02$

Figura 2. Correlación entre los valores de esclerostina, la dosis acumulada de GCC (mg) y la masa ósea a nivel lumbar (DMO lumbar)



duración media del tratamiento de  $42\pm 24$  días (rango: 4-90 días). El 73% de los pacientes recibía tratamiento con GCC por una púrpura trombocitopénica idiopática, el 20% por una anemia hemolítica y el 3% por ambas causas (síndrome de Evans). El 27% tenía antecedentes familiares de fractura de fémur y el 20% tenía una osteoporosis densitométrica. La ingesta de calcio por la dieta era de  $593\pm 305$  mg al día y sólo un paciente refería tabaquismo activo.

Los pacientes que seguían tratamiento con GCC mostraron una disminución significativa de los marcadores de formación respecto al grupo control (PINP:  $18\pm 9$  vs.  $47\pm 9$  ng/ml,  $p<0,01$ ; OC:  $7,4\pm 2,8$  vs.  $24,4\pm 6,2$  ng/ml,  $p<0,01$ ). No se observaron diferencias significativas en los valores del marcador de resorción respecto al grupo control (CTX:  $0,60\pm 0,27$  vs.  $0,45\pm 0,16$  ng/ml,  $p=0,21$ ).

Los pacientes tratados con GCC presentaron una disminución de los valores séricos Dkk-1 comparado con el grupo control ( $29,6\pm 23,6$  vs.  $48,3\pm 15,6$  pmol/L,  $p=0,02$ ), mientras que las concentraciones

de esclerostina fueron similares en ambos grupos ( $39,6\pm 23,3$  vs.  $33,8\pm 20,3$ ,  $p=0,6$ ) (Figura 1).

En el grupo de pacientes tratados con GCC, los valores de esclerostina se correlacionaron de forma positiva con la dosis acumulada de GCC ( $r=0,573$ ,  $p=0,026$ ) y la DMO lumbar ( $r=0,550$ ,  $p=0,034$ ) (Figura 2). Los valores de Dkk-1 no se relacionaron con ninguno de los parámetros analizados. No se observó ninguna relación entre los valores de los marcadores del remodelado óseo y los valores séricos de esclerostina y/o Dkk-1. En el grupo control, los valores de esclerostina se correlacionaron de forma positiva con la edad ( $r=0,661$ ,  $p=0,02$ ) (Tabla 2).

## Discusión

Contrariamente a lo que sucede en estudios experimentales, el inicio del tratamiento con GCC en pacientes con procesos hematológicos, se asocia a una disminución de los valores séricos de Dkk-1. Este efecto, sin embargo, difiere en función del antagonista analizado, ya que no se observan cambios significativos en las

concentraciones de esclerostina en el momento de la valoración.

Los pacientes incluidos en este estudio presentaron valores séricos bajos de Dkk-1 tras iniciar tratamiento con GCC a dosis medias-altas. Estos hallazgos contrastan con los resultados de estudios experimentales previos. Así, en cultivos de osteoblastos y osteocitos (células MLO-Y4), el tratamiento con dexametasona produce un aumento del Dkk-1<sup>9</sup>, que se asocia con la dosis y el tiempo de tratamiento recibido<sup>7</sup>, con resultados similares en modelos de experimentación animal, en los que se ha observado un aumento de la expresión de Dkk-1 en el tejido óseo tras iniciar tratamiento con GCC<sup>7</sup> y una atenuación del efecto deletéreo de los GCC en el hueso al bloquear el efecto del Dkk-1 en el ratón<sup>5</sup>. Si bien, las causas de estas diferencias no están aclaradas, la pauta de tratamiento con GCC, incluyendo la dosis y el tiempo de tratamiento podría explicar, en parte, estos resultados<sup>6</sup>. Tampoco puede descartarse un efecto contrarregulador de este antagonista de la vía Wnt

en situaciones de exposición prolongada a los GCC, o bien que sus valores séricos puedan indicar, no sólo la función celular de osteoblastos y osteocitos, sino también el número de células, que como es bien conocido disminuye (debido a un aumento de la apoptosis) con el tratamiento corticoideo.

Sin embargo, merece la pena comentar que recientemente, de forma preliminar, también se ha indicado una disminución de los valores séricos de Dkk-1 a los tres meses de iniciar tratamiento con GCC<sup>10</sup>, y del mismo modo, estudios recientes han descrito una respuesta paradójica del Dkk-1, similar a la observada en nuestro estudio, en otras situaciones clínicas. En este sentido, contrariamente a lo esperado, se han observado valores disminuidos de Dkk-1 en pacientes inmovilizados<sup>11</sup> y un aumento de los valores séricos de Dkk-1 en pacientes con hiperparatiroidismo primario<sup>12</sup>. Asimismo, también se ha descrito una respuesta paradójica del Dkk-1 tras el tratamiento con teriparatida<sup>13</sup> y denosumab<sup>14</sup>. Estos autores han sugerido una relación entre el remodelado óseo y los valores de Dkk-1, de forma que a menor remodelado óseo menores serían los valores de Dkk-1. De todos modos, es importante recordar que podrían existir factores que influyeran en los valores séricos del Dkk-1, como la enfermedad de base y el tratamiento concomitante, entre otros, y que deberán tenerse en cuenta al analizar las concentraciones de este antagonista. Asimismo, la relación entre los valores séricos y su expresión tisular es controvertida<sup>7</sup>.

En nuestro estudio, los valores séricos de esclerostina tras el inicio del tratamiento con GCC fueron similares a los valores del grupo control. Sin embargo, se observó una correlación positiva entre los valores de esclerostina y la dosis acumulada de GCC, sugiriendo un efecto GCC-dependiente sobre este antagonista de la vía Wnt. Estudios en ratones tratados con GCC han descrito un aumento de la expresión de esclerostina tras tratamiento<sup>3</sup>. Sin embargo, en pacientes que inician tratamiento con GCC (primeras 96 horas) se ha descrito una disminución de los valores de esclerostina<sup>15</sup>, un hallazgo que no se ha observado en mujeres postmenopáusicas tratadas con GCC<sup>10</sup> ni en pacientes con hipercortisolismo por síndro-

Tabla 2. Correlación entre los niveles séricos de esclerostina y los valores de Dkk-1, los marcadores de remodelado óseo y el resto de los parámetros analizados (r de Pearson sin ajustar y ajustada por edad<sup>§</sup>)

	<b>GCC (n=15)</b>	<b>Controles (n=20)</b>
Edad (años)	0,03/-	0,661*/-
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0,254/0,267 <sup>§</sup>	0,320/-0,036 <sup>§</sup>
<b>Marcadores de remodelado óseo:</b>		
PINP (ng/ml)	-0,295/-0,375 <sup>§</sup>	-0,12/0,131 <sup>§</sup>
OC (ng/ml)	-0,204/-0,212 <sup>§</sup>	-0,593/0,134 <sup>§</sup>
CTX (ng/ml)	-0,249/-0,360 <sup>§</sup>	0,098/0,296 <sup>§</sup>
<b>Antagonistas vía Wnt:</b>		
Dkk-1	0,01/0,01 <sup>§</sup>	-0,205/0,309 <sup>§</sup>
<b>DMO (g/cm<sup>2</sup>):</b>		
Lumbar	0,537*/0,651*	-
Cuello femoral	0,171/0,30 <sup>§</sup>	-
Fémur total	0,187/0,258 <sup>§</sup>	-

GCC: glucocorticoides; IMC: índice de masa corporal; PINP: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I; OC: osteocalcina; CTX: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I; DMO: densidad mineral ósea.

\* p<0,05

me de Cushing<sup>16</sup>, en los que se ha descrito un aumento de los valores de esclerostina.

Los valores circulantes de esclerostina en la población general se han asociado con la edad, el sexo, el *status* estrogénico (postmenopausia) y la cantidad de masa ósea total<sup>17-19</sup>, por lo que deberán tenerse en cuenta estos factores cuando se analicen sus concentraciones. En este sentido, en los sujetos sanos incluidos en nuestro estudio observamos una correlación positiva de los valores de esclerostina con la edad; un hallazgo que no se observó en el grupo de pacientes tratados con GCC, posiblemente debido al efecto directo de los GCC sobre la vía Wnt. En este grupo de pacientes se observó, sin embargo, una correlación positiva entre los valores séricos de esclerostina y la DMO lumbar, una relación que también se ha observado en otros estudios y que se ha atribuido a la mayor producción de esclerostina por los osteocitos, debido a una mayor cantidad de hueso<sup>18,20</sup>.

La relación entre los marcadores de remodelado óseo y los antagonistas de la vía Wnt es incierta y

varían en distintas situaciones clínicas. Así, García-Martin *et al.*<sup>21,22</sup> en un grupo de pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2, describieron una correlación inversa entre los valores de esclerostina y los marcadores de formación (FA ósea) y resorción ósea (sCTX y TRAP5b). Datos similares han sido descritos en población general<sup>18</sup> y en pacientes inmovilizados tras accidente vascular cerebral<sup>23</sup>, aunque en otras situaciones, como en pacientes con insuficiencia renal crónica, no se han observado correlaciones significativas<sup>20,24,25</sup>. En nuestro estudio, aunque se observó una disminución significativa de los marcadores de formación ósea (PINP y OC) tras el tratamiento con GCC, éstos no se relacionaron con los valores séricos de esclerostina ni Dkk-1.

Las principales limitaciones de este estudio son el reducido número de pacientes incluidos y la falta de seguimiento en estos pacientes.

En conclusión, el efecto del tratamiento con GCC en los valores séricos de los antagonistas de la vía Wnt difiere en función del antagonista evaluado. Mientras que los niveles de Dkk-1 disminuyen al inicio del tratamiento, los valores de esclerostina no muestran cambios significativos. Todo ello sugiere la necesidad de realizar estudios prospectivos que incluyan un mayor número de pacientes con mayor seguimiento que analicen el efecto de los GCC sobre los antagonistas de la vía Wnt.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no existir conflicto de intereses.

Este trabajo ha sido financiado por becas del *Hospital Clínic Barcelona* y de la *Societat Catalana de Reumatologia*.

### Bibliografía

- van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002;13:777-87.
- Hernandez MV, Guanabens N, Alvarez L, Monegal A, Peris P, Riba J, et al. Immunocytochemical evidence on the effects of glucocorticoids on type I collagen synthesis in human osteoblastic cells. *Calcif Tissue Int* 2004;74:284-93.
- Yao W, Cheng Z, Busse C, Pham A, Nakamura MC, Lane NE. Glucocorticoid excess in mice results in early activation of osteoclastogenesis and adipogenesis and prolonged suppression of osteogenesis: a longitudinal study of gene expression in bone tissue from glucocorticoid-treated mice. *Arthritis Rheum* 2008;58:1674-86.
- Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int* 2007;18:1319-28.
- Wang FS, Ko JY, Yeh DW, Ke HC, Wu HL. Modulation of Dickkopf-1 attenuates glucocorticoid induction of osteoblast apoptosis, adipocytic differentiation, and bone mass loss. *Endocrinology* 2008;149:1793-801.
- Mak W, Shao X, Dunstan CR, Seibel MJ, Zhou H. Biphasic glucocorticoid-dependent regulation of Wnt expression and its inhibitors in mature osteoblastic cells. *Calcif Tissue Int* 2009;85:538-45.
- Thiele S, Ziegler N, Tsourdi E, De Bosscher K, Tuckermann JP, Hofbauer LC, et al. Selective glucocorticoid receptor modulation maintains bone mineral density in mice. *J Bone Miner Res* 2012;27:2242-50.
- Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994;843:1-129.
- Ohnaka K, Taniguchi H, Kawate H, Nawata H, Takayanagi R. Glucocorticoid enhances the expression of dickkopf-1 in human osteoblasts: novel mechanism of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:259-64.
- Gossiel F LN, Eastell R. The Effect of Glucocorticoid Therapy on Regulators of Bone Formation in Postmenopausal Women Treated with Teriparatide or Alendronate. *ASBMR Annual Meeting* 2011:S80.
- Frings-Meuthen P, Boehme G, Liphardt AM, Baecker N, Heer M, Rittweger J. Sclerostin and DKK1 levels during 14 and 21 days of bed rest in healthy young men. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2013;13:45-52.
- Viapiana O, Fracassi E, Troplini S, Idolazzi L, Rossini M, Adami S, et al. Sclerostin and DKK1 in primary hyperparathyroidism. *Calcif Tissue Int* 2013;92:324-9.
- Gatti D, Viapiana O, Idolazzi L, Fracassi E, Rossini M, Adami S. The waning of teriparatide effect on bone formation markers in postmenopausal osteoporosis is associated with increasing serum levels of DKK1. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1555-9.
- Gatti D, Viapiana O, Fracassi E, Idolazzi L, Dartizio C, Povino MR, et al. Sclerostin and DKK1 in postmenopausal osteoporosis treated with denosumab. *J Bone Miner Res* 2012;27:2259-63.
- Brabnikova Maresova K, Pavelka K, Stepan JJ. Acute effects of glucocorticoids on serum markers of osteoclasts, osteoblasts, and osteocytes. *Calcif Tissue Int* 2013;92:354-61.
- Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Melnichenko GA, Solodovnikov AG, Dragunova NV, Iljin AV, et al. Serum extracellular secreted antagonists of the canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway in patients with Cushing's syndrome. *Osteoporos Int* 2013;24:2191-9.
- Modder UI, Clowes JA, Hoey K, Peterson JM, McCready L, Oursler MJ, et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res* 2010;26:27-34.
- Modder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011;26:373-9.
- Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1991-7.
- Polyzos SA, Anastasilakis AD, Bratengeier C, Woloszczuk W, Papatheodorou A, Terpos E. Serum sclerostin levels positively correlate with lumbar spinal bone mineral density in postmenopausal women—the six-month effect of risedronate and teriparatide. *Osteoporos Int* 2012;23:1171-6.
- García-Martin A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:234-41.
- García-Martin A, Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Varsavsky M, Luque-Fernández I, Avilés-Pérez M, et al. Variables que influyen en las concentraciones de esclerostina en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y su asociación con el metabolismo óseo. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2012;4:109-115.
- Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiàfico RA, et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2248-53.
- Cejka D, Jager-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:226-30.
- van Lierop AH, Witteveen JE, Hamdy NA, Papapoulos SE. Patients with primary hyperparathyroidism have lower circulating sclerostin levels than euparathyroid controls. *Eur J Endocrinol* 2010;163:833-7.

**Fernández-Murga ML<sup>1</sup>, Serna E<sup>2</sup>, Sanz-Salvador L<sup>1</sup>, Hervás-Lorente A<sup>1</sup>, Portero J<sup>2</sup>, Cano A<sup>1,3</sup>**

1 Laboratorio de Ecofisiología, Nutrición y Salud, IATA-CSIC - Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO) - Hospital Universitario Dr. Peset - Valencia

2 Unidad Central de Investigación en Medicina-INCLIVA - Universidad de Valencia

3 Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología - Universidad de Valencia y Servicio de Obstetricia y Ginecología - Hospital Universitario Dr. Peset - Valencia

## Respuesta de preosteoblastos a compuestos de estroncio o calcio: proliferación, diferenciación, mineralización y respuesta génica global

Correspondencia: María Leonor Fernández Murga - Laboratorio de Ecofisiología, Nutrición y Salud, IATA-CSIC - Hospital Universitario Dr. Peset - La Coma s/n - 46100 Paterna - Valencia (España)  
Correo electrónico: malefer@uv.es

Fecha de recepción: 17/06/2013

Fecha de aceptación: 22/10/2013

*Trabajo premiado por la SEIOMM en el XVII Congreso SEIOMM de La Coruña, 2011.*

### Resumen

**Fundamento:** Los mecanismos que desencadenan la osteogénesis todavía no están aclarados. El objetivo de este estudio fue valorar el papel de estroncio y calcio, aportados en distinto soporte molecular, como inductores de distintos mecanismos de estímulo osteoblástico, incluyendo proliferación, diferenciación y mineralización de células preosteoblásticas. Se investigó también la respuesta global genómica con la técnica de *microarray*.

**Métodos:** Se diseñó un estudio experimental con células pre-osteoblásticas murinas MC3T3-E1, que fueron estimuladas durante 3 horas y 7 días. Se realizaron estudios bioquímicos y de expresión génica del genoma de ratón (Affymetrix).

**Resultados:** El estroncio unido a ranelato (SrRn) fue el más potente inductor de la capacidad de mineralización, en comparación con los otros compuestos utilizados (2,55 veces respecto al control). Los estudios de expresión génica global mostraron que a las 3 horas cambian 2.030 genes de los cuales 1.644 genes son específicos de esta fase. Por el contrario, a 7 días de tratamiento sólo cambian 329 genes siendo específicos 147 genes. Los procesos biológicos más enriquecidos a las 3 horas fueron los involucrados en la regulación transcripcional (147 genes), procesos metabólicos (140 genes) y la fosforilación de proteínas (44 genes) entre otros, mientras que a 7 días hubo cambios relacionados con el ciclo celular (18 genes) y con el metabolismo de carbohidratos en general (12 genes).

**Conclusión:** El estroncio unido al anión ranelato se comportó como el más potente inductor de la osteogénesis comparado con otros aniones como cloruro o hidróxidos. El estímulo a 3 horas presentó mayores cambios de expresión de genes en comparación a 7 días. Los procesos biológicos afectados pueden ser útiles para especular sobre cascadas de señalización involucradas en la activación osteoblástica y sobre nuevas dianas moleculares con fines terapéuticos.

**Palabras clave:** osteoporosis, osteogénesis, estroncio, calcio, *microarray* de genes, expresión génica.

# Response of osteoblasts to compounds of strontium or calcium: proliferation, differentiation, mineralisation and whole genome response

## Summary

**Background:** The mechanisms which trigger osteogenesis are not yet clear. The objective of this study was to evaluate the role of strontium and calcium, provided in different molecular forms, as inductors of different mechanisms of osteoblast stimulus, including proliferation, differentiation and mineralisation of preosteoblast cells. The whole genomic response was also investigated using the microarray technique.

**Methods:** An experimental study was designed with murine preosteoblast cells MC3T3-E1, which were stimulated for 3 hours and 7 days. Biochemical and genome gene expression studies of mouse (Affymetrix) were carried out.

**Results:** Strontium bonded with ranelate (SrRn) was the most powerful inductor of the capacity of mineralisation in comparison with the other compounds used (2.55 times that of the control). The studies of whole gene expression showed that after 3 hours 2030 genes change, of which 1644 are specific to this phase. On the other hand, after 7 days of treatment only 329 genes change, of which 147 are specific. The biological processes most enriched after 3 hours are those involved in the regulation of transcription (147 genes), metabolic processes (140 genes) and protein phosphorylation (44 genes) among others, while at 7 days these are changes relating to the cell cycle (18 genes) and carbohydrate metabolism in general (12 genes).

**Conclusion:** Strontium bonded with the ranelate anion performed as the most powerful inductor of osteogenesis compared with other anions such as chloride or the hydroxides. The stimulation for 3 hours showed greater changes in gene expression in comparison with 7 days. The biological processes affected may be useful in speculating on the signalling cascades involved in the activation of the osteoblast, and on new molecular targets for therapeutic purposes.

**Key words:** osteoporosis, osteogenesis, strontium, calcium, gene microarray, gene expression.

## Introducción

El esqueleto proporciona apoyo y equilibrio mineral al organismo. El tejido esquelético se forma durante el crecimiento y se mantiene durante la vida adulta por una continua renovación de la matriz ósea, a través de un proceso denominado remodelación ósea. En ella juegan un papel importante dos tipos celulares, osteoclastos y osteoblastos. Durante el crecimiento, la formación ósea excede la resorción, resultando en aportación neta. Por el contrario, durante el envejecimiento, se produce un desequilibrio que resulta en un balance óseo negativo<sup>1</sup>. Mecanismos extrínsecos, como cambios en niveles de hormonas y factores de crecimiento, y mecanismos intrínsecos asociados a la senescencia celular, pueden condicionar las disfunciones de los osteoblastos<sup>2,3</sup>. Esto conduce a un aumento del número de unidades de remodelación ósea, lo que favorece la perforación trabecular y la reducción en el hueso endocortical que conducen a una resistencia ósea reducida<sup>4,5</sup>.

A fin de limitar el exceso de resorción que sigue a la menopausia, se han desarrollado una serie de fármacos anti-resortivos, tales como bisfosfonatos, anticuerpos monoclonales contra citoquinas implicadas en la diferenciación osteoclástica, inhibidores de catepsina K, etc<sup>6,7</sup>. Sus efectos a largo plazo, sin embargo, son desconocidos<sup>7</sup>. Un reto importante en el tratamiento de la osteoporosis es la identificación de estrategias capaces de

invertir el deterioro de la formación ósea ligado a la edad. Hasta la fecha, el número de agentes anabólicos que promuevan la osteoblastogénesis es limitado. La disponibilidad de hormona paratiroidea (PTH) fue un importante avance en el tratamiento de la osteoporosis<sup>8</sup>. El suministro intermitente de PTH aumenta la formación ósea en pacientes con osteoporosis, lo que resulta en un aumento de la masa ósea trabecular y el espesor cortical<sup>8-10</sup>. Sin embargo, este tratamiento anabólico tiene algunas limitaciones vinculadas a la vida media baja y alto coste de esta molécula.

El estroncio (Sr), un catión cercano al calcio en la tabla periódica, ha demostrado acciones farmacológicas sobre el metabolismo óseo<sup>11,12</sup>. En ciertos modelos experimentales parece desarrollar una acción anabólica, lo que ha despertado atención sobre vías asociadas capaces de promover formación ósea. En ratas ovariectomizadas (OVX), un modelo animal de osteoporosis postmenopáusica, se observó que, a corto y largo plazo, el tratamiento con Sr impidió la pérdida de hueso trabecular inducida por la deficiencia de estrógenos<sup>13,14</sup>. Ensayos clínicos controlados en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas mostraron que el tratamiento con Sr redujo el riesgo relativo de fractura vertebral en comparación con el grupo placebo<sup>15</sup>, así como el riesgo de todas las fracturas no vertebrales y fracturas de cadera, como se analiza en un subgrupo de pacientes con edad avanzada<sup>16,17</sup>.

Varios mecanismos pueden explicar la disminución del riesgo de fractura inducida por el Sr en la osteoporosis. Uno de los posibles mecanismos es el aumento de la densidad mineral ósea (DMO)<sup>18</sup>; otro implicaría el efecto del Sr en la resorción y la formación ósea<sup>19</sup>. En apoyo de este hallazgo, se encontró que 12 meses de tratamiento con Sr conduce a un aumento en el número de osteoblastos, formación de la matriz y una disminución en el número de osteoclastos en pacientes con osteoporosis<sup>20,21</sup>. Además de sus efectos sobre las células óseas y la microarquitectura ósea, el Sr puede aumentar la resistencia del hueso a través de cambios en las propiedades de la matriz ósea. Una fracción limitada (menos de 10%) de estroncio se incorpora en el hueso<sup>22</sup>. Por lo tanto, el efecto beneficioso del Sr en la resistencia del hueso no sólo puede resultar de sus efectos farmacológicos sobre las células de hueso, remodelación ósea y la microarquitectura, sino que también puede surgir de sus efectos sobre las propiedades de la matriz ósea; por tanto, se requieren análisis más básicos y clínicos para aclarar estos efectos a nivel molecular.

En este trabajo, hemos estudiado el efecto de diferentes compuestos de Sr y una sal de calcio (Ca) sobre distintos parámetros relacionados con la osteogénesis usando como modelo cultivos de preosteoblastos. Además, hemos realizado un estudio genómico global mediante el uso de *microarray* a fin de obtener información sobre genes y rutas de señalización implicados en la osteoformación. Para ello, hemos utilizado un *microarray* de ratón GeneChip Mouse Gene 1.0 ST, que contiene más de 750.000 sondas que representan 28.000 genes. Los genes fueron analizados a diferentes tiempos, cortos (3 horas, fase aguda) o largos (7 días, fase crónica). Los cambios en la expresión génica fueron agrupados según los procesos metabólicos más destacados y relacionados con la proliferación, diferenciación y actividad de osteoblastos.

## Materiales y métodos

### *Cultivos celulares*

Se empleó la línea celular preosteoblástica murina MC3T3-E1 (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.). Las células se mantuvieron en medio de cultivo compuesto por  $\alpha$ -MEM (Invitrogen, California, EE.UU.) suplementado con 10% suero bovino fetal (SBF, Invitrogen, California, EE.UU.), 2 mM L-glutamina, 100 u/ml penicilina y 100  $\mu$ g/ml estreptomycin (Invitrogen, California, EE.UU.) en una estufa de incubación a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>. Para la realización de los ensayos se dejaron crecer hasta una confluencia del 60-70%.

Antes de cualquier estímulo, las células se mantuvieron durante 24 horas en medio con 2,5% de SBF. Tras este período, las células se trataron con ranelato de estroncio (SrRn, AK Scientific Inc, EE.UU.), cloruro de estroncio (SrCl<sub>2</sub>), cloruro cálcico (CaCl<sub>2</sub>) e hidróxido de estroncio [Sr(OH)<sub>2</sub>] (Sigma-Aldrich) a concentración 2 mM durante los tiempos especificados en cada experimento. Los tratamientos se realizaron en medio  $\alpha$ -MEM suplementado con 2,5% SBF, 2 mM L-glutamina, 100 u/ml penicilina y 100  $\mu$ g/ml estreptomycin. Para tratamientos prolon-

gados, el medio de cultivo se renovó en un 50% y se añadió el tratamiento correspondiente cada 3 días.

### *Ensayo de proliferación celular (XTT)*

Las células se sembraron en una placa de 96 pocillos (densidad 4x10<sup>3</sup> células/pocillo). Se incubaron durante 48 horas con los estímulos ya descritos. La proliferación celular se midió con el ensayo *Cell Proliferation ELISA II* (XTT-assay, Roche Applied Science, Mannheim, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Tras el periodo de incubación, se realizó la medida de la absorbancia a 450 y 650 nm (absorbancia de referencia) a 37°C en un lector de placas Victor™X3 2030 Multilabel Reader (Perkin Elmer, Massachusetts, EE.UU.).

### *Medida de la actividad fosfatasa alcalina (ALP)*

Las células MC3T3-E1 se sembraron en placas de 96 pocillos a una confluencia del 60% y se sometieron a los estímulos mencionados durante 24 horas, 3 y 7 días. Tras los tratamientos, las células se lavaron con PBS, se recogieron con Tritón X-100 0,1% PBS y se sonicaron a 4°C. Tras centrifugar a 4°C a 20.000 g durante 5 min, se recogieron los sobrenadantes en los que se determinó la actividad fosfatasa alcalina mediante el ensayo ALP Reagent (Thermo scientific, Massachusetts, EE.UU.). Se determinó la absorbancia a 405 nm y 660 nm (absorbancia de referencia) a 37°C cada min durante 10 min en un lector de placas Victor™X3 2030 Multilabel Reader (Perkin Elmer, EE.UU.).

Se determinó la concentración de proteína mediante el método colorimétrico de Bradford (BioRad, Hemel Hempstead, Reino Unido). La actividad ALP se expresa en  $\mu$ g de producto formado por minuto de reacción sobre la cantidad de proteína presente en el sobrenadante (U/mg).

### *Ensayos de mineralización*

Para cuantificar la mineralización de los cultivos celulares se utilizó rojo alizarina (ARS, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EE.UU.), un colorante orgánico capaz de unirse a los depósitos de calcio de las células. Se emplea por tanto como marcador de la capacidad de formación de matriz calcificada. Para la realización de experimentos, las células MC3T3-E1 se sembraron en placas de 6 pocillos y se incubaron con los diferentes tratamientos SrRn, SrCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> y Sr(OH)<sub>2</sub> durante 24 horas, 3 y 7 días. Luego, las células se lavaron con PBS y se fijaron con formaldehído 10% 15 min. Tras la fijación, se trataron con solución de ARS (40 mM, pH 4,2) 20 min a temperatura ambiente. Para detectar la capacidad de mineralización, las células marcadas con ARS se incubaron con ácido acético 10% durante 30 min a temperatura ambiente; posteriormente, se recogió la suspensión celular y se incubaron a 85°C durante 10 min seguido de 5 min en hielo, para recoger los sobrenadantes tras centrifugar a 20.000 g 15 min. Se añadió hidróxido potásico (KOH) 10% a cada sobrenadante y finalmente se determinó la intensidad de la fijación del ARS midiendo la absorbancia a 405 nm en un lector de placas Victor™X3 2030 Multilabel Reader (Perkin Elmer, EE.UU.).

### Extracción de ARN total

Las células se cultivaron por triplicado a una concentración de  $10^6$  células por muestra. Tras ello, se dividió un número igual de muestras con o sin tratamiento con 2 mM de SrRn durante 3 horas y durante 7 días. Tras estos periodos de incubación, se eliminó el medio de cultivo y se realizó la extracción de ARN total por el método de trizol siguiendo las especificaciones del fabricante (Invitrogen, California, EE.UU.). Se comprobó la cantidad y pureza obtenida determinando la absorbancia a 260 y 280 nm en Nanodrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware, EE.UU.).

### Microarrays de expresión génica

El análisis de la expresión global del genoma se realizó con el *microarray* GeneChip Mouse Gene 1.0 ST Array (Affymetrix, Santa Clara, California, EE.UU.) que contiene más de 750.000 sondas, con una longitud de 25 oligonucleótidos, que representan a 28.000 genes de ratón. Se obtuvo triplicados biológicos para cada condición: controles, 3 horas y 7 días de tratamiento. Se partió de 300 ng de ARN total, previamente analizando su integridad (Bioanalizador, 2100 Agilent), para sintetizar la cadena simple de ADNc. Su posterior fragmentación y marcaje se hizo siguiendo las indicaciones del fabricante (Affymetrix, Santa Clara, California, EE.UU.). La hibridación tuvo lugar durante 17 horas a 45°C en rotación a 60 rpm dentro del horno recomendado por Affymetrix "GeneChip Hybridization Oven 640" (Affymetrix, Santa Clara, California, EE.UU.). Tras este período, los *microarrays* pasaron por un tren de lavados y, finalmente, se realizó el marcaje con estreptoavidina-ficoeritrina usando "GeneChip Fluidics Station 450" (Affymetrix, Santa Clara, California, EE.UU.). Posteriormente, los *microarrays* fueron escaneados con "GeneChip Scanner 3000 7G" (Affymetrix, Santa Clara, California, EE.UU.) y se obtuvieron las imágenes de cada una de las muestras. Los controles de calidad de estas imágenes se realizaron con el programa "Affymetrix Genechip Command Console".

### Análisis estadísticos de los resultados

Los archivos .CEL normalizados de las imágenes de las muestras de todos los experimentos realizados se analizaron con el *software* Partek Genomics Suite versión 6.6 (Partek Inc., St. Louis, Missouri, EE.UU.). Los *microarrays* se normalizaron mediante el algoritmo RMA. La expresión diferencial de genes fue identificada usando ANOVA mediante un análisis muy restrictivo usando False Discovery Rate  $<0,05$  (FDR $<0,05$ ).

La expresión de los genes basales que cambian a lo largo del tiempo entre el control a 3 horas comparado con el control a los 7 días, fueron descartados del análisis para poder observar de una manera más específica los genes que cambian tras el estímulo con SrRn.

Los procesos celulares que integran a los genes significativos, tanto para la fase aguda como para la fase crónica, fueron analizados usando el *software* Pathway Studio versión 9.0, base de datos

ResNet9.0;2012Q3 (Mammal) (Ariadne Genomics, Rockville, Maryland, EE.UU.).

Los datos bioquímicos y de proliferación celular obtenidos fueron analizados con el programa GraphPad Prism versión 4 (GraphPad Software, Inc., California EE.UU.). El estudio estadístico comparativo se llevó a cabo mediante análisis de la varianza de un solo factor (ANOVA) y test de Bonferroni para las comparativas múltiples. Los datos numéricos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar, valor máximo y valor mínimo. El nivel de significación estadística se estableció en valores de  $p<0,05$ , para todas las variables analizadas.

## Resultados

### Efecto de diferentes sales de Sr en cultivos de preosteoblastos MC3T3-E1

#### *Proliferación celular*

La Figura 1A presenta el efecto de las diferentes sales estudiadas sobre la proliferación celular determinada por el método de XTT. Todos los estímulos indujeron proliferación celular respecto al control negativo tras 48 horas de tratamiento. El  $\text{CaCl}_2$  indujo el mayor grado de proliferación, con un incremento de 2,13 veces, que resultó muy significativo ( $p<0,001$ ). Todas las sales de estroncio produjeron un discreto incremento de la proliferación celular ( $p<0,05$ ) en el tiempo estudiado respecto al control. No hubo diferencias significativas entre las sales estudiadas.

#### *Diferenciación celular (fosfatasa alcalina y mineralización)*

La ALP es un marcador de diferenciación osteoblástica temprana, un incremento de su actividad se considera indicador del aumento de actividad de los osteoblastos maduros. La Figura 1B muestra las actividades de ALP con las distintas sales durante 7 días. Se hicieron también mediciones a tiempos más cortos (24 horas y 3 días) pero no se observó incremento de la actividad ALP con ningún estímulo (datos no mostrados); por lo tanto, durante este tiempo todavía permanecen indiferenciadas. Sin embargo, la evaluación a los 7 días produjo un aumento de la actividad ALP, de forma que el estroncio como sal de cloruro o hidróxido consiguió un aumento de 4,45 que resultó ser estadísticamente muy significativo ( $p<0,001$ ). Las sales de  $\text{CaCl}_2$  o SrRn mostraron un aumento menor de actividad ALP, de aproximadamente 2 veces respecto al control, con significación estadística ( $p<0,01$ ).

Puesto que es conocido que el Sr se incorpora a la matriz ósea, se evaluó el impacto de las sales de Sr y de  $\text{CaCl}_2$  en la capacidad de mineralización de pre-osteoblastos MC3T3-E1. Similar a lo observado en los ensayos de ALP no se observó mineralización a 24 horas ni 3 días (datos no mostrados), pero el ensayo fue positivo a 7 días de estímulo (Figura 1C). El SrRn consiguió un incremento de 2,55 veces en la mineralización medida por ARS respecto al control y de 2,2 veces si comparamos con los otros compuestos de estroncio ( $p<0,05$ ), que a su vez parecen inducir levemente la mineralización si las comparamos con el con-

trol. Las células estimuladas con el SrRn presentaron mayor capacidad de mineralización (1,7 veces más de incremento) incluso que la sal de CaCl<sub>2</sub> estudiada, con una fuerte tendencia estadística (p=0,06).

En conclusión, el Sr unido a ranelato indujo una leve proliferación celular, y un aumento de la actividad ALP suficiente para conseguir la máxima capacidad mineralizante de todas las sales investigadas. Con este soporte, se procedió a investigar la expresión génica mediada por esta sal.

Análisis de la expresión de genes mediante microarray

El efecto del SrRn sobre el perfil génico de células MC3T3-E1 se investigó también durante 3 horas y 7 días de estímulo. Estos tiempos de estudio se seleccionaron por estudios previos de nuestro grupo, donde detectamos los cambios más intensos de la expresión de genes relacionados con la cascada de señalización Wnt y NFAT, ambas rutas destacadas en el proceso de osteogénesis<sup>23</sup>. Los resultados obtenidos por *microarray* fueron realizados por triplicado y se representaron en un mapa de análisis de componentes principales (PCA) (Figura 2). Se observa que las muestras de una misma condición se parecen entre sí, por eso las elipses son pequeñas. El hecho de que no se solapen las elipses nos confirma que hay diferencias génicas con las demás condiciones. Las muestras integradas dentro del estímulo de 3 horas fueron muy diferentes espacialmente en comparación con las no tratadas (control). Tras 7 días, las diferencias se redujeron, lo que sugiere que el impacto sobre la expresión génica se reduce en relación a la fase aguda.

Se realizó un análisis estadístico comparativo llevado a cabo mediante análisis de la varianza de un solo factor (ANOVA) y usando un FDR ≤0,05. Observamos que en fase aguda hay 2.030 genes que modificaron su expresión, de los cuales específicos de esta etapa son 1.644 genes que cambiaron significativamente cuando se trató a las muestras con SrRn. Por otra parte, a los 7 días de estímulo, 329 genes cambiaron de forma estadísticamente significativa, siendo específicos de la fase crónica sólo 147 genes. Los restantes genes fueron comunes a las dos fases. En este estudio se descartaron los genes que cambiaron su expresión entre los controles de 3 horas y 7 días y nos centramos en los genes que cambiaron específicamente en cada período de tiempo. En las Figuras 3A y 3B, se representan los procesos biológicos en que cabe integrar los genes con expresión diferencial. La representación se hace en función del número de genes que cambian, de mayor a menor, aunque debe subrayarse que todos los cambios presentados son estadísticamente significativos. Los procesos celulares difirieron significativamente según el tiempo de tratamiento, 3 horas o 7 días, con SrRn. En fase aguda, los

Figura 1. Efecto de diferentes compuestos de Sr en cultivos de preosteoblastos MC3T3-E1. Cultivos celulares sin estimular y tratados con CaCl<sub>2</sub> fueron utilizados como controles. (A) proliferación celular durante 48 h de estímulo; (B y C) actividad fosfatasa alcalina; ALP y capacidad de mineralización determinado por el método de rojo alizarina tras 7 días de tratamiento, respectivamente. Los resultados se representan como la media ± la desviación estándar de triplicados. \*p<0,05, \*\*p<0,01 \*\*\*p<0,001, comparaciones realizadas respecto al control (0)

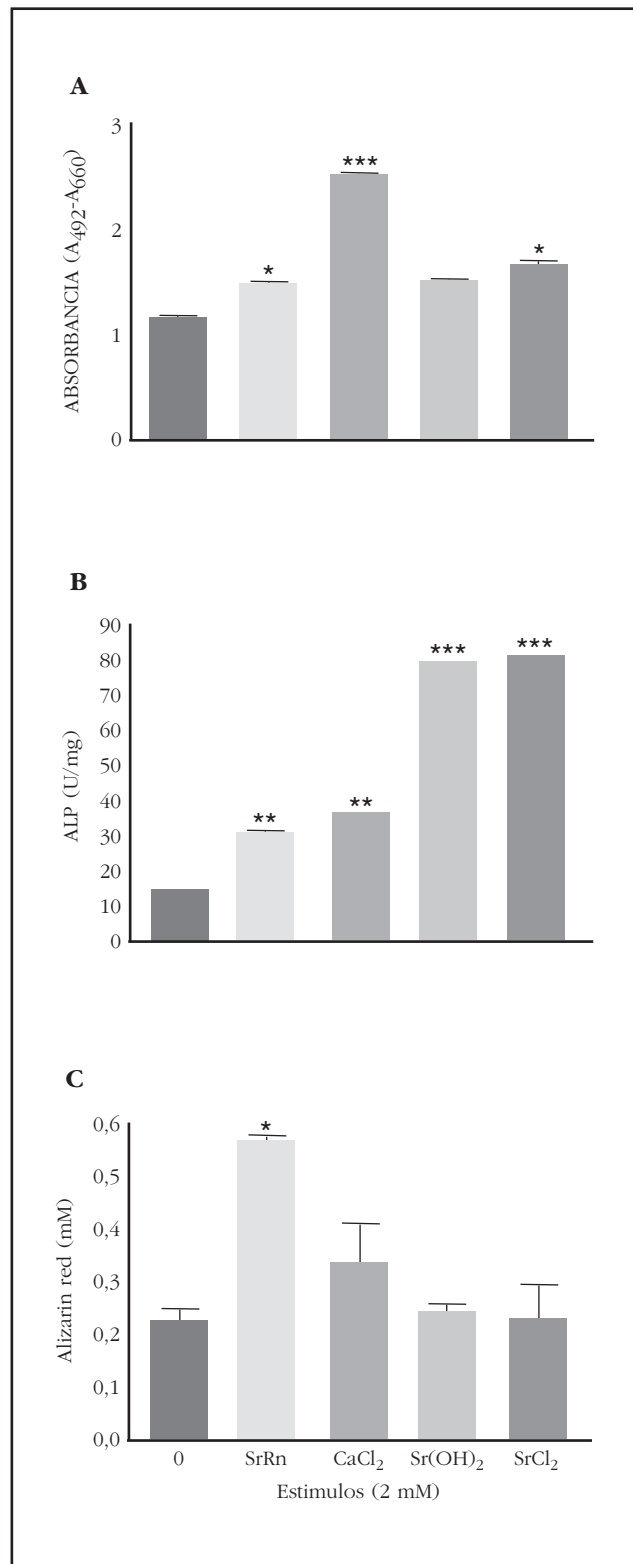
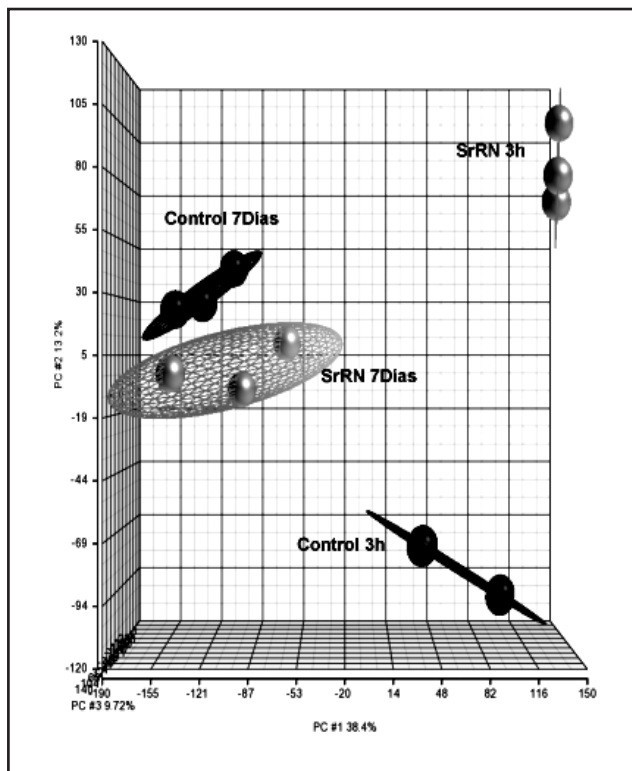




Figura 2. Representación de Mapa de Análisis de componentes principales (PCA). Todas las muestras se representan en 3D mediante un análisis no supervisado de componentes principales. Las elipses se dibujan para incluir 61,3% de los genes en cada grupo



procesos celulares asociados a los genes cuya expresión cambió correspondieron a la regulación de la transcripción (147 genes), a procesos metabólicos en general (140 genes), al transporte (89 genes, de los cuales 52 están relacionados al transporte de proteínas) y 44 genes relacionados a la fosforilación de proteínas. Por el contrario, procesos como muerte celular, reparación de DNA o respuesta al daño en DNA fueron menos enriquecidos. En cambio, a los 7 días de estímulo, fase crónica (Figura 3B), los cambios fueron diferentes y los procesos biológicos más enriquecidos fueron los metabólicos que están implicados sobre todo en el metabolismo de la glucosa (6 genes) y de los carbohidratos en general (6 genes), división y ciclo celular (10 genes), proliferación celular (6 genes) y en menor medida los relacionados con hipoxia y metabolismo de lipopolisacáridos.

**Discusión**

En este trabajo, hemos estudiado el efecto de tres compuestos de estroncio sobre pre-osteoblastos murinos MC3T3-E1. Hemos observado que el Sr promueve proliferación y diferenciación celular, así como mineralización, pero su potencial cambia según el anión al que esté unido. Si en el medio de cultivo está presente una fuente de fosfato orgánico, observamos zonas discretas de depósitos minerales que contienen hidroxiapatita. Entre los compuestos de estroncio estudiados, el Sr unido al ranelato (SrRn) resultó ser el más potente inductor de la mineraliza-

ción en comparación al cloruro e hidróxido de estroncio (Figura 1C). Este proceso estuvo acompañado por un discreto incremento de la actividad ALP asociado con el fenotipo de osteoblastos. Por el contrario, la mayor actividad de la fosfatasa alcalina la hemos observado con el Sr unido tanto al cloruro o hidróxido, demostrando la versatilidad de la acción del catión según el soporte molecular que le acompañe. Las células usadas en este estudio han sido muy bien caracterizadas y resultan un excelente modelo para estudios de mineralización, sin embargo, presentan una baja expresión de ALP. Se han caracterizado otros subclones de la misma línea celular que, por el contrario, presentan una elevada actividad ALP y no tienen capacidad mineralizante<sup>24</sup>. Se sabe que se necesita poca actividad ALP (0,05 U/mg) para obtener fósforo inorgánico *in vitro*<sup>25</sup>. En células mesenquimales de médula ósea también se han observado bajas actividades ALP y fueron capaces de mineralizar<sup>26</sup>. Por lo tanto, la actividad ALP observada en las muestras estimuladas con SrRn es necesaria y suficiente para producir una matriz de mineralización.

La secuencia de la inducción de la formación de focos mineralizados progresó en un orden regulado, en los tiempos estudiados de 0-1-3-7 días. Experimentos realizados con ácido ascórbico han demostrado que este período se prolonga de 2 a 3 semanas<sup>27</sup>, demostrando la eficacia de la acción del SrRn. Presumiblemente, se producen oleadas sucesivas de cambios en la expresión génica durante el período de 0-7 días requerido para la diferenciación de preosteoblastos a un fenotipo de mineralización. Nosotros hemos realizado estudios de hasta 21 días de tratamiento con los estímulos, observando que los cambios más intensos a nivel celular, como expresión de genes y activación de cascadas de señalización celular relacionadas a procesos de osteoformación, ocurren en tiempos muy cortos posterior al estímulo<sup>28</sup>.

Dado el alto grado de mineralización observado, y que este proceso sólo lo pueden ejecutar osteoblastos maduros, el estroncio unido al ranelato (SrRn) nos resultó un excelente estímulo para estudiar los procesos celulares que se ponen en marcha durante la osteogénesis o formación ósea llevados a cabo por estas células.

Hemos utilizado una matriz de expresión de ratón que contiene 28.000 genes. Estudios anteriores sólo utilizaron 588 ó 8.700 sondas<sup>29,30</sup>. Nuestra matriz permite investigar genes de numerosos factores de crecimiento, citoquinas, interleucinas y sus receptores, así como genes clave implicados en diferentes etapas del desarrollo embrionario. Las células MC3T3-E1 son una línea celular osteogénica clónica bien establecida, que proporciona un modelo excelente para el estudio de patrones de expresión génica en la diferenciación de osteoblastos. En nuestro estudio, el SrRn indujo en estas células un proceso de maduración que puede ser dividido en fases, lo que resulta en la formación de una matriz minerali-

zada (Figura 1C). Cada una de estas fases requiere la expresión estrechamente regulada de genes y de factores de transcripción.

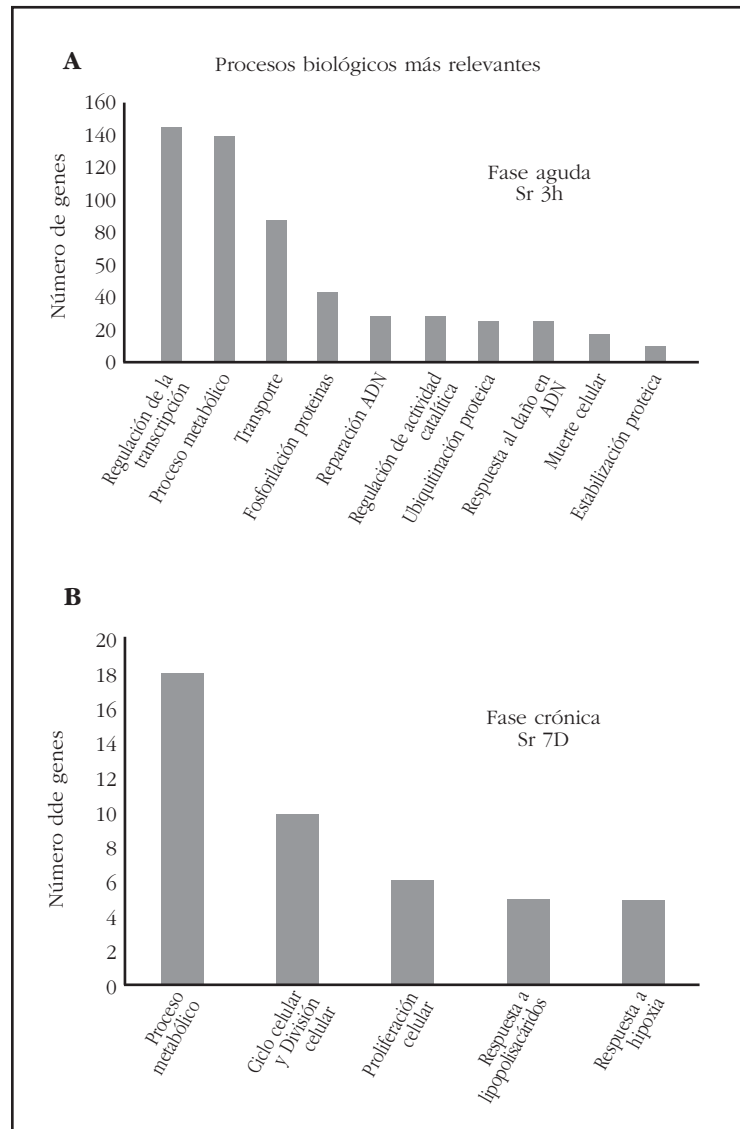
La primera fase de este proceso de maduración (3 horas del estímulo, fase aguda), se desencadenaría al tomar contacto con el estímulo, SrRn. Durante esta etapa las células MC3T3-E1 no se han diferenciado aún, y no son capaces de producir una matriz de mineralización. Sin embargo, en ellas se activa la expresión de muchos genes, hasta un total de 1.644 genes, donde los 10 procesos celulares más enriquecidos en nuestro estudio global de expresión génica se muestran en la Figura 3A. En esta etapa cambian muchos genes relacionados con la regulación de la transcripción, procesos metabólicos en general, transporte de moléculas, etc.

Destacable es que dentro de los procesos celulares enriquecidos en este corto período de tiempo está la fosforilación-desfosforilación de proteínas, un proceso que participa en un alto número de rutas celulares de gran interés. Algunas de ellas se han demostrado involucradas en la maduración de los osteoblastos, como las rutas de señalización Wnt y NFAT<sup>31,32</sup>. Sin embargo, actualmente tenemos información insuficiente sobre las vías celulares que se ponen en marcha durante la diferenciación, proliferación y maduración de osteoblastos, donde sin duda los procesos de fosforilación-desfosforilación de proteínas son cruciales.

De acuerdo con este patrón, en un trabajo previo hemos confirmado que las vías Wnt/ $\beta$ -catenina y NFAT, ambas potentes osteoprogenitoras, se activan a sólo 15 min de estímulo con SrRn, lo que induce cambios de expresión de genes en tiempos cortos. Por el contrario, cultivos de 21 días no muestran activación de estas vías (Datos no mostrados).

Una vez conseguida la confluencia, y coexistiendo con aumento de actividad ALP y depósito de matriz mineralizada (Figuras 1B y 1C), las células entran en una fase conocida como de diferenciación (7 días). Ésta se caracteriza por un aumento en la formación de la matriz ósea, y se asocia con el cambio de expresión de 147 genes. Los procesos celulares que están aumentados en esta fase son los relacionados con el estado energético de la célula: metabolismo de carbohidratos en general, proceso metabólico de la glucosa y otros carbohidratos, respuesta a lipopolisacáridos o gluconeogénesis. Esto convierte a esta línea celular en un modelo excelente para el estudio de los

Figura 3. Representación de los procesos biológicos de cada fase más significativos en los cuales se integran los genes modulados por el tratamiento. La representación se hace de mayor a menor cantidad de genes que cambian. Todos son estadísticamente significativos ( $p < 0,001$ )



eventos moleculares implicados en el proceso de osteogénesis. Los *microarrays* permiten la monitorización simultánea de un gran número de genes asociados con el metabolismo del hueso, lo que permite detectar dianas potenciales con fines terapéuticos o diagnósticos.

El uso de *microarrays* es cada vez más accesible y los datos generados a partir de este tipo de enfoque son en gran parte descriptivos. Sin embargo, la información general que se obtiene es una línea de base muy útil para estudios más analíticos de las rutas funcionales que participan durante la diferenciación celular, evento que está mediado por receptores, factores de transcripción, proteínas, enzimas, etc, que son a su vez regulados por cambios en la expresión génica.

El análisis aquí presentado ofrece una imagen dinámica de estos eventos durante la diferenciación

de osteoblastos. Los resultados de la matriz de expresión que aquí se presentan complementan estudios previos<sup>29,30</sup>. Sin embargo, muchos genes estudiados previamente en osteoblastos se analizaron bajo diferentes condiciones, diferentes líneas celulares, o bajo inducción con otros agentes. La capacidad de comparar los datos recogidos en cientos de genes bajo un conjunto de condiciones con los datos de otros sistemas fortalece nuestra comprensión general de la base molecular de la osteogénesis. Estos datos son valiosos no sólo para una mejor comprensión de la osteogénesis, sino también para las comparaciones con otros tipos de tejidos. Esta información debería ayudar en el desarrollo de tratamientos más eficaces para trastornos óseos y predecir los efectos secundarios sobre el metabolismo óseo de drogas que se dirigen a los mismos factores de intervención en otras enfermedades.

### Bibliografía

- Khosla S, Riggs BL. Pathophysiology of age-related bone loss and osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:1015-30.
- Flynn JM, Spusta SC, Rosen CJ, Melov S. Single cell gene expression profiling of cortical osteoblast lineage cells. *Bone* 2013;53:174-81.
- Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG. Estrogen and the skeleton. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23:576-81.
- Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 2005;115:3318-25.
- Martin TJ, Seeman E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008;22:701-22.
- Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: the critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. *J Bone Miner Res* 2005;20:177-84.
- Baron R. Osteoporosis therapy-dawn of the post-bisphosphonate era. *Nat Rev Endocrinol* 2011;8:76-8.
- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434-41.
- Zhang L, Yang M, Liu D, Guo C, Li L, Yang G. The rhPTH (1-34), but not elcatonin, increases bone anabolic efficacy in postmenopausal women with osteoporosis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2012;120:361-6.
- Yu EW, Neer RM, Lee H, Wyland JJ, de la Paz AV, Davis MC, et al. Time-dependent changes in skeletal response to teriparatide: escalating vs. constant dose teriparatide (PTH 1-34) in osteoporotic women. *Bone* 2011;48:713-9.
- Dahl SG, Allain P, Marie PJ, Mauras Y, Boivin G, Ammann P. Incorporation and distribution of strontium in bone. *Bone* 2001;28:446-53.
- Marie PJ. The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone* 2010;46:571-6.
- Marie PJ, Hott M, Modrowski D, De Pollak, Guillemain, Deloffre P, et al. An uncoupling agent containing strontium prevents bone loss by depressing bone resorption and maintaining bone formation in estrogen-deficient rats. *J Bone Miner Res* 1993;8:607-15.
- Ammann P, Badoud I, Barraud S, Dayer R, Rizzoli R. Strontium ranelate treatment improves trabecular and cortical intrinsic bone tissue quality, a determinant of bone strength. *J Bone Miner Res* 2007;22:1419-25.
- Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani JE, Badurski S, Spector TD, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004;350:459-68.
- Reginster JY, Kaufman JM, Goemaere S, Devogelaer JP, Benhamou CL, Felsenberg D, et al. Maintenance of antifracture efficacy over 10 years with strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2012;23:1115-22.
- Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2816-22.
- Bruyere O, Roux C, Detilleux J, Slosman DO, Spector TD, Fardellone P, et al. Relationship between bone mineral density changes and fracture risk reduction in patients treated with strontium ranelate. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3076-81.
- Bruyere O, Collette J, Rizzoli R, Decock C, Ortolani S, Cormier C, et al. Relationship between 3-month changes in biochemical markers of bone remodelling and changes in bone mineral density and fracture incidence in patients treated with strontium ranelate for 3 years. *Osteoporos Int* 2010;21:1031-6.
- Busse B, Jobke B, Hahn M, Priemel M, Niecke M, Seitz S, et al. Effects of strontium ranelate administration on bisphosphonate-altered hydroxyapatite: matrix incorporation of strontium is accompanied by changes in mineralization and microstructure. *Acta Biomater* 2010;6:4513-21.
- Braux J, Velard F, Guillaume C, Bouthors S, Jallot E, Nedelec JM, et al. A new insight into the dissociating effect of strontium on bone resorption and formation. *Acta Biomater* 2011;7:2593-603.
- Boivin G, Deloffre P, Perrat B, Panczer G, Boudeulle M, Mauras Y, et al. Strontium distribution and interactions with bone mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S 12911) administration. *J Bone Miner Res* 1996;11:1302-11.
- Fernández-Murga Chavanne ML, Noguera R, Rubio E, García Pérez MA, Aliaga R, Cano Sánchez A. Las cascadas de señalización Wnt y su implicación en la osteogénesis. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2012;4:13.
- Wang D, Christensen K, Chawala K, Xiao G, Krebsbach P, Franceschi R. Isolation and characterization of MC3T3-E1 preosteoblast subclones with distinct in vitro and in vivo differentiation/mineralization potential. *J Bone Miner Res* 1999;893-903.
- Bellows CG, Heersche JNM, Aubin JE. Inorganic phosphate added exogenously or released from beta-glycerophosphate initiates mineralization of osteoid nodules in vitro. *Bone Miner* 1992;17:15-29.
- Hoemann CD, Gabalaway H, McKee MD. In vitro osteogenesis assays: Influence of the primary cell source on alkaline phosphate activity and mineralization. *Pathol Biol* 2009;57:318-23.
- Quarles, D Yohay DA, Lever LW, Caton R, Wenstrup RJ. Distinct proliferative and differentiated stages of murine MC3T3-E1 cells in culture: an in vitro model of osteoblast development. *J Cell Biol* 1992;96:683-92.
- Fernández-Murga L, Rubio E, Calap E, Aliaga RM, García Pérez MA, Cano Sánchez A. Estudios in vitro de sales de estroncio sobre la osteogénesis y su efecto en la vía de señalización Wnt/914  $\beta$ -catenina. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2011;3:9.
- Beck GR, Zerler B, Moran E. Gene array analysis of osteoblast differentiation. *Cell Growth Differ* 2001;12:61-83.
- Raouf A. and Seth A. Discovery of Osteoblast-associated genes using cDNA microarrays. *Bone* 2002;30:463-71.
- Fromigué O, Hay E, Barbara A, Marie PJ. Essential role of nuclear factor of activated T cells (NFAT)-mediated Wnt signaling in osteoblast differentiation induced by strontium ranelate. *J Biol Chem* 2010;285:25251-8.
- Rybchyn MS, Slater M, Conigrave AD, Mason RS. An Akt-dependent increase in canonical Wnt signaling and a decrease in sclerostin protein levels are involved in strontium ranelate-induced osteogenic effects in human osteoblasts. *J Biol Chem* 2011;286:23771-92.

**Neila Calvo S, Nan Nan D, García Ibarbia C, Olmos Martínez JM, González Macías J, Hernández Hernández JL**

Unidad de Metabolismo Óseo - Servicio de Medicina Interna - Hospital Marqués de Valdecilla-IFIMAV - Universidad de Cantabria - RETICEF - Santander

# La realidad de la osteoporosis en el paciente hospitalizado en Medicina Interna

Correspondencia: Sara Neila Calvo - Unidad de Metabolismo Óseo - Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla - Avda. Valdecilla, s/n - 39008 Santander (España)  
Correo electrónico: i491@humv.es

Fecha de recepción: 19/11/2013

Fecha de aceptación: 09/12/2013

## Resumen

**Objetivos:** a) conocer la prevalencia de osteoporosis previa y de fracturas vertebrales en los pacientes ingresados en un Servicio de Medicina Interna de un hospital terciario; b) determinar la proporción de pacientes dados de alta con el diagnóstico de osteoporosis y el porcentaje de los tratados; c) cuantificar el riesgo de fractura mediante la herramienta FRAX® y d) conocer los niveles de 25-hidroxivitamina D (25OHD) en estos pacientes.

**Material y método:** Estudio retrospectivo mediante la revisión de los informes de alta y las historias clínicas de todos los pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Marqués de Valdecilla durante abril de 2012, analizando variables demográficas, clínicas, radiológicas y de laboratorio.

**Resultados:** Se estudiaron 300 pacientes. Un total de 34 (11,3%) tenían diagnóstico previo de osteoporosis y 14 (4,8%) recibían o habían recibido tratamiento. Solamente 14 pacientes tenían un diagnóstico de osteoporosis en el informe de alta. En uno de ellos no se pautó ningún tratamiento. Según el índice FRAX®, el riesgo medio de fractura osteoporótica mayor fue de 10,5%, y el riesgo de fractura de cadera fue de 5,4%. El valor medio de 25OHD sérico, fue de 16 ng/ml y, en más del 80% de los pacientes, los valores fueron <20 ng/ml.

**Conclusión:** La osteoporosis es una enfermedad infradiagnosticada e infratratada en los pacientes ingresados en Medicina Interna por cualquier causa. Además, hemos observado una alta prevalencia de deficiencia de vitamina D en estos sujetos. La hospitalización puede ser una excelente oportunidad para que los internistas, y los clínicos en general, prestemos una mayor atención a la osteoporosis y a sus complicaciones.

**Palabras clave:** *fractura vertebral, osteoporosis, diagnóstico, radiografía de tórax, 25OHD, Medicina Interna.*

## The reality of osteoporosis in patients hospitalized in Internal Medicine

### Summary

**Purpose:** a) to know the prevalence of previous osteoporosis and vertebral fractures in patients admitted to an Internal Medicine department from a third-level hospital; b) to determine the proportion of patients discharged with a diagnosis of osteoporosis, and the percentage of those receiving treatment; c) to quantify the risk of fracture by applying the FRAX calculation tool; and d) to know the serum levels of 25OHD in these patients.

**Patients and methods:** Retrospective study, based on the review of clinical charts of all the patients admitted to the Internal Medicine department of Marqués de Valdecilla University Hospital, during April 2012. The information was gathered by a standardized protocol, including demographic, clinical, radiological and laboratory variables.

**Results:** Three hundred patients were studied (mean age, 80 years). Thirty-four (11.3%) had a previous diagnosis of osteoporosis and 14 (4.8%) of them were, or had been, on treatment. A diagnosis of osteoporosis, in the hospital discharge report, was noted in 14 patients. No treatment was prescribed in one of them. According to the FRAX calculation tool, mean risk for major osteoporotic fracture was 10.5%, and mean risk for hip fracture was 5.4%. Mean serum 25OHD level was 16 ng/ml, and more than 80% of patients had values below 20 ng/ml.

**Conclusion:** Osteoporosis is an underdiagnosed and undertreated disease, in patients admitted to an Internal Medicine Department, whatever the reason. Moreover, we have observed a high prevalence of 25OHD deficiency among these patients. Hospitalization can represent an excellent opportunity for the internists and other clinicians, to pay attention to the presence of osteoporosis and its related complications.

**Key words:** vertebral fracture, osteoporosis, diagnosis, chest-X-ray, 25OHD, Internal Medicine.

### Introducción

La osteoporosis es una enfermedad caracterizada por una disminución de la masa ósea y por una alteración de la microarquitectura del tejido óseo, que conducen a un incremento de su fragilidad y, consecuentemente, a un riesgo elevado de padecer fracturas<sup>1</sup>. La prevalencia de la osteoporosis aumenta con la edad, desde un 15% en las mujeres de entre 50 y 59 años, hasta más del 80% en las mayores de 80 años<sup>2</sup>.

Las principales fracturas osteoporóticas son las vertebrales, las de cadera, las de muñeca, las de húmero y las pélvicas. Estas fracturas conllevan una significativa carga socio-sanitaria. Además, en un porcentaje alto de pacientes dan lugar a una importante morbilidad, como la incapacidad para la deambulación, la pérdida de la independencia para realizar las actividades básicas de la vida diaria, el dolor crónico e incluso la depresión<sup>3,4</sup>. Del mismo modo, las fracturas osteoporóticas están asociadas a un aumento significativo de la mortalidad<sup>5</sup>, sobre todo la fractura de cadera. Este hecho es especialmente relevante, puesto que se ha estimado que la incidencia anual a nivel mundial de fracturas de cadera en mujeres aumentará unas 3,5 veces entre los años 1990 y 2050<sup>6</sup>.

En las últimas décadas, en los hospitales en general y, en los Servicios de Medicina Interna en particular, se ha objetivado un aumento en la media de la edad de los pacientes hospitalizados que, además, suelen tener múltiples comorbilidades y estar polimedicados. De hecho, la osteoporosis, como enfermedad ligada al envejecimiento,

ve aumentada su prevalencia en estos individuos<sup>7</sup>. El ingreso hospitalario representa en muchas ocasiones una oportunidad para diagnosticar, iniciar el tratamiento y programar el adecuado seguimiento de los pacientes con osteoporosis, a fin de intentar prevenir el desarrollo de las complicaciones de la enfermedad, principalmente las fracturas. Hemos realizado este trabajo, con los objetivos de: a) conocer la prevalencia de osteoporosis previa y de fracturas vertebrales en los pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna de un hospital de tercer nivel; b) determinar la proporción de pacientes dados de alta con el diagnóstico de osteoporosis y el porcentaje de los que son tratados; c) cuantificar el riesgo de fractura mediante la aplicación de la herramienta FRAX® y d) conocer los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (25OHD) en estos pacientes.

### Material y métodos

Se diseñó un estudio descriptivo retrospectivo, basado en la revisión de las historias clínicas de todos los pacientes ingresados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante el mes de abril de 2012. Este centro sirve como referencia sanitaria a una población de 350.000 habitantes en Cantabria. El Servicio de Medicina Interna tiene un total aproximado de 130 camas de hospitalización.

Se recogieron las variables del estudio mediante un protocolo estandarizado en un gestor de bases de datos informatizado. Estas variables fueron: factores de riesgo de osteoporosis, comorbili-

dades, fármacos con influencia sobre el metabolismo óseo, hallazgos en las radiografías de tórax y/o columna dorso-lumbar, niveles séricos de 25OHD y tratamientos prescritos, diferenciando entre los tratamientos al ingreso y en el momento del alta hospitalaria. Se recogieron también la presencia o no de antecedentes familiares de fractura de cadera y la historia personal de fracturas.

Se definió la menopausia precoz si había ocurrido por debajo de los 45 años. Se consideró que el paciente presentaba una osteoporosis clínica si había sufrido una fractura previa osteoporótica típica (cadera, vertebral, húmero y antebrazo) o presentaba una fractura vertebral en el estudio radiológico solicitado durante el ingreso, en ausencia de otras causas que la justificasen (traumatismos de alto impacto, metástasis óseas, mieloma u otras enfermedades óseas).

Las comorbilidades que se analizaron fueron: enfermedad pulmonar obstructiva crónica -EPOC- (mediante un diagnóstico basado en pruebas de función respiratoria compatibles); cardiopatía isquémica e insuficiencia cardiaca, accidente cerebrovascular, demencia, enfermedad de Parkinson; neoplasia activa o en remisión; tromboembolismo venoso; cataratas; artritis reumatoide; diabetes *mellitus* tipo 1 y/o tipo 2 ( $HbA_{1c} \geq 6,5\%$  o dos determinaciones de glucemia en ayunas  $\geq 126$  mg/dl o una glucemia casual de 200 mg/dl o más en un paciente con síntomas cardinales); hipertensión arterial (mediante medición y comprobación de cifras de TAS  $>140$  mmHg y/o TAD  $>90$  mmHg de forma persistente); dislipemias; hipertiroidismo e hipotiroidismo; hiperparatiroidismo; hipogonadismo; síndrome de malabsorción intestinal; malnutrición; urolitiasis; hepatopatía crónica; insuficiencia renal crónica (definida como un filtrado glomerular  $<60$  ml/min/m<sup>2</sup> según la ecuación MDRD de 4 variables, mantenido al menos durante tres meses). Los fármacos que se valoraron fueron: corticoides,  $\beta$ -bloqueantes, anticomiciales, estatinas, inhibidores de la bomba de protones (IBPs), inhibidores de la recaptación de serotonina, anticoagulantes orales, opiáceos, hipnóticos y benzodiazepinas. Los tratamientos para la osteoporosis que se recogieron en los informes de alta incluyeron: denosumab, moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERMs), ranelato de estroncio, teriparatida, PTH 1-84, calcitonina o bisfosfonatos.

Los niveles de 25OHD séricos se determinaron mediante electroquimioluminiscencia (Elecys 2010, Roche Diagnostics, GMBH, Mannheim, Alemania).

Se definió la fractura vertebral como una disminución de la altura del cuerpo vertebral mayor o igual del 20%, mediante la revisión de las radiografías laterales de tórax y/o de columna tóraco-abdominal. Las radiografías fueron revisadas independientemente por dos de los autores y los desacuerdos ( $<5\%$ ) se resolvieron por consenso. Todos los pacientes diagnosticados de osteoporosis tenían al menos un estudio de laboratorio que incluyó bioquímica, hemograma y VSG, hormonas tiroideas, proteinograma y calcúria de 24 horas.

## Resultados

Se incluyeron en el estudio 300 pacientes, de los cuales 157 (52,3%) eran mujeres y 143 varones. La media de la edad fue de 80 años. El índice de masa corporal (IMC) medio fue de 29,3 kg/m<sup>2</sup>.

En cuanto a los factores de riesgo relacionados con la osteoporosis o la fractura por fragilidad, el más frecuente fue la presencia de cataratas (76 pacientes), seguido por la malnutrición (33), el hipotiroidismo (26), el síndrome de malabsorción (24) y la hepatopatía crónica (24). Siete pacientes tenían historia de hipogonadismo e hiperparatiroidismo, y sólo se pudieron constatar 4 mujeres con antecedente de menopausia precoz.

En las tablas 1 y 2 se muestran las comorbilidades en los pacientes incluidos en el estudio y el consumo de fármacos, respectivamente.

Un total de 34 sujetos (11,3%) tenían un diagnóstico previo de osteoporosis (5 varones y 29 mujeres), aunque sólo 14 de ellos (4,8%) recibían o habían recibido tratamiento para la enfermedad (ácido zoledrónico en un paciente, otros bifosfonatos en ocho pacientes, tres pacientes recibían denosumab y se había pautado teriparatida y ranelato de estroncio en un caso respectivamente).

De los 34 casos de osteoporosis, en 6 los pacientes recibían corticoides orales, un caso por artritis reumatoide y cinco con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (no fue posible cuantificar la dosis exacta de glucocorticoides administrados). En un caso existía el antecedente de una menopausia precoz, y en otro, un hipertiroidismo de larga evolución. Sólo en dos de estos casos se había prescrito tratamiento.

Por otra parte, de los 34 pacientes con diagnóstico de osteoporosis, constaba que habían sufrido al menos una fractura vertebral en 16 de ellos.

Todos los pacientes tenían una radiografía de tórax solicitada durante su ingreso, y en 31 de ellos además constaba una radiografía de columna tóraco-lumbar. Se identificaron 50 pacientes con fracturas vertebrales. Teniendo en cuenta el total de pacientes estudiados y dado que sólo 16 tenían antecedentes de fracturas vertebrales radiológicas, en el 12% del total de pacientes la presencia de fracturas vertebrales habían pasado desapercibidas por el clínico responsable. De otra forma, un 68% del total de las fracturas habían pasado desapercibidas.

De los 50 pacientes con fracturas vertebrales, solamente en uno se atribuyeron a un mieloma múltiple.

Globalmente, y de acuerdo con los datos anteriores, se identificaron 74 casos de osteoporosis clínica (definida por fractura vertebral, cadera, húmero y muñeca). Por tanto, 40 sujetos no tenían diagnóstico de osteoporosis. En el momento del alta sólo en 14 pacientes constaba el diagnóstico de osteoporosis en el informe clínico y, de ellos, en un caso no se pautó ningún tratamiento.

Por otra parte, el riesgo medio de fractura osteoporótica mayor (fractura vertebral, cadera, húmero y muñeca) mediante la aplicación de la escala FRAX<sup>®</sup>, fue de 10,5% (DE: 8,7), y el riesgo de fractura de cadera fue de 5,4% (DE: 5,5).

Tabla 1. Comorbilidades en los pacientes del estudio

Enfermedad	N	%
Hipertensión arterial	200	67
Demencia	112	37
Insuficiencia cardiaca	111	37
Dislipemia	93	31
Diabetes <i>mellitus</i>	91	30
EPOC	78	26
Ictus	72	24
Cardiopatía isquémica	68	23
Neoplasia	67	22
Insuficiencia renal crónica	60	20
Alcoholismo	35	12
Enfermedad tromboembólica	34	11
Tabaquismo	28	9
Enfermedad de Parkinson	17	6

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Tabla 2. Consumo de fármacos en los pacientes hospitalizados

Fármaco	N	%
IBPs	154	51
Hipnóticos	126	42
Estatinas	90	30
Anticoagulantes	56	19
$\beta$ -bloqueantes	36	12
Opiáceos	33	11
Hormona tiroidea	23	8
Corticoides	18	6
Anticomociales	9	3

IBPs: inhibidores de la bomba de protones.

Según el FRAX® desarrollado para España, había 27 pacientes con riesgo superior al 20% para fractura osteoporótica mayor y 118 pacientes tenían un riesgo superior al 3% para fractura de cadera. El riesgo de fractura mediante la herramienta FRAX® sólo pudo calcularse en 174 pacientes, por falta de información en las historias clínicas de los restantes sujetos del estudio y se excluyeron aquellos tratados de su osteoporosis.

El valor medio de 25OHD en suero fue de 16 ng/ml, aunque sólo se solicitó a 45 pacientes, al tratarse de una determinación que no se encuentra dentro del protocolo de peticiones de laboratorio al ingreso. En más del 80% de los pacientes se objetivaron unos valores por debajo de 20 ng/ml y más del 50% (26 pacientes) tenían hipovitaminosis grave ( $\leq 10$  ng/ml). Solamente dos pacientes con hipovitaminosis D no recibieron suplementos orales al alta.

### Discusión

La osteoporosis es un proceso que generalmente cursa de forma asintomática durante un largo tiempo, siendo la fractura el primer signo en la mayoría de las ocasiones. La predisposición al desarrollo de fracturas es, desde el punto de vista clínico, el fenómeno central de la enfermedad. Dentro de las fracturas, la de mayor importancia es la de cadera, que afecta preferentemente a los ancianos, es más frecuente en las mujeres y tiene una gran variación en la incidencia, en la mortalidad y en la estancia hospitalaria<sup>8</sup>.

Las fracturas vertebrales son otra complicación característica de la osteoporosis, aunque más del 50% de ellas pasan inadvertidas<sup>9,10</sup>. Es importante recordar que la presencia de una fractura osteoporótica, independientemente del valor de la densitometría, incrementa aún más el riesgo de fracturas subsiguientes, por lo que es tan importante el diagnóstico como el seguimiento de la enfermedad. En un estudio publicado por Sosa *et al.*<sup>11</sup>, se concluyó que la presencia de fracturas vertebrales incrementaba el riesgo de nuevas fracturas. Además, los autores observaron este tipo de fractura osteoporótica en el 62,6% de los pacientes hospitalizados e intervenidos de fractura de cadera. Aunque no existe una definición de fractura vertebral universalmente aceptada, la mayoría de los autores están de acuerdo en considerar que debe existir una pérdida de altura del cuerpo vertebral de al menos un 20%<sup>12</sup>. Sabemos que las radiografías laterales de tórax constituyen una herramienta de gran utilidad para facilitar la identificación de las fracturas vertebrales<sup>9</sup>. En nuestro trabajo se identificaron 50 pacientes con fracturas de este tipo, la mayoría inadvertidas por el clínico (las radiografías de tórax en nuestro Servicio no son informadas por un radiólogo a menos que se solicite expresamente) y en consecuencia no reflejadas en el informe de alta.

Por otra parte, de acuerdo con la definición de osteoporosis clínica que hemos utilizado, se objetivaron 74 casos, lo que demuestra que casi un 50% no estaban registrados en la historia clínica

(había 34 pacientes con un diagnóstico previo de osteoporosis). Además, sólo 13 pacientes en los que en el informe de alta se reflejaba el diagnóstico de osteoporosis recibieron tratamiento, lo que pone de manifiesto una vez más que, aunque la osteoporosis es una enfermedad crónica muy prevalente, continúa estando infradiagnosticada e infratratada.

Respecto a los resultados obtenidos mediante la herramienta FRAX®, es sabido que el FRAX® español infraestima en un 50% las fracturas mayores<sup>15</sup>. En este sentido, podríamos tener en cuenta lo que recomienda la NOF, es decir, tratar al paciente si su riesgo de fractura mayor es  $\geq 20\%$  y de cadera  $\geq 3\%$ . Así, en nuestro trabajo, más del 30% de los pacientes (para fractura mayor) y más del 80% (para fractura de cadera) tenían indicación de recibir tratamiento, aunque conviene recordar que esta guía recomienda iniciar el tratamiento cuando exista el diagnóstico de osteoporosis, sea cual sea el FRAX®. Esto nos da una idea de que los pacientes ingresados en Medicina Interna suelen tener un riesgo elevado de fractura osteoporótica.

En cuanto a la determinación de 25OHD en suero, parece que, aunque habitualmente no se solicita de forma rutinaria durante el ingreso hospitalario, los facultativos sí suelen prescribir tratamiento cuando hay déficit.

Al tratarse de una enfermedad multifactorial donde intervienen, entre otros, factores genéticos y ambientales, una de las claves del diagnóstico es identificar sus factores de riesgo<sup>2</sup>. La hospitalización podría ser una oportunidad para diagnosticar la osteoporosis y la fractura vertebral. Sin embargo, de acuerdo con los datos aportados en este trabajo, los factores de riesgo de fractura generalmente no son valorados durante el ingreso y la osteoporosis sigue siendo olvidada por el clínico, pese a que se conoce su importancia epidemiológica, sanitaria y social.

Además, es una enfermedad muy prevalente en pacientes mayores, en los que, cada vez con mayor frecuencia, se asocian desnutrición, comorbilidades y polimedicación (en este trabajo resulta llamativo el importante consumo de hipnóticos) que suponen, por sí mismos, un riesgo añadido de caídas y, por ende, de fractura<sup>2</sup>.

Sin embargo, existen pautas de tratamiento de la osteoporosis muy eficientes y cómodas, en especial en el paciente polimedicado, que aseguran el cumplimiento terapéutico, y que pueden considerarse, cuando estén indicadas, durante el propio ingreso en el hospital<sup>14</sup>.

Nuestro estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar las inherentes a cualquier estudio retrospectivo. Además, no todos los pacientes tenían radiografías de columna lumbar, por lo que no se puede conocer la prevalencia real de fracturas vertebrales en este segmento de la columna. Finalmente, la determinación de 25OHD sérica se realizó en un pequeño subgrupo de pacientes hospitalizados, por lo que no podemos generalizar nuestros datos al total de pacientes estudiados.

Sin embargo, nuestro grupo de trabajo ha estudiado los niveles de 25OHD en una amplia muestra de pacientes hospitalizados en nuestro Servicio de Medicina Interna (aproximadamente 400 individuos) y los resultados han sido similares (datos no publicados).

En conclusión, la osteoporosis es una enfermedad poco considerada por el clínico en el paciente hospitalizado por otras causas, a pesar de tener una prevalencia similar a la de otras enfermedades como la diabetes *mellitus*, la dislipemia o la demencia. En consecuencia, continúa siendo una entidad infradiagnosticada y secundariamente infratratada, pese a que existen muchas opciones terapéuticas. A la luz de los hallazgos de nuestro trabajo, sugerimos que el internista y, en general cualquier clínico, debe tener un mayor índice de sospecha de esta enfermedad en el paciente hospitalizado, para intentar disminuir sus complicaciones asociadas, en especial las fracturas.

## Bibliografía

1. Díaz Curiel M, García JJ, Carrasco JL, Honorato J, Pérez Cano R, Rapado A, et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2001;116:86-8.
2. Rosen CJ. Postmenopausal osteoporosis. *N Eng J Med* 2005;353:595-603.
3. Ioannidis G, Papaioannou A, Hopman WM, Akhtar-Danesh N, Anastassiades T, Pickard L, et al. Relation between fractures and mortality: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *CMAJ* 2009;181:265-71.
4. Poole KE, Compston JE. Osteoporosis and its management. *BMJ* 2006;333:1251-6.
5. Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, Scott JC, Black D. Risk of mortality following clinical fractures. *Osteoporos Int* 2000;11:556-61.
6. Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int* 1997;7:407-13.
7. Cummings SR, Melton J. Epidemiology and outcome of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002;359:1761-7.
8. Serra JA, Garrido G, Vidán M, Marañón E, Brañas F, Ortiz J. Epidemiología de la fractura de cadera en ancianos en España. *An Med Interna (Madrid)* 2002;19:389-95.
9. Hernández JL, Hidalgo I, López-Calderón M, Olmos JM, González Macías J. Diagnóstico de osteoporosis mediante radiografía lateral de tórax. *Med Clin (Barc)* 2001;117:734-6.
10. Becker C. Pathophysiology and clinical manifestations of osteoporosis. *Clin Cornerstone* 2006;8:19-27.
11. Sosa M, Saavedra P. Prevalencia de fracturas vertebrales en pacientes con fractura de cadera. *Rev Clin Esp* 2007;207:464-8.
12. Majumdar SR, Kim N, Colman I, Chahal AM, Raymond G, Jen H, et al. Incidental vertebral fractures discovered with chest radiography in the emergency department: prevalence, recognition, and osteoporosis management in a cohort of elderly patients. *Arch Intern Med* 2005;165:905-9.
13. González Macías J, Marin F, Vila J, Díez Pérez A. Probability of fractures predicted by FRAX® and observed incidence in the Spanish ECOSAP Study cohort. *Bone* 2012;50:373-7.
14. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 2007;18:1799-809.



Herrero Vicent C<sup>1</sup>, Pascual Pla FJ<sup>2</sup>, Samper Hiraldo JM<sup>3</sup>, Gavilá Gregori J<sup>1</sup>

1 Servicio de Oncología Médica

2 Servicio de Urgencias Médicas

3 Oncología Radioterápica

Fundación Instituto Valenciano de Oncología - Valencia

## Múltiples eventos relacionados con el esqueleto en una paciente con cáncer de mama

Correspondencia: Carmen Herrero Vicent - Servicio de Oncología Médica - Fundación Instituto Valenciano de Oncología - Profesor Beltrán Báguena, 8 - 46009 Valencia (España)  
Correo electrónico: carmendcn@hotmail.com

Fecha de recepción: 20/06/2013

Fecha de aceptación: 28/11/2013

### Resumen

Las metástasis óseas son frecuentes en el cáncer, apareciendo hasta en el 75% de las pacientes con cáncer de mama avanzado. Las complicaciones de las metástasis óseas incluyen dolor óseo, hipercalcemia y eventos relacionados con el esqueleto (EREs) como las fracturas, la necesidad de radioterapia o cirugía ósea y la compresión de la médula espinal. Presentamos a una paciente de 50 años diagnosticada de un cáncer de mama avanzado que sufrió múltiples eventos relacionados con el esqueleto y un empeoramiento de la calidad de vida.

**Palabras clave:** *metástasis óseas, eventos relacionados con el esqueleto, cáncer, mama.*

## Multiple skeletal-related events in a patient with breast cancer

### Summary

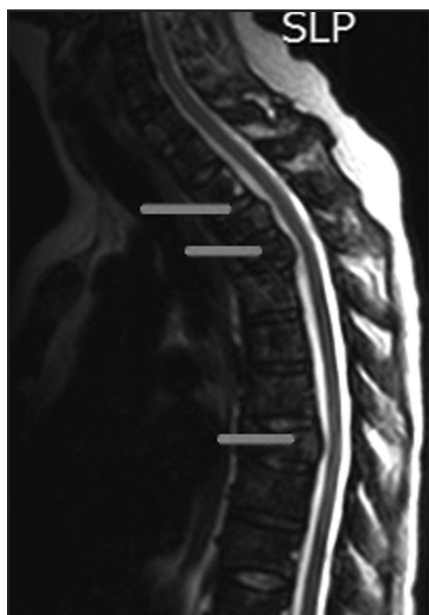
Bone metastases are common in advanced cancer, occurring up to 75% of patients with advanced breast cancer. Complications of bone metastases include bone pain, hypercalcemia and skeletal-related events (SERs), such as fracture, need for radiation or surgery to bone, or spinal cord compression. A 50 year-old patient with advanced breast cancer, who has multiple skeletal-related events and poorer overall quality of life.

**Key words:** *bone metastases, skeletal-related events, cancer, breast.*

Figura 1. (a) Radiografías de húmero izquierdo, donde se observa la fractura en el tercio medio y la fijación con el clavo intramedular. (b) Radiografías de fémur izquierdo con metástasis lítica y clavo intramedular de fijación



Figura 2. Resonancia magnética de columna, donde se evidencia una compresión medular a nivel de las segunda, tercera y séptima vértebras dorsales



## Introducción

Una de las características más agresivas del cáncer en general es su capacidad para producir metástasis, siendo el esqueleto una de las localizaciones más frecuentes. La actividad osteoclástica produce una destrucción local del hueso y, como consecuencia, eventos relacionados con el esqueleto (EREs), como fracturas patológicas y compresiones medulares, que pueden precisar tratamiento con radioterapia o cirugía, con la consiguiente hospitalización<sup>1</sup>.

Se presenta el caso de una paciente con cáncer de mama avanzado que presentó múltiples EREs con afectación de su calidad de vida, y que requirió un tratamiento eficaz desde un abordaje multidisciplinar.

## Caso clínico

Paciente de 50 años de edad diagnosticada en diciembre de 2002 de carcinoma ductal infiltrante de mama izquierda, con estadio clínico T3 N0 M0 con receptores hormonales positivos, tratada con quimioterapia de inducción con 4 ciclos de fluorouracilo-epirrubicina-ciclofosfamida, mastectomía radical modificada, 4 ciclos de docetaxel y radioterapia adyuvante sobre pared costal, fosa supraclavicular izquierda y mamaria interna hasta alcanzar 50 Gy. Siguió con hormonoterapia con inhibidores de aromataza y controles periódicos.

En abril de 2005 refirió una lumbalgia mecánica que no cedía con analgesia de primer y segundo escalón de la OMS. Se realizó una resonancia magnética (RM) de columna observándose una metástasis única en L4, confirmada histológicamente. Fue intervenida con una fijación seguida de radioterapia sobre L3-L5 recibiendo 30 Gy, e inició quimioterapia con vinorelbina asociada a ácido zoledrónico 4 mg intravenosos cada 28 días durante 2 años (24 dosis en total). Siguió controles periódicos posteriores.

En febrero de 2013 consultó por dolor en miembro superior izquierdo de características mecánicas de horas de evolución. Se realizó una radiografía simple de húmero izquierdo, que mostró una fractura del tercio inferior de la diáfisis, y que se fijó mediante un clavo intramedular, asociado a radioterapia (Figura 1a). La biopsia fue compatible con metástasis de origen mamario. En la tomografía axial computerizada (TC) tóraco-abdomino-pélvica se evidenció una progresión ósea, confirmada por rastreo óseo (RO).

Durante el ingreso refirió dolor en la articulación gleno-humeral, y tras la realización de una radiografía se observó una fractura del acromion derecho, que requirió fijación.

En abril de 2013 acudió por dificultad a la marcha y dolor agudo mecánico en la parte proximal del miembro inferior izquierdo que no cedía con analgesia de tercer escalón de la OMS. En la radiografía simple se apreció una fractura de la diáfisis del fémur izquierdo, por lo que se procedió a fijación intramedular (Figura 1b).

Durante el ingreso presentó dolor en la zona dorsal alta, con percusión de apófisis espinosas positiva, por lo que se solicitó una TC, que mostró un abombamiento del muro posterior de D3 y D7, y que se confirmó mediante RM (Figura 2). Tras la evaluación por radioterapia se decidió administrarle 20 Gy sobre D2-D3 y D7, y 20Gy sobre fémur izquierdo. En el momento de la elaboración del presente trabajo (junio de 2013) la paciente se encontraba en tratamiento con capecitabina, a pesar de que presentaba una puntuación de 3 en la escala de *Performance Status*, secundario a los múltiples eventos relacionados con el esqueleto que condicionaban una dependencia para las actividades de la vida diaria.

## Discusión

De forma fisiológica existe un balance entre formación y resorción ósea. Las células de la estirpe osteoblástica están implicadas en la función y diferenciación osteoclásticas a través del factor RANK

(Ligando Receptor del Activador del Factor Nuclear Kappa-B), presente en su membrana. La unión de RANK a su ligando (RANKL), estimula la diferenciación, la supervivencia de las células precursoras de osteoclastos y activa los osteoclastos maduros; de este modo aumenta la expansión de la masa osteoclástica y la resorción ósea<sup>2</sup>.

Por otra parte, se ha identificado la osteoprotegína (OPG), que es una proteína que inhibe el desarrollo de los osteoclastos. Cuando hay suficiente OPG en el medio, esta proteína se unirá al RANKL de los osteoblastos impidiendo su interacción con el RANK de los precursores osteoclásticos, lo que frenará el proceso de resorción ósea. Las alteraciones en el cociente RANKL/OPG son decisivas en la patogénesis de la pérdida ósea, desde la osteoporosis hasta las metástasis óseas.

El hueso es un tejido diana de metástasis en el cáncer de mama. Esto es debido, por una parte, a la propia irrigación ósea y a los factores de crecimiento IGF-1, FGF y PDGF, que ejercen una atracción para las células cancerosas y constituyen un medio adecuado para el crecimiento celular<sup>3</sup>.

El balance óseo se altera con la llegada de células tumorales. Es necesario que las células neoplásicas queden retenidas en los sinusoides de la médula ósea, migren, atraviesen la pared vascular y se adhieran a la matriz extracelular de la superficie ósea del periostio para poder estimular los osteoblastos y osteoclastos. En el cáncer de mama puede producirse un aumento de la resorción sobre la formación ósea, favoreciendo la formación de las metástasis óseas osteolíticas. Este desbalance está relacionado con un aumento de marcadores de resorción ósea, como el telopéptido N-terminal del colágeno tipo I urinario (uNTX), el telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (CTX), las fosfatasa alcalinas (FFAA), el propéptido amino-terminal del procolágeno tipo I (PINP) o la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP-5b)<sup>4</sup>.

Los ensayos clínicos han demostrado que los bifosfonatos inhiben la resorción ósea mediada por los osteoclastos, por lo que pueden ser una opción terapéutica para prevenir la pérdida ósea inducida por los tratamientos oncológicos secundarios a la privación hormonal, especialmente si la paciente tiene una densidad mineral baja o presenta factores de riesgo para el desarrollo de fracturas ante mínimos traumas. En estadios iniciales del cáncer de mama no metastásico, el ácido zoledrónico administrado cada 6 semanas, el ibandronato oral mensual y el risendronato semanal han demostrado prevenir la pérdida ósea asociada al uso de inhibidores de aromatasa en el cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. Por otro lado, los EREs ocurren hasta en el 64% de las pacientes con cáncer de mama que no son tratadas con bifosfonatos, por lo que la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) recomienda el tratamiento con bifosfonatos intravenosos a los pacientes con dolor o destrucción ósea evidenciada por radiografía<sup>5-7</sup>.

Otros tratamientos más recientes son los anticuerpos monoclonales como denosumab, que tienen gran afinidad al RANKL, impidiendo la interacción

de RANKL/RANK en la superficie de los osteoclastos, disminuyendo así la resorción ósea. En un ensayo clínico fase III realizado en pacientes con cáncer de mama y metástasis óseas en el que se comparó denosumab 120 mg subcutáneo más un placebo intravenoso con el ácido zoledrónico 4 mg intravenoso, ajustado a la función renal, más un placebo subcutáneo cada 4 semanas, se demostró que denosumab redujo el tiempo hasta el primer evento óseo hasta en un 23% (HR 0,82; 95% CI, 0,71-0,95;  $p=0,1$  superioridad) y el riesgo de múltiples eventos hasta en un 18% (HR 0,77; 95% CI, 0,66-0,89;  $p=0,001$ ), comparado con el ácido zoledrónico<sup>8</sup>. Estos datos se traducen en una mayor calidad de vida para la paciente<sup>9,10</sup>. Además, a diferencia del ácido zoledrónico, denosumab no es nefrotóxico, por lo que no requiere ajuste según el aclaramiento de creatinina, se administra por vía subcutánea y presenta menor toxicidad.

El mejor conocimiento del metabolismo óseo, los avances en biología molecular y una mejor caracterización de los sistemas de señales de la vía RANK/RANKL/OPG representan un avance en el tratamiento de las metástasis óseas, así como la prevención de los estados de osteopenia y osteoporosis secundarios a los tratamientos en Oncología, dado que influyen negativamente en la morbimortalidad de nuestros pacientes.

## Bibliografía

1. Coleman R. Potential use of bisphosphonates in the prevention of metastases in early stage breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2007;7:S29-35.
2. Roodman GD. Mechanism of bone metastasis. *N Engl J Med* 2004;350:1655-64.
3. Mundy GR, Chen D, Zhao M, Dallas S, Xu C, Harris S. Growth regulatory factors and bone. *Rev Endocr Metab Disord* 2001;2:105-15.
4. Demers LM, Costa L, Lipton A. Biochemical markers and skeletal metastases. *Cancer* 2000;88:2010-26.
5. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NC, et al. American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:4042-57.
6. Lipton A, Theriault RL, Hortobagay GN, Simeone J, Knight RD, Mellars K, et al. Pamidronate prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases: Long term follow-up of two randomized, placebo-controlled trials. *Cancer* 2000;88:1082-90.
7. Gálvez-Muñoz E, Rodríguez-Lescure A. Papel de los bifosfonatos en el tratamiento adyuvante del cáncer de mama. *Med Clin* 2010;135:70-4.
8. Stopeck A, Lipton A, Body J, Steger G, Tonkin K, de Boer R, et al. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J Clin Oncol* 2010;28:5132-9.
9. Martín M, Bell R, Bourgeois H, Brufsky A, Diel I, Eniu A, et al. Bone-related complications and quality of life in advanced breast cancer: Results from Randomized Phase III Trial of Denosumab versus Zoledronic Acid. *Clin Cancer Res* 2012;18:4841-9.
10. Von Moos R, Body JJ, Egerdie B, Stopeck A, Brown JE, Damsyanov D, et al. Pain and health-related quality of life in patients with advanced solid tumours and bone metastases: integrated results from three randomized, double-blind studies of denosumab and zoledronic acid. *Support Care Cancer* 2013;21:3497-507.

**Roig Escofet D, García Borrás J**

**Con la colaboración de: del Pino Montes J, Sosa Henríquez M, González Macías J, Moro Álvarez MJ, Herrero L, Calvo Catalá J, Giménez Úbeda E, Quesada Gómez M, Díaz Curiel M, Lluch Mesquida P, Gómez Alonso C, Olmos Martínez JM, Torrijos Eslava A, Guañabens Gay N, Nogués Solán X**

## Historia de la SEIOMM (1987-2013)

Durante la década de los 80 del siglo pasado, los profesionales de la Medicina relacionados con las enfermedades del aparato locomotor empezaron a prestar atención a las enfermedades metabólicas óseas, y entre ellas a una patología muy frecuente en edad avanzada, la osteoporosis, que hasta aquella época había pasado casi desapercibida por ausencia de métodos precisos de diagnóstico. Las fracturas óseas, en gran parte favorecidas por la osteoporosis, eran frecuentes y provocaban trastornos e incapacidades, sobre todo en las mujeres después de la menopausia.

La aparición de métodos muy precisos para el diagnóstico de la osteoporosis y de fármacos eficaces para tratarla motivó un aumento de interés para esta patología por parte de las especialidades médicas relacionadas directa o indirectamente con el aparato locomotor, como internistas, reumatólogos, endocrinólogos, ginecólogos y nefrólogos. En España esta situación motivó la formación de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM) y propició que una compañía farmacéutica ofreciera densitómetros DXA a 14 hospitales españoles, facilitando el diagnóstico y estudio de la osteoporosis.

Una Junta Gestora presidida por Horacio Rico Lenza, y formada además por Luisa Traba (Vicepresidenta), Sergio Serrano (Secretario) y Emma Rosa Hernández (Tesorera), estableció las bases para la constitución de dicha sociedad multidisciplinaria y organizó el primer Simposio en Barcelona el 6 de diciembre de 1987, que contó con una numerosa participación. Este Simposio se aprovechó para realizar la Asamblea en la que se nombró la primera Junta Directiva de la SEIOMM.

Previamente, en abril del 1987, ya se había formado la *European Foundation for Osteoporosis and Bone Diseases* con el objetivo pri-

mordial de promover el conocimiento de la fisiopatología, diagnóstico, tratamiento y prevención de la osteoporosis y otras enfermedades óseas. Para cumplirlo se consideró necesario favorecer la investigación biomédica, clínica, nutricional y epidemiológica de estas enfermedades y promover su conocimiento fomentando la educación y formación de médicos y otras profesiones relacionadas con la salud en este campo. Estas mismas actividades fueron adoptadas por la SEIOMM y se han llevado a cabo, dentro de sus posibilidades, desde su fundación. Actualmente la SEIOMM es un referente a nivel internacional.

### Desde diciembre de 1987 hasta diciembre de 1991

Durante este periodo la Junta Directiva estuvo formada por Daniel Roig Escofet (Presidente), Ramón Pérez Cano (Vicepresidente), María Luisa Mariñoso Barba (Secretaria), y María Teresa González Álvarez (Tesorera). Además se nombraron vocales, cada uno representante de una Comunidad Autónoma, con la misión de que actuaran como enlace entre los miembros de sus respectivas comunidades y la Junta Directiva.

Una de las primeras actividades de esta Junta Directiva fue nombrar una comisión que estudiara los Estatutos previos a la formación de la Sociedad y propusiera las modificaciones que considerara necesarias. De acuerdo con ellas se redactaron nuevos Estatutos que se sometieron a su aprobación en la Asamblea Extraordinaria celebrada en Sevilla, el 3 de mayo de 1989.

Estos Estatutos tenían 35 apartados de los que se pueden resaltar algunas particula-

**U**NA JUNTA GESTORA PRESIDIDA POR HORACIO RICO LENZA, Y FORMADA ADEMÁS POR LUISA TRABA (VICEPRESIDENTA), SERGIO SERRANO (SECRETARIO) Y EMMA ROSA HERNÁNDEZ (TESORERA), ESTABLECIÓ LAS BASES PARA LA CONSTITUCIÓN DE DICHA SOCIEDAD MULTIDISCIPLINARIA Y ORGANIZÓ EL PRIMER SIMPOSIO EN BARCELONA EL 6 DE DICIEMBRE DE 1987, QUE CONTÓ CON UNA NUMEROSA PARTICIPACIÓN. ESTE SIMPOSIO SE APROVECHÓ PARA REALIZAR LA ASAMBLEA EN LA QUE SE NOMBRÓ LA PRIMERA JUNTA DIRECTIVA DE LA SEIOMM

ridades. El objetivo prioritario de la SEIOMM era la promoción de la investigación básica y clínica de la osteoporosis y otras enfermedades óseas. El Simposio Nacional de la Sociedad tendría una periodicidad bianual y se celebraría además una Reunión Monográfica sobre un tema de actualidad en los años inter-simposio. A cada una de estas actividades se añadiría la Asamblea General. Se podrían convocar Asambleas Extraordinarias si se pretendiera modificar los Estatutos o tratar asuntos de vital importancia y cuya resolución no pudiera esperar a la Asamblea General Ordinaria. La Junta Directiva estaría constituida por Presidente, Vicepresidente, Secretario, Tesorero y un representante de cada Comunidad Autónoma; pero se establece también la Junta Directiva Permanente con 4 vocales de las Autonomías. Ésta tendría capacidad decisoria. La Junta Directiva elaboraría el orden del día para la Asamblea General de la SEIOMM, que tendría lugar coincidiendo con el Simposio Nacional y con la Reunión Monográfica.

El programa científico de los simposios sería elaborado por el Comité Organizador y debería ser aprobado por la Junta Directiva de la Sociedad. También se estableció que el periodo legislativo del Presidente tendría un máximo de 4 años. Estos Estatutos fueron aprobados en la Asamblea por mayoría absoluta.

Se consideró que la SEIOMM tenía que establecer y mantener contactos con otras instituciones o sociedades con objetivos similares, tanto nacionales como extranjeros. El primer contacto internacional se produjo con la *European Foundation for Osteoporosis and Bone Disease*. Se produjo en una reunión celebrada en Davos (Suiza), en abril de 1988, a la que asistieron representantes de diferentes sociedades nacionales europeas de similares finalidades. Como representante de la SEIOMM acudió su Presidente, Daniel Roig Escofet. También acudió otro representante español, Aurelio Rapado Errazti, Presidente de otra asociación española, la Asociación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (AHOEMO). Esta Asociación se había instituido el año 1988 como federación de diversas sociedades científicas españolas. Su objetivo era informar al público en general sobre la prevalencia y graves efectos de la osteoporosis, así como dar información a la prensa y a otros medios de comunicación, y patrocinar la investigación en todos los aspectos de la enfermedad a través de becas, premios, y estudios en grandes poblaciones. Su actuación era de carácter social, mientras que la de la SEIOMM era exclusivamente científica. Posteriormente se realizaron diversas actividades conjuntamente.

La relación con la Fundación Europea motivó que la SEIOMM organizara un "Simposio Internacional sobre enfermedades óseas metabólicas" en la localidad de Platja d'Aro (Girona), en octubre de 1990, con el objetivo de dar a conocer mejor la Sociedad al exterior. La asistencia fue muy numerosa y acudieron especialistas en estas enfermedades de diversos países europeos y tam-

bién de algunos sudamericanos, ya que la SEIOMM también había establecido relaciones con la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM), de la que el Dr. Díaz Curiel era Secretario y en la cual la SEIOMM tenía un vocal representativo.

En la Asamblea, los profesores Horacio Rico Lenza y Miguel Garrido Peralta fueron nombrados Socios de Honor.

En este período la SEIOMM organizó, además del ya citado Congreso Internacional, un simposio en Sevilla (1989) y otro en Oviedo (1991).

### Desde noviembre de 1991 hasta octubre de 1995

En el III Simposio de la SEIOMM celebrado en Oviedo en noviembre de 1991 se renovó la Junta Directiva, quedando formada por Jorge Cannata Andía (Presidente), Concepción de la Piedra Gordo (Vicepresidenta), José Bernardino Díaz López (Secretario) y Javier del Pino Montes (Tesorero).

Uno de los detalles de este periodo es la participación de la SEIOMM en la elaboración de la Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas como órgano de expresión de la Sociedad, junto con la AHOEMO y el Grupo de Trabajo sobre Osteoporosis de la Sociedad Española de Medicina Interna, y se nombró Director Adjunto representante de la SEIOMM a Jorge Cannata Andía.

La SEIOMM continuó manteniendo sus relaciones con el exterior, y en mayo de 1992 se celebró en Barcelona un Simposio Internacional sobre Osteoporosis al que acudieron representantes de diversas sociedades internacionales. La Dra. Concepción de la Piedra Gordo fue nombrada vocal representativa de la SEIOMM en la SIBOMM.

La introducción de la densitometría en diversos hospitales españoles facilitó el desarrollo de trabajos sobre Osteoporosis. Se solicitó a los adjudicatarios de los densitómetros la realización de dos tipos de investigación. Uno de ellos era de libre elección. El otro era común a todos los grupos y consistía en la medición de la densidad ósea a grupos de personas de distintas edades, a fin de tener una idea de los valores normales de masa ósea en nuestro país. Este último trabajo, inicialmente concebido como de diseño transversal, se siguió de una segunda parte de diseño longitudinal en que se estudió la evolución de la masa ósea a lo largo de tres años de seguimiento.

Como resultado de estos trabajos en el año 1992 se publicó "Estudio de la densidad ósea de la población española. Proyecto multicéntrico de investigación en osteoporosis", con la participación de los siguientes centros hospitalarios: Hospital La Paz (Madrid), Hospital Universitario San Carlos (Madrid), Fundación Jiménez Díaz (Madrid), Hospital Clínico Universitario (Salamanca), Hospital Insular (Las Palmas de Gran Canaria), Hospital Príncipe d'Espanya (Hospitalet), Hospital Santa Creu i Sant Pau (Barcelona), Hospital de l'Esperança (Barcelona), Hospital La Fe (Valencia), Hospital Universitario Virgen Macarena (Sevilla), Hospital Universitario (Granada), Hospital General de Asturias (Oviedo),

Hospital Miguel Servet (Zaragoza) y Clínica Universitaria (Pamplona). Intervinieron, además de la SEIOMM, el Grupo de Trabajo en Osteoporosis de la Sociedad Española de Medicina Interna (GTO), la AHOEMO y el departamento médico de la compañía farmacéutica Rhône Poulenc Rorer.

Los resultados del estudio fueron publicados en varias revistas y también en la Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas. Entre ellos destaca el artículo "Valores normales de la Densidad Mineral Ósea en la población adulta española". Y en 1996 otra publicación sobre este tema: "Nuevas fronteras en el estudio de la densidad ósea en la población española".

En el año 1993 la SEIOMM otorgó premios a trabajos sobre "Metabolitos de la Vitamina D y Osteoporosis". El primero fue compartido por dos estudios: "Fractura osteoporótica de cadera en ancianos. Un problema social de la fisiopatología a la prevención" de J. M. Quesada y J. Alonso y "Niveles de 25(OH)D en mujeres postmenopáusicas y ancianos con y sin fractura de cadera: su relación con la densidad ósea" de M<sup>a</sup> E. Martínez, M. T. del Campo, M. J. Sánchez-Cabezudo, J. A. García, J. Coya, M. T. Sánchez-Calvín, A. Torrijos y L. Munuera. Se otorgaron, además, tres accésits.

Durante esta presidencia, la AHOEMO se transformó. En el año 1993 se cambió su denominación pasando a Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO), que contó con un comité científico formado por cuatro miembros de la SEIOMM (Jorge Cannata Andía, Bernardino Díaz López, Jesús González Macías y Daniel Roig Escofet) y otros cuatro miembros de las diferentes sociedades científicas asociadas previamente a AHOEMO. Se plantea la conveniencia de desarrollar un protocolo o documento de relación de la SEIOMM con la FHOEMO en orden a facilitar la colaboración bilateral.

En la reunión de la Junta Permanente del 19 de mayo de 1993 se decidió nombrar socios de honor a los Dres. Aurelio Rapado Errazti y Daniel Roig Escofet por su destacada labor e impulso a las actividades relacionadas con el metabolismo óseo y mineral.

En este período se celebraron simposios de la SEIOMM en Córdoba (1993) y Alicante (1995) y dos reuniones monográficas, tal como establecían los Estatutos, una sobre "Glucocorticoides y hueso" en Zaragoza (1994) y otra sobre "Enfermedad de Paget" en Salamanca.

### Desde octubre de 1995 hasta octubre de 1999

La nueva Junta Directiva, nombrada coincidiendo con el Simposio de Alicante, estaba formada por Jesús González Macías (Presidente), Adolfo Díez Pérez (Vicepresidente), Manuel Sosa Henríquez (Secretario), y Manuel Díaz Curiel (Tesorero).

En este periodo se continuó con las actividades habituales de la Sociedad predominando la difusión de las novedades en las enfermedades óseas mediante cursos, conferencias y divulgación escrita, la relación con otras entidades y la promoción de la investigación. Se envía una carta a todos los Directores Gerentes de Hospitales para explicar la necesidad de difundir la importancia de la densitometría ósea. Entre otras actividades podemos destacar un Curso de Densitometría organizado por la SEIOMM y dirigido por Luís del Río Barquero, realizado en Barcelona en noviembre de 1997. También una reunión monográfica conjunta de la IOF (*International Osteoporosis Foundation*), la FHOEMO y la SEIOMM celebrada en Madrid y presidida por el Dr. Antonio Torrijos Eslava sobre Menopausia.

**L**A INTRODUCCIÓN DE LA DENSITOMETRÍA EN DIVERSOS HOSPITALES ESPAÑOLES FACILITÓ EL DESARROLLO DE TRABAJOS SOBRE OSTEOPOROSIS. SE SOLICITÓ A LOS ADJUDICATARIOS DE LOS DENSITÓMETROS LA REALIZACIÓN DE DOS TIPOS DE INVESTIGACIÓN. UNO DE ELLOS ERA DE LIBRE ELECCIÓN. EL OTRO ERA COMÚN A TODOS LOS GRUPOS Y CONSISTÍA EN LA MEDICIÓN DE LA DENSIDAD ÓSEA A GRUPOS DE PERSONAS DE DISTINTAS EDADES, A FIN DE TENER UNA IDEA DE LOS VALORES NORMALES DE MASA ÓSEA EN NUESTRO PAÍS

Se continuaron las relaciones con sociedades extranjeras relacionadas con la osteoporosis. Como mínimo un representante de la SEIOMM acudía semestralmente a París para asistir a las reuniones con la *European Foundation for Osteoporosis and Bone Disease* (EFO), transformada durante este período en *International Osteoporosis Foundation* (IOF), aunque no se aceptó ningún miembro español en su Comité Científico. En el III Congreso Iberoamericano de Osteología y Metabolismo Mineral celebrado en México en 1996 por la SIBOMM, se nombró al Dr. Manuel Díaz Curiel como delegado de la SEIOMM en aquella Sociedad. Asimismo, el Dr. Adolfo Díez Pérez pasó a ser representante de la SEIOMM en la *European Calcified Tissue Society*, y fue elegido vocal permanente en el Consejo de dicha Sociedad. Asimismo hubo conversaciones con el Profesor Gennari, Presidente de la *International Federation of Societies on Skeletal Diseases* (IFSSD) y con la *World Federation on Osteoporosis* (WFO), de cara a intentar integrar la SEIOMM en estas sociedades con la condición de que se le otorgue una participación activa y una representación en la Junta Directiva o en el Consejo Ejecutivo de dichas sociedades. Estas conversaciones no fructificaron, pues finalmente estas sociedades se integraron dentro de la EFO, posteriormente denominada IOF y desaparecieron.

En la Asamblea General de la SEIOMM celebrada en Madrid el 16 de octubre de 1998, se aprobó una modificación de los Estatutos por la cual se crearían Grupos de Trabajo, con la finalidad de canalizar las actividades científicas de los socios según la afinidad de los mismos en una u otra línea de investigación. Al final de este periodo ya había cuatro

Grupos de Trabajo funcionando, dedicados a "Densitometría ósea", "Calidad de vida", "Gestión de la Historia Clínica" e "Investigación en Ultrasonidos y Metabolismo Óseo", coordinados, respectivamente, por Luis del Río Barquero, Adolfo Díez Pérez y los dos últimos por Manuel Sosa Henríquez. Con el paso de los años se añadieron otros grupos como el de "Factores de riesgo" coordinado por Carmen Valdés y Llorca.

La Junta Directiva realizó una auditoría interna con el fin de conocer el estado de la Sociedad ante la Administración. Se procedió a realizar un detallado estudio, cuyo resultado fue examinado en la reunión de la Junta Directiva Permanente que tuvo lugar en Santander el día 16 de febrero del 1998. Las actuaciones realizadas fueron las siguientes:

a) Regularización de la SEIOMM mediante su inscripción en el Registro de Asociaciones y su alta ante la Autoridad Laboral correspondiente.

b) Regularización de la situación de la secretaría, procediendo a su contratación y a ser dada de alta en la Tesorería General de la Seguridad Social.

c) Contratación de empresas de asesoramiento en materia laboral, fiscal y contable para que mensualmente llevaran la contabilidad y elaboraran un balance anual de las cuentas de la Sociedad y un presupuesto para el siguiente ejercicio.

En este periodo se nombró un nuevo socio de honor: el Dr. Horacio Rico Lenza.

Y la SEIOMM también se modernizó. Se puso en marcha un correo electrónico (e-mail) al servicio de los asociados para facilitar la comunicación con la Junta Directiva. Se elabora una página Web de la SEIOMM en Internet, desarrollada por Xavier Nogués.

Y un cambio: las reuniones científicas bianuales denominadas Simposio pasaron a denominarse Congreso. Los Congresos se celebraron en Granada (1997) y en Sitges (1999) y las dos reuniones monográficas en Madrid, una sobre "Marcadores bioquímicos de remodelado óseo" y otra sobre "Densitometría". Esta última se hizo coincidir con una reunión conjunta con la FHOEMO y la EFO.

### Desde octubre de 1999 hasta noviembre de 2003

Se elige la nueva Junta Directiva: Adolfo Díez Pérez (Presidente), José Manuel Quesada Gómez (Vicepresidente), Nuria Guañabens Gay (Tesorera), y Xavier Nogués Solán (Secretario). En el acta de la Asamblea General de la SEIOMM celebrada el 5 de octubre de 2002, se notificó que el Presidente Díez Pérez había dimitido dado su nuevo cargo en una compañía multinacional radicada en EE.UU., y la presidencia pasó al Vicepresidente, José Manuel Quesada Gómez.

Durante este período se produjo el fallecimiento de dos personalidades relevantes en el campo de las enfermedades óseas y socios de honor de la SEIOMM: el Dr. Horacio Rico Lenza, Presidente de la primitiva Junta Gestora de la SEIOMM, y el Dr. Aurelio Rapado Errazti, Presidente de la FHOEMO. Este último cargo pasó al Dr. Manuel Díaz Curiel.

Las relaciones con entidades nacionales y extranjeras se fue manteniendo destacando, entre ellas, el

acuerdo con la *International Bone & Mineral Society* (IBMS) por el cual a partir de enero del 2001 y durante tres años todos los miembros de la SEIOMM pasaron a serlo también de pleno derecho de la IBMS, recibiendo la revista *Bone* de modo gratuito. Por otra parte, el Dr. Manuel Díaz Curiel fue nombrado Presidente de la SIBOMM. La SEIOMM participó en un Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna y en otro de la Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria. Se mantuvo la relación con la FHOEMO, con el particular carácter de cada una de ellas: exclusividad científica en la SEIOMM y social en la FHOEMO. La SEIOMM como generadora de congresos, reuniones científicas, conferencias y otros actos dirigidos a profesionales, y la FHOEMO fomentando la difusión y el conocimiento de las enfermedades ante la población mediante actos sociales y culturales.

Se mantuvieron los Grupos de Trabajo ya establecidos. En el año 1999 se creó el Grupo de Trabajo en Protocolos e Historia Clínica de la SEIOMM coordinado por Manuel Sosa Henríquez. El resultado de este trabajo fue la Historia Clínica de la SEIOMM, cuya primera versión fue presentada en el congreso celebrado en Menorca en 2001 y posteriormente modificada en la reunión monográfica de Toledo en 2002. Se presentó dicha Historia Clínica en un CD, con la colaboración de los laboratorios Italfármaco.

En la Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas y en la Revista Clínica Española se publicó un trabajo sobre "Guía de práctica clínica" llevado a cabo por el Grupo de Trabajo "Gestión de la Historia Clínica". El contenido de la Guía se elaboró durante dos años. Se presentó un borrador en el Congreso celebrado en Menorca el 2001, y posteriormente se realizó un debate en un foro abierto a todos los miembros de la SEIOMM en la Reunión Monográfica de Toledo. En la introducción se expone que el aumento progresivo de la incidencia de osteoporosis, paralela al envejecimiento demográfico en España, su morbilidad y mortalidad, así como su impacto sanitario y económico, ha llevado a la SEIOMM a desarrollar esta Guía como un primer paso dirigido al grupo poblacional más afectado. Se ofrece un marco indicativo sobre el cual se pueden desarrollar, por los grupos profesionales interesados, protocolos de actuación adaptados a cada ámbito asistencial.

La Guía de Práctica Clínica fue desarrollada por un grupo de expertos de distintas especialidades (internistas, reumatólogos, endocrinólogos, ginecólogos, nefrólogos y especialistas en Medicina Familiar y Comunitaria), coordinados por un experto en Medicina Basada en la Evidencia. Estaba formado por J. Calaf (ginecólogo), J. Cannata (nefrólogo), B. Díaz (internista), M. Díaz Curiel (internista), A. Díez Pérez (internista), J. González Macías (internista), N. Guañabens (reumatóloga), F. Hawkins (endocrinólogo), A. Morales (reumatólogo), M. Muñoz Torres (endocrinólogo), X. Nogués (internista), J. M. Nolla (reumatólogo), P. Orozco (médico de familia), R. Pérez Cano (internista), J. del Pino (internista), J.M. Quesada (endocrinólogo) y M. Sosa (internista).

La Sociedad sola o en colaboración con la industria farmacéutica estimuló la investigación activa en distintos ámbitos de actuación. En el año 2003 cumplieron su tercer aniversario las Convocatorias de Investigación SEIOMM/MSD y persistieron los ya veteranos premios de investigación FAES e Italfármaco, y los premios de la fundación Lilly que se han venido entregando en todos los Congresos.

Aparte de la investigación, la SEIOMM realizó diversas actividades docentes, entre ellas el II curso de Densitometría (Acreditación de Técnicas de Medición Ósea) en abril del 2001 en Barcelona, bajo la dirección de Luis del Río.

Tras muchos años de estar Aurelio Rapado como Director de la Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas le sucedió Manuel Díaz Curiel, y después Federico Hawkins Carranza junto a Esteban Jódar Gimeno como secretario de redacción. Y una nota negativa: la ausencia de originales puso en grave riesgo la continuidad de la revista.

El número de socios de la Sociedad fue aumentando progresivamente desde su fundación. En este período contaba con 317.

En la Asamblea Nacional celebrada en Sevilla el año 2000 se acordó que los miembros de la Sociedad que se jubilasen pasarían a ser Socios Eméritos.

En este período se realizó un Congreso en Ciutadella (Menorca) el año 2001, y otro en Maspalomas (Gran Canaria) el 2003. La V Reunión Monográfica se celebró en Sevilla (2000) con el tema "Osteoporosis en el varón". Esta reunión se coordinó con la anual con la FHOEMO. La VI Reunión tuvo lugar en Toledo (2002).

Durante este periodo se propuso que el Presidente saliente entrara a formar parte de la siguiente Junta Directiva, ya que la experiencia obtenida en los años previos podría ser importante.

### Desde noviembre de 2003 hasta octubre de 2007

En la Asamblea General celebrada el 21 de noviembre del 2003 en Maspalomas (Gran Canaria) se nombró la nueva Junta Directiva. Estaba constituida por Nuria Guañabens Gay (Presidenta), Manuel Muñoz Torres (Vicepresidente), Carlos Gómez Alonso (Secretario), y Luis del Río Barquero (Tesorero).

En relación con la tesorería, en la reunión de la Junta Directiva celebrada en Cáceres el 2004 se comentan las dificultades para llevar una gestión fiscal adecuada al marco legal. Para facilitarla se llega a un acuerdo entre la Junta Directiva y Pharma Consult para la gestión de Congresos. La SEIOMM recibiría los beneficios del Congreso, una vez descontadas la parte proporcional correspondiente al comité organizador local y a la FHOEMO, siendo la contabilidad y gestión fiscal de todos los concep-

tos de gastos e ingresos competencia de Pharma Consult S.A.

Durante este periodo hubo una nueva renovación de los Estatutos. Se produjo en una Reunión convocada en Madrid coincidiendo con el Congreso del año 2005. Se aprobaron los cambios siguientes:

- Celebración del Congreso Nacional anualmente, eliminando la Reunión Monográfica.

- La duración de la Junta Directiva pasó de 4 a 3 años.

- El período de permanencia de los cargos de representación de la SEIOMM en otras sociedades sería máximo de 3 años.

- Elección del Presidente un año antes del cambio de Junta Directiva, para que se familiarice con el funcionamiento de la SEIOMM.

- Se regulan los procedimientos de los programas científicos.

Una actividad importante fue la actualización de la Guía de Práctica Clínica de osteoporosis postmenopáusica y su ampliación a la osteoporosis corticoide y del varón. Se nombró un comité científico, coordinado por Jesús González Macías y formado por Guañabens Gay, Muñoz Torres, del Río Barquero y Díaz López. La Guía actualizada se presentó en el Congreso de SEIOMM 2007.

Continuó la relación con otras sociedades. Xavier Nogués Solán ocupó la delegación de la SEIOMM en la *European for Calcified Tissue Society* y Luis del Río en la de la SIBOMM, manteniendo la anterior con la IOF y la FHOEMO.

En el Congreso de la SEIOMM 2007 se realizó una Mesa conjunta con la ASBMR y se organizó una Mesa de la SEIOMM en el Congreso de la IBMS en Montreal el junio del 2007, así como en reuniones periódicas con la IOF.

La revista *Calcified Tissue International* se añadió a las subscripciones previas a revistas extranjeras como *Bone* y *Osteoporosis International*, a las que tuvieron acceso gratuito todos los miembros de la SEIOMM durante este periodo.

En el 2004 se inició la concesión de becas a miembros de la SEIOMM para la asistencia al congreso anual de la ASBMR. Estas becas se han mantenido hasta la actualidad.

Los Congresos de la SEIOMM tuvieron lugar en Madrid (2005), en Málaga (2006) y en Valencia (2007). En este período ya sólo hubo una Reunión Monográfica (la última) que tuvo lugar en Cáceres con el tema "Formación ósea de la básica a la clínica". Se celebró un nuevo curso de Acreditación en densitometría, siendo los responsables Luis del Río y Xavier Nogués. Se planteó la reedición del curso de técnicas de medición de la masa ósea, contando con la colaboración y acreditación de la *International Society of Clinical Densitometry*.

LA SOCIEDAD SOLA O EN COLABORACIÓN CON LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA ESTIMULÓ LA INVESTIGACIÓN ACTIVA EN DISTINTOS ÁMBITOS DE ACTUACIÓN. EN EL AÑO 2003 CUMPLIERON SU TERCER ANIVERSARIO LAS CONVOCATORIAS DE INVESTIGACIÓN SEIOMM/MSD Y PERSISTIERON LOS YA VETERANOS PREMIOS DE INVESTIGACIÓN FAES E ITALFÁRMACO, Y LOS PREMIOS DE LA FUNDACIÓN LILLY QUE SE HAN VENIDO ENTREGANDO EN TODOS LOS CONGRESOS



Se mantuvieron los premios Italfármaco 2004 a comunicaciones orales y pósters, los de Investigación FAES 2004-2005, el de SEIOMM-MSD 2005, y el premio SEIOMM al investigador más joven.

El número de socios iba aumentando llegando a 364 en este periodo.

### Desde octubre de 2007 hasta octubre de 2010

La Junta Directiva de este periodo estuvo formada por Manuel Sosa Henríquez (Presidente), Javier del Pino (Vicepresidente), María Jesús Gómez de Tejada Romero (Secretaria), y Esteban Jódar Gimeno (Tesorero).

En la última Asamblea de este periodo el presidente Manuel Sosa Henríquez hizo un resumen de las actividades llevadas a cabo. Afirmó que se habían cumplido todos los objetivos marcados:

- Información permanente y detallada de la gestión a todos los socios a través principalmente de los boletines y de la Web.

- Creación de una nueva página Web, que desde entonces se ha mantenido actualizada. En el año 2009 se creó la Fundación Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (FEIOMM), asociada a la SEIOMM, siendo su primer Presidente Manuel Sosa Henríquez, con objetivos sociales y de difusión propios de las fundaciones. En cuanto la Fundación estuvo operativa, se crearon las becas de Investigación de la FEIOMM, destinadas a Investigación Básica, Genética y Clínica.

- Elaboración de nuevos Estatutos de la SEIOMM y coordinados con ésta, de la FEIOMM.

- Edición de una revista propia (Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral) dada la imposibilidad de impulsar la anterior.

Estimular y facilitar la investigación, con casi 120.000 euros destinados a becas y creación de 10 grupos de trabajo. En el año 2009 el Comité de expertos de la SEIOMM publicó "Guía de práctica clínica en la osteoporosis postmenopáusica, por glucocorticoides y en el varón" (Rev Osteoporos Metab Miner 2009 1;1 53-60).

Las labores administrativas de la Sociedad habían sido llevadas a cabo hasta este periodo por una persona de confianza del Secretario/a de la Junta Directiva que se encontrara en su lugar de residencia. Esto obligaba a que, cada vez que cambiaba la Junta, se tenía que trasladar toda la documentación. Se propuso que la sede de la secretaría fuese permanente. De momento se decidió que la empresa SANED fuera la sede y que pusiera a disposición de la SEIOMM una persona que realizara las tareas administrativas.

Continuaron las relaciones con otras sociedades nacionales e internacionales que participaban en el estudio de la osteoporosis y metabolismo mineral: Entre las internacionales destacan *International Bone & Mineral Society*, *International Osteoporosis Foundation*, *European for Calcified Tissue Society*, *International Society for Clinical Densitometry* y la Sociedad Iberoamericana de Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Adolfo Díez Pérez fue nombrado miembro de la *Board of Directors* de la

*International Bone & Mineral Society*, y Manuel Díaz Curiel y Nuria Guañabens Gay del Comité Científico de la *International Osteoporosis Foundation*. Se realizaron trabajos de investigación cooperativos con otras sociedades científicas, como el Documento de Consenso sobre Vitamina D y el Estudio de Prevalencia de Fracturas no Vertebrales en Pacientes con Tratamiento Corticoideo.

La Junta Directiva intentó mantener informados a todos los asociados. Se aprovechó el correo electrónico para difundir una información concreta. Además, se creó el Boletín Informativo de la SEIOMM que se empezó a editar a principios del año 2009, con una periodicidad cuatrimestral, por medio del cual todos los asociados recibieron información de todo lo relacionado con la SEIOMM referente al cuatrimestre anterior de forma concisa. Se pretendió que a través de la Web todos los asociados pudieran estar informados totalmente y al día de todo lo referente a la SEIOMM.

En una zona restringida de la Web se encontraba un acceso a *Navibone*, que permite acceder a varias revistas de interés como *Osteoporosis International*, *Calcified Tissue International* y *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. Además, por ser socios de la IBMS gracias a la financiación de los laboratorios Nycomed, se tenía acceso a las revistas *Bone* y *BoneKey*. Asimismo, debido a la gestión de Adolfo Díez Pérez se tenía acceso a la revista *Progress on Osteoporosis*.

Los documentos más consultados de la página Web fueron las Guías Clínicas de la SEIOMM, seguido de los boletines informativos y las Guías de la NOF.

La "Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas" tuvo que eliminarse por dificultades económicas y escasez de originales. En el año 2009 se edita "Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral" substituyendo la anterior, con una periodicidad trimestral, dedicándose el tercer número del año a recoger las comunicaciones presentadas en el Congreso de la SEIOMM. Manuel Sosa fue (y sigue siendo) el Director de la revista. Además de la forma impresa, entra en funcionamiento la forma *on line*, con una página Web propia cuyo enlace se obtiene desde la Web de la SEIOMM. La revista se ofreció en formato abierto para mayor difusión y en dos idiomas: castellano e inglés.

Otro documento científico de la SEIOMM fue: "Consenso sobre osteonecrosis de maxilares", estableciéndose su necesidad en el Congreso de Oviedo, que consensado con el resto de sociedades implicadas ha servido de guía en este tema.

Durante este periodo se establecieron cuatro proyectos: concurso de Casos Clínicos, promovido por laboratorios Nycomed; un bloc en la Web que podría llamarse "Hable con un Experto", un curso *on line* sobre Medicina y Derecho. Se firmó un acuerdo de colaboración entre la IBMS y la SEIOMM, por el cual en todos los Congresos de la SEIOMM iba a desarrollarse una mesa de trabajo conjunta IBMS-SEIOMM, compartiendo los gastos de la misma al 50% entre ambas Sociedades. La primera de estas mesas se celebró en el año 2009 durante el Congreso de Santander

y el tema fue "Hiperparatiroidismo primario". Por parte de la IBMS participaron los Dres. Jan Bolersven de Noruega y Serge Ferrari (Vicepresidente) y por parte de la SEIOMM, Manuel Muñoz Torres, Esteban Jódar Gimeno y Manuel Sosa Henríquez. Esta colaboración se ha mantenido desde entonces cada año en los congresos.

El número de socios iba aumentando, llegando a 447 en este periodo.

En noviembre del 2008 se realizó el Congreso en Oviedo; en octubre del 2009 el XIV Congreso en Santander y el XV en Salamanca el 2010. En el año 2008 tuvo lugar en Barcelona el Congreso de la *European for Calcified Tissue Society*. Se realizó un nuevo curso de Acreditación en "Técnicas de Medición de Masa Ósea" dirigido por Luis del Río y Xavier Nogués.

En el Congreso de Salamanca, Juan José García Borrás hizo un ruego que como tal desea que conste en acta "para dar cobertura a los asociados jubilados, que debido a la falta de apoyo de la industria farmacéutica no acuden a los congresos, y dada la política financiera favorable que se está haciendo desde la Junta Directiva y la creación de la Fundación, ya que hay quien ha pedido para la investigación básica una parte, quiere pedir que se tengan en cuenta a los asociados jubilados para traerlos a los congresos, y que en la próxima Junta se valore el ruego y se traiga a la próxima Asamblea la decisión de la Junta al respecto".

Durante este periodo se otorgaron los premios FAES FARMA-SEIOMM. Se mantuvieron las siete becas ASBMR y se estableció una nueva: la Amgen-SEIOMM. En el Congreso de Santander en 2009, se premió a los Laboratorios Italfármaco por haber mantenido los premios a las mejores comunicaciones orales y póster de los congresos de la SEIOMM, de manera ininterrumpida durante más de 15 años.

Se nombraron Socios de Honor a Carlos Lozano Tonkin, Jordi Farrerons Minguella y Juan José García Borrás.

### A partir de octubre de 2010

La Junta Directiva, en este periodo, está constituida por Javier del Pino Montes (Presidente), Josep Blanch Rubió (Vicepresidente), María Jesús Moro Álvarez (Secretaria), y Carmen Valero Díaz de Lamadrid (Tesorera).

Se pone de manifiesto en el Congreso de la Coruña del 2011 que la FEIOMM se hace cargo de los ingresos y los gastos de los congresos, por lo que parte de los beneficios, que se obtengan de los mismos deberán ir destinados a cumplir los planes de actuación de la FEIOMM así como a financiar el funcionamiento interno de la misma.

En este mismo Congreso se aprueba subir la cuota de los socios que se había mantenido inalterable durante 15 años. Después de diferentes intervenciones se aprueba el cambio de los 27 euros a 35 en el 2012 y a 40 euros en el 2013.

En una reunión de este periodo se establecieron unos Comités de Trabajo de acuerdo con los objetivos elaborados siguiendo el método Metaplan, método de moderación grupal para la búsqueda de solu-

ción de problemas. Se aprobaron los siguientes: Gestión Económica, Formación y Congresos, Comisión de Investigación, Relaciones Externas y Grupos de Trabajo. A partir de estos objetivos se elaboró un plan estratégico con el horizonte 2014.

Asimismo se creó un grupo de socios senior de la SEIOMM a partir de la iniciativa y colaboración del Dr. Juan José García Borrás que fue nombrado coordinador del grupo.

Han continuado las relaciones con otras sociedades científicas. En colaboración con la Sociedad Española de Fractura Osteoporótica (SEFRAOS) y otras sociedades afines se está elaborando el "Libro Azul de la Fractura Osteoporótica en España". Se ha firmado un convenio de colaboración con la AEEM para colaborar en actividades científicas relacionadas con la osteoporosis postmenopáusicas. La SEIOMM mantiene sus relaciones como parte de la SIBOMM y la IOF. En relación con la IBMS debido al cambio de su estrategia de comunicación, cambió su relación con Elsevier por la editorial *Nature*, y se dejó de recibir la revista *Bone* sustituyéndose por *BoneKey*.

Respecto a la investigación se continúan presentando las becas ASBMR y se anuncia una renovación de las Guías de la Práctica Clínica de la SEIOMM coordinadas por Jesús González Macías.

En este periodo se han realizado Congresos de la SEIOMM en La Coruña (2011), en Cuenca (2012) y en Tarragona (2013). En 2012 se celebró un Congreso de la SIBOMM en Madrid.

Durante este periodo se mejoró el sistema de información y tecnologías de la información en el entorno Web 2.0, para lo que se reestructuró y rediseñó la página Web SEIOMM/FEIOMM y de la Revista (Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral) y se crearon los grupos SEIOMM en *Facebook* y *LinkedIn*. Se inició el Servicio de *CloudComputing* para el servicio de los socios. Se incorporó el código BIDI en los documentos de los Congresos y otros documentos de SEIOMM.

Se dotó a la SEIOMM y FEIOMM de una estructura básica estableciendo una sede propia (Paseo de la Castellana 135, Madrid) y una secretaria ejecutiva (D<sup>a</sup> Lorena Herrero).

Se crearon el grupo sénior y el grupo de jóvenes investigadores, y se organizaron reuniones Post ASBMR.

En el Congreso de Cuenca se aprobó la modificación de estatutos que introducía algunos cambios:

1. Nuevo domicilio de la sede de SEIOMM.
2. Cambio del cierre del ejercicio económico para poder darlo lo más actualizado posible en la Asamblea al 30 de junio de cada año.
3. Se propuso un aumento de la Junta Directiva de 2 vocales, a la vez que creaba la figura del Presidente Electo (futuro Presidente) que se incorporaba a la Junta Directiva, con el objetivo que pudiera planificarse la actividad y estrategia de la sociedad con un horizonte de dos periodos electorales.

**Nota: Este resumen histórico se irá actualizando con el transcurso del tiempo y la disposición de nuevos datos.**

## Normas de publicación: Información para los autores

### 1) INFORMACIÓN GENERAL. POLÍTICA EDITORIAL

La Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral (Rev Osteoporosis Metab Miner; [www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.es](http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.es)) es el órgano oficial de expresión científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM). Su periodicidad es trimestral (4 números al año: invierno, primavera, verano y otoño), con un número variable de monografías extraordinarias. El tercer número del año, verano, está destinado a la publicación de las comunicaciones del Congreso anual de la SEIOMM.

La Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral publica trabajos en español, que serán traducidos al inglés en su formato electrónico, y se ofrece libre y gratuitamente por medio de su página Web. El acceso es completo a todos los artículos, en ambos idiomas, sin período de carencia o embargo y sin necesidad de registro. La versión en papel se publica exclusivamente en español, y se distribuye por correo a los socios de la SEIOMM y a los suscriptores de la revista.

Los manuscritos serán considerados por el Comité de Dirección de la Revista. Todos los originales serán evaluados por al menos dos revisores, expertos en esta materia, que realizarán su valoración de forma ciega.

El Comité de Expertos lo constituye un grupo de colaboradores especializados en diferentes campos del metabolismo mineral óseo y que realizan la valoración de los manuscritos a solicitud del Comité de Dirección de la Revista. En la página Web de la Revista y en todos los números de la Revista se publica la relación de colaboradores que forman el Comité de Expertos. Asimismo, en el primer número de cada año se publican los nombres de los revisores que han colaborado activamente con la Revista en el año finalizado.

Los autores, si lo desean, podrán proponer al menos 3 posibles revisores externos, de quienes, además del nombre y apellidos, se deberá incluir su correo electrónico y las razones por las que consideran que pueden evaluar objetivamente el artículo. También podrán indicar aquellos revisores que no deseen que evalúen el manuscrito, debiendo justificar también este dato, si bien su manejo será absolutamente confidencial por parte del equipo directivo de la Revista.

Los juicios y opiniones expresados en los artículos publicados en la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral son del autor o autores, y no necesariamente del Comité de Dirección. Tanto el Comité de Dirección como la SEIOMM declinan cualquier responsabilidad al respecto. Ni el Comité de Dirección ni la SEIOMM garantizan o apoyan ningún producto que se anuncie en la Revista, ni garantizan las afirmaciones realizadas por el fabricante sobre dicho producto o servicio.

### 2) ELABORACIÓN Y ENVÍO DE LOS MANUSCRITOS

Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas, disponibles en: <http://www.icmje.org>, y enviarse por correo electrónico a la dirección [revistadeosteoporosisymetabolismomineral@iba.nezypiza.com](mailto:revistadeosteoporosisymetabolismomineral@iba.nezypiza.com).

La Editorial de la Revista dará acuse de recibo inmediatamente, también por correo electrónico, y la Redacción iniciará el proceso de revisión, que habitualmente se completa en menos de 3 meses.

#### 2.1. Carta de presentación

Todos los manuscritos deben ir acompañados necesariamente de una carta de presentación que indique: 1) la sección de la revista en la que se desea publicar; 2) una breve explicación de cuál es la aportación original y la relevancia del trabajo en el campo de la patología metabólica ósea; 3) la declaración de que el manuscrito es original y no se ha remitido simultáneamente para evalua-

ción a ninguna otra revista; y 4) que se han observado las presentes "instrucciones para los autores".

#### 2.2. Manuscritos

El texto completo del manuscrito, desde la página del título hasta las referencias, debe incluirse en un archivo escrito en Word, con letra tipo Arial de tamaño 12, interlineado a 1,5 líneas y justificado a la izquierda. Se numerarán las páginas correlativamente en el margen superior derecha y se deberá dejar un margen de 3 cm en los 4 bordes de la página (que será tamaño A4).

Se deben utilizar únicamente abreviaturas comunes en el campo de la Medicina y evitarse el uso de abreviaturas en el título y en el resumen del trabajo. La primera vez que aparezca una abreviatura deberá estar precedida por el término completo al que se refiere, excepto en el caso de unidades de medidas comunes, que se expresarán en Unidades del Sistema Internacional.

Los trabajos deberán incluir la información requerida a continuación, ordenándose las secciones de la siguiente manera: página del título y autores, página del resumen y palabras clave, texto principal (introducción, material y método, resultados, discusión y bibliografía), tablas y figuras. Si es necesario, se podrán incluir las tablas y figuras en otro archivo adjunto, con sus respectivos títulos y numeración.

#### 2.3. Apartados de los manuscritos

##### 2.3.1. Página del título y autores:

Constará de la siguiente información:

- El título, que debe describir adecuadamente el contenido del trabajo. Debe ser breve, claro e informativo. Se debe incluir el nombre completo y el primer apellido de los autores, o los dos apellidos separados o unidos mediante guión, dependiendo de cómo prefieran los autores que aparezcan en las publicaciones.

- El nombre del (los) departamento(s) o servicio(s) y la(s) institución(es) a los que el trabajo debe ser atribuido. No es necesario incluir el cargo académico o profesional de los autores. Constará el reconocimiento de cualquier beca o ayuda económica, así como la declaración de la existencia o no de conflictos de intereses de cada uno de los autores.

Aparte se incluirá el nombre completo, el correo electrónico (si se dispone) y la dirección postal completa del autor al que se dirija la correspondencia, que será el responsable de la corrección de las pruebas.

##### 2.3.2. Resumen y palabras clave

El resumen estructurado deberá aparecer en la segunda página del manuscrito y tendrá un máximo de 250 palabras en el caso de los originales y de 150 en las notas clínicas.

Constará con los siguientes encabezamientos: Objetivos, señalando el propósito fundamental del trabajo; Material y métodos, explicando el diseño del estudio, los criterios de valoración de las pruebas diagnósticas y la dirección temporal (retrospectivo o prospectivo). Se mencionará el procedimiento de selección de los pacientes, los criterios de inclusión y/o exclusión, y el número de los pacientes que comienzan y terminan el estudio. Si es un trabajo experimental, se indicará el número y tipo de animales utilizados; Resultados, donde se hará constar los resultados más relevantes y significativos del estudio, así como su valoración estadística; y Conclusiones, donde se mencionarán las que sustentan directamente en los datos, junto con su aplicabilidad clínica. Habrá que otorgar el mismo énfasis a los hallazgos positivos y a los negativos con similar interés científico.

A continuación del resumen se incluirán las palabras clave, de 3 a 10 en total, con el objetivo de complementar la información contenida en el título y ayudar a identificar el trabajo en las bases de

datos bibliográficas. Para las palabras clave se deben emplear términos equivalentes a los obtenidos de la lista de descriptores en Ciencias de la Salud (Medical Subjects Headings, MeSH) del Index Medicus (disponibles en: [www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html](http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html)).

Importante: No es necesario enviar el resumen ni las palabras clave en inglés. Esto será realizado por el traductor de la Revista.

##### 2.3.3. Introducción

Deben mencionarse claramente los objetivos del trabajo y resumir el fundamento del mismo, sin revisar extensamente el tema y eliminando recuerdos históricos. Citar sólo aquellas referencias estrictamente necesarias.

##### 2.3.4. Material y métodos

En este apartado se ha de especificar el lugar, el tiempo y la población del estudio. Los autores deben incluir información sobre cómo se realizó el diseño, cómo fueron los sujetos seleccionados; sobre todas las técnicas, determinaciones analíticas y otras pruebas o mediciones realizadas. Todo ello con suficiente detalle como para que otros investigadores puedan reproducir el estudio sin dificultades.

Al final de este apartado, se debe indicar cuál ha sido el tipo de análisis estadístico utilizado, precisando el intervalo de confianza. Los estudios contarán con los correspondientes experimentos o grupos control; en caso contrario, se explicarán las medidas utilizadas para evitar los sesgos y se comentará su posible efecto sobre las conclusiones del estudio. Si se trata de una metodología original, se explicarán las razones que han conducido a su empleo y se describirán sus posibles limitaciones.

No deben mostrarse los nombres de los pacientes ni incluir ningún dato que pueda conducir a su identificación. Con respecto a los fármacos, se utilizará el nombre genérico de los fármacos utilizados en el estudio evitando sus nombres comerciales, y detallando al máximo la dosis prescrita, la vía de administración y el tiempo de administración.

Asimismo, se indicarán las normas éticas seguidas por los investigadores, tanto en estudios en seres humanos como en animales. Los estudios en seres humanos deben contar con la aprobación expresa del Comité Local de Ética y de Ensayos Clínicos. Los autores deben mencionar que los procedimientos utilizados en los pacientes y controles han sido realizados tras obtención de un consentimiento informado.

##### 2.3.5. Resultados

Se deben presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica y concordante en el texto y en las tablas y figuras. Los datos se pueden mostrar en tablas o figuras, pero no simultáneamente en ambas. En el texto se deben destacar las observaciones importantes, sin repetir todos los datos que se presenten en las tablas o figuras. No se debe mezclar la presentación de los resultados con su discusión.

##### 2.3.6. Discusión

Se trata de una discusión de los resultados obtenidos en este trabajo y no de una revisión del tema en general. Los autores deben destacar los aspectos nuevos e importantes que aporta su trabajo y las conclusiones que se propone a partir de ellos. No se debe repetir detalladamente datos que aparecen en el apartado de resultados. En la discusión, los autores deben incidir en las concordancias o discordancias de sus hallazgos y sus limitaciones, comparándolas con otros estudios relevantes, identificados mediante las referencias bibliográficas respectivas. Al final, se debe relacionar las conclusiones obtenidas con el o los objetivos del estudio, tal y como se recogió en la introducción. Se debe evitar formular conclusiones que no estén

respaldadas por los hallazgos, así como apoyar estas conclusiones en otros trabajos aún no terminados. Si es necesario, los autores pueden plantear nuevas hipótesis, pero éstas deben ser claramente identificadas como tales. Cuando sea apropiado, los autores pueden proponer sus recomendaciones.

### 2.3.7. Bibliografía

Se incluirán únicamente aquellas citas que se consideren importantes y hayan sido leídas por los autores. Todas las referencias deben estar citadas en el texto de forma consecutiva según el orden de aparición, e identificadas mediante llamada en números arábigos en superíndice. Las referencias que se citan solamente en las tablas o leyendas deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto de las tablas o figuras.

Al indicar las páginas inicial y final de una cita se deben mostrar en la página final sólo los dígitos que difieran de la página inicial (ejemplos: 23-9, y no 23-29; 247-51, y no 247-251). En todo momento deben seguirse las normas de los "Requerimientos Uniformes para Manuscritos Remitidos a Revistas Biomédicas", que pueden obtenerse en el *New England Journal of Medicine* (N Engl J Med 1997;336:309-15) y que también están disponibles en <http://www.icmje.org/>.

Las abreviaturas de los títulos de revistas se obtendrán de los formatos empleados por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos de Norteamérica, en el *Index Medicus* (disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/jrbrowser.cgi>). Deben evitarse las referencias del estilo: "observaciones no publicadas", "comunicación personal" o similares. Los originales aceptados y no publicados en el momento de ser citados pueden incluirse como citas "En prensa".

### 2.3.8. Tablas

Se numerarán con números arábigos de manera correlativa en el mismo orden de aparición en el texto, y se incluirán en el manuscrito, al final del mismo, después de la bibliografía. Se prepararán a espacio y medio, como el resto del manuscrito, y no debe cambiarse el tipo de letra. Se identificarán con la numeración correspondiente y un título breve pero suficientemente explicativo en su parte superior. La leyenda de la tabla debe permitir comprender su contenido, sin que el lector tenga que acudir al texto para su comprensión. Cada columna de la tabla ha de contener un breve encabezado. Se deben incluir las necesarias notas explicativas a pie de tabla y utilizar llamadas en forma de letras minúsculas en superíndice y en orden alfabético (a, b, c).

En las tablas se deben incluir las medidas estadísticas de variación, como la desviación estándar y el error estándar de la media. Solo se emplearán los decimales con significado clínico; por ejemplo, la glucemia de 89,67 deberá expresarse como 89,7.

### 2.3.9. Figuras

Todos los gráficos, fotografías y dibujos se considerarán figuras. Las figuras se identificarán con números arábigos que coincidan con su orden de aparición en el texto. Los pies de las figuras se prepararán a espacio y medio en páginas separadas. Las leyendas y los pies de las figuras deberán contener información suficiente para poder interpretar los datos presentados sin necesidad de recurrir al texto. Para las notas explicativas a pie de figura se utilizarán llamadas en forma de letras minúsculas en superíndice, tal y como se indicó anteriormente en las tablas. En las fotografías de preparaciones histológicas deberá figurar el tipo de tinción y el aumento. La resolución mínima de las imágenes deberá ser de 300 ppp (puntos por pulgada).

## 3) PROCESO DE REVISIÓN DE LOS MANUSCRITOS

### 3.1. Recepción de manuscritos

Una vez que los manuscritos sean recibidos (lo que se confirmará mediante acuse de recibo por la Editorial), se les asignará un número de referen-

cia y serán registrados en la Redacción de la Revista, notificándose al autor responsable de la correspondencia el inicio del proceso de revisión.

### 3.2. Primera evaluación

El manuscrito será inicialmente evaluado por un miembro del Comité Editorial, quien valorará la adecuación del mismo al contenido de la Revista, y realizará una primera evaluación sobre el cumplimiento de las normas de publicación por parte de los autores. En el caso de importante incumplimiento de las mismas, el manuscrito se devolverá a los autores antes de continuar con el proceso de revisión, solicitándoles que subsanen los errores detectados.

### 3.3. Revisión por pares

En el caso de que el manuscrito sea adecuado para revisión, o una vez subsanados los errores indicados en el punto anterior, el Comité Editorial solicitará la revisión del manuscrito a dos revisores externos, anónimos, y especialistas reconocidos en la materia sobre la que versa el trabajo. Los manuscritos serán remitidos a los revisores sin incluir los datos de los autores. Por lo tanto, la revisión se hará a doble ciego: ni los dos revisores externos conocerán la identidad de los autores ni éstos conocerán qué revisores han evaluado el manuscrito. La Revista garantizará el cumplimiento estricto del doble anonimato en este proceso.

### 3.4. Duración del proceso de revisión

La duración del proceso de revisión dependerá del tiempo que tarden los revisores en enviar sus informes. Se solicitará que sean remitidos en el período máximo de 3 semanas. Una vez recibidos los informes, el Comité Editorial valorará los informes de los revisores y los reenviará a los autores, solicitando que observen las sugerencias y que remitan de nuevo el trabajo, con un informe detallado del cumplimiento de las sugerencias en un folio aparte, en el plazo máximo de 15 días.

Una vez recibido el manuscrito con las correcciones efectuadas, se remitirá a los revisores de nuevo para que informen del cumplimiento o no de las sugerencias. Este último paso se solicitará que se realice en el plazo de 72 horas.

### 3.5. Avance on line

Con el VºBº de los revisores, el manuscrito pasará por una corrección de estilo por parte de la Redacción para proceder a la maquetación por parte de la Editorial, galerada que se enviará al autor de correspondencia para su VºBº final, previo a su publicación como "avance on line" en la web de la Revista. El plazo a los autores para esta última revisión se limitará a 48 horas.

De los manuscritos publicados como "avance on line" el Comité Editorial decidirá cuáles y en qué momento se publicarán en los distintos números de la Revista, según las necesidades. La Revista se encarga de la traducción al inglés de todos los manuscritos.

Por lo general, el proceso de revisión y publicación se completará en 3 meses, dependiendo, obviamente, del cumplimiento de los plazos marcados por parte tanto de los revisores como de los autores.

## 4) NORMAS ESPECÍFICAS DE CADA SECCIÓN

### 4.1. Originales

Se considerarán originales aquellos trabajos clínicos o experimentales de cualquier tipo relacionados con el metabolismo mineral óseo. Deberán estructurarse en Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Bibliografía. Tendrán una extensión máxima de 16 páginas, y se admitirán hasta 5 tablas o figuras. No deberán sobrepasar las 40 citas bibliográficas. Incluirán un resumen estructurado de 250 palabras como máximo. Dicho resumen será organizado en los siguientes apartados: Fundamentos, Objetivos, Material y Método, Resultados y Conclusiones.

### 4.2. Notas clínicas

Descripción de uno o más casos clínicos de excepcional observación que supongan una apor-

tación importante al conocimiento del metabolismo mineral óseo. Deberán acompañarse de un resumen y una introducción breves (máximo, 150 palabras cada uno) y previos a la descripción del caso. La extensión máxima del texto ser de 5 páginas (1.750 palabras, 10.650 caracteres con espacios). Se admitirán hasta dos figuras y dos tablas. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a seis y que no se incluya más de 20 referencias bibliográficas.

### 4.3. Cartas al Editor

En esta sección se publicarán aquellas cartas que hagan referencia a trabajos publicados en la revista anteriormente y aquellas que aporten opiniones, observaciones o experiencias que por sus características puedan ser resumidas en un breve texto. La extensión máxima será de 60 líneas y se admitirán una figura o una tabla y diez referencias bibliográficas como máximo. El número de firmantes no debe exceder de cuatro.

### 4.4. Otras secciones

La Revista incluye otras secciones (Editoriales, Revisiones y Documentos o Artículos Especiales), las cuales serán encargadas por el Comité de Redacción. Los autores que espontáneamente deseen colaborar en alguna de estas secciones deberán consultar previamente al Director de la Revista.

#### 4.4.1. Revisiones

Se presentarán con una extensión de 12 páginas (4.200 palabras, 25.560 caracteres con espacios) y un máximo de 60 citas. Se admitirán un máximo de 4 figuras y 5 tablas que deberán contribuir de manera evidente a la mejor comprensión del texto. Las revisiones se acompañarán de un resumen en español y tendrán un último apartado de conclusiones de aproximadamente un folio de extensión.

#### 4.4.2. Editoriales

Tendrán una extensión máxima de 4 páginas (2.100 palabras, 12.780 caracteres con espacios), sin tablas ni figuras, y un máximo de 30 citas bibliográficas.

#### 4.4.3. Documentos especiales

Se incluirá en este apartado todos aquellos documentos y artículos que pudieran realizar alguna aportación científica al campo del metabolismo mineral óseo y que posea unas características que no permitan su inclusión en alguno de los apartados anteriores de la revista. El Comité Editorial decidirá la manera de publicar estos documentos, y se reserva el derecho de modificarlos para adecuarlos al formato de la Revista.

## 5) TRANSMISIÓN DE LOS DERECHOS DE AUTOR

### 5.1. Garantías del autor y responsabilidad

Al enviar el trabajo por correo electrónico, el autor garantiza que todo el material que remite a la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral para su publicación es original, y que el mismo no ha sido publicado con anterioridad ni remitido simultáneamente a ninguna otra Revista para su publicación.

Asimismo, el autor garantiza que el trabajo que remite cumple la Ley de Protección de Datos y que ha obtenido el consentimiento previo y escrito de los pacientes o sus familiares para su publicación.

### 5.2. Cesión de derechos de explotación

El autor cede en exclusiva a la SEIOMM, con facultad de cesión a terceros, todos los derechos de explotación que deriven de los manuscritos que sean seleccionados para su publicación en la Revista, y en particular los de reproducción, distribución y comunicación pública en todas sus formas.

El autor no podrá publicar ni difundir los trabajos que sean seleccionados para su publicación en Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral ni total ni parcialmente, ni tampoco autorizar su publicación a terceros, sin la preceptiva previa autorización expresa, otorgada por escrito, de la SEIOMM.