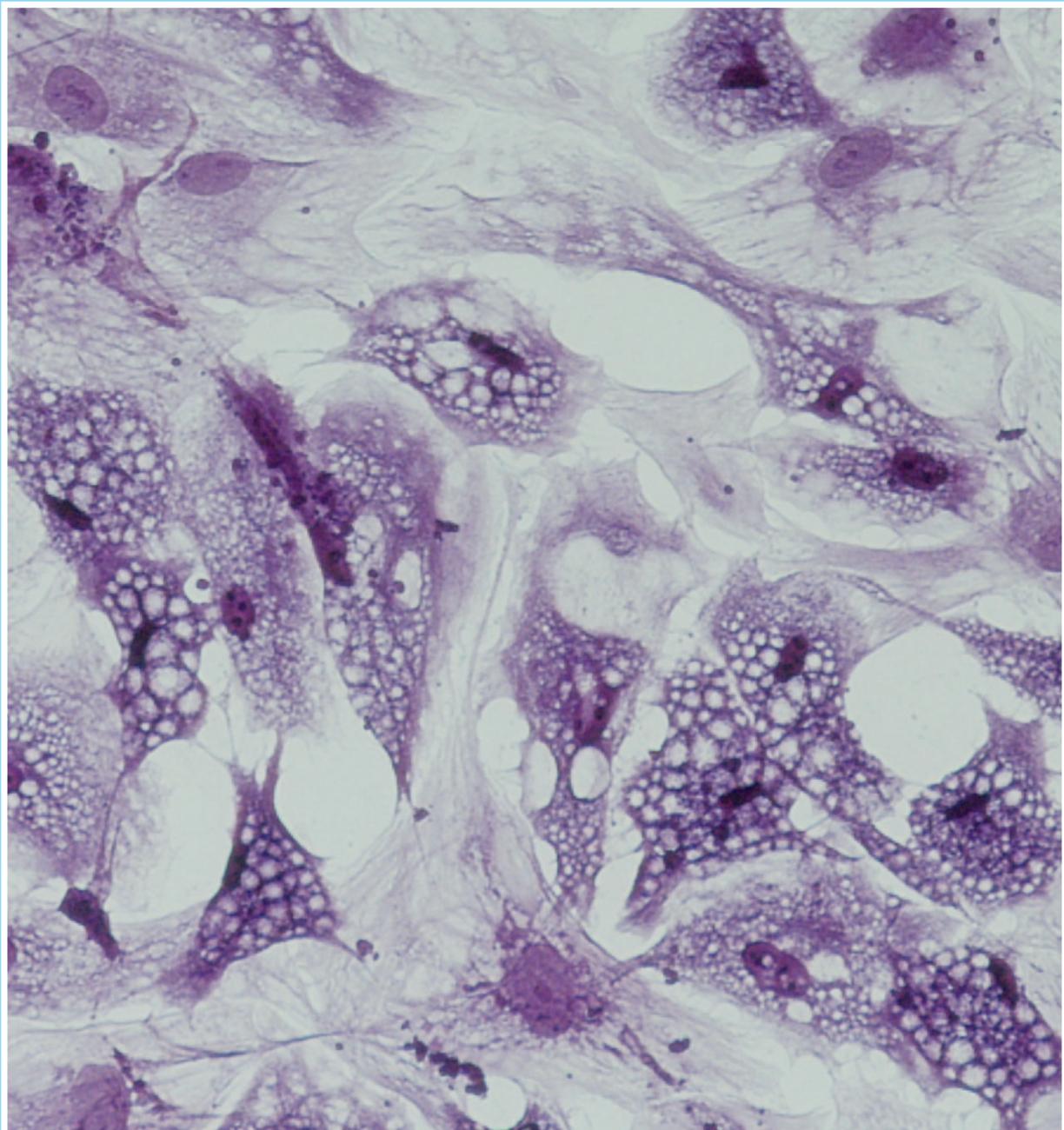




Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com





Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

© Copyright 2023. SEIOMM y © ARÁN EDICIONES, S.L.

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.
Publicación trimestral con 4 números al año

Esta publicación se encuentra incluida en Scopus, Web of Science, Scielo, DOAJ, ERIHPLUS, Redalyc, IBECs, Embase, Open J-Gate, Free Medical Journals, Sociedad Americana de Investigación Científica (SIIC), Google Academic, Medes, ÄZ3, e-revist@s, WorldCat, Latindex, EBSCO, Medic Latina, Dialnet, Safetylit, Mosby's, Emcare, Academic Keys, CRUE, Hinari, REDIB, Emerging Sources Citation Index, British Library y ROAD.

La *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* es una revista *open access*, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de *open access*.

Esta revista se publica bajo licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).



La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas.

ISSN (versión papel): 1889-836X. ISSN: (versión electrónica): 2173-2345
Depósito Legal: M-8158-2023

ARÁN EDICIONES, S.L.

C/ Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid - Tel. 91 782 00 30 - Fax: 91 561 57 87
e-mail: osteoporosis@grupoaran.com
www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com
www.grupoaran.com



Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

DIRECTORAS

**Dra. Arancha Rodríguez de Gortázar
(Co-directora)**

Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Facultad de Medicina. Universidad San Pablo CEU. Madrid (España)

Correo electrónico: argortazar@ceu.es

**Dra. Marta Martín Millán
(Co-directora)**

Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. Santander (España)

Correo electrónico: marta.martinm@scsalud.es

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Teresita Bellido

Directora del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Arkansas para Ciencias Médicas. Departamento de Medicina. División de Endocrinología y Metabolismo y Departamento de Ortopedia.

Investigadora en el Sistema de Atención Médica de Veteranos de Arkansas Central-John L. McClellan Memorial Hospital. Little Rock, Arkansas (Estados Unidos)

Correo electrónico: tbellido@iupui.edu

Dr. Ernesto Canalis

Director, Centro de Investigaciones del Hueso. Profesor de Ortopedia y de Medicina. Centro de Salud de la Universidad de Connecticut. Farmington, Connecticut (Estados Unidos)

Correo electrónico: canalis@uchc.edu

Dra. Patricia Clark Peralta

Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica. Hospital Infantil Federico Gómez. Facultad de Medicina. UNAM. Ciudad de México (México)

Correo electrónico: patriciac Clark@prodigy.net.mx

Dr. Oswaldo Daniel Messina

Jefe de Reumatología. Hospital Argerich de Buenos Aires (Argentina). Profesor Asociado de Reumatología y Director de la carrera de postgrado en Reumatología.

Universidad de Buenos Aires (Argentina). Director Médico de Investigaciones Reumatológicas y Osteológicas de Buenos Aires (IRO SRL) (Argentina). Miembro del Board y del Comité de Asesores Científicos de la International Osteoporosis Foundation (IOF)

Correo electrónico: drosvaldodanielmessina@gmail.com

Dra. Lilian I. Plotkin

Departamento de Anatomía y Biología Celular y Centro de Indiana para la Salud Musculo-esquelética. Facultad de Medicina. Universidad de Indiana. Indianápolis, Indiana (Estados Unidos)

Correo electrónico: lplotkin@iupui.edu

Dr. Manuel Naves Díaz

Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo óseo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISA). REDinREN del ISCIII. Universidad de Oviedo. Oviedo (España)

Correo electrónico: mnaves.huca@gmail.com

Dr. Adolfo Díez Pérez

Instituto Hospital del Mar de Investigación Médica (IMIM) y Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario del Mar. Universidad Autónoma de Barcelona.

CIBER en Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Instituto Carlos III. Barcelona (España)

Correo electrónico: Adiez@parcdesalutmar.cat

Dr. Manuel Díaz Curiel

Ex-Director de la Cátedra de Enfermedades Metabólicas Óseas. Universidad Autónoma Madrid. Consultor de Enfermedades Metabólicas Óseas. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. Presidente Honorífico de la Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO) (España)

Correo electrónico: mcuriel@fdj.es

Dr. José Antonio Riancho Moral

Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Santander (España)

Correo electrónico: rianchoj@unican.es

Dr. Manuel Sosa Henríquez

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Unidad Metabólica ósea. Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: manuel.sosa@ulpgc.es

Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero

Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla. Sevilla (España). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: mjgtr@us.es

Metodología, estudio de datos y estadística:

Pedro Saavedra Santana

Departamento de Matemáticas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: pedro.saavedra@ulpgc.es



Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral



**JUNTA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE INVESTIGACIÓN ÓSEA Y DEL METABOLISMO MINERAL**

Presidente

Guillermo Martínez Díaz-Guerra

Vicepresidente

Mercedes Giner García

Secretaría

Marta Martín Millán

Tesorero

Manel Ciria Recasens

Vocales

Enric Duaso Magaña
María Pilar Aguado Acín

Sumario

Vol. 15 ■ Abril-Junio ■ N.º 2

Originales

Riesgo alto y muy alto de fracturas osteoporóticas en mujeres chilenas

L. Imaicela Naula, E. López Gavilánez, M. Navarro Chávez, M. Hernández Bonilla, N. Bautista Litardo, M. Navarro Grijalva. 43

Efecto de vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales humanas precondicionadas en hipoxia sobre la osteoblastogénesis y la adipogénesis *in vitro*

C. Jiménez-Navarro, B. Torrecillas-Baena, M. Camacho-Cardenosa, J. M. Quesada-Gómez, M. Á. Gálvez-Moreno, A. Casado-Díaz 54

Polygenic risk of bone fractures in Spanish women with osteoporosis

Á. del Real, R. Cruz, J. M. Olmos, J. L. Hernández, C. Valero, J. A. Riancho 66

Seguimiento y adherencia al tratamiento antiosteoporótico desde enfermería en una *fracture liaison service*

L. Cebollada Gadea, R. Laguna Rodrigo, M. Jordán Jarque, R. Izquierdo Aviñó 72

Artículo Especial

Romozumab: confusión respecto a sus indicaciones

J. González Macías, J. M. Olmos Martínez. 81

Escenario Clínico y Toma de Decisiones

Osteoporosis posmenopáusica con fractura vertebral: teriparatida frente a romozumab

S. Ferrari, M. Muñoz Torres, J. R. González-Juanatey. 88

Imagen de portada:

Adipocitos derivados de la diferenciación de células mesenquimales *in vitro* teñidos con cristal violeta.

Antonio Casado-Díaz

Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Instituto de Salud Carlos III. Madrid

Original

Riesgo alto y muy alto de fracturas osteoporóticas en mujeres chilenas

Luis Imaicela Naula, Enrique López Gavilánez, Manuel Navarro Chávez, Mario Hernández Bonilla, Noemí Bautista Litardo, Mario Navarro Grijalva

AECE Research Group. The Association of Clinical Endocrinologists of Ecuador. Guayaquil, Ecuador

Resumen

Objetivos: evaluar la aplicación de los umbrales de intervención basados en FRAX en mujeres chilenas. Recategorizar el riesgo de fractura osteoporótica para optimizar la selección de mujeres elegibles para intervención.

Métodos: seleccionamos de la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017 (tercera versión) 1782 mujeres de 50 y más años. Calculamos la probabilidad de fracturas osteoporóticas mayores y fracturas de cadera utilizando el modelo FRAX chileno. Calculamos la proporción de mujeres elegibles para tratamiento y evaluación de la densidad mineral ósea aplicando umbrales de intervención específicos por edad de 50 a 90 años y un umbral híbrido que combina umbrales dependientes de la edad hasta los 75 años y, a partir de entonces, un umbral fijo con una única probabilidad de fractura hasta los 90 años.

Resultados: veintidós mujeres (1,23 %) tenían una fractura previa y eran elegibles para tratamiento por este motivo. Utilizando umbrales específicos por edad, otras 33 mujeres fueron elegibles para tratamiento porque la probabilidad de fractura osteoporótica mayor estaba por encima del umbral superior de evaluación. En 1107 (62,12 %) mujeres, se recomienda medir la densidad mineral ósea para poder recalcularse el FRAX con la inclusión de la densidad mineral ósea del cuello femoral. Con el umbral híbrido, otras 44 (3,69 %) mujeres fueron elegibles para el tratamiento y se recomendó la medición de la densidad ósea en 1169 mujeres (65,50 %). Si el tratamiento se asignaba solo con FRAX sin densidad mineral ósea, el número de mujeres elegibles para el tratamiento era de 70 (5,15 %) con un umbral de intervención específico para la edad y de 120 (6,72 %) con el umbral híbrido.

Conclusiones: el umbral híbrido identifica más mujeres elegibles para tratamiento que los umbrales específicos por edad. La probabilidad promedio de fractura fue mayor con el umbral híbrido. Sobre esta base, nuestra posición es que se recomiende el umbral híbrido.

Palabras clave:
FRAX®. Umbral de intervención. Umbral híbrido. Riesgo de fractura osteoporosis. Chile.

Recibido: 10/03/2023 • Aceptado: 18/05/2023

Conflicto de intereses: los autores LIN, ELG, MNC, MHB, NBL y MNG declaran no tener ningún conflicto de intereses y que han observado los preceptos de la declaración de Helsinki sobre estudios clínicos.

Imaicela Naula L, López Gavilánez E, Navarro Chávez M, Hernández Bonilla M, Bautista Litardo N, Navarro Grijalva M. Riesgo alto y muy alto de fracturas osteoporóticas en mujeres chilenas. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):43-53

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00001

Correspondencia:

Enrique Lopez Gavilánez. AECE Research Group. The Association of Clinical Endocrinologists of Ecuador. Avenida de la Américas, s/n. E. EC090150 Noboa, Guayaquil. Ecuador
e-mail: enrique_lopezg57@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En todo el mundo, la prevalencia de la osteoporosis ha aumentado considerablemente y seguirá haciéndolo en el futuro. Las principales causas de este aumento son el envejecimiento de la población mundial y el cambio en el estilo de vida. En consecuencia, también se producirá un aumento tanto de la prevalencia como de la incidencia de las fracturas por fragilidad asociadas a la osteoporosis (1).

Según la última auditoría en 19 países latinoamericanos publicada por la IOF (2), en Chile la tasa de incidencia de fracturas de cadera en personas de 50 años y mayores es 144 casos por 1000. 000 habitantes y no varió entre 2015 y 2019 (2). Recientemente, Quevedo y cols. informaron de un aumento del 40 % en las altas hospitalarias por fracturas de cadera entre pacientes ≥ 45 años, entre 2006 y 2017 (3).

El objetivo principal del tratamiento de la osteoporosis es prevenir la aparición de fracturas, en consecuencia, es muy importante reconocer y tratar a las personas que presentan un alto riesgo de fracturas, para lo cual se han desarrollado varias alternativas sencillas y económicas para identificar y seleccionar a las personas en riesgo que son candidatas a tratamiento y medición de la densidad mineral ósea (DMO) (4).

La herramienta FRAX para predecir el riesgo de fractura fue desarrollada en 2008 por Kanis y cols. y actualmente es la más utilizada en todo el mundo y está disponible gratuitamente en la web. Permite evaluar el riesgo de fractura basándose en factores de riesgo clínicos y en la inclusión electiva de la DMO. Su uso ha sido incorporado en la mayoría de las guías clínicas nacionales e internacionales para el manejo de la osteoporosis (5) incluyendo las de Latinoamérica (6-11). Los modelos FRAX específicos de cada país están actualmente disponibles (FRAX v4.1) en 14 países de Asia, 36 de Europa, 11 de Oriente Medio y África, 2 de Norteamérica y 2 de Oceanía (<https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/on> 21 de enero de 2023) (12). En América Latina, la herramienta FRAX está disponible en 7 países (13-16), incluido Chile, que se construyó a partir de los datos de población proporcionados por Riedemann y Neira (2001-2006) (17).

El establecimiento de umbrales de intervención específicos para cada país en función de la edad (siguiendo la metodología del Grupo Nacional de Guías para la Osteoporosis del Reino Unido - "NOGG") nos permitió seleccionar a los pacientes elegibles para el tratamiento y remitirnos a la medición de la DMO para recalcular el riesgo de fractura. No obstante, cabe señalar que la incorporación de la DMO en el formulario FRAX no es imprescindible para calcular el riesgo de fractura, lo cual es muy importante en los países en los que el acceso a esta técnica es limitado (17). Una desventaja de los umbrales del FRAX dependientes de la edad obtenidos según la estrategia NOGG, es que en las

personas mayores surgen desigualdades en el acceso al tratamiento (18). Para superar este inconveniente, las últimas guías NOGG incorporan la combinación de umbrales dependientes de la edad hasta los 70 años y, a partir de ahí, un umbral fijo con una única probabilidad de fractura en todos los grupos de edad (umbral híbrido) (18). Esta estrategia también ha sido adoptada por otros autores que afirman que el uso de umbrales híbridos podría ser apropiado en países en los que la incidencia de fracturas de cadera es baja, como es el caso de algunos países de Oriente Medio, el sur de Europa y Latinoamérica (19-21).

En 2019, las guías NOGG establecieron un refinamiento en la categorización del riesgo de fractura en alto y muy alto, con el objetivo de optimizar la selección del tratamiento (anabólico o antirresortivo) en pacientes de alto riesgo (5). Utilizando esta recategorización del riesgo, la proporción de mujeres caracterizadas como de muy alto riesgo aumentó con la edad.

En Latinoamérica, con excepción de Ecuador (22), aún no se ha determinado la eficacia de los umbrales de FRAX para identificar la proporción de sujetos candidatos a intervención en las respectivas poblaciones. En este estudio se analiza la eficacia con que el modelo FRAX chileno (sin DMO) identifica a las mujeres que serían candidatas a tratamiento y evaluación de la DMO según el umbral de intervención específico por edad y una combinación de umbrales fijos (umbral híbrido). Un objetivo adicional es revisar y actualizar la categorización del riesgo de fractura en "alto" y "muy alto" para orientar mejor las intervenciones terapéuticas para la prevención de las fracturas por fragilidad en las mujeres chilenas.

MÉTODOS

POBLACIÓN

En el presente estudio se utilizaron los datos de los participantes de la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017, tercera versión. Esta encuesta es un estudio nacional de corte transversal que recolectó información entre agosto de 2016 y enero de 2017 de al menos 6 027 personas de 15 años y más, de zonas urbanas y rurales de las 15 regiones de Chile. La muestra poblacional fue probabilística y estratificada geográficamente. El diseño completo de la muestra y los detalles metodológicos se han descrito en otra parte (23). La ENS utilizó principalmente instrumentos validados internacionalmente y fue diseñada para estimar la prevalencia de problemas de salud prioritarios y factores de riesgo asociados. Los formularios, la base de datos, los manuales y los libros de códigos están a disposición del público y pueden descargarse de la web (24). Se seleccionaron todas las mujeres de 50 años y más

de la encuesta ENS 2016-2017 (n = 1782), 1760 sin fracturas previas y 22 con fracturas previas. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital Docente Policía Nacional Guayaquil No. 2, Ecuador.

La edad y el sexo fueron autodeclarados. La estatura se midió en centímetros y el peso en kilogramos, y se calculó el índice de masa corporal (kg/m^2). Para obtener los factores de riesgo de fractura osteoporótica se utilizaron las preguntas y respuestas descritas en la tabla suplementaria I. También fue necesario transformar y recodificar algunas respuestas siguiendo las recomendaciones sobre riesgos dadas por la herramienta FRAX®, para transformarlas en variables dicotómicas. No se utilizaron las preguntas y respuestas relacionadas con la artritis porque la encuesta indica que no han sido validadas, ni las relacionadas con los glucocorticoides porque no se puede establecer las dosis ni el tiempo utilizados. El hábito de fumar se clasificó como actual, pasado y nunca. El consumo medio de alcohol autodeclarado se recodificó para ajustarlo como equivalente a ≥ 3 u/d. Las fracturas de antebrazo y cadera durante el último año fueron autoinformadas. No se confirmó el diagnóstico de osteoporosis secundaria ni de artritis reumatoide (AR), por lo que estos datos se registraron como «NO» siguiendo las recomendaciones del cuestionario FRAX (Tabla Suplementaria I).

PROBABILIDADES DE FRACTURA

La probabilidad a 10 años de fractura osteoporótica mayor y de fractura de cadera se calculó utilizando la herramienta FRAX® versión 4.2 específica para la población chilena, disponible en línea (<https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=50>). Los cálculos no incluyeron la medición de la DMO.

UMBRALES DE INTERVENCIÓN

Se exploraron dos umbrales de intervención: un umbral específico por edad y un umbral híbrido, mostrados en la figura 1.

Para establecer los umbrales de intervención y la evaluación de la DMO se utilizó la metodología adoptada por el NOGG en las guías basadas en FRAX para el Reino Unido (25) y descrita previamente para la población chilena (13).

El número de mujeres de 50 años o más que superaban el umbral de intervención (y por tanto serían elegibles para el tratamiento) se calculó como total y en intervalos de edad de 5 años utilizando las probabilidades FRAX (la DMO no se incluyó en el cálculo). Dado que según la NOGG una fractura previa se considera que conlleva un riesgo suficiente para recomendar tratamiento, el umbral de intervención en mujeres sin fractura previa se estableció en la probabilidad a 10 años (específica por edad) de sufrir una fractura osteoporótica mayor (FOM) (cadera, columna, antebrazo o húmero) equivalente a la de las mujeres con fractura por fragilidad previa utilizando el modelo chileno FRAX (versión 4.2). El índice de masa corporal se fijó en $25 \text{ kg}/\text{m}^2$.

UMBRALES DE EVALUACIÓN PARA RECOMENDAR LA MEDICIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA

Se consideraron dos umbrales de evaluación para formular recomendaciones de medición de la DMO. Umbral de evaluación inferior (UEI): nivel de probabilidad

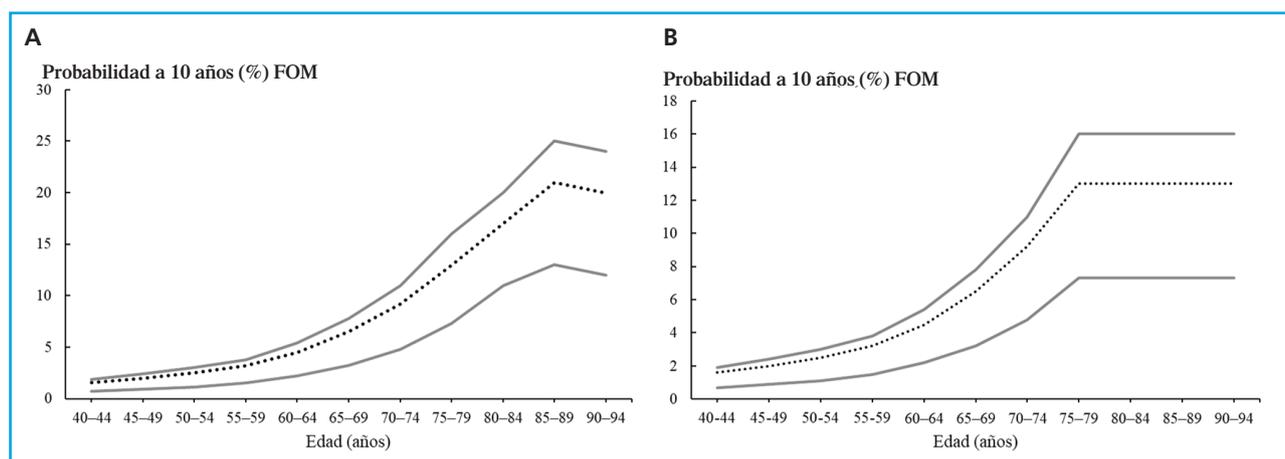


Figura 1. Gráficos de los umbrales de intervención y evaluación que muestran los umbrales NOGG originales (A) y actuales (B) aplicados al modelo FRAX para Chile. La línea de puntos representa el umbral de intervención, mientras que las líneas grises continuas representan los umbrales superior e inferior de evaluación. UEI: umbral inferior de evaluación; UI: umbral de intervención; USE: umbral superior de evaluación; FOM: fractura osteoporótica mayor (13).

por debajo del cual no debe considerarse ni el tratamiento ni una prueba de DMO. Umbral de evaluación superior (UES): nivel de probabilidad por encima del cual se puede recomendar un tratamiento independientemente de la DMO. El umbral de evaluación inferior se estableció para excluir la necesidad de medir la DMO en mujeres sin factores de riesgo clínicos, como se indica en las guías europeas. Se eligió un umbral superior para minimizar la probabilidad de que un individuo, identificado como de alto riesgo (basado únicamente en factores de riesgo clínicos), pudiera, con la información adicional de la DMO, ser reclasificado en una categoría de bajo riesgo. El umbral superior de evaluación se fijó en 1,2 veces el umbral de intervención (25).

UMBRAL HÍBRIDO

El umbral híbrido es un umbral alternativo que combina umbrales dependientes de la edad hasta los 75 años y, a partir de entonces, un umbral fijo con una única probabilidad de fractura hasta los 90 años. Este umbral se adoptó siguiendo las recomendaciones del NOGG porque, con umbrales específicos por edad, surgen desigualdades en el acceso al tratamiento, especialmente a edades avanzadas (≥ 70 años), en función de la presencia o ausencia de una fractura previa. El umbral híbrido reduce las disparidades en el acceso al tratamiento y disminuye la necesidad de realizar una densitometría ósea (18,26).

ESTRATEGIA DE EVALUACIÓN

La estrategia para establecer los umbrales de intervención y la evaluación de la DMO siguió la metodología basada en FRAX aprobada por el NOGG en el Reino Unido (26) y recomendada posteriormente por las guías europeas (5). Las mujeres con una fractura por fragilidad previa se consideran elegibles para el tratamiento sin necesidad de evaluación adicional. En las mujeres sin una fractura por fragilidad previa, la estrategia se basó en evaluar la probabilidad de sufrir un FOM en los próximos 10 años. Las mujeres con probabilidades por debajo del umbral inferior de evaluación no se consideraron elegibles para el tratamiento. Las mujeres con probabilidades por encima del umbral superior de evaluación se consideraron elegibles para el tratamiento. Las mujeres con probabilidades entre los límites superior e inferior del umbral de evaluación se derivarían para la medición de la DMO y la reevaluación del riesgo de fractura.

CATEGORIZACIÓN DEL RIESGO

Las mujeres con probabilidades por debajo del umbral inferior de evaluación pueden considerarse de bajo ries-

go. Las mujeres con probabilidades por encima del umbral superior de evaluación pueden considerarse para tratamiento. Las mujeres con probabilidades entre el umbral de evaluación superior e inferior deben ser remitidas para la medición de la DMO y la reevaluación de su probabilidad de fractura (riesgo intermedio) (5).

Además de las categorías de riesgo bajo y alto que se recogen en la actual guía IOF-ESCEO (5), se puede identificar el riesgo muy alto. El riesgo muy alto se define como una probabilidad de fractura 1,2 veces superior al umbral de intervención (es decir, el umbral superior de evaluación) tras una evaluación FRAX, con o sin la inclusión de la DMO, es decir, puede utilizarse el mismo umbral de probabilidad cuando no se dispone de la prueba de DMO (27). La justificación de una caracterización más refinada del riesgo es dirigir a los pacientes hacia los tratamientos más adecuados (anabólicos o antirresortivos) (27). La categoría de alto riesgo estaría ahora en la probabilidad de fractura por encima del umbral de intervención, pero por debajo del umbral superior de evaluación. La categoría de bajo riesgo estaría en el nivel de probabilidad por debajo del umbral de intervención (27).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las características de la información recogida se indican mediante un análisis descriptivo. Las variables cualitativas se resumieron por su frecuencia absoluta y porcentaje, mientras que las cuantitativas se expresan como media y desviación típica. El filtrado de los participantes seleccionados de la base de datos, la transformación o recodificación de las variables y la estadística descriptiva se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics para Windows, versión 26.0 (IBM Corp, Armonk, NY).

En el presente estudio se utilizó información de las Encuestas de Salud para la vigilancia epidemiológica de la Subsecretaría de Salud Pública. Los autores agradecen al Ministerio de Salud de Chile por haber puesto a nuestra disposición la base de datos. Todos los resultados obtenidos del estudio o investigación son responsabilidad de los autores y no comprometen de ninguna manera a dicha institución [<http://epi.minsal.cl/encuesta-nacional-de-salud-2015-2016/>].

RESULTADOS

Se seleccionaron un total de mil setecientos ochenta y dos mujeres mayores de 50 años de la encuesta ENS 2016-2017. Veintidós presentaban fractura previa. La edad media es de 65,09 (10,16), y tenían un índice de masa corporal (IMC) de 29,84 (5,58) kg/m²; 376 (21,10) % eran fumadoras actuales y 71 (3,98) %

ingerían alcohol ≥ 3 u/d. Las características basales se muestran en la tabla I.

La probabilidad (media) a 10 años de FOM y fractura de cadera (calculada sin DMO) fue de 4,18 (3,72) y 1,50 (2,18) (Tabla II).

Tabla I. Descripción resumida de las variables basales en mujeres de 50 años o más (n = 1782)				
	n	%	Media	DE
Edad (años)			65,09	10,16
Peso (kg)			69,42	13,52
Estatura (cm)			152,53	6,40
IMC (kg/m ²)			29,84	5,58
Fractura previa	22	1,23		
Familiar con fractura de cadera	120	6,73		
Fumador actual	376	21,10		
Alcohol ≥ 3 u/d	71	3,98		

Tabla II. Probabilidad a diez años de fractura osteoporótica mayor (FOM) y fractura de cadera (n = 1782) (13)						
			FOM		FC	
Edad	n	%	Media	DE	Media	DE
50-54	306	17,17	1,25	0,38	0,14	0,09
55-59	334	18,74	1,67	0,52	0,26	0,17
60-64	288	16,16	2,41	0,81	0,50	0,46
65-69	277	15,54	3,52	0,95	0,92	0,45
70-74	218	12,23	5,57	2,11	2,19	1,72
75-79	182	10,21	8,41	3,00	3,77	2,48
80-84	113	6,34	11,55	3,06	5,20	2,56
85-89	41	2,30	12,23	2,47	5,63	2,31
90	23	1,29	12,67	3,44	6,79	3,36
Total	1782	100	4,18	3,72	1,50	2,18

FOM: fractura osteoporótica mayor; FC: fractura de cadera
DE: desvíos estándar.

UMBRALES

Los umbrales de intervención y evaluación específicos para la población chilena y la metodología de cómo se obtuvieron se ha descrito en una publicación anterior (13) y se presenta en la tabla suplementaria II. El um-

bral de intervención en las mujeres chilenas aumentó con la edad, desde una probabilidad a 10 años de 2,5 % a los 50 años hasta 20 % a los 90 años.

Los umbrales de evaluación superior e inferior específicos de la edad para recomendar la medición de la DMO también se presentan en la tabla suplementaria II. A los 65 años, por ejemplo, no se recomendaría una prueba de DMO en un individuo con una probabilidad de fractura inferior al 3,2 %. A la misma edad, se recomendaría una prueba de DMO con una probabilidad de fractura entre el 3,2 % y el 7,8 %. El tratamiento se recomendaría sin necesidad de una prueba de DMO (para la evaluación del riesgo de fractura, pero posiblemente para el seguimiento del tratamiento) en individuos con una probabilidad de fractura superior al 7,8 %. En las mujeres en las que se realizara una prueba de DMO, se recomendaría el tratamiento en aquellas con una probabilidad de fractura igual o superior al 6,5 %).

RUTA DE MANEJO

Con los umbrales específicos por edad veintidós mujeres (1,23 %) tenían una fractura previa y por lo tanto serían elegibles para tratamiento. Mil ciento siete mujeres (62,12 %) tenían probabilidades superiores al umbral de evaluación inferior pero inferiores al umbral de evaluación superior, por lo que se recomendaría una prueba de DMO. El tratamiento sin necesidad de una prueba de DMO podría recomendarse en 33 mujeres (0,61 %). En el caso de utilizar un umbral híbrido, 1 169 mujeres (65,50 %) tenían probabilidades por encima del umbral de evaluación inferior, pero por debajo del umbral de evaluación superior, por lo que se recomendaría una prueba de DMO. Podría recomendarse el tratamiento sin prueba de DMO en 44 mujeres (3,69 %) (incluidas veintidós mujeres con fracturas previas). Si el tratamiento se asignaba solo con FRAX sin DMO (incluidas las que tenían una fractura previa), el número de mujeres elegibles para el tratamiento era de 70 (5,15 %) con un umbral de intervención específico para la edad y de 120 (6,72 %) con el umbral híbrido. La distribución en los distintos escenarios se muestra en la figura 2.

El umbral híbrido (comparado con el umbral específico por edad.) aumenta 1,3 veces el número de mujeres seleccionadas para el tratamiento cuando se considera una categoría intermedia de riesgo y aumenta 1,71 veces si el tratamiento se asigna solo con FRAX sin medición de la DMO.

La tabla III muestra las probabilidades de fractura en mujeres elegibles para tratamiento según la categorización. Las probabilidades de fractura fueron más altas en las elegibles para el tratamiento según los umbrales híbridos, intermedias con el específico de la

edad, y más bajas en las que tenían una fractura previa (Tabla III).

Utilizando el umbral específico por edad el número de pacientes con alto riesgo se duplicó (2,12 veces; de 33 a 70). Con el umbral híbrido el número de pacientes de alto riesgo casi se triplicó (aumentó 2,72 veces; de 44 a 120) (Fig. 2).

Adoptando la metodología utilizada por la NOGG (26), las guías europeas y la IOF-ESCEO (5,27) para el refinamiento de la categoría de riesgo, encontramos que con los umbrales específicos por edad 50 mujeres son categorizadas de alto riesgo y 15 de muy alto riesgo, mientras que, con el umbral híbrido, 87 mujeres son categorizadas de alto riesgo y 28 de muy alto riesgo (Fig. 3).

Tabla III. Probabilidades de fractura a diez años (%) en mujeres elegibles para tratamiento según los criterios indicados

Criterio para tratamiento	n	FOM		FC	
		Media	DE	Media	DE
Fractura previa	22	10,00	8,01	4,36	5,32
Específico de edad	65	10,93	6,54	6,01	5,18
Híbrido	115	12,33	5,27	6,70	4,23
Todas las mujeres tratadas	1782	4,18	3,72	1,50	2,18

FOM: fractura osteoporótica mayor; FC: fractura de cadera.

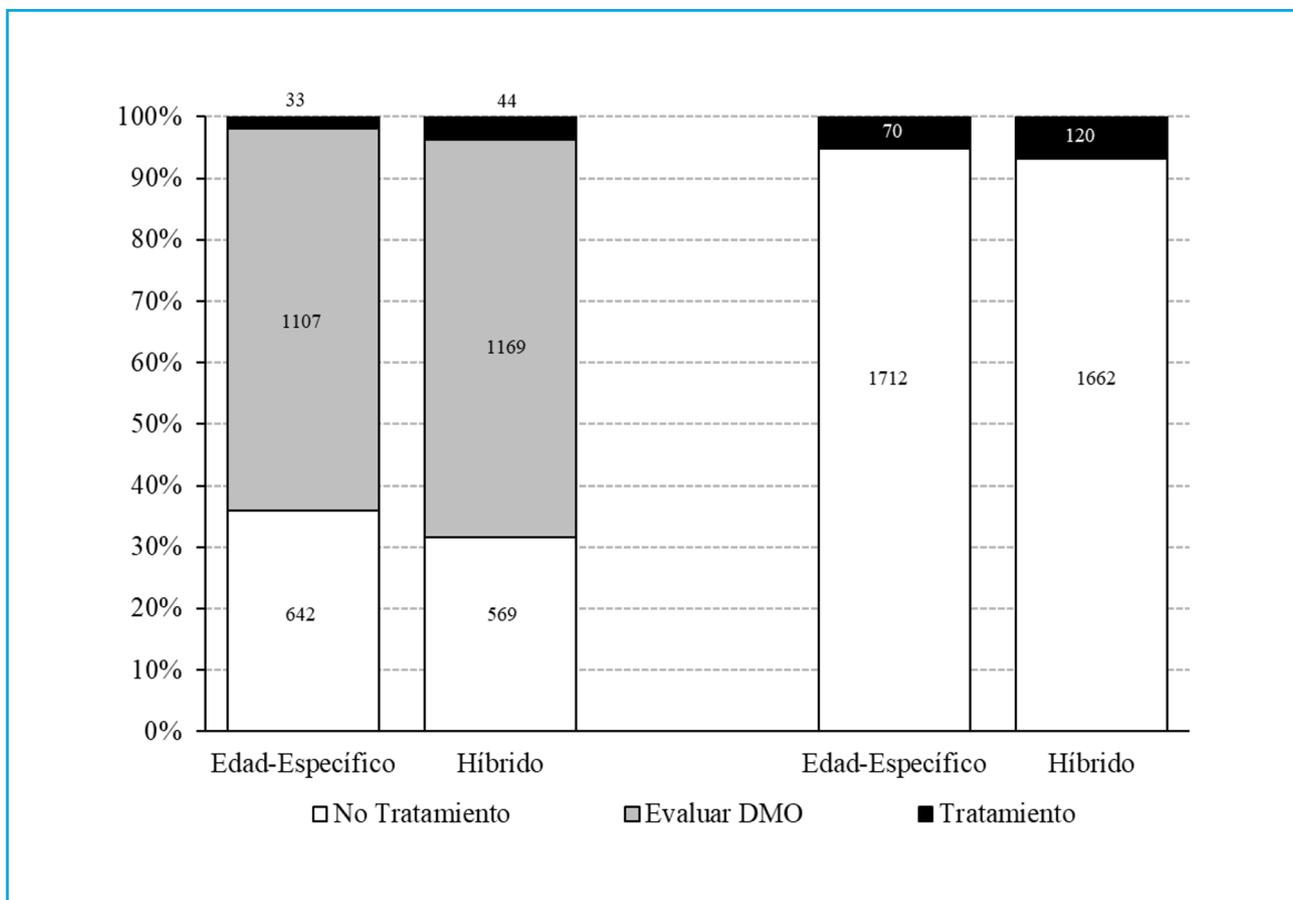


Figura 2. Distribución (n) de las mujeres evaluadas por riesgo de fractura (FOM) utilizando umbrales de intervención y evaluación específicos para la edad o híbridos. Las barras de la izquierda predicen el uso posterior de DMO en aquellas con riesgo intermedio. Las de la derecha dirigen el tratamiento solo utilizando FRAX sin DMO. FOM: fractura osteoporótica mayor.

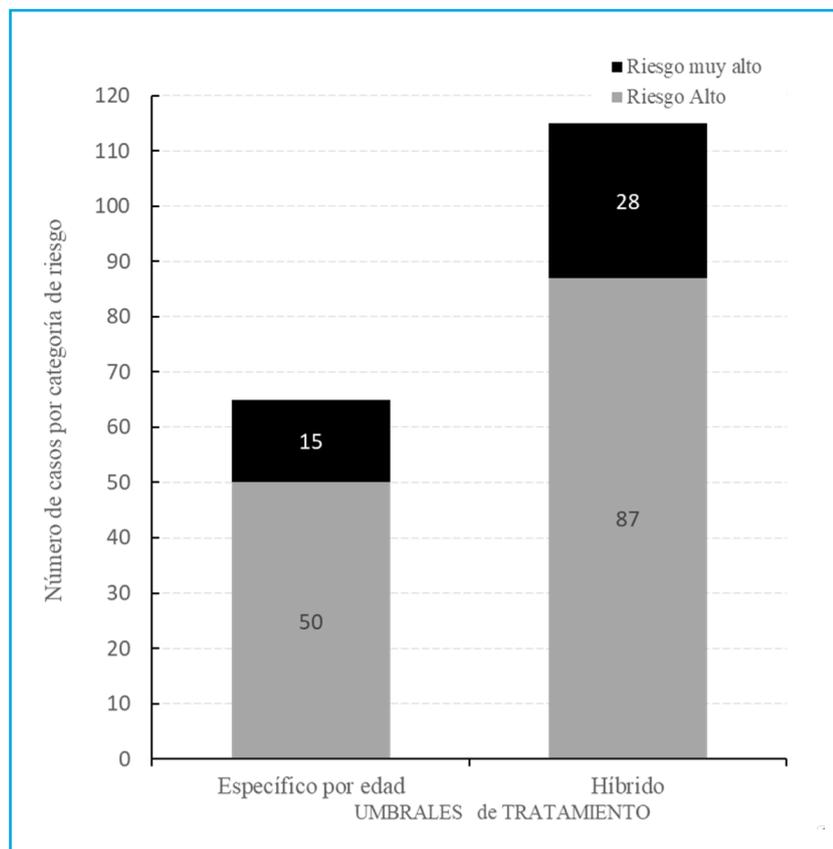


Figura 3. Refinamiento de la categorización del riesgo de fractura osteoporótica mayor en mujeres chilenas, según la metodología utilizada por la NOGG (26), las guías europeas y la IOF-ESCEO (5,27).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, siguiendo la misma metodología adoptada por la NOGG y las guías europeas (5,25,27,28), categorizamos a las mujeres chilenas de 50 años y más de acuerdo con las probabilidades de fracturas basadas en el modelo FRAX específico del país, en aquellas de riesgo bajo, intermedio y alto. Se demuestra que el umbral híbrido identifica a más mujeres con alto riesgo que el umbral dependiente de la edad. La proporción de la población femenina potencialmente elegible para el tratamiento fue del 3,6 % o del 6,4 %, dependiendo del umbral de intervención aplicado (específico por edad o híbrido). Como era de esperar, la proporción de mujeres elegibles para el tratamiento fue mayor con la aplicación de los umbrales híbridos. Se recomendaría la realización de pruebas de DMO a aproximadamente el 65 % de las mujeres. La DMO no se midió en esta muestra de población, por lo que no sabemos qué proporción de mujeres superaría el umbral de intervención y, por tanto, sería elegible para el tratamiento. No obstante, cabe destacar que las directrices NOGG establecen que es posible utilizar FRAX sin medir la DMO, ya que el rendimiento de FRAX con y sin DMO es aproximadamente equivalente (29).

En el National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) del Reino Unido y, más recientemente, en las guías eu-

ropeas (5,28), el umbral de intervención se establece en la probabilidad de fractura equivalente a la de una mujer de la misma edad con una fractura por fragilidad previa. Esto se debe a que, si las mujeres con una fractura por fragilidad previa se consideran elegibles para el tratamiento, entonces las mujeres sin fractura pero con probabilidades equivalentes también son elegibles para el tratamiento. La estrategia en el cribado de mujeres se basa en la búsqueda oportunista de casos porque no se recomienda el cribado de la población general (excepto en Norteamérica) (30,31). De acuerdo con las directrices del NOGG, las mujeres con probabilidades de fractura equivalentes o inferiores a las de las mujeres sin factores de riesgo clínicos no deben ser evaluadas con DMO. En individuos de alto riesgo, no se recomienda la medición de la DMO. Cuando el riesgo de fractura estimado sin DMO se aproxima al umbral de intervención, la adición de una prueba de DMO aumenta la posibilidad de reclasificación del riesgo (de alto a bajo y *viceversa*) (32), haciendo más eficiente el uso del recurso DMO.

Aunque el FRAX está disponible en 72 países y 81 poblaciones diferentes, la disponibilidad de umbrales de intervención específicos para cada país (o etnia) es limitada. En una revisión sistemática, de 120 artículos que recomendaban el FRAX para el tratamiento de pacientes, 38 no proporcionaban umbrales claros para

identificar a los que necesitaban tratamiento (21). La mayoría de los países que no han establecido sus propios umbrales de intervención han adoptado los umbrales fijos recomendados por la National Osteoporosis Foundation (NOF) para la población de los Estados Unidos de América (EE. UU.) (21). Los umbrales de intervención recomendados por la NOF son el resultado de un análisis económico realizado en 2008 y su aplicación fuera de Estados Unidos no está justificada (21). Por otro lado, la guía NOGG del Reino Unido utiliza un enfoque clínicamente orientado para determinar la proporción de individuos que serían candidatos a tratamiento y, posteriormente, los costes relacionados con el tratamiento dependen del algoritmo utilizado para analizarlos (12).

Anteriormente, las guías de práctica clínica de todo el mundo se basaban en el diagnóstico de la osteoporosis para tomar las decisiones de tratamiento de cada paciente. En la actualidad, se ha producido un cambio en este paradigma, que ha pasado de basarse en el diagnóstico de osteoporosis a determinar el riesgo de fractura para orientar la toma de decisiones clínicas (3,34). Sin embargo, en las guías internacionales sobre osteoporosis no se ofrecen de forma sistemática recomendaciones de tratamiento basadas en el riesgo de fractura (33).

La guía europea ha propuesto un refinamiento del riesgo en alto y muy alto con el fin de optimizar la selección del tratamiento anabolizante o antirresortivo debido a las evidencias disponibles sobre el riesgo inminente de fractura y las fracturas previas (5).

En una revisión de 70 guías escritas en inglés, 63 hablaban del concepto de riesgo de fractura, pero solo 34 recomendaban únicamente el FRAX para clasificar el riesgo de fractura (33). Veintiocho proporcionaron una categoría o umbral de riesgo que constituía una indicación de farmacoterapia. Doce guías informaron una categoría de riesgo moderado, medio o intermedio y las recomendaciones de manejo se hicieron en base a esta categorización.

En América Latina, solo 5 países (de los 7 que tienen FRAX) han publicado guías nacionales de osteoporosis (6-11). Todas ellas incluyen el FRAX como instrumento para la evaluación del riesgo de fractura. Sin embargo, en 3 se recomienda iniciar el tratamiento farmacológico de la osteoporosis en función de los umbrales NOF. Las guías chilenas no hacen una recomendación clara sobre la decisión de recomendar tratamiento en base a umbrales NOGG o NOF. Solo en Colombia y Brasil se recomienda utilizar los umbrales NOGG (específicos por edad y país) para iniciar el tratamiento. Ninguna guía diferencia el tipo de tratamiento antiosteoporótico (anabolizantes o bifosfonatos) en función de la categorización de riesgo derivada del FRAX.

A excepción de Ecuador (22), no se ha descrito la aplicación de umbrales de intervención en Latinoamérica.

Los hallazgos de este estudio son comparables a los publicados por López Gavilánez y cols. (22), en la población ecuatoriana, en el sentido de que la aplicación de la categorización de riesgo utilizando solo el FRAX sin medir la DMO permitió seleccionar una mayor proporción de candidatos a tratamiento tanto con el umbral específico por edad como con el umbral híbrido.

Los umbrales de intervención más adecuados para un país deben decidirse localmente considerando factores económicos, disponibilidad de recursos sanitarios y preferencias de los médicos (12). En Chile, el costo individual de tratar una fractura osteoporótica de cadera oscila entre cuatro mil y nueve mil dólares en el sistema público y privado respectivamente. El costo de hospitalización por fractura de cadera en 2020 fue de 34 millones de dólares al año (3). Si bien el uso de umbrales de intervención ha demostrado ser costo-eficaz en Europa (5) y Reino Unido (35), en Chile el riesgo de fractura (13) y los costos de atención por fractura (3) son diferentes, por lo que el costo-eficacia del uso de estos umbrales de intervención en la población chilena aún no ha sido establecido por su uso en la práctica clínica diaria y debe ser respaldado por un estudio económico integral del sistema de salud.

Deben considerarse algunas limitaciones del presente estudio. En primer lugar, aunque la encuesta fue amplia y representativa de la población chilena, hubo menos mujeres encuestadas en los grupos de mayor edad (≥ 80 años = 10 %), lo que podría perjudicar la exactitud de nuestras estimaciones y, por lo tanto, el número de mujeres elegibles para recibir tratamiento. En segundo lugar, en la guía NOGG (26), se utilizan dos resultados FRAX, los umbrales de probabilidad de fractura osteoporótica mayor y de cadera, y se recomienda el tratamiento si la probabilidad de fractura supera el umbral de intervención en cualquiera de los dos resultados FRAX (o en ambos). La probabilidad de fractura de cadera varía entre países y regiones en todo el mundo mientras que la probabilidad de las fracturas osteoporóticas mayores se conoce menos. Es conveniente señalar que en la mayoría de los estudios los umbrales de probabilidad de fractura osteoporótica mayor se basan en más supuestos que los de fractura de cadera (36). El presente estudio se limitó a los umbrales de probabilidad de fractura osteoporótica mayor. Por lo tanto, es posible que el uso de las probabilidades de fractura de ambos sitios aumente el número de mujeres identificadas como de alto riesgo.

Es necesario señalar que, si definiéramos el riesgo muy alto, multiplicando por 1,6 veces el umbral de intervención, tal como posteriormente lo hicieron Kanis, y cols. (37), en el modelo híbrido del FRAX, la proporción de mujeres clasificadas en riesgo muy alto sería mucho menor a la obtenida en el presente estudio.

En tercer lugar, es importante respaldar la aplicación de estos umbrales de evaluación del riesgo de fractura con una evaluación económica. En el Reino Unido, este

enfoque ha demostrado ser costo-eficaz (35), pero el costo-eficacia será necesariamente diferente en la población chilena debido a los diferentes riesgos de fractura y costo de atención de los pacientes. En el presente estudio no se considera el impacto económico de la aplicación de estos umbrales en las instituciones de salud de la población.

Finalmente, los resultados de este estudio solo pueden ser aplicados a la población chilena y no son aplicables a otros países de Latinoamérica.

CONCLUSIONES

El presente estudio ha demostrado que la estrategia de evaluación del riesgo de fractura siguiendo la me-

todología propuesta por NOGG, pero basada en el FRAX chileno, permite identificar un mayor número de mujeres con alto riesgo de fractura y por tanto elegibles para tratamiento según diferentes umbrales específicos por edad y un umbral alternativo para mujeres mayores. En el presente estudio, se demuestra que el umbral híbrido identifica a más mujeres con alto riesgo que el umbral dependiente de la edad. Además, la probabilidad media de fractura fue mayor en el grupo evaluado con el umbral híbrido. Sobre esta base, nuestra posición es que se recomiende el umbral híbrido.

La incorporación de umbrales de intervención específicos para cada país y la recategorización del riesgo en alto y muy alto en las guías nacionales sobre osteoporosis influirán positivamente en la elección del tratamiento por parte de los médicos de los países de la región.

Tabla Suplementaria I. Cuestionario de preguntas y respuestas de la encuesta ENS utilizada en este estudio

Factor riesgo	Pregunta usada	Códigos	Medido por	Respuesta usada
Edad	¿A qué edad se fracturó o rompió el hueso?	Edad	Autorreporte	Descrita en años
Sexo	Sexo	Sexo	Autorreporte	Mujer
Peso	Peso	m4p1_1 m4p1_2	Balanza electrónica OMRON HN289	Descrita en kilos
Talla	Talla	m4p2_1 m4p2_2	Escuadra y cinta métrica cromada.	Descrita en centímetros
Fractura previa*	¿A qué edad se fracturó o rompió el hueso?:	o3:	Autorreporte	Si cumple las 3 condiciones:
	a. Edad de fractura	o3a_1 hasta o3a_10		Tiempo ≤ 1 año
	b. Causa de la fractura	o3b_1 hasta o3b_10		Caída casual a nivel (por ejemplo, tropezó, resbaló, se cayó de la cama)
	c. ¿Qué hueso se fracturó?	o3c_1 hasta o3c_10 o3c_1_esp hasta o3c_10_esp		Hueso fracturado de cadera, muñeca
Fractura de cadera en familiar	En su familia directa: ¿alguien se ha enfermado o se ha muerto de fractura de cadera? (se refiere a hijos, padres o hermanos).	af1i	Autorreporte	Sí
Fumador activo**	¿Actualmente fuma Ud. cigarrillos?	ta3	Autorreporte	- Sí, uno o más cigarrillos al día - Sí, ocasionalmente
Alcohol**	En último año ¿Qué tan seguido toma usted alguna bebida alcohólica?	m7p9	Autorreporte	- 2 a 3 veces por semana - 4 o más veces por Semana

Elaborado por los autores. *Recodificado como SI cuando cumple estrictamente con las 3 respuestas. **Recodificado como SI cuando cumple cualquiera de las 2 respuestas.

Tabla Suplementaria II. Umbrales de intervención y evaluación de la DMO (inferior y superior) derivados con FRAX para Chile (13)

Edad	Umbral de intervención	Umbral inferior de evaluación	Umbral superior de evaluación
40-44	1,6	0,7	1,9
45-49	2	0,9	2,4
50-54	2,5	1,1	3
55-59	3,2	1,5	3,8
60-64	4,5	2,2	5,4
65-69	6,5	3,2	7,8
70-74	9,2	4,8	11
75-79	13	7,3	16
80-84	17	11	20
85-89	21	13	25
90	20	12	24

BIBLIOGRAFÍA

- Reginster JY, Bulet N. Osteoporosis: a still increasing prevalence. *Bone* 2006;38(2 Suppl 1):S4-S9. DOI: 10.1016/j.bone.2005.11.024
- LATAM AUDIT 2021. Epidemiología, costo e impacto de la osteoporosis y las fracturas por fragilidad. Available from: [https://www.osteoporosis.foundation/sites/IOFbonehealth/files/2022-08/LATAM %20Audit %202021 %20- %20FINAL. pdf](https://www.osteoporosis.foundation/sites/IOFbonehealth/files/2022-08/LATAM%20Audit%202021%20-%20FINAL.pdf) accessed 21 Jan 2023
- Quevedo I, Ormeño JC, Weissglas B, Opazo C. Epidemiology and Direct Medical Cost of Osteoporotic Hip Fracture in Chile. *J Osteoporos* 2020;2020:5360467. DOI: 10.1155/2020/5360467
- Kanis JA, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oden A, Ogelsby AK. International variations in hip fracture probabilities: implications for risk assessment. *J Bone Miner Res* 2002;17(7):1237-44. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.7.1237.
- Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y; Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2019;30(1):3-44.
- Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Rev Bras Reumatol Engl Ed* 2017;57(Suppl 2):452-66. DOI: 10.1016/j.rbre.2017.07.001.
- Diagnóstico y tratamiento de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Actualización 2018. Disponible en: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/673GER.pdf>
- Schurman L, Galich AM, González C, González D, Messina OD, Sedlinsky C, et al. Guías Argentinas para el Diagnóstico, la Prevención y el Tratamiento de la Osteoporosis *MEDICINA* (Buenos Aires) 2017;77:46-60.
- Arinovich Schenker R, Arinovich Numhauser, Arriagada Maldini M, Campusano M C, Fuentealba Perez C, Gajardo Lamas H, et al. Nueva guía SCHOMM 2018. Guías de diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteoporosis. Disponible en: http://schomm.cl/Pdfs/SCHOMM_Guias2018_Final.pdf. Sociedad Chilena de Osteología y Metabolismo Mineral. consultado 21september 2021
- Medina Orjuela A, Rosero Olarte O, Rueda Plata PN, Sánchez Escobar F, Chalem Chouekae M, González Reyes MA, et al. II Consenso Colombiano para el Manejo de la Osteoporosis Posmenopáusica. *Rev Colomb Reumatol* 2018;25(3):184-210.
- Prevención, diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis [2019]. Guía de Consulta Para el Médico de Primer Nivel de Atención. Secretaría de Salud de México. Disponible en: cenetec-difusion.com/gpc-sns/wp-content/uploads/2019/06/GuiaConsulta_Osteoporosis.pdf
- Li-Yu J, Lekamwasam S. Intervention thresholds to identify postmenopausal women with high fracture risk: A single center study based on the Philippines FRAX model. *Osteoporos Sarcopenia* 2021;7(3):98-102. DOI: 10.1016/j.afos.2021.09.003
- Clark P, Denova-Gutiérrez E, Zerbini C, Sanchez A, Messina O, Jaller JJ, et al. FRAX-based intervention and assessment thresholds in seven Latin American countries. *Osteoporos Int* 2018;29(3):707-15. DOI: 10.1007/s00198-017-4341-4
- Zerbini CA, Szejnfeld VL, Abergaria BH, McCloskey EV, Johansson H, Kanis JA. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. *Arch Osteoporos* 2015;10:224. DOI: 10.1007/s11657-015-0224-5
- Jaller-Raad JJ, Jaller-Char JJ, Lechuga-Ortiz JA, Navarro-Lechuga E, Johansson H, Kanis JA. Incidence of hip fracture in Barranquilla, Colombia, and the development of a Colombian FRAX model. *Calcif Tissue Int* 2013;93(1):15-22. DOI: 10.1007/s00223-013-9717-7
- Lopez Gavilanez E, Johansson H, McCloskey E, Harvey NC, Segale Bajana A, Marriott Blum D, et al. Assessing the risk of osteoporotic fractures: the Ecuadorian FRAX model. *Arch Osteoporos* 2019;14(1):93. DOI: 10.1007/s11657-019-0644-8
- Kanis JA, Odén A, McCloskey EV, Johansson H, Wahl DA, Cooper C. A systematic review of hip fracture incidence and probability of fracture worldwide. *Osteoporos Int* 2012;23(9):2239-56. DOI: 10.1007/s00198-012-1964-3.
- McCloskey E, Kanis JA, Johansson H, Harvey N, Oden A, Cooper A, et al. FRAX-based assessment and intervention thresholds—an exploration of thresholds in women aged 50 years and older in the UK. *Osteoporos Int* 2015;26:2091-9.
- Chakhtoura M, Leslie WD, McClung M, Cheung AM, Fuleihan GE. The FRAX-based Lebanese osteoporosis treatment guidelines: rationale for a hybrid model. *Osteoporos Int* 2017;28(1):127-37. DOI: 10.1007/s00198-016-3766-5
- Goldshtein I, Ish-Shalom S, Leshno M. Impact of FRAX-based osteoporosis intervention using real world data. *Bone* 2017;103:318-24. DOI: 10.1016/j.bone.2017.07.027
- Kanis JA, Harvey NC, Cooper C, Johansson H, Oden A, McCloskey EV. A systematic review of intervention thresholds based on FRAX: a report prepared for the national osteoporosis guideline group and the International Osteoporosis Foundation. *Arch Osteoporos* 2016;11(1):25. DOI: 10.1007/s11657-016-0278-z
- López Gavilán E, Johansson H, Harvey N, Lorentzon M, McCloskey E, Valdivieso Jara J, et al. The application of FRAX in Ecuador. *Rev Colomb Reumatol* 2021 DOI: 10.1016/j.rcreu.2021.07.004

23. Departamento de Epidemiología (1). Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2016-2017. 2018. Disponible en: <http://epi.minsal.cl/encuesta-ens-descargable/>
24. Departamento de Epidemiología (2). Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. Encuesta Nacional de Salud 2016-2017. 2018. Disponible en: <http://epi.minsal.cl/encuesta-nacional-de-salud-2015-2016/>
25. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Strom O, Borgstrom F, Oden A. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX—assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos Int* 2008;19:1395-408. DOI: 10.1007/s00198-008-0712-1
26. Compston J, Cooper A, Cooper C, Gittoes N, Gregson C, Harvey N, et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Arch Osteoporos* 2017;12(1):43. DOI: 10.1007/s11657-017-0324-5
27. Kanis JA, Harvey NC, McCloskey E, Bruyère O, Veronese N, Lorentzon M, et al. Algorithm for the management of patients at low, high and very high risk of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2020;31(1):1-12. DOI: 10.1007/s00198-019-05176-3
28. Compston J, Cooper A, Cooper C, Francis R, Kanis JA, Marsh D, et al. Guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and men from the age of 50 years in the UK. *Maturitas* 2009;62(2):105-8. DOI: 10.1016/j.maturitas.2008.11.022
29. Kanis JA, Oden A, Johnell O, Johansson H, De Laet C, Brown J, et al. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int* 2007;18:1033-46. DOI: 10.1007/s00198-007-0343-y
30. Papaioannou A, Morin S, Cheung AM, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al; Scientific Advisory Council of Osteoporosis Canada. 2010 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *CMAJ* 2010;182(17):1864-73. DOI: 10.1503/cmaj.100771
31. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2014;25:2359-81. DOI: 10.1007/s00198-014-2794-2
32. Johansson H, Oden A, Johnell O, Jonsson B, de Laet C, Oglesby A, et al. Optimization of BMD measurements to identify high risk groups for treatment - A test analysis. *J Bone Miner Res* 2004;19(6):906-13. DOI: 10.1359/jbmr.2004.19.6.906
33. Sale JEM, Gray M, Mancuso D, Inrig T, Boire G, Beaulieu MC, et al. Treatment recommendations based on fracture risk status are not consistently provided in osteoporosis guidelines. *Rheumatol Int* 2018;38(12):2193-208. DOI: 10.1007/s00296-018-4181-3
34. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Strom O, Borgstrom F, Oden A. How to decide who to treat. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2009;23(6):711-26. DOI: 10.1016/j.berh.2009.09.002
35. Kanis JA, Adams J, Borgström F, Cooper C, Jönsson B, Preedy D, et al. The cost-effectiveness of alendronate in the management of osteoporosis. *Bone* 2008;42(1):4-15. DOI: 10.1016/j.bone.2007.10.019
36. Leslie WD, Kanis JA. Calibration of FRAX: A Journey, not a Destination. *Calcif Tissue Int* 2021;109(6):597-9. DOI: 10.1007/s00223-021-00891-8
37. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, Lorentzon M, Liu E, Vandenput L, McCloskey EV. An assessment of intervention thresholds for very high fracture risk applied to the NOGG guidelines: A report for the National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). *Osteoporos Int* 2021;32(10):1951-60. DOI: 10.1007/s00198-021-05942-2

Original

Efecto de vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales humanas precondicionadas en hipoxia sobre la osteoblastogénesis y la adipogénesis *in vitro*Carolina Jiménez-Navarro¹, Bárbara Torrecillas-Baena^{1,2}, Marta Camacho-Cardenosa^{1,2}, José Manuel Quesada-Gómez¹, María Ángeles Gálvez-Moreno^{1,2}, Antonio Casado-Díaz^{1,2,3}

¹Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ²Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba. ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Instituto de Salud Carlos III. Madrid

Resumen

Objetivos: las células madre mesenquimales (MSC) se caracterizan por su actividad antiinflamatoria, inmunosupresora y su capacidad de diferenciación. Esto las convierten en una interesante herramienta terapéutica en terapia celular y medicina regenerativa. En parte, el efecto terapéutico de las MSC, está mediado por la secreción de vesículas extracelulares (EV). El precondicionamiento en hipoxia de las MSC puede mejorar la capacidad regenerativa de las EV secretadas. En este contexto, el objetivo del estudio ha sido evaluar si EV derivadas de MSC humanas cultivadas en hipoxia y normoxia afectan a la osteoblastogénesis y adipogénesis de las MSC.

Material y métodos: se aislaron EV de MSC mantenidas 48 h en normoxia o hipoxia (3 % O₂) mediante ultrafiltración y cromatografía de exclusión por tamaño. Las EV fueron caracterizadas por "Western blot", microscopía electrónica y análisis de seguimiento de nanopartículas. En cultivos de MSC se evaluó el efecto de las EV sobre la viabilidad por ensayo con MTT, la migración por "Oris assay" y la diferenciación a osteoblastos y adipocitos.

Resultados: las EV aumentaron la viabilidad y migración, pero no hubo diferencias entre las derivadas de normoxia e hipoxia. Las EV, principalmente las derivadas de hipoxia, aumentaron la mineralización y la expresión de genes osteoblásticos. Sin embargo, no afectaron significativamente a la adipogénesis.

Conclusiones: las EV derivadas de MSC en hipoxia no afectan a la adipogénesis, pero tienen una mayor capacidad de inducir la osteoblastogénesis. Por lo tanto, podrían potencialmente ser utilizadas en terapias de regeneración ósea y tratamientos de patologías óseas como la osteoporosis.

Palabras clave:

Vesículas extracelulares.
Células madre mesenquimales.
Hipoxia.
Diferenciación celular.
Osteoblastos.
Adipocitos.

Recibido: 17/08/2022 • Aceptado: 18/04/2023

Contribución de los autores: María Ángeles Gálvez-Moreno y Antonio Casado-Díaz han contribuido igualmente como responsables del estudio.

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

Agradecimientos: Beca FEIOMM de Investigación Traslacional 2016, Proyecto PI18/01659 del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

Jiménez-Navarro C, Torrecillas-Baena B, Camacho-Cardenosa M, Quesada-Gómez JM, Gálvez-Moreno MA, Casado-Díaz A. Efecto de vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales humanas precondicionadas en hipoxia sobre la osteoblastogénesis y la adipogénesis *in vitro*. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):54-65

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00012

Correspondencia:

Antonio Casado-Díaz. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Avda. Menéndez Pidal, s/n. 14004 Córdoba
e-mail: bb1cadia@uco.es

INTRODUCCIÓN

Las células madre mesenquimales o MSC (*mesenchymal stem cells* o *mesenchymal stromal cells*) son células multipotentes (1,2). La capacidad de las MSC para diferenciarse en diversos linajes celulares, así como sus actividades antiinflamatorias e inmunosupresoras, las han convertido en una herramienta con mucho potencial en terapia celular y medicina regenerativa. Las MSC participan en la homeostasis del organismo mediante la regeneración y reparación de tejidos. Entre los tipos celulares a los que pueden diferenciarse las MSC se encuentran los osteoblastos. La diferenciación osteoblástica está controlada por varias vías de señalización, entre las que destacan la vía canónica Wnt/ β -catenina, y el aumento de la expresión y activación del factor de transcripción RUNX2 (3,4). Las MSC también pueden diferenciarse hacia adipocitos por inducción del factor de transcripción PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor γ*), el cual regula la expresión de genes adipogénicos e induce el desarrollo del fenotipo adipocítico (4).

Durante el proceso de envejecimiento o en determinadas enfermedades como la diabetes, las MSC tienden a diferenciarse hacia adipocitos en detrimento de la osteoblastogénesis (5,6). Esto aumenta la adiposidad de la médula ósea y disminuye la capacidad de la formación de hueso. Lo que favorece la pérdida de masa ósea y la aparición de osteoporosis (7,8). Así, estrategias terapéuticas que activen la diferenciación osteoblástica e inhiban la adipogénica pueden contribuir a promover la regeneración ósea (9).

Las aplicaciones terapéuticas de las MSC poseen varios obstáculos. Entre ellos se encuentra la baja viabilidad de las células trasplantadas, su heterogeneidad innata, factores no identificados relacionados con la edad del donante y el potencial tumorigénico de estas células (10). Estudios recientes indican que gran parte de las propiedades terapéuticas de las MSC están vinculadas a sus efectos paracrinos ejercidos a través de su secretoma (11), el cual, está compuesto por una fracción soluble, rica en factores de crecimiento y citoquinas, y otra vesicular, que contiene diversos tipos de moléculas con una alta capacidad regenerativa (12). Distintos estudios han mostrado que existe un efecto sinérgico cuando se utilizan conjuntamente ambas fracciones con fines regenerativos o inmunomoduladores (13,14). No obstante, en algunos trabajos se ha demostrado que la fracción vesicular es la principal responsable de la inducción de determinados procesos fisiológicos potencialmente regenerativos. Así, por ejemplo, vesículas extracelulares (EV) derivadas de MSC de médula ósea aumentaron la migración y proliferación *in vitro* de fibroblastos dermales y la angiogénesis en las células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC). Mientras que los medios acondicionados sin EV no tuvieron ese efecto (15). Debido a las propiedades regenerativas de estas vesículas y a su estabilidad en

el medio, la utilización de EV derivadas de MSC, en lugar de las propias células, ha sido propuesta como una adecuada alternativa terapéutica (1,16).

Debido a la falta de consenso sobre la clasificación de las EV, la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares declaró que el término genérico preferido que debe utilizarse es el de vesícula extracelular (17). El contenido de las EV depende del tipo de célula de origen y de su estado fisiológico. Los principales componentes de las EV son proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (ARN y ADN). A nivel de proteínas destaca la familia de las tetraspaninas. Entre ellas se encuentran CD63, CD81 y CD9; las cuales son consideradas como marcadores exosomales (10,18). Entre los ácidos nucleicos presentes en las EV destacan microARN (miARN) con capacidad de alterar la expresión génica de las células receptoras (19). Las EV participan en la comunicación intercelular, el mantenimiento celular, la respuesta inmunitaria y la progresión de tumores (20). En el caso de las EV derivadas de MSC, desempeñan papeles importantes en procesos biológicos, como la angiogénesis, la presentación de antígenos, la apoptosis, la coagulación, la homeostasis celular, la inflamación, la diferenciación, la proliferación y la señalización intercelular (16).

La utilización de EV derivadas de MSC permite diseñar terapias libres de células. Con ello, se pueden evitar las dificultades y posibles efectos adversos que conlleva la aplicación de células en terapia celular (10). Así, EV derivadas de MSC han sido evaluadas para el tratamiento de distintas enfermedades respiratorias, musculoesqueléticas, cardiovasculares, neurológicas, hepáticas, gastrointestinales, dermatológicas y renales (21).

La secreción y contenido de las EV varía sustancialmente en función del estado fisiológico de las MSC de las que derivan, el cual a su vez está influenciado por las condiciones ambientales de su nicho (22). En este contexto, se ha demostrado que el acondicionamiento en distintas condiciones de cultivo de las MSC pueden estimular la secreción de EV y aumentar su eficacia terapéutica. En particular, esas condiciones incluyen citoquinas, hipoxia, factores tróficos y físicos, agentes químicos y farmacológicos (23).

La disminución de la disponibilidad de oxígeno por hipoxia induce una respuesta celular de adaptación en la que se incluye la alteración del contenido de las EV secretadas (24). A nivel celular, la hipoxia induce la activación del factor inducible por hipoxia-1 α (HIF1 α). Este factor de transcripción en condiciones de normoxia es hidroxilado y degradado por el proteosoma citoplasmático. Sin embargo, ante un daño tisular, en procesos isquémicos o en la exposición a hipoxia, la disminución de la disponibilidad de oxígeno inhibe la hidroxilación de HIF1 α , lo que provoca su acumulación y translocación al núcleo, donde induce la expresión de genes implicados en la adaptación a los bajos niveles de oxígeno. Entre ellos, destacan genes relacionados con la

angiogénesis, cicatrización, metabolismo anaeróbico de la glucosa, eritropoyesis, proliferación diferenciación y apoptosis, entre otros. Se ha demostrado que cientos de genes pueden ser regulados transcripcionalmente por HIF1 α (25). En cuanto al efecto de la hipoxia sobre el contenido de las EV, numerosos estudios han demostrado que EV derivadas de MSC precondicionadas en hipoxia tienen una mayor capacidad terapéutica en medicina regenerativa (24).

Aunque es conocido que los efectos paracrinos de las MSC mediados por la secreción de afectan a distintos aspectos fisiológicos celulares, aún existe poca información sobre cómo pueden influir estas vesículas a la diferenciación adipogénica y osteogénica de las células precursoras. Así, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar cómo afectan las EV derivadas de cultivos de MSC de médula ósea humana crecidas en condiciones de hipoxia o normoxia sobre la diferenciación osteoblástica y adipogénica de MSC. Con ello, se pretende contribuir al conocimiento necesario para el posible desarrollo de nuevas vías terapéuticas para el tratamiento de patologías relacionadas con el tejido óseo y/o graso.

MATERIALES Y MÉTODOS

CULTIVO Y EXPANSIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Las MSC de médula ósea humana se obtuvieron de cultivos criopreservados y previamente caracterizados pertenecientes a la colección de líneas celulares de nuestro grupo. MSC procedentes de un varón sano de 31 años fueron utilizadas para este estudio. Un vial de MSC criopreservadas (8×10^5 células) se sembraron en un frasco de cultivo de 75 cm² en medio de cultivo α -MEM (Cambrex Bio Science-Lonza; Basel, Switzerland) suplementado con 10 % de FBS (Gibco-Thermo Fisher Scientific), ultraglutamina al 1 % (Cambrex Bio Science-Lonza), 0,1 mg/ml de estreptomina, 100 U de penicilina y 1 ng/ml de FGF-2 (Fibroblast Growth Factor-2) de Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, United States). El medio de cultivo fue cambiado cada 3-4 días. Al alcanzar una confluencia del 80-90 %, las células se levantaron con tripsina-EDTA (Gibco-Thermo Fisher Scientific) y se volvieron a sembrar en una dilución de 1:3.

AISLAMIENTO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES DERIVADAS DE MSC

En cultivos de MSC correspondientes a un pase entre el 4 y 6, cuando alcanzaron alrededor del 70 % de confluencia, el medio de cultivo se reemplazó con medio fresco suplementado con 5 % de FBS libre de exosomas

(Gibco-Thermo Fisher Scientific). Las células se mantuvieron en ese medio durante 48 h en dos condiciones de concentración de oxígeno: hipoxia (5 % CO₂, 3 % O₂ y 37 °C) y normoxia (5 % CO₂, 16 % O₂ y 37 °C). A continuación, el medio de cultivo de tres frascos de 75 cm² (aproximadamente 50 ml) por cada condición, fue recogido y centrifugado a 4 °C durante 10 min a 300 g, 20 min a 1200 g y 30 min a 10 000 g. Después de la última centrifugación, el medio de cultivo se concentró con un Amicon®Ultra-15 Centrifugal Filter Devices 100 KDa (Millipore; Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) hasta aproximadamente 2 ml. Del medio concentrado se purificaron las EV mediante cromatografía de exclusión de tamaño utilizando PURE-EVs Columns (HansaBioMed; Tallinn, Estonia), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las fracciones conteniendo las EV se concentraron finalmente hasta un volumen de 300-400 μ l mediante ultrafiltración en un Amicon®Ultra-15 Centrifugal Filter Devices 10 KDa (Millipore).

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y CUANTIFICACIÓN DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES

La morfología de las EV se analizó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Brevemente, 20 μ L de muestra se aplicó sobre rejillas de cobre recubiertas de carbono. Se dejó secar y se tiñeron con acetato de uranilo (UrAc) al 2 % (p/v) durante 1 minuto. Las imágenes fueron obtenidas con un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución JEOL JEM 1400 (SCAI, Universidad de Córdoba) a un voltaje de aceleración entre 80 a 200 keV.

La concentración de las nanopartículas se determinó mediante un Nanosight NS300 en el Instituto Universitario de Nanoquímica de la Universidad de Córdoba.

Western blotting

Para la extracción de proteína total de los distintos cultivos celulares, las células fueron lisadas con "Cell Extraction Buffer" (Thermo Fisher Scientific) suplementado con 1 mM de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) y 50 μ l/ml de cóctel de inhibidores de proteasa (PIC) (ambos de Sigma-Aldrich). El lisado se incubó en hielo durante 30 minutos, con agitación mediante vortex cada 10 minutos. Por último, el lisado se centrifugó 10 minutos a 13 000g a 4 °C, se descartó el precipitado de restos celulares y el sobrenadante fue almacenado a -20 °C hasta su utilización. La concentración de proteína se cuantificó con el kit "Bio-Rad DC Protein Assay" (Bio-Rad) según el protocolo del fabricante. Para la extracción y cuantificación de las proteínas de las EV

se utilizó el mismo protocolo tras lisar las vesículas con "Cell Extraction Buffer".

La concentración de proteína obtenida de las EV fue de entre 0,1 y 0,3 µg/ µl. Para el "Western blot" de 2 a 10 µg de proteína de cada muestra fueron cargadas en un gel de acrilamida al 8-16 % (nUView Tris-Glycine Precast Gels, NuSeP) en condiciones de desnaturalización en un sistema de electroforesis «Mini-Protean» (Bio-Rad). Después de la electroforesis, las proteínas se transfirieron a membranas de difluoruro de polivinilidina (PVDF) (Bio-Rad) usando un Trans-Blot Turbo Transfer System (Bio-Rad). Las membranas se bloquearon con una solución al 5 % de leche desnatada en polvo en tampón T-TBS (20 mM Tris-HCl pH 7,6, NaCl 150 mM, Tween al 0,05 %) durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, las membranas se incubaron toda la noche a 4 °C con los anticuerpos primarios, anti-CD9 (1:700), anti-CD63 (1:700) (ambos de Invitrogen, ThermoFisher Scientific) o anti-calnexina (1:1000) de Sigma-Aldrich, en leche al 1 % en T-TBS. Tras lavar las membranas tres veces con T-TBS, se incubaron con el anticuerpo secundario, anti-Mouse IgG H & L-HRP (1:5000) (Invitrogen, ThermoFisher Scientific) para CD9 y CD63, y anti-Rabbit IgG H & L-HRP (1:3000) (Abcam) para calnexina, en leche al 1 % en T-TBS durante 1 hora. Finalmente, los restos de anticuerpo secundario fueron lavados con T-TBS y la membrana se reveló utilizando el «Substrato Clarity Western ECL» (Bio-Rad). Las bandas se visualizaron en un sistema de documentación de geles ChemiDoc™ XRS+ de Bio-Rad a través del software ImageLab de la misma casa comercial. La intensidad de las bandas se cuantificó posteriormente con el software ImageJ 1.53t.

CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA POR PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)

El ARN de los cultivos inducidos a diferenciarse a osteoblastos o adipocitos se aisló usando el «NZY total RNA isolation kit» (NZYTech Lda; Lisboa, Portugal), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARN se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 de Thermo Fisher Scientific y 900 ng se retrotranscribió a ADNc utilizando «iScript cDNA Synthesis Kit» (Bio-Rad), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) se llevó a cabo en un LightCycler 96 Instrument de Roche Applied Science. Cada reacción de PCR se realizó en un volumen de 10 µl que contenía 1 µl de ADNc, 1 µM de cebadores (Tabla I) y 1X de "SensiFAST Sybr No-Rox Mix" (BIOLINE). El programa de amplificación de la PCR incluyó un ciclo a 95 °C durante 2 minutos (desnaturalización del ADN y activación de la ADN polimerasa) y 40-45 ciclos de 95 °C durante 5 segundos (desnaturalización del ADN) y 65 °C durante 30 segundos (hibridación de los cebadores y extensión del producto). Los resultados se analizaron con el software LightCycler 1.1 del mismo fabricante. Como gen constitutivo se utilizó *POLR2A* (polimerasa [ARN; ADN dirigido] II polipéptido A).

ENSAYO DE VIABILIDAD CELULAR

La viabilidad celular se determinó usando bromuro de 3-(4, 5-dimetiltiazolil)-2,5-difeniltetrazolio (MTT)

Tabla I. Secuencias de cebadores y tamaños de amplicones

Gen	Secuencia cebadores directo y reverso (5' → 3')	Tamaño del producto (bp)
Runt-related transcription factor 2 (<i>RUNX2</i>)	TGGTAACTCTCCGAGGTCAC ACTGTGCTGAAGAGGCTGTTG	143
Osterix (<i>SP7</i>)	AGCCAGAAGCTGTGAAACCTC AGCTGCAAGCTCTCCATAACC	163
Collagen, type I, alpha 1 (<i>COL1A1</i>)	CGCTGGCCCCAAAGGATCTCCTG GGGGTCCGGGAACACCTCGCTC	263
Integrin-binding sialoprotein (<i>BSP</i>)	AGGGCAGTAGTGACTCATCCG CGTCCTCTCCATAGCCAGTGTTG	171
Peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 (<i>PPARG2</i>)	GCGATTCCTCACTGATACACTG GAGTGGGAGTGGTCTCCATTAC	136
Lipoprotein lipase (<i>LPL</i>)	AAGAAGCAGCAAATGTACCTGAAG CCTGATTGGTATGGGTTCACTC	113
Fatty-acid-binding protein 4 (<i>FABP4</i>)	TCAGTGTAATGGGATGTGAT TCTGCACATGTACCAGGACACC	162
Fatty acid synthase (<i>FASN</i>)	AAGCTGAAGGACCTGTCTAGG CGGAGTGAATCTGGGTTGATG	146
Polymerase (RNA; DNA directed) II polypeptide A (<i>POLR2A</i>)	TTTTGGTGACGACTTGAAGTGC CCATCTTGCCACCCTCTTC	125

(Sigma-Aldrich). Las MSC se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 4000 células por pocillo en medio de cultivo. Las células fueron tratadas en medio de cultivo suplementado con FBS libre de EV y con diferentes concentraciones de EV derivadas de MSC mantenidas en normoxia (MSC-EvN) o hipoxia (MSC-EvH) (3×10^7 , 9×10^7 y 15×10^7 partículas/ml). A las 48 horas, se retiró el medio de cultivo y se añadieron 100 μ l de DMEM (Medio Eagle Modificado de Dulbecco; Capricorn Scientific GmbH) sin FBS ni rojo fenol conteniendo 1 mg/ml de MTT. Las células se incubaron a 37 °C durante 2 horas y los cristales de formazán formados durante la incubación se disolvieron en isopropanol al 100 %. De la solución resultante se midió la absorbancia a 570 nm teniendo como referencia la de 650 nm con un espectrofotómetro de microplacas PowerWave XS (BioTek Instruments).

ENSAYO DE MIGRACIÓN CELULAR

La migración de las MSC se evaluó mediante el "Oris™ Cell Migration Assay" (Platypus technologies). Las MSC se sembraron en placas de 96 pocillos (15000 células/pocillo) y se incubaron a 37 °C con "cell seeding stoppers" en cada pocillo, hasta una confluencia del 90 %. Luego se retiraron los tapones dejando un halo de 2 mm en el medio del pocillo. Después de lavar con PBS, se agregó α -MEM + 2 % de FBS (libre de VES) conteniendo MSC-EvN o MSC-EvH en una concentración de 3×10^7 , 9×10^7 o 15×10^7 partículas/ml. A las 0 h, 12 h y 18 h, se tomaron imágenes utilizando un microscopio de contraste de fase Incucyte® Systems for Live-Cell Imaging. La migración se midió calculando el porcentaje del área de cierre respecto al área abierta inicial ($t = 0$) según la siguiente fórmula: $\text{área de migración (\%)} = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100$, donde A_0 representa el área abierta inicial, y A_t representa el área residual en el tiempo de medición. Para la cuantificación de las áreas en las imágenes se utilizó el *software ImageJ*.

DIFERENCIACIÓN A ADIPOCITOS Y OSTEOBLASTOS

Las MSC se sembraron en placas de cultivo P12 o P24 (Nalgene-Nunc-Thermo Fisher Scientific) a 3000 células/cm². Una vez que alcanzaron una confluencia de entre el 60 y el 80 %, se diferenciaron a adipocitos u osteoblastos en presencia o ausencia de MSC-EvN o MSC-EvH. Para inducir la diferenciación de adipocitos, el medio de cultivo sin FGF se suplementó con 5×10^{-7} M de dexametasona, 50 μ M de indometacina y 0,5 mM de isobutilmetilxantina. Mientras que para la diferenciación a osteoblastos, el medio fue suplementado con 10^{-8} M de dexametasona, 10 mM de β -glicerolfosfato y

0,2 mM de ácido ascórbico. Todos los inductores fueron obtenidos de Sigma-Aldrich.

Después de 13 días de diferenciación, se tomaron muestras de los cultivos para la extracción de ARN y análisis de la expresión génica de marcadores osteoblásticos o adipocíticos.

TINCIÓN DE LA MINERALIZACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

En las MSC inducidas a osteoblastos se evaluó la mineralización de la matriz mediante tinción con *alizarin red S* a los 21 días. Los cultivos se fijaron 10 min con formaldehído al 3,7 % y se tiñeron con una solución de *alizarin red S* 40 mM, pH 4,1. Todos los reactivos fueron de Sigma-Aldrich. A continuación, los pocillos se lavaron con isopropanol al 60 %, se secaron y se tomaron imágenes de los mismos. Para cuantificar la mineralización, la tinción fue eluida con ácido acético al 10 % y neutralizada con hidróxido de amonio al 10 %. En la solución resultante se cuantificó la absorbancia a 405 nm usando un espectrofotómetro de microplacas PowerWave XS de BioTek Instruments.

TINCIÓN DE VESÍCULAS GRASAS

La formación de vesículas de grasa en los cultivos inducidos a adipocitos se evaluó mediante tinción *oil-red O* a los 13 días de diferenciación. Los cultivos se fijaron con formaldehído al 3,7 % durante 20 minutos y se tiñeron con una solución compuesta de un 60 % de *oil-red O* al 0,3 % (p/v en isopropanol) y un 40 % de agua destilada. Después de 15 a 20 min de incubación, las células se lavaron con agua destilada, se tiñeron con hematoxilina y se tomaron imágenes de microscopía óptica para cada uno de los pocillos. La tinción *oil-red O* se cuantificó por análisis de imágenes con el *software ImageJ*. El área de la imagen teñida con *oil-red O* se normalizó con el número de células correspondiente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La comparación entre los diferentes tratamientos se realizó mediante la prueba de ANOVA para detectar cambios significativos, seguido de una prueba de Tukey para identificar diferencias significativas entre pares de tratamientos. Se han considerado cambios significativos (*) para $p < 0,05$. Al menos 3 datos han sido obtenidos por parámetro estudiado. Los datos se muestran como la media más el error estándar de la media (Media \pm ESM).

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES

En la cromatografía de exclusión de tamaño de los medios concentrados de las MSC crecidas en normoxia o en hipoxia, se obtuvieron 10 fracciones en las que se midió la absorbancia a 280 nm como estimación de la concentración de proteína. Como se muestra en la figura 1A, la cantidad de proteína eluida aumentó a partir

de la fracción 7. Ello indica que las EV libres de proteína soluble se encuentran en las fracciones previas.

Tras la mezcla y posterior concentración por ultrafiltración de las fracciones 1 a 6, se cuantificaron y analizaron las nanovesículas obtenidas por "Nanoparticle Tracking Analysis". El tamaño medio de los EV obtenidas de dicho análisis fue de aproximadamente 150 nm (Fig. 1B). La imagen mediante MET muestra la morfología esférica de las EV aisladas (Fig. 1C). Además, en las nanovesículas se observó la presencia de los marcadores de superficie CD63 y CD9. Mientras que la proteína celular calnexina no fue detectada (Fig. 1D).

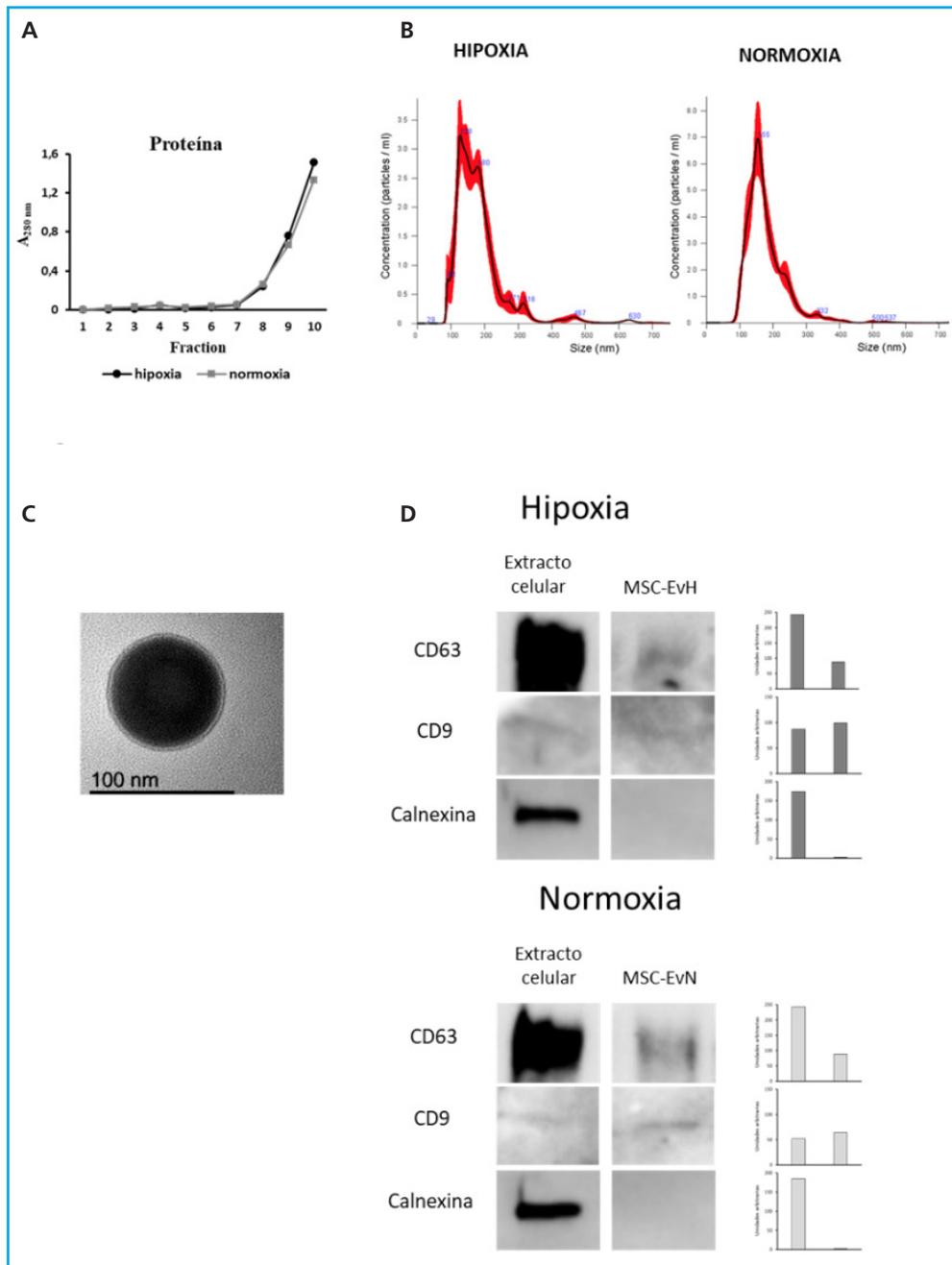


Figura 1. Caracterización de las vesículas extracelulares derivadas de MSC en normoxia e hipoxia. A. Absorbancia a 280 nm de las fracciones obtenidas por cromatografía de exclusión por tamaño. B. Distribución del tamaño de las partículas de MSC-EvN y MSC-EvH obtenido mediante Nanosight. C. Imagen obtenida por TEM de una VE mostrando su morfología y tamaño. D. *Western blot* de la expresión proteica de marcadores positivos para EV (CD63 y CD9) y negativos (calnexina), en extractos celulares y de EV (MSC-EvH y MSC-EvN). A la izquierda de cada uno de los marcadores se muestra la representación gráfica de la cuantificación de su expresión.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE MSC-EvN Y MSC-EvH SOBRE LA VIABILIDAD Y MIGRACIÓN DE MSC

Las MSC fueron crecidas en presencia o en ausencia de 30, 60 o 150 × 10⁶ partículas/ml de MSC-EvN o MSC-EvH durante tres días, tras los cuales se cuantificó la viabilidad celular. Como muestra la figura 2A, la viabilidad de las MSC tendió a aumentar con la concentración de VE. Este incremento fue significativo con la mayor

concentración utilizada de ambos tipos de EV, siendo ligeramente superior en las tratadas con las derivadas de condiciones de hipoxia (Fig. 2A).

La migración de las MSC en presencia de diferentes concentraciones de EV también tendió a ser mayor. Sin embargo, estos cambios no fueron significativos en el caso de los tratamientos con las MSC-EvH. Por su parte, las MSC-EvN si produjeron un aumento significativo de la migración celular, aunque solamente con la mayor concentración utilizada (Fig. 2B).

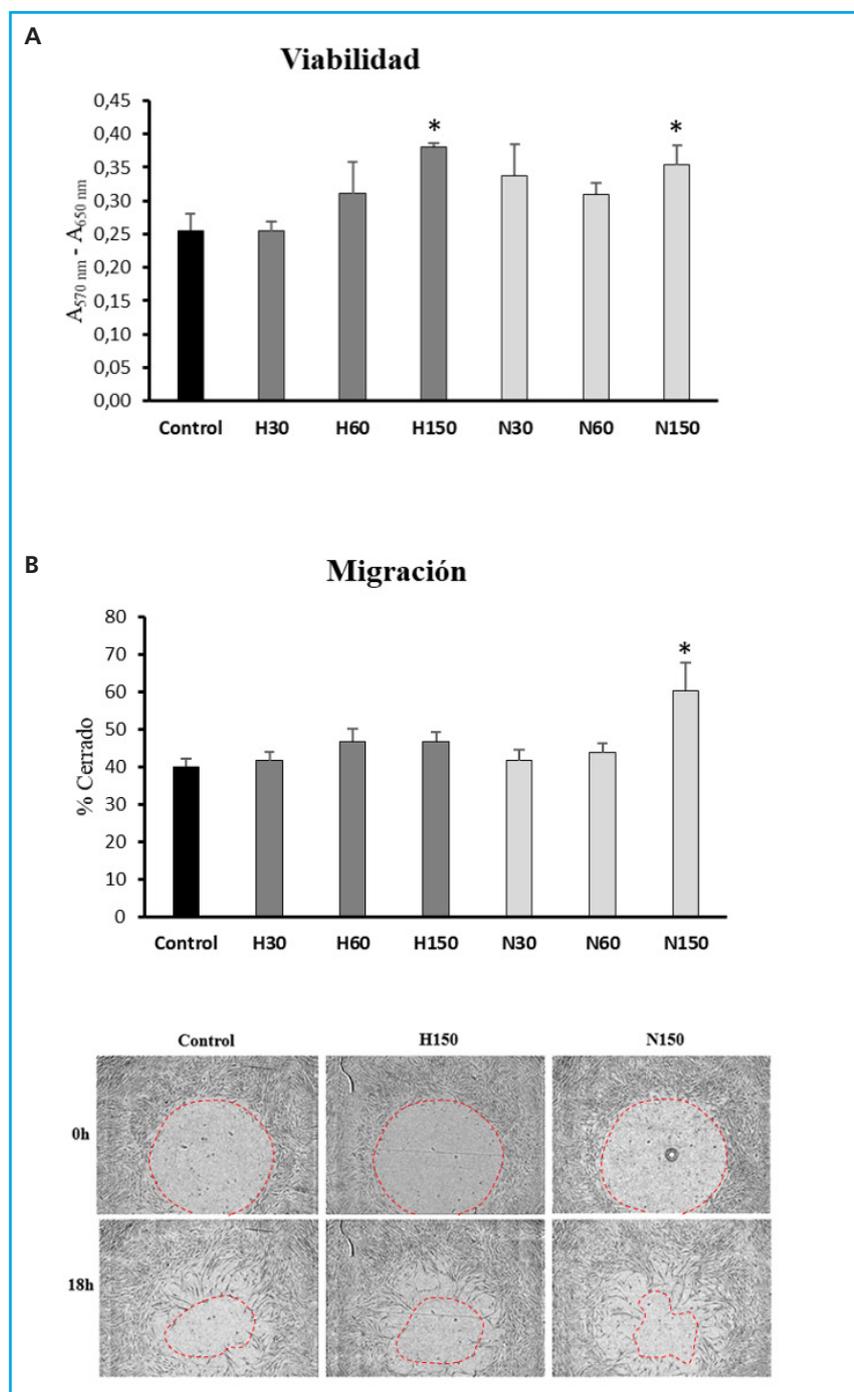


Figura 2. Viabilidad y migración de las MSC en presencia o ausencia de MSC-EvH o MSC-EvN. A. Efecto del tratamiento con MSC-EvH (H) o MSC-EvN (N) a concentraciones de 3 × 10⁷ partículas/ml (30), 6 × 10⁷ partículas/ml (60) y 15 × 10⁷ partículas/ml (150), sobre la viabilidad de cultivos de MSC. B. Igual que en (A), pero sobre la migración celular. Las fotos representan imágenes representativas de los cultivos tratados a las 0 y 18 h después del inicio de la migración. *p < 0,05 vs. control (células no tratadas).

EFFECTO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA DIFERENCIACIÓN DE LAS MSC A OSTEOLASTOS

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos sobre la viabilidad y la migración de las MSC, para la evaluación del efecto de las EV sobre diferenciación celular se seleccionó para este estudio la concentración de 15×10^7 partículas/ml de MSC-EvN y MSC-EvH.

La mineralización de las MSC diferenciadas a osteoblastos aumentó significativamente con ambos tipos de vesículas. Este aumento fue superior en los cultivos tratados con las EV derivadas de cultivos en hipoxia (Fig. 3A). En cuanto a la expresión de genes marcadores osteo-

blásticos, no se encontraron cambios significativos en los genes que codifican el factor de transcripción RUNX2 y la proteína de matriz extracelular colágeno tipo 1 alfa (COL1A1). Sin embargo, se observó un aumento significativo en la expresión del gen del factor de transcripción SP7, también conocido como osterix, con el tratamiento con MSC-EvH. Además, los tratamientos con MSC-EvH y MSC-EvN indujeron significativamente la expresión del gen de la sialoproteína de unión a integrina (IBSP). En este caso, el cambio fue mayor en las EV derivadas de MSC en hipoxia respecto a las obtenidas de cultivos en normoxia (Fig. 3B). Estos resultados sugieren que las EV derivadas de MSC en hipoxia tienen más capacidad de favorecer la osteoblastogénesis que las obtenidas de cultivos en normoxia.

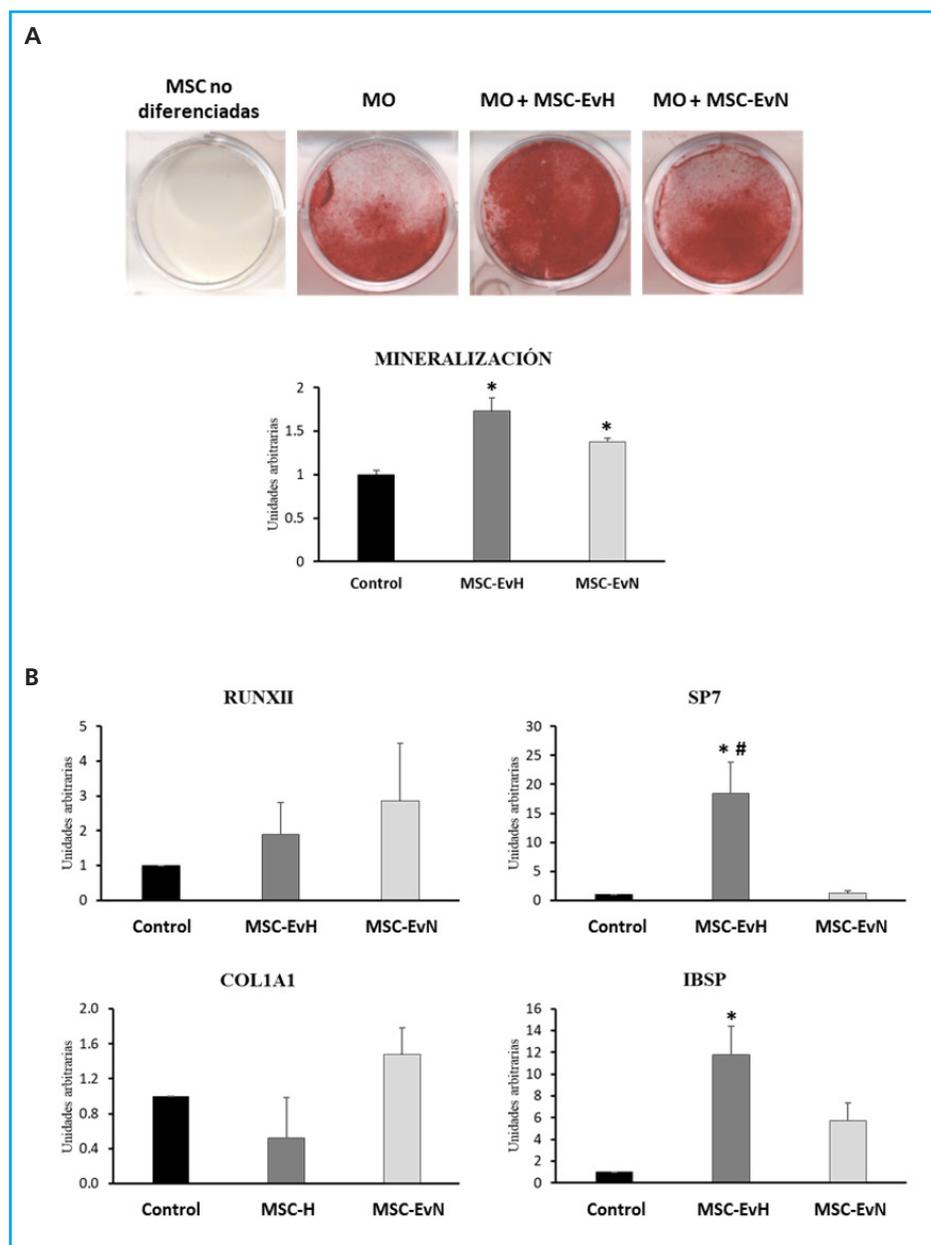


Figura 3. Efecto de las vesículas extracelulares derivadas de MSC en la diferenciación osteogénica. A. Imágenes representativas y cuantificación de la tinción *alizarin red S* de cultivos de MSC a los 21 días de diferenciación en medio osteoblástico (MO) en presencia o ausencia de MSC-EvH o MSC-EvN. B. Expresión de los genes osteoblásticos RUNX2, SP7, COL1A1 e IBSP a los 13 días de diferenciación en cultivos tratados con MSC-EvH y MSC-EvN. Los datos se presentan como la media \pm ESM. * $p < 0,05$ vs. control (cultivos no tratados); # $p < 0,05$ vs. MSC-EvN.

EFECTO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA DIFERENCIACIÓN DE LAS MSC A ADIPOCITOS

En el análisis fenotípico de las MSC diferenciadas a adipocitos tratadas con MSC-EvH o MSC-EvN, no se observaron cambios significativos en la formación de vesículas de grasa respecto a los cultivos no tratados

(Fig. 4A). En cuanto a la expresión de los genes adipogénicos PPARG2, LPL y FASN, tampoco se observaron diferencias entre los distintos tratamientos y el control. Sin embargo, la expresión de FABP4 en los cultivos tratados con MSC-EvN aumentó significativamente respecto al control y a los cultivos tratados con MSC-EvH. La expresión en estos últimos no mostró cambios en relación a los cultivos no tratados (Fig. 4B).

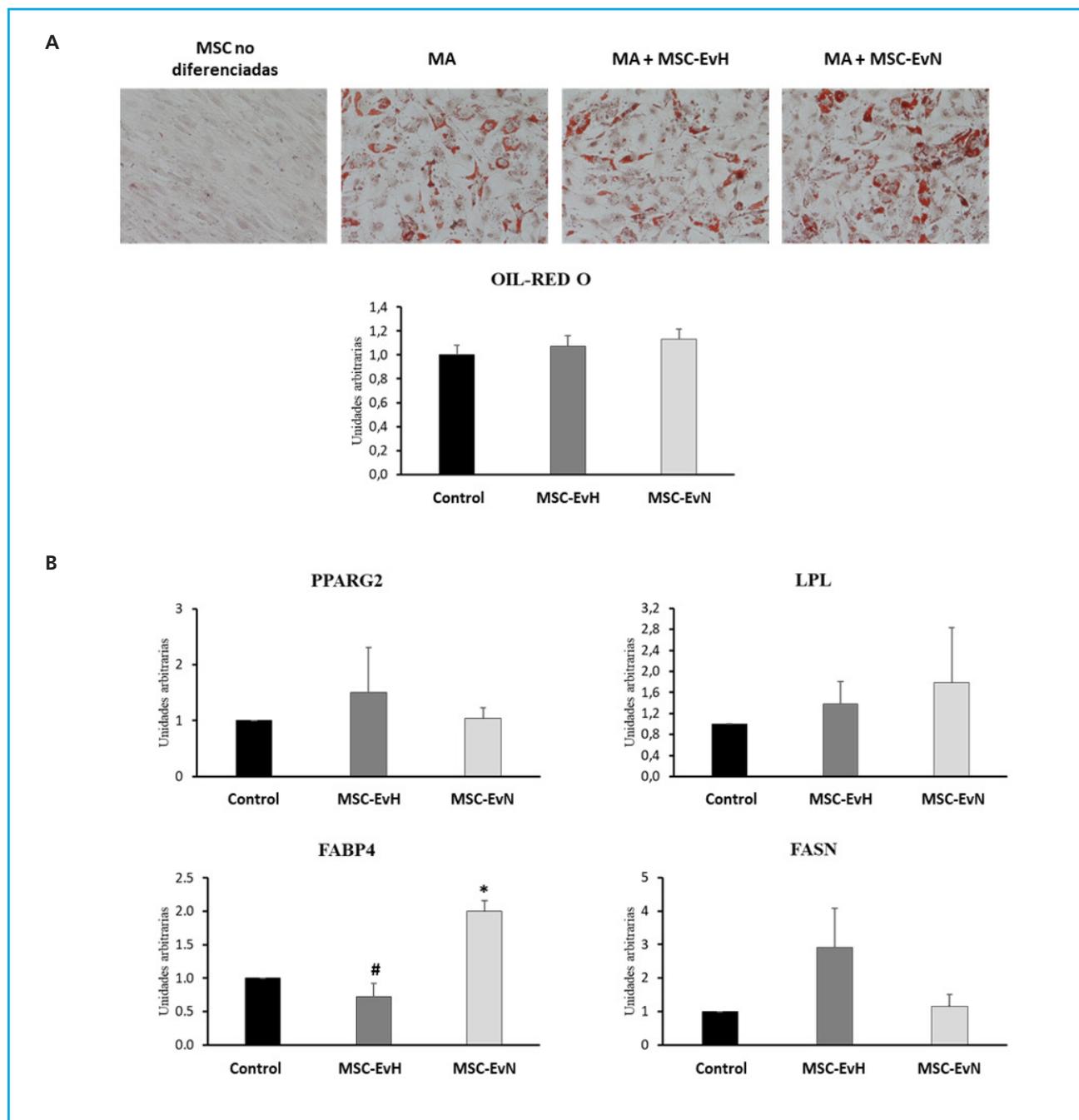


Figura 4. Efecto de las vesículas extracelulares derivadas de MSC en la diferenciación adipogénica. A. Imágenes y cuantificación de la tinción *oil red O* en cultivos de MSC después de 13 días en medio adipogénico (MA) en presencia o ausencia de MSC-EvH o MSC-EvN. (imágenes a 200x). B. Expresión de los genes adipogénicos PPARG2, LPL, FABP4 y FASN a los 13 días de diferenciación en cultivos tratados con MSC-EvH y MSC-EvN. Los datos se presentan como la media \pm ESM. * $p < 0,05$ vs. control (cultivos no tratados); # $p < 0,05$ vs. MSC-EvN.

DISCUSIÓN

Nuestro estudio pone de manifiesto que la utilización de la cromatografía de exclusión por tamaño para el aislamiento de las EV, produce vesículas con alta pureza y poca contaminación de proteínas solubles (26). Los resultados de los tratamientos con ambos tipos de EV, MSC-EvH y MSC-EvN, indican que aumentan la viabilidad de los cultivos de MSC *in vitro* cuando se aplicaron a una concentración de 15×10^7 partículas/ml. El efecto positivo de EV derivadas de MSC sobre la viabilidad de distintos tipos celulares ha sido descrito en diferentes estudios (15,27). Algunos autores han mostrado que EV derivadas de MSC no tienen efecto sobre la viabilidad de MSC procedentes de médula ósea (28). No obstante, esos resultados se han obtenido con EV obtenidas por ultracentrifugación y después de mantener las células 12 h en medios de cultivo nuevo (28) y no 48 h como en nuestro caso. Por lo que las distintas condiciones metodológicas pueden afectar al contenido de las EV y explicar las diferencias observadas entre distintos estudios. Nuestros datos no muestran diferencias entre el efecto de MSC-EvH y MSC-EvN sobre la viabilidad de los cultivos de MSC. Sin embargo, algunos autores han descrito que las EV derivadas de MSC cultivadas en hipoxia tienen más capacidad de aumentar la viabilidad celular que las obtenidas en normoxia (29,30). Sin embargo, hay que resaltar que estos estudios han sido realizados principalmente sobre células endoteliales y no sobre MSC. Así, hay que tener en cuenta que la hipoxia provoca la producción de factores que estimulan e inducen a las células endoteliales para que formen nuevos vasos para suplir la disminución de los niveles de oxígeno, como por ejemplo el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (31). Estos factores pueden ser abundantes en las EV extracelulares derivadas de MSC mantenidas en hipoxia, pero nuestros datos sugieren que podrían no tener un efecto significativo sobre la viabilidad de las MSC.

El tratamiento con MSC-EvH y MSC-EvN tendió a aumentar la migración de las MSC. En otros tipos celulares como células endoteliales, fibroblastos y queratinocitos se ha demostrado que las EV derivadas de MSC favorecen su capacidad de proliferación y migración (32,33). El aumento de la inducción de la migración se asocia a una mayor capacidad regenerativa de las EV (34). Nuestros resultados muestran que la migración de las MSC no estuvo influida significativamente cuando fueron tratadas con MSC-EvH. Ello sugiere, que las condiciones de cultivo en hipoxia utilizadas no produjeron EV enriquecidas en factores que estimularan la migración de estas células.

La utilización de EV derivadas de células óseas, como MSC de médula ósea, está emergiendo como una posible estrategia terapéutica para el tratamiento de patologías óseas, incluida la osteoporosis (35,36). Nuestros resultados muestran que la diferenciación osteogénica de MSC *in vitro* es potenciada cuando los cultivos son

tratados con EV derivados de MSC, principalmente con las MSC-EvH. Los cultivos tratados con estas EV presentaron una mayor mineralización y expresión de genes osteoblásticos como *SP7* e *IBSP*. El primero codifica a un factor de transcripción esencial para la diferenciación osteogénica (37) y el segundo a la sialoproteína de unión a integrina, una proteína de la matriz extracelular involucrada en la mineralización (38). Estos resultados apoyan lo descrito previamente por otros estudios en los que se demuestra la capacidad osteogénica de EV obtenidas de MSC (39-41). Experimentos *in vivo* en un modelo de fractura ósea han mostrado que EV derivadas de MSC cultivadas en condiciones de hipoxia, promueven la curación de las fracturas óseas en mayor medida que las EV obtenidas de MSC en normoxia. Ello es debido en parte a que favorecen la angiogénesis a través del miR-126, el cual regula la vía de señalización angiogénica SPRED1/Ras/Erk (40). En nuestro caso, no hemos evaluado el posible efecto de las MSC-EvH sobre células endoteliales, pero si hemos demostrado que inducen la osteoblastogénesis de las células precursoras. Por lo tanto, el tratamiento con MSC-EvH podría favorecer la regeneración ósea a través de su inducción de la angiogénesis en células endoteliales y de la diferenciación osteoblástica de las MSC. Así, otros estudios apoyan que EV derivadas de MSC tienen un alto potencial en la regeneración ósea por su capacidad de favorecer tanto la angiogénesis como la osteoblastogénesis (39). En el efecto positivo de las EV derivadas de MSC sobre la osteoblastogénesis *in vitro* e *in vivo*, se ha observado que intervienen miARN como el miR-196a, el miR-335 y el miR-27a (41-43).

Las MSC son también precursoras de adipocitos. Generalmente, los factores que favorecen la diferenciación adipogénica afectan negativamente a la osteogénesis y viceversa (9). Sin embargo, nuestros resultados indican que ni las MSC-EvH ni las MSC-EvN afectaron significativamente a la adipogénesis. Solo destaca que los niveles de mRNA de FABP4 aumentó con el tratamiento con MSC-EvN. El gen FABP4 codifica una proteína de unión a ácidos grasos implicada en diferentes funciones extracelulares, por lo que la aplicación de MSC-EvN puede afectar a aspectos relacionados con el metabolismo de los ácidos grasos durante la adipogénesis (44), que en nuestro caso no ha afectado a la acumulación de vesículas de grasa.

En conclusión, nuestros datos muestran que el tratamiento con EV derivadas de MSC mejora la viabilidad, migración y diferenciación osteogénica de MSC de médula ósea humana. La diferenciación osteoblástica es inducida principalmente cuando las EV son obtenidas de MSC expuestas a hipoxia. Ello sugiere que el acondicionamiento de las células en condiciones de bajos niveles de oxígeno, podría inducir la secreción de EV enriquecidas en factores osteogénicos. La determinación de estos factores en un futuro debe permitir conocer el mecanismo de acción de estas EV sobre la osteoblastogénesis, además de abrir otras posibilidades para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas

más eficientes para el tratamiento de patologías óseas. Los resultados de este estudio respaldan la posibilidad de utilizar una terapia libre de células basada en la aplicación de EV para el tratamiento de enfermedades sistémicas del hueso como la osteoporosis y para favorecer la formación ósea, en el caso de fracturas de difícil curación.

BIBLIOGRAFÍA

- Kim S, Lee SK, Kim H, et al. Exosomes secreted from induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells accelerate skin cell proliferation. *Int J Mol Sci* 2018;19:3119. DOI: 10.3390/ijms19103119
- Rani S, Ryan AE, Griffin MD, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: Toward cell-free therapeutic applications. *Mol Ther* 2015;23:812-23. DOI: 10.1038/mt.2015.44
- Gomathi K, Akshaya N, Srinaath N, et al. Regulation of Runx2 by post-translational modifications in osteoblast differentiation. *Life Sci* 2020;245:117389. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117389
- Takada I, Kouzmenko AP, Kato S. Wnt and PPAR γ signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 2009;5:442-7. DOI: 10.1038/nrrheum.2009.137
- Moerman EJ, Teng K, Lipschitz DA, et al. Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: The role of PPAR- γ 2 transcription factor and TGF- β /BMP signaling pathways. *Aging Cell* 2004;3:379-89. DOI: 10.1111/j.1474-9728.2004.00127.x
- Singh L, Brennan T, Russell E, et al. Aging alters bone-fat reciprocity by shifting in vivo mesenchymal precursor cell fate towards an adipogenic lineage. *Bone* 2016;85:29-36. DOI: 10.1016/j.bone.2016.01.014
- Qadir A, Liang S, Wu Z, et al. Senile osteoporosis: The involvement of differentiation and senescence of bone marrow stromal cells. *Int J Mol Sci* 2020;21:349. DOI: 10.3390/ijms21010349
- Rosen CJ, Bouxsein ML. Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:35-43. DOI: 10.1038/nrcprheum0070
- Chen Q, Shou P, Zheng C, et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death Differ* 2016;23:1128-39. DOI: 10.1038/cdd.2015.168
- Joo HS, Suh JH, Lee HJ, et al. Current knowledge and future perspectives on mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic agent. *Int J Mol Sci* 2020;21:727. DOI: 10.3390/ijms21030727
- Kusuma GD, Carthew J, Lim R, et al. Effect of the Microenvironment on Mesenchymal Stem Cell Paracrine Signaling: Opportunities to Engineer the Therapeutic Effect. *Stem Cells Dev* 2017;26:617-31. DOI: 10.1089/scd.2016.0349
- Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, et al. Mesenchymal stem cell secretome: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci* 2017;18(9):1852. DOI: 10.3390/ijms18091852
- Vilaça-Faria H, Marote A, Lages I, et al. Fractionating stem cells secretome for Parkinson's disease modeling: Is it the whole better than the sum of its parts? *Biochimie* 2021;189:87-98. DOI: 10.1016/j.biochi.2021.06.008
- González-Cubero E, González-Fernández ML, Olivera ER, et al. Extracellular vesicle and soluble fractions of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secretome induce inflammatory cytokines modulation in an in vitro model of discogenic pain. *Spine J* 2022;22:1222-34. DOI: 10.1016/j.spinee.2022.01.012
- Shabbir A, Cox A, Rodriguez-Menocal L, et al. Mesenchymal Stem Cell Exosomes Induce Proliferation and Migration of Normal and Chronic Wound Fibroblasts, and Enhance Angiogenesis in Vitro. *Stem Cells Dev* 2015;24:1635-47. DOI: 10.1089/scd.2014.0316
- Casado-Díaz A, Quesada-Gómez JM, Dorado G. Extracellular Vesicles Derived From Mesenchymal Stem Cells (MSC) in Regenerative Medicine: Applications in Skin Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol* 2020;8:1-19. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00146
- Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* 2018;7:1535750. DOI: 10.1080/20013078.2018.1535750
- Jeppesen DK, Fenix AM, Franklin JL, et al. Reassessment of Exosome Composition. *Cell* 2019;177:428-45.e18. DOI: 10.1016/j.cell.2019.02.029
- Deng H, Sun C, Sun Y, et al. Lipid, Protein, and MicroRNA Composition Within Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes. *Cell Reprogram* 2018;20:178-86. DOI: 10.1089/cell.2017.0047
- Doyle L, Wang M. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells* 2019;8:727. DOI: 10.3390/cells8070727
- Willis GR, Kourembanas S, Mitsialis SA. Toward Exosome-Based Therapeutics: Isolation, Heterogeneity, and Fit-for-Purpose Potency. *Front Cardiovasc Med* 2017;4:63. DOI: 10.3389/fcvm.2017.00063
- Costa LA, Eiro N, Fraile M, et al. Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions: implications for further clinical uses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2021;78:447-67. DOI: 10.1007/s00018-020-03600-0
- Ding J, Wang X, Chen B, et al. Exosomes Derived from Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Stimulated by Deferoxamine Accelerate Cutaneous Wound Healing by Promoting Angiogenesis. *Biomed Res Int* 2019;2019:9742765. DOI: 10.1155/2019/9742765
- Pulido-Escribano V, Torrecillas-Baena B, Camacho-Cardenosa M, et al. Role of hypoxia preconditioning in therapeutic potential of mesenchymal stem-cell-derived extracellular vesicles. *World J Stem Cells* 2022;14:453-72. DOI: 10.4252/wjsc.v14.i7.453
- Mole D, Blancher C, Copley R, et al. Genome-wide association of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α DNA binding with expression profiling of hypoxia-inducible transcripts. *J Biol Chem* 2009;284:16767-75. DOI: 10.1074/jbc.M901790200
- Gámez-Valero A, Monguió-Tortajada M, Carreras-Planella L, et al. Size-Exclusion Chromatography-based isolation minimally alters Extracellular Vesicles' characteristics compared to precipitating agents. *Sci Rep* 2016;6:1-9. DOI: 10.1038/srep33641
- Wang Y, Yao J, Cai L, et al. Bone-targeted extracellular vesicles from mesenchymal stem cells for osteoporosis therapy. *Int J Nanomedicine* 2020;15:7967-77. DOI: 10.2147/IJN.S263756
- Wei F, Li Z, Crawford R, et al. Immunoregulatory role of exosomes derived from differentiating mesenchymal stromal cells on inflammation and osteogenesis. *J Tissue Eng Regen Med* 2019;13:1978-91. DOI: 10.1002/term.2947

29. Almeria C, Weiss R, Roy M, et al. Hypoxia Conditioned Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Induce Increased Vascular Tube Formation *in vitro*. *Front Bioeng Biotechnol* 2019;7:1-12. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00292
30. Gao W, He R, Ren J, et al. Exosomal HMGB1 derived from hypoxia-conditioned bone marrow mesenchymal stem cells increases angiogenesis via the JNK/HIF-1 α pathway. *FEBS Open Bio* 2021;11:1364-73. DOI: 10.1002/2211-5463.13142
31. Han Y, Ren J, Bai Y, et al. Exosomes from hypoxia-treated human adipose-derived mesenchymal stem cells enhance angiogenesis through VEGF/VEGF-R. *Int J Biochem Cell Biol* 2019;109:59-68. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.01.017
32. Ren S, Chen J, Duscher D, et al. Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signaling pathways *06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology. Stem Cell Res Ther* 2019;10:1-14.
33. Wang X, Omar O, Vazirisani F, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes have altered microRNA profiles and induce osteogenic differentiation depending on the stage of differentiation. *PLoS One* 2018;13:4-6. DOI: 10.1371/journal.pone.0193059
34. Cooper DR, Wang C, Patel R, et al. Human Adipose-Derived Stem Cell Conditioned Media and Exosomes Containing MALAT1 Promote Human Dermal Fibroblast Migration and Ischemic Wound Healing. *Adv Wound Care* 2018;7:299-308. DOI: 10.1089/wound.2017.0775
35. Li Q-C, Li C, Zhang W, et al. Potential Effects of Exosomes and their MicroRNA Carrier on Osteoporosis. *Curr Pharm Des* 2022;28:899-909. DOI: 10.2174/1381612828666220128104206
36. Vig S, Fernandes MH. Bone Cell Exosomes and Emerging Strategies in Bone Engineering. *Biomedicines* 2022;10:767. DOI: 10.3390/biomedicines10040767
37. Zhang C. Transcriptional regulation of bone formation by the osteoblast-specific transcription factor *Osx*. *J Orthop Surg Res* 2010;5:1-8. DOI: 10.1186/1749-799X-5-37
38. Ogata Y. Bone sialoprotein and its transcriptional regulatory mechanism. *J Periodontol Res* 2008;43:127-35. DOI: 10.1111/j.1600-0765.2007.01014.x
39. Takeuchi R, Katagiri W, Endo S, et al. Exosomes from conditioned media of bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote bone regeneration by enhancing angiogenesis. *PLoS One* 2019;14:1-19. DOI: 10.1371/journal.pone.0225472
40. Liu W, Li L, Rong Y, et al. Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126. *Acta Biomater* 2020;103:196-212. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.12.020
41. Qin Y, Wang L, Gao Z, et al. Bone marrow stromal/stem cell-derived extracellular vesicles regulate osteoblast activity and differentiation *in vitro* and promote bone regeneration *in vivo*. *Sci Rep* 2016;6:1-11. DOI: 10.1038/srep21961
42. Wang Y, Zhou X, Wang D. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Inhibit Osteoporosis via MicroRNA-27a-Induced Inhibition of DKK2-Mediated Wnt/ β -Catenin Pathway. *Inflammation* 2022;45:780-99. DOI: 10.1007/s10753-021-01583-z
43. Hu H, Wang D, Li L, et al. Role of microRNA-335 carried by bone marrow mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in bone fracture recovery. *Cell Death Dis* 2021;12:156. DOI: 10.1038/s41419-021-03430-3
44. Hotamisligil GS, Bernlohr DA. Metabolic functions of FABPs - Mechanisms and therapeutic implications. *Nat Rev Endocrinol* 2015;11:592-605. DOI: 10.1038/nrendo.2015.122

Original

Polygenic risk of bone fractures in Spanish women with osteoporosis

Álvaro del Real¹, Raquel Cruz², José M. Olmos^{1,3}, José L. Hernández^{1,3}, Carmen Valero^{1,3}, José A. Riancho^{1,3}

¹Department of Medicine and Psychiatry. Universidad de Cantabria. IDIVAL. Santander, Spain. ²Grupo de Medicina Xenómica. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, A Coruña. Spain. ³Department of Internal Medicine. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. IDIVAL. Santander, Spain

Abstract

Background: osteoporosis is a highly polygenic trait characterized by low bone mineral density (BMD) and/or fragility fractures. Over the past decade, polygenic risk scores (PRS) are an emerging tool to try to predict the risk of complex disorders with a genetic component.

Objective: to analyze the capacity of different PRSs to predict osteoporosis in the Spanish population.

Material and methods: our dataset consisted of two differentiated groups. The first group included osteoporosis cases diagnosed and treated at the Marques de Valdecilla University Hospital ($n = 304$; 293 women) while the second group consisted of people from the overall Spanish population ($n = 3199$; 1458 women). Four previously generated PRSs were compared with generalized linear models.

Results: the osteoporosis group showed a significantly higher genetic risk compared to the control group in 3 PRSs (PRS-1 $p = 1e-7$; PRS-2 $p = 1.87e-15$; PRS-3 $p = 0.1477$; PRS-4 $p = 8.98e-9$). In addition, in these PRSs, the individuals in the upper quartile of risk had a significantly higher risk of osteoporosis, compared to those individuals in the other quartiles (PRS-1 OR, 1.83; PRS-2 OR, 2.11; PRS-3 OR, 0.96; PRS-4 OR, 1.72).

Conclusions: in summary, the application of PRSs shows significant differences between the overall Spanish population and patients with osteoporosis, which is suggestive of its utility within strategies for the identification of subjects at risk based on clinical-genetic criteria.

Keywords:
Osteoporosis.
Polygenic risk
scores. Genomics.
Bone mineral
density.

Received: 19/10/2022 • Accepted: 19/04/2023

Acknowledgements: partially supported by a grant from Instituto de Salud Carlos III (PI21/00532). Alvaro del Real received support by the postdoctoral grant Margarita Salas in the University of Cantabria, Spain.

Conflicts of Interest: the authors declare no conflict of interest.

Del Real Á, Cruz R, Olmos JM, Hernández JL, Valero C, Riancho JA. Polygenic risk of bone fractures in Spanish women with osteoporosis. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):66-71

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00014

Correspondence:

Álvaro del Real. Department of Medicine and Psychiatry. Universidad de Cantabria. IDIVAL. Avda. Cardenal Herrera Oria, s/n. 39011 Santander, Spain
e-mail: delreal@unican.es

INTRODUCTION

Osteoporosis is the most prevalent bone disease characterized by low bone mineral density (BMD) leading to an increased risk of fracture. Osteoporosis-related fractures represent an immense economic burden on the healthcare systems. Common diseases such as osteoporosis are usually polygenic, involving many genetic variants rather than rare monogenic mutations (1). Several studies have shown that BMD is a highly polygenic trait, which is directly associated with bone fracture (2). Over the past 15 years, genome-wide association studies (GWAS) have identified many genomic loci as related to the risk of various complex diseases (3). The knowledge of the genetic variants involved in a specific trait allows the early identification of subjects at risk and the initiation of preventive measures. Thus, in the GWAS era, several genetic variants have been related to BMD and fracture risk. The seminal study of Estrada et al. identified 56 loci associated with BMD and 13 SNPs with bone fractures (4). Another more recent study from the UK Biobank database analyzed the association of genetic variants and heel quantitative ultrasound (eBMD) in a total of 426 824 individuals to finally identify 518 significant loci (5).

The results of those studies are being used to develop risk scores based on the analysis of multiple gene variants (polygenic risk scores, PRSs). Hence, a PRS can be defined as an individual's mark made of the allelic signature at a number of polymorphic loci (often, tens or hundreds, or even thousands) related to the genetic susceptibility to develop a disorder (2). A representative analysis with PRSs involves an association between a PRS and a trait from the main data. This association can be evaluated with standard analytical procedures such as the *p* value to test a null hypothesis; effect size estimate (OR of high vs low risk individuals), and/or with measures of discrimination like the area under the curve (AUC). Several statistical tests can be applied to check the significance of the association including linear or logistic regression with or without adjusting for covariates like sex and age (6).

Several PRSs have been generated in relation to BMD and/or risk of fracture. First, the 56 loci identified (*n* = 63 probes) from the seminal study described above (4) were used as a PRS related to femoral neck BMD. Richards' lab developed a prediction of fracture risk PRS (*n* = 21717 probes) by using ultrasonography data of the calcaneus as an intermediate phenotype (7). Their polygenic risk score was more strongly associated with the risk of fracture than many other clinical risk factors, including age, sex, BMI and FRAX clinical factors (8). Additionally, Tanigawa et al. generated two distinct PRS models, incorporating the results at 316 and 1270 loci, respectively (9).

The objective of this study was to analyze the capacity of the previously mentioned PRSs to discriminate between patients with osteoporosis and controls in the Spanish population.

METHODS

SAMPLE RECRUITMENT

Our dataset included two groups. The group of cases corresponds to patients with osteoporosis recruited at the Marques de Valdecilla University Hospital (*n* = 304; 293 women; mean age, 65 years; range 47 to 87 years). Subjects with secondary osteoporosis were excluded. BMD was measured by dual X-ray densitometry (DXA) at the spine (mean BMD 0.744 [Interquartile range, IR, 0.692 to 0.792]) and the hip (mean BMD 0.737 [IR 0.679 to 0.803]) using a Hologic QDR 4500 densitometer (Waltham, MA, United States).

The control included samples from the overall Spanish population that were provided by the "Banco Nacional de ADN Carlos III (BNADN; www.bancoadn.org) (*n* = 3199; 1458 women; mean age, 48 years; range 18 to 104 years).

These data were not included in former GWAS. The study protocol was approved by the institutional review board (Comité de Ética en Investigación Clínica de Cantabria). All patients gave their informed written consent.

DNA ISOLATION AND GENOTYPING

DNA was isolated from aliquots of peripheral blood using commercially available column-based kits, following the manufacturer's instructions for use. Quantification of DNA was performed using Qubit dsDNA BR Assay Kit (ThermoFisher, Waltham, MA, United States). DNA samples from both groups were genotyped at the Spanish National Genotyping Center ("Centro Nacional de Genotipado-Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica"), using the Axiom™ Spain Biobank array following the manufacturer's instructions for use (Axiom™ 2.0 Assay 96-Array Format Manual Workflow; ThermoFisher Scientific). Briefly, total genomic DNA (200 ng) was amplified and randomly fragmented into 25 to 125 base pair fragments, which were then purified and resuspended in a hybridization cocktail. The hybridization-ready targets were then transferred to the GeneTitan Multichannel Instrument for automated, hands-free processing (including hybridization to Axiom array plates, staining, washing and imaging). CEL files were automatically processed for allele calling using the Axiom GT1 algorithm available through the Axiom Analysis Suite v4.0.3.3 and following the Axiom™ Genotyping Solution Data Analysis User Guide (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, United States).

QUALITY CONTROL AND PRS ANALYSIS

The Axiom Analysis Suite was applied to conduct the quality control of genotyped data. Thresholds applied were DQC \geq 0.85, and call rate \geq 97 %. The percent of

passing samples was ≥ 95 , and the average call rate for passing samples was ≥ 98.5 . To assess the existence of stratification and to identify kinship relationships, PCA and IBD analyses were implemented with PLINK software. After that, genotyped data was imputed with TOPMED imputation software. Minor allele frequency (MAF) or Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) thresholds were not implemented because of the possibility of losing selected probes from the PRSs databases.

Four different PRSs datasets were computed based upon previous publications. Details for each PRS are shown on table I.

Statistical tests were performed with the R software (version 4.2.1). Moreover, ROC curves were generated with the "pROC" package (10).

RESULTS

Three of the 4 PRSs showed significantly higher scores in the osteoporosis group compared to the control group (PRS-1 $p = 1e-7$; PRS-2 $p = 1.87e-15$; PRS-3 $p = 0.1477$; PRS-4 $p = 8.98e-9$). Moreover, in those three PRSs with significant differences the individuals from the risk quartile (which corresponds to the first quartile for PRS-2 and upper quartile for PRS-1 and PRS-4) had a significantly higher risk of osteoporosis compared to those individuals from the other quartiles (PRS-1 OR, 1.83 [CI, 1.41-2.36]; PRS-2 OR, 2.11 [CI, 1.64-2.71]; PRS-3 OR, 0.96 [CI, 0.72-1.27]; PRS-4 OR, 1.72 [CI, 1.32-2.21]) (Fig. 1).

Furthermore, the frequencies and the probability of disease are shown on figure 2. PRS-1 and PRS-4 have

Table I. Details of the published PRSs used in this article

	Associated phenotype	Probes	Merged probes	Ancestry	Reference
PRS_1	Femur neck BMD	63	63	Mainly European and partly East Asian	Estrada K, et al. Nat Genet 2012;44:491-501
PRS_2	Heel quantitative speed of sound (SOS)	21716	15 721	Predominantly white British for training, testing and validation sets	Forgetta V, et al. PLOS Medicine 2020;17(7):e1003152
PRS_3	Osteoporosis	316	273	White British for training, testing and validation sets.	Tanigawa Y, et al. PLoS Genet 2022;18(3):e1010105
PRS_4	Osteoporosis without fracture	1270	1136		

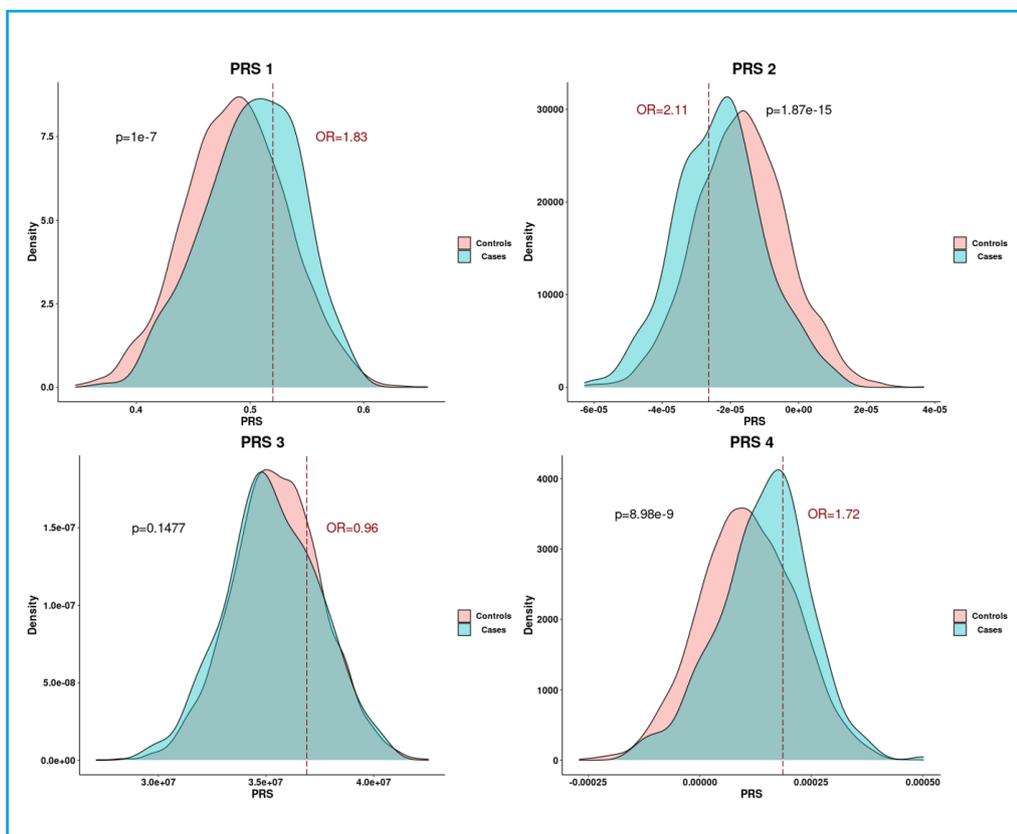


Figure 1. Density plots with osteoporotic cases in blue and controls in orange for each PRS tested in the manuscript. The p value is estimated using Student t tests to look for the differences in the mean of each group. Vertical red dot line limits the upper quartile (first quartile for PRS-2), which should have a higher risk of cases. The quartiles are calculated with all samples together, not by group. Moreover, Odds ratio (OR) are estimated from the quartile selected vs the other quartiles.

an ascending curve because the higher the score the higher the risk of osteoporosis. PRS-2 values are inversely correlated to osteoporosis because it is associated with heel quantitative speed of sound (SOS) data, which are translated into a higher risk when the scores are more negative. PRS-3 has an almost horizontal regression line due to the non-significant association.

The studied PRSs showed a moderate discriminative capacity, as evidenced by the areas under ROC curves (PRS-1 AUC, 0.645; PRS-2 AUC, 0.61; PRS-3 AUC, 0.526; PRS-4 AUC, 0.625) (Fig. 3).

DISCUSSION

In the present study, we tested four previously published PRSs derived from high-powered GWAS of various osteoporosis-related traits. By comparing the results in a group of patients with osteoporosis and in the control Spanish population, we demonstrate that three of the four PRSs tested are significantly associated with osteoporosis. So, our findings confirm that genetic profiling may help in the identification of osteoporosis, although their discriminative capacity is only moderate and their clinical relevance is still to be demonstrated.

The seminal study conducted by Estrada et al. back in 2012 was the largest GWAS on osteoporosis to that date and identified a total of 63 genetic variants associated with femur neck BMD. They showed that their genetic score predicted the risk of osteoporosis (1.56 odds for osteoporosis of women in the highest bin). The prediction ability was small, with an area under the curve (AUC) of 0.59 with the genetic score alone for osteoporosis (4). In the present study the odds ratio was 1.83 for osteoporosis in the last quartile with an AUC of 0.645 with the genetic score alone. Thus, these results appeared to be somewhat better compared to those from the original study. Hence, this predictive model might be of interest for the Spanish population.

More recently, Forgetta et al. created a PRS model trained with LASSO including 21 717 from a total of 345 111 SNPs significantly associated with ultrasound speed of sound (SOS), which decreased the number of people requiring CRF-FRAX and BMD-FRAX assessments (7). The prediction model, known as gSOS, can improve fracture risk prediction. Thus, a lower gSOS that is related to a lower SOS, was associated to a higher rate of major osteoporotic and hip fractures in European populations (8). The authors showed that the population in the quartile with the lowest gSOS had an odds ratio of 1.68 for major osteoporotic fracture risk and 1.57 for hip fracture. They also demonstrated that gSOS predicts major osteoporotic fracture and hip fracture with an AUC of 0.734 and 0.798,

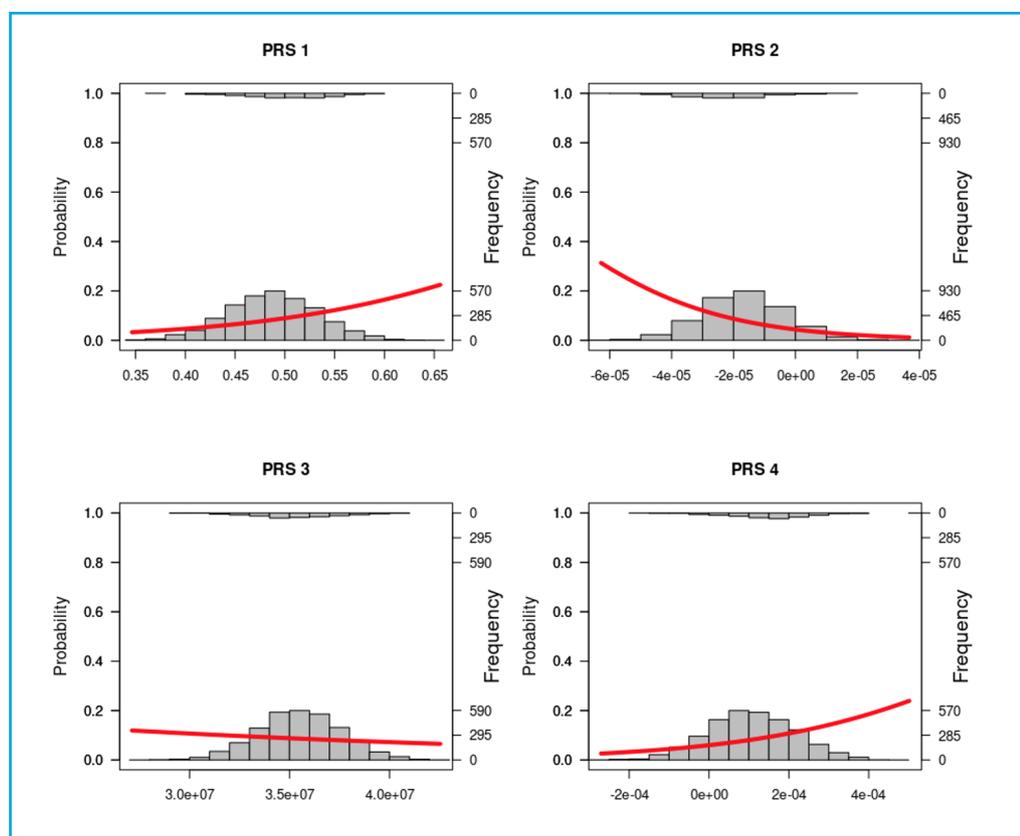


Figure 2. Frequency and linear logistic plots with the controls as zero (the bottom) and the cases as one (the top) for each PRS tested in the manuscript. Left axis is the probability of being control or cases according to the linear logistic regression. Whereas, the right axis shows the frequency of each group in a score range. The X axis scores corresponds to the PRS obtained.

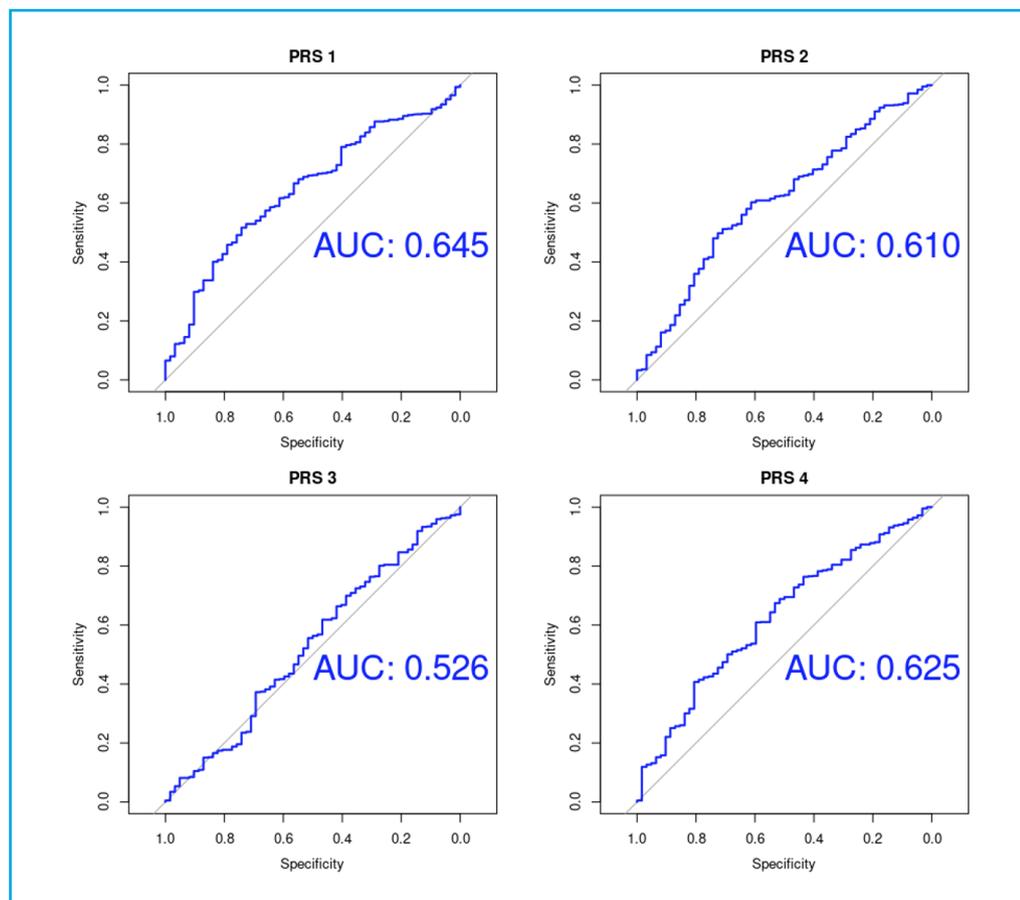


Figure 3. ROC curves for each PRS tested in the manuscript. Area under the curve (AUC) is shown in the center of each plot.

respectively. In our data, people with PRS score in the first quartile had a 2.11-fold risk of osteoporosis and an AUC of 0.61. The AUC is not as high as the one from the reference article. However, we could not use the fractures as a dependent variable because we did not have those data. Hence, our comparisons were not as clean as theirs in terms of the dependent variable.

The UK Biobank project is a noteworthy program that permits to study GWAS data with different phenotypes in a large number of individuals from the UK overall population (11). Thanks to these genetic and phenotypic data, various PRSs have been created. A study conducted by Rivas et al. proposed up to 813 PRSs models to predict over 1500 traits with genetic and phenotypic data from the UK Biobank including 2 PRSs models related to osteoporosis identified as PGS001273 and PGS001274 in the Polygenic Score Catalog (www.pgscatalog.org). Both have been trained with data from more than 260 000 individuals with European ancestry. The first one has been related to 'osteoporosis' ($n = 316$ SNPs) whereas the second one is associated with 'osteoporosis without pathological fracture' ($n = 1270$). Overall, they have found that the size of the PRS model is related to an increased predictive power. Thus, with the score model, they obtained an AUC of 0.629 and 0.718 in PGS001273 and PGS001274,

respectively (9). In our own study, PGS001273 did not show a significant association with osteoporosis. However, the largest PRS (PGS001274) was associated with osteoporosis (OR of the first quartile vs other quartiles 1.72), and a predictive power with an AUC of 0.625.

The heterogeneity between PRSs predictions is based on the heterogeneity between GWAS results, which are possibly different due to the use of distinct variables, outcome measurement, and the ancestry of samples (12). That is the reason why combining the results of the PRS tested does not improve the levels of prediction. For the same reasons, prediction models validated in each of these studies are somewhat better compared to ones obtained from our own data except for the study conducted by Estrada. This might also be associated with the fact that BMD was used as an outcome measure in Estrada's report and in the present study whereas calcaneal ultrasound was used in the UK Biobank-derived studies. Nevertheless, the predictive ability of the PRSs is low and, nowadays, they must be used as a complement for diagnosis with other clinical parameters such as FRAX scores.

This study has several limitations. We included a well-characterized group of individuals with primary osteoporosis of Spanish ancestry. However, our con-

control group obtained from the Spanish DNA biobank is well characterized according to the ancestry, sex and age. However, there are not data regarding clinical bone factors. As a matter of fact, some of them might present osteoporosis, which would decrease the study power. Also, the limited sample size, particularly of the patients' group, limit the statistical power of the study. This, and the lack of data about the controls, precluded the adjustment of the genetic associations by some relevant clinical factors.

In conclusion, several PRSs show significant differences between the overall Spanish population and patients with osteoporosis. This result supports the concept that PRSs may help identify individuals at risk of osteoporosis. Their exact role alone and in combination with other clinical factors remains to be elucidated.

REFERENCES

1. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, Haas ME, Roselli C, Choi SH, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet* 2018;50(9):1219-24. DOI: 10.1038/s41588-018-0183-z
2. Nguyen TV, Eisman JA. Post-GWAS Polygenic Risk Score: Utility and Challenges. *JBMR Plus* 2020;4(11):e10411. DOI: 10.1002/jbm4.10411
3. Uffelmann E, Huang QQ, Munung NS, de Vries J, Okada Y, Martin AR, et al. Genome-wide association studies. *Nat Rev Methods Primer* 2021;1(1):59. DOI: 10.1038/s43586-021-00056-9
4. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet* 2012;44(5):491-501. DOI: 10.1038/ng.2249
5. Morris JA, Kemp JP, Youlten SE, Laurent L, Logan JG, Chai RC, et al. An atlas of genetic influences on osteoporosis in humans and mice. *Nat Genet*. 2019;51(2):258-66. DOI: 10.1038/s41588-018-0302-x
6. Choi SW, Mak TS, O'Reilly PF. Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. *Nat Protoc*. 2020;15(9):2759-72. DOI: 10.1038/s41596-020-0353-1
7. Forgetta V, Keller-Baruch J, Forest M, Durand A, Bhatnagar S, Kemp JP, et al. Development of a polygenic risk score to improve screening for fracture risk: A genetic risk prediction study. *PLoS Med* 2020;17(7):e1003152. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003152
8. Lu T, Forgetta V, Keller-Baruch J, Nethander M, Bennett D, Forest M, et al. Improved prediction of fracture risk leveraging a genome-wide polygenic risk score. *Genome Med* 2021;13(1):16. DOI: 10.1186/s13073-021-00838-6
9. Tanigawa Y, Qian J, Venkataraman G, Justesen JM, Li R, Tibshirani R, et al. Significant sparse polygenic risk scores across 813 traits in UK Biobank. *PLoS Genet* 2022;18(3):e1010105. DOI: 10.1371/journal.pgen.1010105
10. Robin X, Turck N, Hainard A, Tiberti N, Lisacek F, Sanchez JC, et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics* 2011;12(1):77. DOI: 10.1186/1471-2105-12-77
11. Collins R. What makes UK Biobank special? *Lancet Lond Engl* 2012;379(9822):1173-4. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60404-8
12. Yang TL, Shen H, Liu A, Dong SS, Zhang L, Deng FY, et al. A road map for understanding molecular and genetic determinants of osteoporosis. *Nat Rev Endocrinol* 2020;16(2):91-103. DOI: 10.1038/s41574-019-0282-7

Original

Seguimiento y adherencia al tratamiento antiosteoporótico desde enfermería en una *fracture liaison service*

Leticia Cebollada Gadea, Raquel Laguna Rodrigo, Manuel Jordán Jarque, Rafael Izquierdo Aviñó

Unidad FLS de Prevención de Fracturas. Hospital Provincial Nuestra Señora de Gracia. Zaragoza

Resumen

Introducción: la adherencia al tratamiento antiosteoporótico es fundamental para que la eficacia de los fármacos se reproduzca en la práctica clínica y es un objetivo prioritario para las *fracture liaison service* (FLS).

Objetivos: describir el seguimiento y la adherencia al tratamiento de los pacientes atendidos por nuestra FLS, así como conocer las causas de finalización del seguimiento.

Material y métodos: estudio descriptivo retrospectivo transversal de los pacientes > 50 años con fractura osteoporótica atendidos en una FLS de 2016 a 2020. Se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables recogidas mediante el programa SPSS.

Resultados: la muestra fue de 1280 pacientes; el 86,2 % fueron mujeres y el 13,8 % hombres, de los cuales solo un 26,7 % habían recibido tratamiento antiosteoporótico previo. Tras la inclusión en la FLS hubo un incremento de un 59,6 % de pacientes a los que se les instauró tratamiento antiosteoporótico y, respecto al suplemento, hubo un aumento de un 42,6 %. Se llevaron a cabo cuatro seguimientos (a los 5,4 meses, 14,5 meses, 24,3 meses y a los 33,8 meses), obteniendo una buena adherencia al tratamiento del 72,1 %, 80,6 %, 83,1 % y 83,7 % respectivamente y de los suplementos del 90,1 %, 90 %, 88,2 % y 87,1 % respectivamente. Además, las causas de finalización de seguimiento fueron el cumplimiento del programa de seguimiento (21,48 %), éxitus (11,02 %), seguimiento por Atención Primaria (9,53 %), por decisión del paciente (6,48 %), por decisión médica (3,83 %), tratamiento no indicado (3,13 %) y por imposibilidad de realizar el seguimiento (2,73 %).

Conclusiones: la inclusión de estos pacientes en una FLS refleja un alto porcentaje de buena adherencia y mejora el porcentaje de pacientes con fractura osteoporótica a los que se les instaura tratamiento. La causa más frecuente para la finalización del seguimiento fue su continuación por Atención Primaria.

Palabras clave:

Unidades de coordinación de fracturas. Fractura por fragilidad. Adherencia al tratamiento. Tratamiento antiosteoporótico. Gestora de casos.

Recibido: 10/10/2022 • Aceptado: 22/05/2023

Conflictos de interés: los autores Leticia Cebollada Gadea, Raquel Laguna Rodrigo, Manuel Jordán Jarque y Rafael Izquierdo Aviñó, declaran que no tienen conflictos de interés en relación con la publicación de este manuscrito. Asimismo, declaran haber observado los preceptos de la declaración de Helsinki sobre estudios clínico.

Cebollada Gadea L, Laguna Rodrigo R, Jordán Jarque M, Izquierdo Aviñó R. Seguimiento y adherencia al tratamiento antiosteoporótico desde enfermería en una *fracture liaison service*. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):72-80

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00017

Correspondencia:

Rafael Izquierdo Aviñó. Unidad FLS de Prevención de Fracturas. Hospital Provincial Nuestra Señora de Gracia. C/ de Santiago Ramón y Cajal, 60. 50004 Zaragoza
e-mail: drizquierdo@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la osteoporosis (OP) como una enfermedad crónica caracterizada por una masa ósea baja y un deterioro de la micro arquitectura del tejido óseo, que conducen a una mayor debilidad ósea y a un aumento del riesgo de fracturas (1,2).

La prevalencia de la osteoporosis va en aumento debido a la expansión progresiva del envejecimiento en nuestra población y se calcula que provoca anualmente 9 millones de fracturas en todo el mundo, constituyendo un grave problema de salud pública con una importante repercusión médica, social y económica (1-5). Se denomina enfermedad silenciosa porque cursa de forma asintomática y su primera manifestación clínica o signo centinela suele ser una fractura por fragilidad (1-4,6,7).

La fractura por fragilidad (FF) se define como una fractura sin traumatismo o con un traumatismo de baja energía, es decir uno provocado por una caída desde una altura correspondiente a la bipedestación o menos (1,8). Y se estima que aproximadamente una de cada tres mujeres y uno de cada cinco hombres mayores de 50 años tendrán al menos una durante su vida (1,6,8).

El factor más predictivo de una FF es la presencia de una fractura previa, ya que aumenta entre 2 y 5 veces el riesgo de una fractura posterior o refractura en los siguientes dos años (9,10). Este aumento de riesgo se denomina riesgo inminente de fractura y puede desencadenar lo que los expertos llaman una cascada de fracturas (6,8-11).

A pesar de todo esto y de la amplia gama de tratamientos antiosteoporóticos (TAO), se ha encontrado la existencia de una "brecha en el tratamiento", definiéndose esta como el porcentaje de personas elegibles que no reciben tratamiento con medicamentos para la osteoporosis (12,13). De acuerdo con diferentes estudios publicados, se estima que entre un 63-80 % de las personas que presentan una fractura por fragilidad no reciben ningún tipo de tratamiento considerándose, por tanto, la osteoporosis una enfermedad posiblemente infradiagnosticada e infratratada (6,8,13-16).

Además, de la brecha en el tratamiento, un grave problema es la falta de adherencia terapéutica y se observa claramente con el uso de los bisfosfonatos orales, que es el agente farmacológico más prescrito (6,7,10,17-19).

La adherencia al tratamiento hace referencia al cumplimiento y es de gran importancia para que la eficacia de los fármacos se reproduzca en la práctica clínica (2,18,20,21). Los factores que influyen en ella son diversos, complejos y multidimensionales, y algunos están relacionados con el propio tratamiento y su pauta de administración, y otros con el estado cognitivo y los conocimientos de los pacientes (2,14,18,20,21).

Por todo ello, ante la necesidad urgente de aplicar medidas para mejorar esta situación, en 2013 la International Osteoporosis Foundation (IOF) recomienda la implementación, siempre que fuera posible, de las *fracture liaison service* (FLS) como una estrategia global para la prevención secundaria de fracturas, pero según la propia IOF, solo existen FLS en menos del 10 % de los hospitales de España (1,11,22).

El modelo de las FLS se ha vuelto cada vez más común. Existen varios tipos de FLS según el modelo de atención empleado: tipo A, B, C y D. El tipo A representa un enfoque coordinado de la prevención secundaria de fracturas por fragilidad y cuenta con un coordinador central que identifica, investiga, e inicia el tratamiento, así como con un programa de seguimiento en los pacientes incluidos en la FLS (6,13,23,24). Este enfoque comienza con la identificación de los pacientes mayores de 50 años con una FF reciente, seguida de la evaluación de los factores de riesgo clínico para posteriores fracturas, así como de las posibles causas de osteoporosis secundaria, y el inicio de tratamiento y seguimiento adecuado a largo plazo para mejorar la adherencia a la terapia antiosteoporótica (3,11,12,25).

Varios estudios han demostrado la eficacia y efectividad de las FLS en diversos aspectos del manejo de las FF como: en la identificación de los pacientes y el aumento en las tasas de inicio de tratamiento (38 % frente a 17,2 %), y en la adherencia tras una fractura (57 % frente al 34,1 %), reduciendo el riesgo de presentar nuevas fracturas (3,6,8,11,24,26).

El objetivo de este estudio es describir el seguimiento y la adherencia al tratamiento antiosteoporótico y a los suplementos en nuestra FLS, así como conocer las causas de finalización del seguimiento. Adicionalmente, conocer el porcentaje de pacientes a los que se les inicia tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigaciones Científicas de Aragón (CEICA) del Gobierno de Aragón mediante dictamen favorable con fecha 28/09/2016 y todos los pacientes incluidos recibieron una hoja de información y firmaron un consentimiento informado.

Se ha llevado a cabo un estudio descriptivo retrospectivo transversal de los pacientes atendidos en la FLS del Hospital Provincial Nuestra Señora de Gracia en Zaragoza desde el inicio de esta Unidad en 01/11/2016 hasta el 31/12/2020.

Nuestra FLS corresponde a un modelo de tipo A, en funcionamiento desde noviembre de 2016, y está integrada por: un coordinador médico especialista en

Traumatología, una médica especialista en Geriátrica y Gerontología, una enfermera gestora de casos y un técnico de Cuidados de Enfermería y tareas administrativas.

Los criterios de inclusión en nuestra FLS son los siguientes: pacientes de edad mayor o igual de 50 años pertenecientes al Sector de Salud I de Zaragoza y presentar alguna de las siguientes categorías diagnósticas CIE-9 MC (Clasificación Internacional de Enfermedades): fractura vertebral (805 y 806), fractura de pelvis (808), fractura de húmero proximal (812), fractura de radio y cúbito distal (813), fractura del cuello de fémur (820, 821). Todos los pacientes son identificados a través del registro de asistencia al servicio de urgencias del hospital y son captados mediante citación a una consulta semanal en la que se les ofrece de forma voluntaria la inclusión en la Unidad.

Nuestro protocolo de seguimiento incluye controles telefónicos o presenciales durante, al menos, los 2 años siguientes al inicio del tratamiento (a los 6 meses, 1 año y 2 años tras el inicio del tratamiento). Diversos factores como la evolución clínica de los pacientes, cambios en el tratamiento y detección de fracturas durante el seguimiento, condiciona un incremento del tiempo de seguimiento personalizado. Para este estudio, se han revisado los controles realizados a la muestra seleccionada en cuatro ocasiones diferentes, durante los tres años posteriores a su inclusión y en

alguna ocasión de mayor duración, comprobándose así la adherencia terapéutica al TAO y/o suplementos instaurados.

Este seguimiento se realizó mayoritariamente por la enfermera gestora de casos de forma presencial o telefónica. Para evaluar la adherencia al TAO y a los suplementos durante los distintos seguimientos se utilizó un cuestionario que calificaba como buena adherencia si tomaba el TAO más del 80 % de las veces, regular si lo tomaba entre el 50 y 80 % y, mala si lo tomaba en menos del 50 % de las veces. Además, se hacía hincapié en la tolerancia o no, tanto del TAO como de los suplementos.

Un aspecto importante del seguimiento fue la educación y concienciación del paciente, realizada por la enfermera gestora de casos a través de una información escrita detallada en el informe clínico al inicio de tratamiento y en seguimientos presenciales y de forma verbal durante los seguimientos telefónicos, destacando la importancia del tratamiento en lo referente al riesgo de sufrir una nueva fractura y las implicaciones en la calidad de vida e independencia de los pacientes.

De una muestra inicial de 1398 pacientes recogidos durante el periodo de estudio, la muestra final del estudio fue de 1280 pacientes, explicándose de forma detallada las exclusiones realizadas en la figura 1.

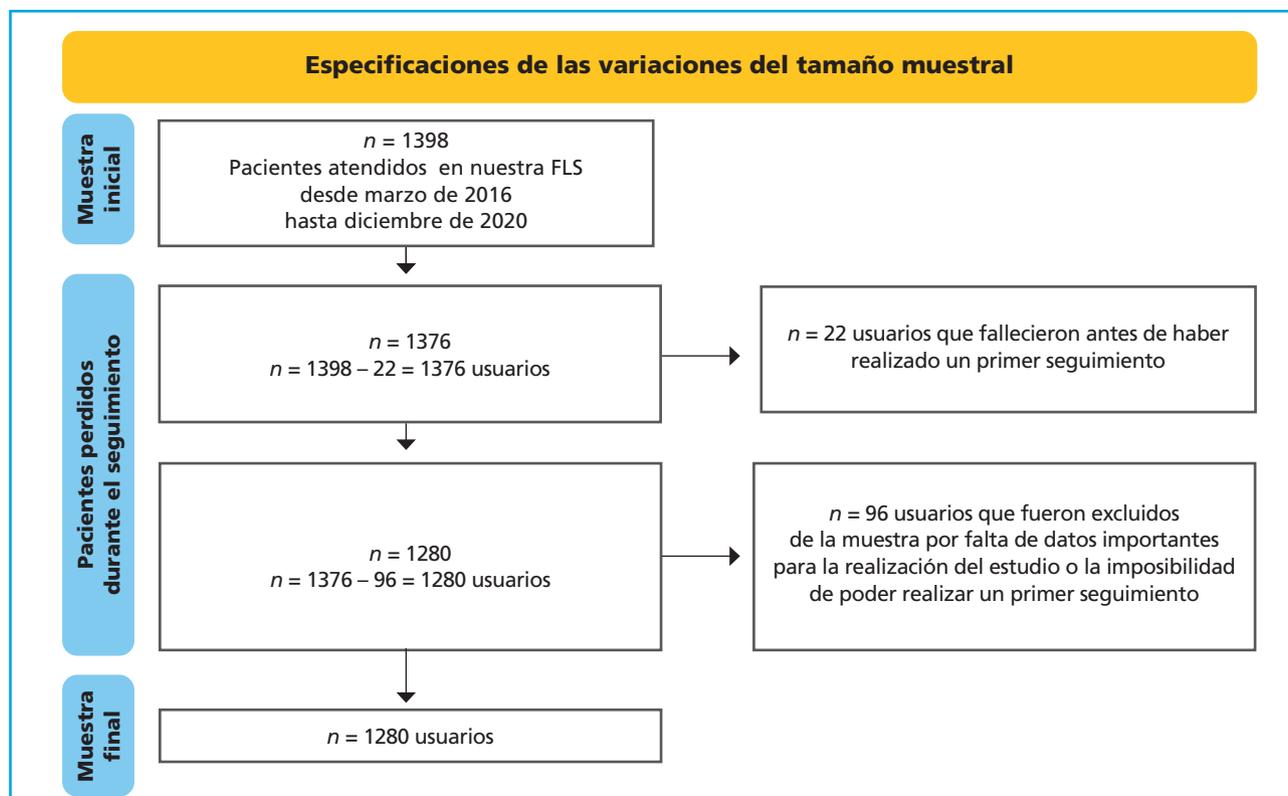


Figura 1. Especificaciones de las variaciones del tamaño muestral.

Se creó una base de datos en el programa SPSS de las variables demográficas, clínicas, de inicio, seguimiento y adherencia al tratamiento antiosteoporótico y/o suplementos, de causas de finalización del seguimiento, así como del riesgo de fractura recogidas para realizar un análisis descriptivo de estas variables.

Las variables analizadas en nuestro estudio incluyen las siguientes: demográficas (sexo, edad y éxitus), clínicas generales (talla, peso, índice de masa corporal), antecedentes médicos relevantes (tales como el tratamiento con glucocorticoides en los últimos 6 meses y enfermedades orgánicas que pueden disminuir la densidad mineral ósea u otros trastornos relacionados con el riesgo de caídas). Para la valoración del riesgo de fractura mediante herramienta FRAX®, se siguieron las pautas publicadas por Azagra y cols. (27), que ajustaron el FRAX® para una población de Barcelona, describiendo unos umbrales que estratifican el riesgo de fractura principal en $< 5\%$ para un riesgo bajo, $\geq 5\%$ y $< 7,5\%$ para un riesgo intermedio y $\geq 7,5\%$ para riesgo alto de fractura (23,27); se documentaron el número de caídas el año previo a la fractura índice, localización de fracturas índices y existencia de fractura previa.

Respecto a la variable de suplementos instaurados en la FLS, se realizó un cálculo de los miligramos del calcio ingerido en la dieta mediante una calculadora de ingesta de calcio.

Se recogieron las variables de adherencia y tolerancia al TAO y suplementos en los cuatro seguimientos realizados. Finalmente, se analizó la variable de las causas de fin de seguimiento: cumplimiento del programa FLS, seguimiento por MAP (derivación del seguimiento a su médico de atención primaria por diversas razones como: preferencia del paciente, instauración de suplementos únicamente, etc.), imposibilidad de realizar seguimiento (imposibilidad de contactar con el paciente durante los seguimientos programados), por decisión médica (cuando la finalización había sido indicada por algún clínico que atendiese al paciente, ya fuera el coordinador de la FLS u otro facultativo médico atendiendo al paciente por otras causas), éxitus, abandono del tratamiento por decisión del paciente y tratamiento no indicado.

Las variables cuantitativas se analizaron como media \pm desviación típica. Las variables cualitativas como frecuencia absoluta y porcentaje. Se realizó un análisis estadístico descriptivo univariable con el programa "SPSS Statistics" versión 22 para Mac, estableciéndose una significación estadística en una $p < 0,05$.

RESULTADOS

De los 1280 pacientes seleccionados para nuestro estudio, 1103 (86,2 %, IC95 %: 84,16-88,02) fueron mujeres y 177 (13,8 %, IC95 %: 11,98-15,84) fueron hombres,

siendo la edad media de $82,1 \pm 9,9$ años (prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov $p < 0,05$). La edad media en los hombres fue de $84,3 \pm 8,3$ años y en las mujeres de $81,7 \pm 10,2$ años.

En la tabla I, se muestra un análisis descriptivo de las variables clínicas estudiadas.

Todos los pacientes de nuestra muestra tuvieron, al menos, una fractura índice, y esta condición era indispensable para ser incluidos en la FLS. Asimismo, un 6,3 % presentaron dos fracturas índices y un 1,9 % tres fracturas índices en el momento de la captación. Además, el 39,1 % ya había sufrido algún tipo de fractura previa con anterioridad a la fractura índice. De los pacientes con antecedente de fractura previa anterior a la fractura índice, el 30,5 % había tenido una fractura mayor (5,3 % de cadera, 5,2 % humero, 7,7 % de muñeca, 12,1 % de vertebra) y el restante 8,5 % en otras localizaciones.

Respecto a las caídas previas, en las que también incluimos la caída por la cual son derivados a nuestra FLS, se obtuvo una cifra media de 1,7 caídas en el año previo a su inclusión.

En lo referente al tratamiento, solo un 26,7 % de los pacientes habían recibido TAO y un 34,8 % habían recibido suplementos, previo a la inclusión. Tras la evaluación en la FLS, el 83,3 % recibieron TAO y el 77,4 % suplementos. El fármaco que más se prescribió en los pacientes tras su inclusión en la FLS fue el alendronato (44,9 %), seguido de denosumab (40,6 %), risedrónico (6,8 %), teriparatida (7,6 %) y zoledrónico intravenoso (0,1 %). Al 63,1 % de los pacientes se les instauró suplementos combinados de calcio y vitamina D y al 36,9 % se les instauró vitamina D.

En nuestro estudio encontramos que la media desde el inicio del tratamiento hasta el primer seguimiento fue de $5,4 \pm 4,8$ meses. La media desde el inicio del tratamiento hasta el segundo fue de $14,5 \pm 7,4$ meses, la media desde el inicio del tratamiento hasta el tercer seguimiento fue de $24,3 \pm 8,9$ y la media desde el inicio del tratamiento hasta el cuarto seguimiento fue de $33,8 \pm 14,0$ meses.

Por otro lado, respecto a la continuidad en el seguimiento, de los 1280 usuarios de la FLS que recibieron un primer control, 933 (72,9 %) tuvieron un segundo seguimiento, 551 (43 %) un tercer seguimiento y, finalmente, 209 (16,3 %) hasta un cuarto control.

En la tabla II se especifica el tipo de seguimiento realizado en cada control, así como la adherencia al TAO y a los suplementos, y la tolerancia a ambos en cada seguimiento. Se observó una adherencia calificada como buena al TAO en los seguimientos 1.º, 2.º, 3.º y 4.º del 72,1 %, 80,6 %, 83,1 % y 83,7 % respectivamente. Con respecto a los suplementos, se observó una adherencia calificada como buena en los seguimientos 1.º, 2.º, 3.º y 4.º del 90,1 %, 90 %, 88,2 % y 87,1 % respectivamente.

En cuanto a la tolerancia, las cifras obtenidas para el TAO superaban el 88 % en todos los seguimientos menos en el 1.º (77,4 %); para los suplementos, la tolerancia fue superior al 94 % en todos los seguimientos realizados.

En el momento de la recogida de datos, el 41,8 % continuaban incluidos en el programa de seguimiento y en un 58,2 % se había finalizado el seguimiento. Respec-

to a las causas de finalización de seguimiento, la razón más frecuente fue por el cumplimiento del programa de seguimiento de la FLS (21,48 %) seguido de éxitos (11,02 %), seguimiento por Atención Primaria (9,53 %), por decisión del paciente (6,48 %), por decisión médica (3,83 %), tratamiento no indicado (3,13 %) y por imposibilidad de contactar al paciente para realizarlo (2,73 %). La distribución porcentual de las causas de fin de seguimiento se recoge en la figura 2.

Tabla I. Variables clínicas y localización de fracturas índice 1 y 2, así como existencia de fractura previa a la FLS

	n % 1280	%	IC 95 %
Talla (n = 1181)		Media: 1,6 m ± 0,1	
Peso (n = 1180)		Media: 66,7 kg ± 12,4	
IMC (n = 1180)		Media: 27,2 ± 4,8	
<i>IMC según la OMS (n = 1259)</i>			
Bajo peso	21	1,7 %	1,0-2,5
Normopeso	423	33,6 %	31,0-36,3
Sobrepeso	492	39,1 %	36,4-41,8
Obesidad grado I	241	19,1 %	17,0-21,4
Obesidad grado II	67	5,3 %	4,2-6,7
Obesidad grado III	15	1,2 %	0,7-2,0
<i>Antecedentes médicos (relevantes)</i>			
Sí	912	71,3 %	68,7-73,7
No	368	28,7 %	26,3-31,3
<i>Éxito (durante el periodo de estudio)</i>			
Sí	141	11 %	9,4-12,9
No	1139	89 %	87,1-90,8
<i>Riesgo de fractura FRAX (n % 1058)</i>			
Bajo	54	5,1 %	3,9-6,6
Intermedio	140	13,2 %	11,3-15,4
Alto	864	81,7 %	79,2-84,0
<i>Caidas año previo a Fx índice</i>		Media: 1,7 caídas en el año previo a la Fractura índice	
Sí		1230 96,1 % 94,9-98,0	
No		50 3,9 % 2,9-5,1	
<i>Localización Fx. índice 1</i>			
Cadera	570	44,5 %	41,8-47,3
Húmero	175	13,7 %	11,8-15,7
Muñeca/Radio	246	19,2 %	17,1-21,5
Vértebra	229	17,9 %	15,8-20,1
Otros	60	4,7 %	3,6-6,0
<i>Localización Fx. índice 2</i>			
Cadera	1	0,1 %	0,0-0,4
Húmero	11	0,9 %	0,4-1,5
Muñeca/Radio	10	0,8 %	0,4-1,4
Vértebra	2	0,2 %	0,0-0,6
Otros	28	2,2 %	1,5-3,2
No	1228	95,9 %	94,7-97,0
<i>Existencia de Fx. previa 1</i>			
Sí	500	39,1 %	37,9-41,3
No	780	60,9 %	58,2-63,6

IMC: índice de masa corporal; Fx: fractura; OMS: Organización Mundial de la Salud; FLS: fracture liaison service.

Tabla II. Adherencia y tolerancia de TAO y suplementos por seguimientos

	Seguimiento 1 (n = 1280)	Seguimiento 2 (n = 933)	Seguimiento 3 (n = 551)	Seguimiento 4 (n = 209)
<i>Tipo de seguimiento:</i>				
Presencial	867 (67,7 %)	324 (34,7 %)	104 (18,9 %)	28 (13,4 %)
Telefónico	413 (32,3 %)	609 (65,3 %)	447 (81,1 %)	181 (86,6 %)
<i>Adherencia al TAO:</i>				
Buena	923 (72,1 %)	752 (80,6 %)	458 (83,1 %)	174 (83,7 %)
Regular	18 (1,4 %)	20 (2,1 %)	8 (1,5 %)	4 (1,9 %)
Mala	82 (6,4 %)	73 (7,8 %)	55 (10 %)	21 (10,1 %)
No precisa	257 (20,1 %)	88 (9,4 %)	30 (5,4 %)	9 (4,3 %)
<i>Tolerancia al TAO:</i>				
Sí	991 (77,4 %)	824 (88,3 %)	509 (92,4 %)	195 (93,3 %)
No	32 (2,5 %)	21 (2,3 %)	12 (2,2 %)	5 (2,4 %)
No procede	257 (20,1 %)	88 (9,4 %)	30 (5,4 %)	9 (4,3 %)
<i>Adherencia al suplemento:</i>				
Buena	1153 (90,1 %)	840 (90 %)	486 (88,2 %)	182 (87,1 %)
Regular	19 (1,5 %)	19 (2 %)	5 (0,9 %)	4 (1,9 %)
Mala	69 (5,4 %)	53 (5,7 %)	48 (8,7 %)	13 (6,2 %)
No precisa	39 (3 %)	21 (2,3 %)	12 (2,2 %)	10 (4,8 %)
<i>Tolerancia al suplemento:</i>				
Sí	1219 (95,2 %)	896 (96 %)	529 (96 %)	198 (94,7 %)
No	22 (1,7 %)	16 (1,7 %)	10 (1,8 %)	1 (0,5 %)
No procede	39 (3 %)	21 (2,3 %)	12 (2,2 %)	10 (4,8 %)

TAO: tratamiento antiosteoporótico.

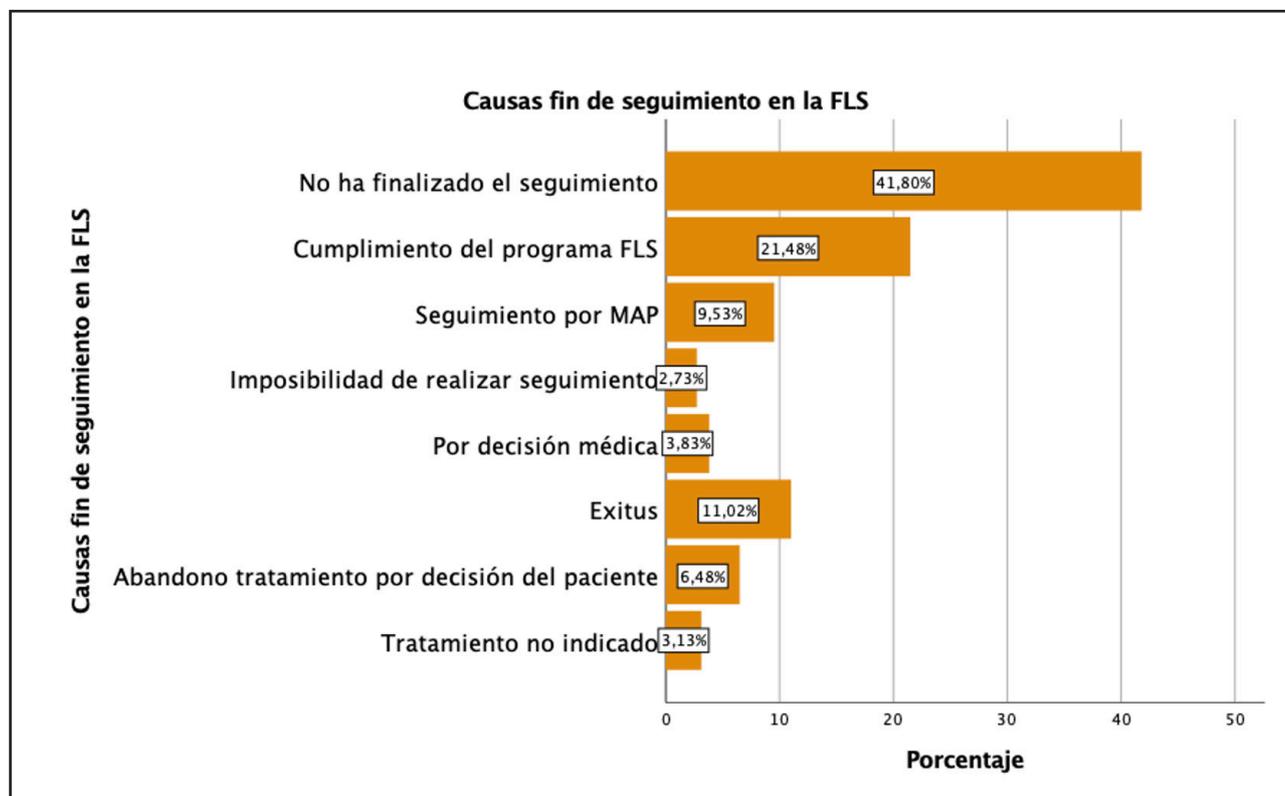


Figura 2. Causas fin de seguimiento de los usuarios atendidos en la FLS (en porcentajes) (FLS: fracture liaison service).

DISCUSIÓN

El presente estudio recoge la experiencia obtenida con la implantación de una FLS en nuestro hospital a la hora de determinar el perfil básico de los pacientes atendidos en la Unidad y muestra los datos obtenidos relativos al seguimiento y la adherencia al tratamiento antiosteoporótico y a los suplementos de calcio y vitamina D.

Respecto a la existencia de fracturas previas antes de la fractura índice por la que son captados en nuestra FLS, un 39,1 % habían sufrido una fractura previa (en algunos casos, hasta 3 fracturas previas), datos superiores a los publicados por Ojeda (23), donde solo encuentran fractura previa en el 19 % de los usuarios.

Conviene destacar el hecho de que la media del IMC de nuestra muestra fue de 27,21 kg/m², resultados similares a los obtenidos por Azagra y cols. (27). Además, solamente el 1,7 % de nuestros pacientes presentaba un IMC < 18,5 kg/m², datos similares al estudio de Naranjo y cols. (28) que obtuvieron un 1,4 % con ese rango de IMC. En nuestro caso, el 64,7 % de los pacientes presentaban sobrepeso u obesidad.

Un 81,7 % de la muestra tenía un alto riesgo de fractura, algo que encajaría con el perfil de pacientes atendidos en una FLS que ya han sufrido, al menos, una fractura y pone de manifiesto la importancia que la fractura previa tiene en la determinación del riesgo de sufrir una nueva fractura y refuerza la importancia de instaurar tratamiento antiosteoporótico lo antes posible, conclusiones a las que llegan también estudios realizados por Walters y cols. (6), De Bruin y cols. (12), Borgström y cols. (13) y Wu y cols. (11).

Así pues, el perfil de paciente que es valorado en nuestra Unidad correspondería típicamente a una mujer de unos 82 años de edad que ha sufrido una fractura osteoporótica índice, con sobrepeso y antecedentes médicos relevantes para osteoporosis, con un alto riesgo de fractura en FRAX y sin tratamiento antiosteoporótico, a pesar de que casi un 40 % habían sufrido una fractura anterior a la fractura índice.

Nuestro estudio refleja una cifra elevada de fracturas de cadera como fractura índice, un 44,5 %. Esto puede ser debido por una parte a que, en el hospital donde se ubica nuestra FLS, existe una unidad de ortogeriatría con la que se trabaja coordinadamente para la prevención secundaria de fracturas y, por otra parte, al hecho habitual en la mayoría de las FLS de que resulta más fácil captar fracturas de cadera, puesto que estos pacientes precisan de un ingreso hospitalario. En nuestro caso, además, durante el primer año de actividad de la Unidad, la captación se centró casi exclusivamente en la fractura de cadera. Nuestros resultados difieren de otros publicados que presentan diferentes modelos de FLS y grados de captación, como el trabajo realizado por Luc y cols. (8), donde solamente tienen un 9 % de pacientes con fracturas índice de cadera, o como

el de Borgström y cols. (13), que solamente obtuvieron un 19,6 % entre sus participantes.

La media de caídas sufridas por nuestros pacientes fue de 1,7 en el año previo a la inclusión en la FLS (incluyendo la que provocó la fractura índice). Pensamos que este dato está infraestimando ampliamente el número real de caídas previas, puesto que estos datos son recogidos de forma retrospectiva de los propios pacientes o familiares/cuidadores que, con frecuencia, no recuerdan las caídas acontecidas al no haber tenido la relevancia clínica de una fractura.

Con respecto al tipo de tratamiento iniciado, destaca un alto porcentaje de tratamiento con alendronato (44,9 %) de acuerdo con las recomendaciones de las guías clínicas nacionales en ese periodo de tiempo y en línea con la publicación de Walters y cols. (6). El alto porcentaje de tratamientos con Denosumab (40,6 %) está en consonancia con el hecho de que un alto porcentaje son pacientes muy mayores, un porcentaje elevado de fracturas de cadera, polimedicados y con abundante patología asociada, así como el hecho de que en nuestra FLS no se administra zoledrónico intravenoso, excepto en algunos casos muy excepcionales.

Por otro lado, estudios como el de Gómez-Navarro y cols. (4), el de Walters y cols. (6) y el de Ojeda (23) resaltan el elevado porcentaje de pacientes que no toman tratamiento farmacológico de ningún tipo antes de ser incluidos en las FLS. Nuestro estudio refleja cifras similares. En concreto el 73,3 % de nuestros pacientes no seguían ningún tratamiento farmacológico previo. Estos datos son similares a otros estudios que valoran la brecha de tratamiento, como el de Hiligsmann y cols. (14) donde estimaron que la brecha del tratamiento en 2019 estaba entre un 25-95 % en los países europeos y, según el informe de la IOF de 2021 la brecha de tratamiento en pacientes de alto riesgo fue del 71 % de media. Sin embargo, al diferenciar por sexo, el 71,5 % de las mujeres y el 84,2 % de los hombres no tomaban tratamiento previo, datos algo diferentes a los publicados por Borgström y cols. (13) que observaron en 2020 que la brecha de tratamiento en Europa fue mayor en mujeres (73 %) que en hombres (63 %). Nuestro estudio evidencia un escaso porcentaje de pacientes en tratamiento antiosteoporótico previo en el momento de sufrir la fractura índice (un 26,7 %), pero no se pudo obtener información fiable acerca de la prescripción de dicho tratamiento en los pacientes con fractura previa o sin ella para comprobar si la diferencia entre ambos grupos era significativa.

Los datos obtenidos muestran que hubo un aumento de pacientes que recibió tratamiento antiosteoporótico y suplemento tras ser atendidos en nuestra FLS. En concreto, respecto al TAO, hubo un aumento de un 59,6 % y, respecto al suplemento, hubo un aumento de un 42,6 %. Este aumento en el porcentaje de pacientes con tratamiento tras el ingreso en la FLS también los encontramos en los resultados obtenidos por Axelsson y cols. (29).

En cuanto a los seguimientos realizados se comprobó que se habían ajustado razonablemente al protocolo inicial, aunque con unas horquillas temporales demasiado amplias con respecto a la media.

En lo referente a la adherencia al tratamiento y suplementos evaluada en cada seguimiento, consideramos que el programa de seguimiento de nuestra FLS fue determinante para que en nuestro estudio se obtuviera una buena adherencia al TAO y a los suplementos. Los datos de buena adherencia obtenidos durante el cómputo total de seguimiento nos parecen satisfactorios, en comparación con lo comentado anteriormente acerca de la brecha de tratamiento en aquellos pacientes no incluidos en programas de FLS. En el primer seguimiento una buena adherencia fue constatada en el 72,1 % de los pacientes atendidos, aumentando esta cifra en los siguientes seguimientos. En el segundo la buena adherencia al TAO fue del 80,6 %, en el tercero fue del 83,1 % y en el cuarto fue del 83,7 %. Este aumento progresivo de la adherencia conforme transcurre el tiempo también es observado por Walters y cols. (6), sin embargo, son resultados contrarios a los encontrados por Ojeda (23) y por Naranjo y cols. (28), puesto que estos últimos no aprecian diferencia significativa en los porcentajes de buena adherencia entre los seguimientos. Conviene reseñar que la muestra del estudio refleja el número de pacientes incluidos en la FLS entre el periodo 2016-2020 y, por tanto, un porcentaje de los pacientes incluidos en 2019 y 2020 no habrían cumplido 2 años desde su inclusión y no pueden tener un tercer o cuarto seguimiento. Llama la atención la cifra más baja de adherencia obtenida en el primer seguimiento en comparación con los siguientes. No conocemos la razón exacta, pero podría deberse al hecho de que los efectos adversos e intolerancias al tratamiento instaurado aparecen al principio del tratamiento y hasta que no son visitados (presencial o telefónicamente) en el primer seguimiento y modificado el tratamiento, no se hacen adherentes al mismo.

Por último, en lo relativo a las causas de finalización del seguimiento en nuestra FLS, encontramos como primera causa el haber cumplido el programa de seguimiento (21,48 % de los pacientes) que, en nuestro caso, es habitualmente de 2 años, con algunas excepciones ya comentadas. La segunda causa fue el fallecimiento durante el tiempo del estudio, un 11 % de los casos. Datos similares han sido publicados por Kanis y cols. (26) que encontraron un 15 % de éxitos entre sus participantes. Solo el 6,48 % de los pacientes abandonaron el tratamiento por decisión propia y, por tanto, finalizó su seguimiento. Creemos que este dato probablemente no responda a la realidad y que el porcentaje de abandono de tratamiento está infraestimado ya que los datos obtenidos provienen de los propios pacientes y, por tanto, no garantizan la situación real. Al finalizar el programa de seguimiento, los pacientes pasan a ser controlados por Atención Primaria. La limitada capacidad de seguimiento en el tiempo de una FLS pone de manifiesto la importancia de una buena

relación y comunicación con Atención Primaria para mantener la adherencia al tratamiento más allá del entorno temporal de una FLS.

A pesar de los resultados tan optimistas de nuestro estudio en lo que a adherencia se refiere, debemos tener en cuenta algunas limitaciones de nuestro estudio. En primer lugar, se trata de un estudio retrospectivo lo cual limita la cantidad y calidad de información disponible. Además, la muestra de pacientes obtenida es tratada como un grupo homogéneo de pacientes, algo que no se corresponde con la realidad, ya que diferentes patologías asociadas, estado cognitivo y ayuda social pueden condicionar la capacidad de adherencia del paciente. En segundo lugar, respecto a la evaluación de la adherencia al tratamiento, hay que destacar que la información proviene del propio paciente y puede diferir en mayor o menor medida de la realidad. Además, no se dispuso de información sobre retirada efectiva de los fármacos en las farmacias hasta la implantación de la prescripción farmacológica en la historia clínica electrónica en los últimos meses del periodo estudiado por lo que no es posible sacar conclusiones acerca de la persistencia al tratamiento en el tiempo. Y, por último, es preciso mencionar que no se dispone de un grupo control de pacientes no incluidos en una FLS para poder comparar los resultados.

Por otro lado, una de las fortalezas del estudio es el elevado número de pacientes incluidos en la muestra y en cada seguimiento (a pesar de la pérdida progresiva de pacientes), con un programa de seguimiento estructurado por un periodo de tiempo mínimo de hasta dos años, lo que permite obtener unos datos relevantes sobre el impacto de una FLS en la instauración y adherencia al tratamiento.

En conclusión, este estudio describe el impacto de nuestra FLS sobre la instauración del tratamiento antiosteoporótico y sobre la adherencia a dichos tratamientos a lo largo del seguimiento. La inclusión de estos pacientes en una FLS parece mejorar significativamente el porcentaje de pacientes con fractura osteoporótica previa a los que se les instaura tratamiento preventivo. Además, el seguimiento activo desarrollado por la enfermera gestora de casos podría ser un determinante a la hora de mejorar la adherencia al tratamiento en los primeros años tras la fractura, disminuyendo el riesgo de refractura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pennestrì F, Corbetta S, Favero V, Banfi G. Fragility Fracture Prevention-Implementing a Fracture Liaison Service in a High Volume Orthopedic Hospital. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16(24):4902. DOI: 10.3390/ijerph16244902
2. Garcia E, Fuentes JE. Adherencia y cumplimiento al tratamiento de la osteoporosis. *Farma Journal* 2016;1(2):125-32.

3. Noordin S, Allana S, Masri BA. Establishing a hospital based fracture liaison service to prevent secondary insufficiency fractures. *Int J Surg* 2018;54(Pt B):328-32. DOI: 10.1016/j.ijsu.2017.09.010
4. Gómez Navarro R, González García P, Martín Hernández C, Castro Sauras A, Valdearcos Enguidanos S. Prevención primaria y secundaria de la fractura de cadera por fragilidad ósea en la población del sector sanitario Teruel. *Rev Esp Salud Pública* 2017;9.
5. Amphansap T, Stitkitti N, Dumrongwanich P. Evaluation of Police General Hospital's Fracture Liaison Service (PGH's FLS): The first study of a Fracture Liaison Service in Thailand. *Osteoporos Sarcopenia* 2016;2(4):238-43. DOI: 10.1016/j.afos.2016.09.002.
6. Walters S, Khan T, Ong T, Sahota O. Fracture liaison services: improving outcomes for patients with osteoporosis. *Clin Interv Aging* 2017;12:117-27. DOI: 10.2147/CIA.S85551
7. Jaleel A, Saag KG, Danila MI. Improving drug adherence in osteoporosis: an update on more recent studies. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 2018;10 (7):141-9. DOI: 10.1177/1759720X18785539
8. Luc M, Corriveau H, Boire G, Filiatrault J, Beaulieu MC, Gaboury I. Patient-Related Factors Associated with Adherence to Recommendations Made by a Fracture Liaison Service: A Mixed-Method Prospective Study. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15(5):944. DOI: 10.3390/ijerph15050944
9. Nakayama A, Major G, Holliday E, Attia J, Bogduk N. Evidence of effectiveness of a fracture liaison service to reduce the re-fracture rate. *Osteoporos Int* 2016;27(3):873-9. DOI: 10.1007/s00198-015-3443-0
10. Skjødt MK, Khalid S, Ernst M, Rubin KH, Martinez-Laguna D, Delmestri A, et al. Secular trends in the initiation of therapy in secondary fracture prevention in Europe: a multi-national cohort study including data from Denmark, Catalonia, and the United Kingdom. *Osteoporos Int* 2020;31 (8):1535-44. DOI: 10.1007/s00198-020-05358-4
11. Wu CH, Tu ST, Chang YF, Chang DC, Chien JT, Lin CH, et al. Fracture liaison services improve outcomes of patients with osteoporosis-related fractures: A systematic literature review and meta-analysis. *Bone* 2018;111:92-100. DOI: 10.1016/j.bone.2018.03.018
12. De Bruin IJA, Wyers CE, van den Bergh JPW, Geusens PPM. Fracture liaison services: do they reduce fracture rates? *Ther Adv Musculoskelet Dis* 2017;9(7):157-64. DOI: 10.1177/1759720X17706464
13. Borgström F, Karlsson L, Ortsäter G, Norton N, Halbout P, Cooper C, et al. Fragility fractures in Europe: burden, management and opportunities. *Arch Osteoporos* 2020;15(1):59. DOI: 10.1007/s11657-020-0706-y
14. Hiligsmann M, Cornelissen D, Vrijens B, Abrahamsen B, Al-Daghri N, Biver E, et al. Determinants, consequences and potential solutions to poor adherence to anti-osteoporosis treatment: results of an expert group meeting organized by the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO) and the International Osteoporosis Foundation (IOF). *Osteoporosis International* 2019;30(11):2155-65. DOI: 10.1007/s00198-019-05104-5
15. Heyman N, Etzion I, Ben Natan M. A coordination project for improvement of osteoporosis medication use among patients who sustained an osteoporotic fracture: The Israeli experience. *Osteoporos Sarcopenia* 2018;4(4):134-9. DOI: 10.1016/j.afos.2018.11.084
16. Yeap SS, Nur Fazirah MFR, Nur Aisyah C, Zahari Sham SY, Samsudin IN, C Thambiah S, et al. Trends in post osteoporotic hip fracture care from 2010 to 2014 in a private hospital in Malaysia. *Osteoporos Sarcopenia* 2017;3(2):112-6. DOI: DOI: 10.1016/j.afos.2017.05.001
17. García-Sempere A, Hurtado I, Sanfélix-Genovés J, Rodríguez-Bernal CL, Gil Orozco R, Peiró S, et al. Primary and secondary non-adherence to osteoporotic medications after hip fracture in Spain. The PREV2FO population-based retrospective cohort study. *Sci Rep* 2017;7(1):11784. DOI: 10.1038/s41598-017-10899-6
18. Orimo H, Sato M, Kimura S, Wada K, Chen X, Yoshida S, et al. Understanding the factors associated with initiation and adherence of osteoporosis medication in Japan: An analysis of patient perceptions. *Osteoporos Sarcopenia* 2017;3(4):174-84. DOI: 10.1016/j.afos.2017.10.002
19. Fatoye F, Smith P, Gebrye T, Yeowell G. Real-world persistence and adherence with oral bisphosphonates for osteoporosis: a systematic review. *BMJ Open* 2019;9(4)::e027049. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-027049
20. Swart KMA, van Vilsteren M, van Hout W, Draak E, van der Zwaard BC, van der Horst HE, et al. Factors related to intentional non-initiation of bisphosphonate treatment in patients with a high fracture risk in primary care: a qualitative study. *BMC Family Practice* 2018;19(1):141. DOI: 10.1186/s12875-018-0828-0
21. Blanch J, Casado E, González J, Valdés C, Ruiz-Baena J, Palomino R, Nogués X. Percepción de los profesionales médicos respecto a la adherencia terapéutica de los pacientes con osteoporosis. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2016;8(1): 5-23. DOI: 10.4321/S1889-836X2016000100003
22. Axelsson KF, Johansson H, Lundh D, Möller M, Lorentzon M. Association Between Recurrent Fracture Risk and Implementation of Fracture Liaison Services in Four Swedish Hospitals: A Cohort Study. *J Bone Miner Res* 2020;35(7):1216-23. DOI: 10.1002/jbmr.3990
23. Ojeda PS. Programa para la prevención secundaria de la fractura por fragilidad en el Área Norte de Gran Canaria, coordinado por reumatólogos, con la participación de enfermería y en colaboración con atención primaria. [Tesis doctoral]. Gran Canaria: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria; 2016. Recuperado a partir de: <http://hdl.handle.net/10553/19367>
24. Ganda K, Puch M, Chen JS, Speerin R, Bleasel J, Center JR, et al. Models of care for the secondary prevention of osteoporotic fractures: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis Int* 2013;24:393-406. DOI: 10.1007/ss00198-012-2090-y
25. Willers C, Norton N, Harvey NC, Jacobson T, Johansson H, Lorentzon M, et al. Osteoporosis in Europe: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos* 2012;17(23):1-129. DOI: 10.1007/s11657-021-00969-8
26. Kanis JA, Norton N, Harvey NC, Jacobson T, Johansson H, Lorentzon M, et al. SOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe. *Arch Osteoporos* 2021;16(82):1-82. DOI: 10.1007/s11657-020-00871-9
27. Azagra R, Roca G, Martín-Sánchez JC, Casado E, Encabo G, Zwart M, et al. Umbrales de FRAX® para identificar personas con alto o bajo riesgo de fractura osteoporótica en población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2015;144(1):1-8.
28. Naranjo A, Ojeda-Bruno S, Bilbao-Cantarero A, Quevedo-Abeledo JC, Diaz-González BV, Rodríguez-Lozano C. Two-year adherence to treatment and associated factors in a fracture liaison service in Spain. *Osteoporos Int* 2015;26:2579-85. DOI: 10.1007/s00198-015-3185-z
29. Axelsson KF, Jacobsson R, Lund D, Lorentzon M. Effectiveness of a minimal resource fracture liaison service. *Osteoporos Int* 2016;27(11):3165-75. DOI: 10.1007/s00198-016-3643-2

Artículo Especial

Romozumab: confusión respecto a sus indicaciones

Jesús González Macías¹, José Manuel Olmos Martínez^{1,2}

¹Universidad de Cantabria. Santander. ²Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Resumen

El romozumab es, sin duda, un excelente fármaco para el tratamiento de la osteoporosis. No obstante, su elevado precio, muy superior al de los fármacos antirresortivos, hizo que inicialmente se aceptara sin dificultad que su indicación se limitase a pacientes con un riesgo de fractura particularmente elevado. Sin embargo, la aplicación de esta idea en la práctica se ha encontrado con algunos problemas. En primer lugar, para describir tal indicación se han utilizado términos distintos ("riesgo muy alto", "riesgo alto", "osteoporosis grave"), el significado concreto de cada uno de los cuales, además, es diferente para unos y otros autores. Por otra parte, y sin un fundamento científico suficiente, se han ido introduciendo conceptos que pretenden ampliar las indicaciones del fármaco hasta prácticamente proponer la generalización de su uso ("riesgo inminente", comienzo del tratamiento de la osteoporosis con anabólicos de forma universal o cuasi-universal). Todo ello ha generado confusión en el médico prescriptor, y ha dado lugar a que las autoridades sanitarias hayan impuesto para su uso normas que han resultado demasiado restrictivas. En el artículo se desarrollan estas ideas -y algunas otras- con detalle.

Palabras clave:
Romozumab.
Ensayos. Fractura
osteoporótica.

Recibido: 11/04/2023 • Aceptado: 12/04/2023

Conflicto de intereses: JGM ha recibido honorarios por conferencias y bolsas de viaje de Amgen y Theramex. JM Olmos ha recibido bolsas de viaje y honorarios por ponencias de UCB-Amgen, Eli Lilly, Stada, Gedeon-Richter y Grunenthal; ha intervenido en ensayos clínicos patrocinados por UCB-Amgen y FAES y ha participado en consejos consultivos de UCB, Stada y Gedeon-Richter.

González Macías J, Olmos Martínez JM. Romozumab: confusión respecto a sus indicaciones. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):81-87

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00011

Correspondencia:

Jesús González Macías. Universidad de Cantabria. Avda. de los Castros, s/n. 39005 Santander
e-mail: mirgmj47@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La comercialización del romosozumab ha venido acompañada de cierto grado de confusión sobre el tipo de paciente en el que está indicado. Contribuyen a ello varios factores. Por ejemplo, el hecho de que en el estudio ARCH (1) se detectara un aumento de accidentes cardiovasculares, ha determinado que se haya contraindicado en pacientes que han sufrido previamente un infarto agudo de miocardio o un ictus. Como es comprensible, se recomienda además evitarlo en pacientes con un riesgo cardiovascular equivalente. Ello plantea el problema de cómo definir y determinar esta equivalencia en el riesgo. Se ha sugerido, lógicamente, tener en cuenta los factores de riesgo habituales, pero no se ha concretado cómo hacerlo (deben o no utilizarse escalas de riesgo, cuál de ellas en particular, qué valores considerar...). No obstante, no nos detendremos en este aspecto ahora.

Sí queremos, en cambio, subrayar el interés que puede tener la discrepancia entre los resultados de eficacia en la prevención de fracturas del ensayo comentado – el ARCH– y los de otro publicado previamente, el FRAME (2). En los primeros 12 meses del ARCH, el romosozumab determinó una disminución de las fracturas no vertebrales frente al alendronato que se situó próxima a la significación estadística ($p = 0,06$). En cambio, en los primeros 12 meses del FRAME, el romosozumab no disminuyó significativamente este mismo tipo de fractura frente a placebo ($p = 0,10$). La explicación de esta paradójica diferencia (mayor eficacia frente a comparador activo que frente a placebo) estriba en el hecho de que el riesgo de fractura de las pacientes incluidas en el ARCH era bastante más alto que el de las incluidas en el FRAME. Nos proporciona una idea de ello la comparación de la incidencia de las fracturas en las pacientes tratadas con romosozumab en los dos estudios; en el FRAME la incidencia de fracturas no vertebrales en las pacientes tratadas con romosozumab durante el primer año fue del 1,6 %, mientras que en el ARCH fue del 3,4%. En suma, el romosozumab se muestra más eficaz cuando el riesgo de fractura es mayor. En el mismo sentido hablan los resultados globales del FRAME. A los 24 meses no se detecta diferencia significativa en la incidencia de fracturas vertebrales ni en la de fracturas clínicas entre las dos ramas estudiadas. Sin embargo, la diferencia alcanza la significación estadística cuando se retiran del análisis las pacientes reclutadas en Latinoamérica (que suponían un 43% de la población total estudiada), procedentes fundamentalmente de Colombia y Brasil (2,3), países en que el riesgo de fractura osteoporótica es menor que en los demás países que habían incluido pacientes en el estudio. De nuevo, se observa que la eficacia del romosozumab en la prevención de fracturas no vertebrales varía con el nivel de riesgo que tenga la enferma, mostrando mayor eficacia cuando el riesgo es más alto. Todo ello, en definitiva, lleva a la conclusión de que el fármaco será especialmente útil en personas con mayor riesgo, aspecto a tener en cuenta al sentar sus indicaciones.

Un tercer factor que ha contribuido a la confusión que comentábamos al principio –en la práctica tal vez el principal– lo constituye el precio del fármaco. Aunque de un orden similar al del otro fármaco anabólico comercializado en Europa –la teriparatida–, es notablemente superior al de los fármacos antirresortivos. Ello hace que las autoridades sanitarias de los distintos países se hayan planteado poner condiciones para su prescripción y dispensación. Estas condiciones con frecuencia no coinciden con las indicaciones propuestas por los expertos que han investigado el fármaco, lo que lógicamente deja al médico prescriptor en una situación de incertidumbre y desconcierto. Por ello merece la pena analizar los factores que subyacen a esta situación. Consideramos que los principales son los tres siguientes: a) confusión en la terminología que describe la gravedad del riesgo de fractura en que puede estar indicado el fármaco (unas veces se habla de osteoporosis “grave”, otras de riesgo de fractura “muy alto”, otras simplemente de riesgo de fractura “alto”...); b) incorporación de la noción de que el riesgo de fractura en el periodo inmediatamente posterior al desarrollo de otra previa es “muy alto” (y utilización, para referirse a él, del término “inminente”, de dudosa justificación semántica en este contexto, y por tanto equívoco); y c) introducción de la idea de que los fármacos anabólicos son más eficaces si se administran cuando la paciente no ha recibido previamente un fármaco antirresortivo.

CONFUSIÓN EN LA TERMINOLOGÍA: RIESGO DE FRACTURA ALTO, RIESGO DE FRACTURA MUY ALTO, OSTEOPOROSIS GRAVE

Recientemente (abril de 2022), el National Institute for Health and Care Excellence (NICE), tras una fase previa de oposición, ha dado su visto bueno a la utilización del romosozumab en el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica (4). El correspondiente documento dice literalmente: “el romosozumab es recomendado como una opción para el tratamiento de la osteoporosis grave en personas tras la menopausia que se encuentran en riesgo alto de fractura solo si han sufrido una fractura osteoporótica mayor (FOM) en los últimos 24 meses”. Añade que la casa comercial propone que el romosozumab se utilice únicamente en caso de riesgo inminente de fractura, siendo este definido como el de una persona con osteoporosis grave que ha sufrido una FOM en los últimos 24 meses (curiosamente, el NICE dice además que su recomendación es más amplia que la de la casa comercial, aunque en realidad no es fácil ver la diferencia). En estos comentarios encontramos ya varios términos que deberían precisarse: a) a qué llama el NICE “riesgo alto” de fractura; y b) a qué llaman el NICE y la casa comercial “osteoporosis grave”. En relación a esto último merece recordarse que la OMS llamó osteoporosis grave (o establecida)

a la que cursa con un índice $T \leq -2,5$ junto a una o más fracturas por fragilidad (5). Pero debe recordarse también que la única intención de la OMS al utilizar este término era la de distinguir la osteoporosis densitométrica que cursa con fractura de la que no lo hace, sin pretender con ello establecer una indicación terapéutica específica (es sabido que la clasificación de la OMS se formuló con un interés fundamentalmente epidemiológico). En cualquier caso, es importante también señalar, en relación con el alcance que puedan tener estos conceptos, que cuando la OMS habla de osteoporosis grave no especifica el lugar en que debe asentarse la fractura ni el tiempo que debe haber transcurrido desde su producción, a diferencia de lo que hacen el NICE y la casa comercial cuando limitan el uso del romosozumab a las FOM producidas en los últimos 24 meses. Es decir, restringen la indicación del fármaco a un campo más reducido que el que entiende la OMS por osteoporosis grave.

Tras el posicionamiento del NICE respecto al uso del romosozumab, el National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) y la Royal Osteoporosis Society (ROS) británicos, que habían presionado a aquel para que modificara su postura inicial contraria a la aceptación del fármaco, elaboraron un documento de consenso (mayo de 2022) (6). En él dicen literalmente que el tratamiento con romosozumab “debe considerarse prioritario en mujeres posmenopáusicas que han tenido una FMO en los últimos 24 meses, junto a cualquiera de los hechos siguientes: 1. Un índice $T \leq -3,5$ (en cadera o columna); 2. Un índice $T \leq -2,5$ (en cadera o columna) junto a: a) fracturas vertebrales (ya se trate de una fractura vertebral en los 24 meses anteriores o de una historia de ≥ 2 fracturas vertebrales osteoporóticas); o b) riesgo de fractura muy alto (p. ej., cuantificado mediante FRAX)”. La propuesta, que no deja de ser algo oscura, y que presenta algunas diferencias con lo que plantea el NICE (p. ej., el índice $T \leq -3,5$), introduce una nueva expresión: la de “muy alto riesgo”. El documento no lo define, pero sabemos que el NOGG, en una publicación previa, lo hace con precisión: es el riesgo que corresponde en la versión británica del FRAX al valor resultante de multiplicar por 1,6 el umbral terapéutico una vez considerada la DMO. Una clara limitación de esta definición es la de estar vinculada a la utilización de dicha versión del FRAX.

A diferencia de lo que ocurre en el caso del NOGG, la expresión “muy alto riesgo” ha sido utilizada en varias guías americanas sin una definición precisa. Por ejemplo, la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AAACE) (7) denomina “muy alto riesgo” al de pacientes con alguna de las siguientes características: “a) fractura reciente (p. ej., en los últimos 12 meses); b) fracturas durante el tratamiento con fármacos aprobados para tratar la osteoporosis; c) fracturas múltiples; d) fracturas estando en tratamiento con fármacos que dañan el hueso (por ejemplo, corticoides a largo plazo); e) índice T muy bajo (p. ej., $< -3,0$); e) alto riesgo de caídas o historia de caídas con lesiones; y f) muy

alta probabilidad de fractura valorada por el FRAX® (por ejemplo, > 30 % para fractura osteoporótica mayor; $> 4,5$ % para fractura de cadera)”. Al margen del elevado número de situaciones consideradas, llaman la atención la imprecisión y lo dudoso de la veracidad y pertinencia de varias de ellas: ¿habrá muchos médicos que realmente piensen que un índice T de $< -3,0$ debe ser considerado “muy bajo”?; ¿qué debemos entender por “alto riesgo de caídas”? (los pacientes con enfermedad de Parkinson o ictus tienden a caerse: ¿deberán por el mero hecho de padecer estas enfermedades ser tratados con romosozumab?)... En la contestación a una carta en que se pregunta a los autores de estas guías por qué han elegido las probabilidades de fractura valoradas por el FRAX del 30 % y el 4,5 % de riesgo (8), estos responden (9) que “son simples ejemplos” y que “no están basados en evidencia publicada”.

Otras guías endocrinológicas americanas, las de la Endocrine Society (10), definen “muy alto riesgo” de una forma mucho más simple y escueta, aunque tal vez no suficientemente precisa. A propósito de en qué tipo de paciente recomiendan el uso de romosozumab, dicen que lo hacen “en mujeres posmenopáusicas osteoporóticas con riesgo muy alto de fractura, como las que presentan osteoporosis grave (es decir, un índice $T < -2,5$ y fracturas) o fracturas vertebrales múltiples”. Como se observa, no parecen establecer restricciones respecto al tipo de fractura cuando la paciente presenta además un índice $T < -2,5$. Pero, sin embargo, en otro lugar del documento –en el pie del algoritmo, cuando explican el mismo–, dicen literalmente: “riesgo muy alto incluye múltiples fracturas de columna y un índice T de la DMO en cadera o columna de $-2,5$ o inferior”. Ya que en este segundo caso solo se mencionan las fracturas vertebrales, tras la lectura de estas guías queda una cierta sensación de imprecisión.

Las guías de la Bone Health and Osteoporosis Foundation (BHOFF, antigua National Osteoporosis Foundation, NOF) (11), aunque se reconocen basadas en las guías de la Endocrine Society, introducen alguna modificación respecto a ellas, ya que definen como “muy alto riesgo” el de pacientes con múltiples fracturas vertebrales o fractura de cadera y un índice $T \leq -2,5$ en columna lumbar o cadera. Se trata de una definición muy precisa. Pero después añaden que los fármacos anabólicos están también aconsejados en pacientes con fracturas recientes y/o índice $T < -3,0$, situaciones que, precisamente por recomendar para ellas fármacos anabólicos, cabe incluir en el concepto de muy alto riesgo. Y en esta ocasión ya no se especifica el tipo de fractura, no se dice qué se considera una fractura reciente y, sobre todo, se introduce la expresión “y/o”, que hace borrosos los perfiles del riesgo a considerar. No es lo mismo requerir la coexistencia de dos fenómenos (fracturas recientes más un índice $T \leq -3,0$, como corresponde a la “y” del “y/o”) que aceptar la existencia de cualquiera de ellos (como indica la “o”).

Por acabar con las propuestas americanas, señalaremos que el American College of Physicians (ACP) ha publicado recientemente sus guías (12), aconsejando en ellas el romosozumab también en pacientes de “muy alto riesgo”, pero una vez más sin definir los límites de este concepto con precisión. Simplemente se dice que “se basa” en “la edad avanzada, una fractura reciente (por ejemplo, en los últimos 12 meses), historia de múltiples fracturas osteoporóticas clínicas, múltiples factores de riesgo de fractura o fracaso de otros tratamientos disponibles para la osteoporosis”.

En definitiva, aunque lo comentado hasta ahora señala la existencia de acuerdo en que la indicación del romosozumab corresponde a pacientes con un riesgo de fractura particularmente elevado, en la definición de este grado de riesgo se utilizan términos cuyo significado concreto no se especifica, y cuyo alcance es concebido de manera distinta por unos y otros autores. Ello hace difícil que podamos tener una visión clara del problema y, además, impide alcanzar posturas de consenso.

CONSIDERACIÓN DE QUE EL RIESGO DE FRACTURA INMEDIATAMENTE DESPUÉS DEL DESARROLLO DE OTRA PREVIA “ES MUY ALTO”, E INCORPORACIÓN PARA REFERIRSE A ÉL DEL TÉRMINO “RIESGO INMINENTE”

Diversos estudios epidemiológicos de las últimas décadas han indicado que el riesgo de fractura en los primeros años siguientes al desarrollo de una fractura previa es mayor que en los años posteriores (13-15). Con base en ello, pero sin haber demostrado que el riesgo inicial sea necesariamente muy elevado en términos absolutos (aunque en términos relativos pueda ser mayor que el riesgo posterior), se decidió calificar este riesgo de los primeros años de “muy alto”. Es evidente que aceptar este planteamiento implica que todas las enfermas en las que se diagnostica una fractura cuando se produce (es decir: en la práctica, todas las enfermas que sufren una fractura, con excepción de aquellas en que son asintomáticas –las vertebrales morfométricas–) deberían ser tratadas con romosozumab (o en su defecto, con teriparatida).

Para reforzar esta idea, sus defensores han dado un paso más y han acordado denominar ese riesgo inicial con un término apremiante: el de “inminente” (16-18). Desde el punto de vista semántico, su idoneidad es dudosa, por lo que conviene que hagamos respecto a él un comentario de carácter lingüístico. En el mundo de la comunicación es frecuente que, con el afán de persuadir de algo a un público concreto para dirigir su forma de pensar, se recurra a aplicar a un concepto determinado un término que en realidad no le corresponde, o al menos no lo hace

plenamente; con ello se produce una distorsión de dicho concepto, creando lo que algunos describen como una “nueva realidad”, que lleva a modificar el modo de ver la cuestión de que se trate (puede decirse que estos términos utilizados inadecuadamente actúan como “elementos creadores de pensamiento”, y se conocen como “enmarcados lingüísticos”). El término “inminente” se comporta de esta forma cuando se aplica al riesgo que sigue inicialmente al padecimiento de una fractura. Inminente es “algo que está a punto de suceder” (RAE), pero aquí esta palabra se está empleando para describir algo que puede suceder o no, y que, en cualquier caso, aunque suceda, no tiene por qué hacerlo de forma inmediata (es decir, no está “a punto” de suceder). Con su utilización en esta circunstancia particular se ha creado una “realidad nueva”, con connotaciones de inmediatez que no corresponden a la auténtica realidad. Es, por tanto, un término engañoso.

Aspectos semánticos al margen, interesa saber en qué medida realmente el riesgo en los primeros años posteriores a la fractura es mayor que en los siguientes. Dos trabajos (19,20) –realizados con la finalidad de incorporar este aspecto al FRAX– han cuantificado esta diferencia. Son demasiado complejos para entrar aquí en detalles, pero la conclusión ha sido que la diferencia varía con las circunstancias (edad, sexo, tipo de fractura), que puede incluso no existir, y que en general no es grande. Los propios autores indican que los conocimientos actuales son insuficientes para alcanzar una conclusión definitiva, y que se necesitan nuevos estudios para tener un mejor conocimiento del fenómeno. De acuerdo con ello, colegir que una fractura reciente, por el simple hecho de serlo (sin haber valorado además el riesgo absoluto que supone por sus características), deba ser tratada con un fármaco anabólico, constituye una generalización injustificada. De hecho, una publicación de Kanis y cols. (21) que evalúa los umbrales de intervención para el riesgo de fractura muy elevado aplicados a las guías NOGG, dice literalmente que “la fractura reciente por sí sola no siempre conlleva un riesgo muy elevado y depende en parte del lugar de la fractura centinela”. Análogamente, en un reciente editorial de *Lancet Rheumatology* se cita al Dr. R. Eastell diciendo, en contestación a una pregunta formulada por el autor del editorial, que “muchos pacientes con una FOM en los dos años previos no tienen un alto riesgo de fractura subsecuente” (22).

En definitiva, el riesgo de fractura en el periodo de tiempo inmediatamente posterior al desarrollo de otra previa no tiene por qué ser “muy alto”, ni por tanto requerir tratamiento con fármacos anabólicos. Es importante insistir en que ello no significa que el enfermo no deba ser tratado precozmente. Debe serlo. No tiene ningún sentido retrasar el tratamiento de un enfermo que ha padecido una fractura osteoporótica. Pero debe quedar clara la diferencia existente entre estos dos conceptos: una cosa es que tras la fractura deba instaurarse tratamiento precozmente, y otra que deba necesariamente hacerse con un fármaco anabólico.

A propósito de la confusión que existe en lo referente a la utilización o no del romosozumab (o en general, de los fármacos anabólicos) en el periodo de tiempo posterior al sufrimiento de una fractura, merece añadirse que ni siquiera hay acuerdo respecto a la duración de dicho periodo. Por ejemplo, el documento de evaluación de tecnología del NICE y el documento de consenso NOGG-ROS antes citados hablan de 24 meses, mientras que las guías AACE y ACP lo hacen de 12. En una reciente conferencia (Budapest, marzo de 2023) la Dra. B. Langdahl ha comentado que las guías danesas –al parecer aún no publicadas– consideran 3 años.

Hay también discrepancias en el tipo de fractura al que unos u otros autores consideran que les es aplicable la idea del aumento de riesgo tras el desarrollo de una fractura previa. Como hemos señalado antes, las guías AACE y ACP no especifican un tipo de fractura en particular, por lo que cabe pensar que lo consideran aplicable a cualquier fractura por fragilidad. En cambio, el documento del NICE y el documento de consenso NOGG-ROS lo restringen a las FOM. Otros autores lo focalizan en las fracturas vertebrales y la de cadera (23). Hay incluso quien hace planteamientos más complejos. Por ejemplo, en las referidas guías danesas se consideran las FOM y la fractura de pelvis para el tratamiento con romosozumab, pero solo las vertebrales para el tratamiento con teriparatida.

RECOMENDACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE UN FÁRMACO ANABÓLICO PARA INICIAR EL TRATAMIENTO DE CUALQUIER PACIENTE OSTEOPORÓTICO

Varios estudios (24,25) realizados con la densidad mineral ósea como variable de eficacia parecen indicar que los fármacos anabólicos tienen menos efecto cuando el enfermo al que se administran ha recibido previamente un fármaco antirresortivo que cuando no lo ha hecho. Con base en ello algunos autores defienden (26,27) que los enfermos osteoporóticos deben, en general, tratarse inicialmente con un fármaco anabólico, ya que, de empezar con un antirresortivo, si el paciente no respondiera bien y tuviera que cambiar a un osteoformador, este vería su eficacia disminuida. Este planteamiento parece despreocuparse del grado de riesgo de fractura. De hecho, si decidiéramos aplicarlo, dejarían de tener sentido tanto el concepto de muy alto riesgo como el de aumento del riesgo en el periodo inicial posfractura, ya que ambos definen subpoblaciones concretas de pacientes con osteoporosis, que naturalmente quedan englobadas en la población osteoporótica general. El planteamiento de tratar a todas las pacientes osteoporóticas en general es incompatible con el de tratar solo a parte de ellas. No solo se despreocupa esta propuesta del grado de riesgo

que supone la fractura, sino que además deja de considerar el gasto que comporta. Incluso aceptando que realmente supusiera una ventaja –algo a lo que nos vamos a referir enseguida– habría que tener en cuenta en qué medida el aumento en el beneficio compensa el aumento en los costes. Es sabido que en cualquier curva que relacione los recursos empleados en conseguir un determinado beneficio con el beneficio efectivamente obtenido, existe una “zona óptima”, pasada la cual el beneficio ulterior (incluido el “máximo”) no compensa el gasto adicional en recursos. Esta búsqueda de la zona terapéutica óptima es también aplicable al tratamiento con anabólicos de las fracturas, de forma que no puede renunciarse a tratar de identificarla.

Pero, sobre todo, este planteamiento ignora que la única evidencia de que disponemos en relación a la eficacia de los fármacos anabólicos sobre el desarrollo de fracturas cuando se administran después de un antirresortivo, no indica que haya pérdida de la misma. El estudio VERO (28), que comparó la eficacia de la teriparatida con la del risedronato en pacientes que habían recibido previamente un antirresortivo en aproximadamente dos tercios de los casos, permitió observar que en ellos el fármaco conserva plenamente su eficacia antifracturaria.

Habrá que estar pendientes de los estudios que se realicen con romosozumab, y en qué medida varían respecto a lo que acabamos de señalar para la teriparatida. Porque si aquel no fuera capaz de comportarse como esta, sino que perdiera eficacia al administrarse tras un antirresortivo, sería un punto en que claramente la teriparatida saldría ganadora en la comparación.

CONCLUSIÓN

La entrada en el mercado del romosozumab ha motivado una revisión de los criterios de selección de fármacos en el tratamiento de la osteoporosis. Previamente, había un acuerdo general en que el fármaco anabólico de que se había venido disponiendo en Europa, la teriparatida, debía restringirse a los casos de osteoporosis de mayor riesgo de fractura. Y si bien es cierto que esta condición nunca quedó definida con precisión, su utilización nunca llegó a plantear problemas serios, porque de hecho los médicos prescriptores en general hicieron de ella un uso adecuado. El romosozumab, en cambio, mostró desde el principio un claro afán de que sus indicaciones quedaran claramente precisadas. Enseguida reclamó un nicho terapéutico que se definió como el correspondiente a las osteoporosis de “muy alto riesgo”, y con esta expresión apareció en las actualizaciones que rápidamente hicieron diversas sociedades en sus guías clínicas para encontrarle acomodo. Por su naturaleza de fármaco anabólico, arrastró con él a la teriparatida (y a la abaloparatida), y se pasó a hablar genéricamente de las indicaciones del tratamiento osteoformador.

Quedaba, no obstante, por definir que debía entenderse por “riesgo muy alto”. Las primeras guías que abordaron el problema (AAACE [7], Endocrine Society [10], IOF [29]) distaron mucho de ofrecer unos criterios aceptablemente homogéneos. El resultado fue que los clínicos no pudieron disponer de unas normas concretas y consensuadas respecto a la forma en que deberían utilizarlos. Las cosas no han mejorado durante el corto espacio de tiempo que ha transcurrido desde entonces. Todo lo contrario. La introducción de conceptos discutibles (riesgo inminente, tratamiento inicial anabólico de forma generalizada –“anabólicos para todos...”–) ha generado más confusión. De momento no hay atisbos de que el problema vaya a solucionarse a corto plazo. No puede extrañarnos que, en esta situación, las autoridades sanitarias de los diversos países emitan normas restrictivas. ¿Cómo debemos afrontar el problema? Creemos, en primer lugar, que debemos pedir a los expertos que formulen sus recomendaciones con una fundamentación científica sólida, lejos de conjeturas, *wishful thinking* (en el sentido de pensamiento guiado por el deseo) o intereses comerciales. Y en segundo lugar, debemos recordar a los médicos prescriptores que, en medicina, cuando hay confusión, mientras los conocimientos sedimentan, suele ser preferible la moderación en la toma de decisiones. Y que, además, es deseable ceñirse a indicaciones que estén formuladas de forma precisa, de manera que no dejen lugar a dudas.

ADENDA

En el escrito que precede a esta adenda no hemos hecho, deliberadamente, ninguna mención a las guías clínicas de la SEIOMM (30). La razón es que hemos pretendido que en ningún momento los razonamientos que en él se desarrollan pudieran verse influidos por el afán de defender nuestras guías. Sin embargo, al leerlo una vez finalizado, hemos tenido la impresión de que no hacer alusión a ellas podría interpretarse como desinterés por las mismas o incluso su desestimación. Por ello, pensamos que es obligado hacer este comentario final, situándolas en relación a lo planteado en el escrito.

En primer lugar, nuestras guías no hacen mención a la conveniencia de administrar en general un anabólico como fármaco inicial. En lo expuesto previamente quedan señaladas las razones por las que no estamos de acuerdo con esa estrategia de “anabólicos para todos”. Nos reafirmamos en la idea de clasificar a las enfermas de acuerdo con el grado de riesgo, y comenzar con anabólicos únicamente en las pacientes con “muy alto riesgo”. No insistiremos en este punto.

En segundo lugar, nuestras guías tampoco hacen referencia a tratar con fármacos anabólicos a las pacientes que han desarrollado una fractura en los dos años anteriores. En realidad, no hay ninguna dificultad en incluir este aspecto en las guías, aunque no creemos que ello su-

ponga un beneficio para el conjunto de las pacientes por lo que veremos después. Consideremos, por ejemplo, la propuesta del NICE, organismo bien acreditado. Propone tratar con romosozumab a las pacientes que han desarrollado una FOM en los dos años anteriores. Esta idea se incorpora con facilidad a nuestro algoritmo por lo que se refiere a las dos fracturas de mayor importancia, las vertebrales y las de cadera, simplemente modificando la redacción del segundo criterio que señalamos para identificar a los pacientes de muy alto riesgo. En vez de decir “pacientes con fractura vertebral o de cadera junto a un índice $T < -3,0$ ”, podemos decir “pacientes con fractura vertebral o de cadera sufrida dentro de los 24 meses anteriores junto a un índice $T < -3,0$ ”. Evidentemente, con ello dejamos al margen las otras dos fracturas osteoporóticas mayores. Pero debemos decir a este respecto que compartimos la opinión de quienes no conceden a la fractura de muñeca la misma importancia que a las fracturas vertebrales o a la fractura de cadera. En la fractura de muñeca ni el riesgo en los 2 primeros años posfractura es mucho mayor que posteriormente (de hecho, puede serlo menor, según la edad [19,20]), ni la morbimortalidad que irroga es comparable a la de las dos fracturas principales (vertebrales y de cadera). Por ello no merece el mismo tratamiento. La fractura de húmero también se encuentra bastante lejos de las fracturas vertebral y de cadera. Es comprensible que no se les considere acreedoras de tratamiento anabólico, salvo si se asocian otros factores.

En resumen, nuestras guías pueden incorporar el concepto temporal con la simple redefinición del segundo criterio de “muy alto riesgo” en la forma señalada anteriormente. Personalmente no introduciríamos tal modificación, porque en realidad lo que supone es un cambio restrictivo (dejamos de tratar con anabólicos a las pacientes que sufrieron la fractura vertebral o de cadera con anterioridad a los 24 meses). Finalmente, en relación con esta cuestión temporal (el tan traído y llevado riesgo “inminente”), merece la pena comentar aquí que cuando se escribió la última versión de las guías, se hizo una encuesta entre los miembros del comité responsable de su elaboración, en la que se preguntaba si eran o no partidarios de la administración de un anabólico a los pacientes que hubieran sufrido una fractura en el año anterior, por el hecho de haberla sufrido en este tiempo. El 70 % de las respuestas fue que no.

BIBLIOGRAFÍA

1. Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or alendronate for fracture prevention in women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2017;377:1417-27. DOI: 10.1056/NEJMoa1708322
2. Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, Binkley N, Czerwinski E, Ferrari S, et al. Romosozumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2016;375:1532-43. DOI: 10.1056/NEJMoa1607948

3. Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, Binkley N, Czerwinski E, Ferrari S, et al. Romosozumab FRAME Study: A Post hoc analysis of the role of regional background fracture risk on nonvertebral fracture outcome. *J Bone Miner Res* 2018;33:1407-16. DOI: 10.1002/jbmr.3439
4. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Romosozumab for treating severe osteoporosis. Technology appraisal guidance. TA791. Published: 25 May 2022. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/TA791>
5. Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltayev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:1137. DOI: 10.1002/jbmr.5650090802
6. National Osteoporosis Guideline Group and Royal Osteoporosis Society. Consensus Advisory Statement on the use of romosozumab following the 2022 NICE appraisal. Available from: <https://www.nogg.org.uk/sites/nogg/download/NOGG-ROSRomosozumab-statementMay-2022.pdf>
7. Camacho PM, Petak SM, Binkley N, Diab DL, Eldeiry LS, Farooki A, et al. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology. Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis- 2020 Update. *Endocr Pract* 2020;26(Suppl):1-46. DOI: 10.4158/GL-2020-0524SUPPL
8. Chandran M. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology. Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis- 2020 Update. *Endocr Pract* 2021;27:378. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.001
9. Watts NB, Camacho PM, Lewiecki EM, Petak SM. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology. Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis- 2020 Update. *Endocr Pract* 2021;27:379-80. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.001
10. Shoback D, Rosen CJ, Black DM, Cheung AM, Murad MH, Eastell R. Pharmacological management of osteoporosis in postmenopausal women: An Endocrine Society guideline update. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:dga048 DOI: 10.1210/clinem/dgaa048
11. LeBoff MS, Greenspan SL, Insogna KL, Lewiecki EM, Saag KG, Singer AJ, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2022;33:2049-102. DOI: 10.1007/s00198-021-05900-y
12. Qaseem A, Hicks LA, Etzeandía-Ikobaltzeta I, Shamliyan T, Cooney TG; Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians; Cross JT Jr, Fitterman N, Lin JS, Maroto M, Obley AJ, Tice JA, Tuft JE. Pharmacologic treatment of primary osteoporosis or low bone mass to prevent fractures in adults: a living clinical guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2023;176:224-38. DOI: 10.7326/M22-1034
13. Johnell O, Odén A, Caullin F, Kanis JA. Acute and long-term increase in fracture risk after hospitalization for vertebral fracture. *Osteoporos Int* 2001; 12:207-14. DOI: 10.1007/s001980170131
14. van Geel TACM, van Helden S, Geusens PP, Winkens B, Dinant G-J. Clinical subsequent fractures cluster in time after first fractures. *Ann Rheum Dis* 2016;68:99-102. DOI: 10.1136/ard.2008.092775
15. Kanis JA, Johansson H, Odén A, Harvey NC, Gudnason V, Sanders KM, et al. Characteristics of recurrent fractures. *Osteoporos Int* 2018;29:1747-57. DOI: 10.1007/s00198-018-4502-0
16. Roux C, Briot K. Imminent fracture risk. *Osteoporos Int* 2017;28:1765-9. DOI: 10.1007/s00198-017-3976-5
17. Johansson H, Siggeirsdóttir K, Harvey NC, Odén A, Gudnason V, McCloskey E, et al. Imminent risk of fracture after fracture. *Osteoporos Int* 2017;28:775-80. DOI: 10.1007/s00198-016-3868-0
18. Banefelt J, Åkesson KE, Spångéus A, Ljunggren O, Karlsson L, Ström O, et al. Risk of imminent fracture following a previous fracture in a Swedish database study. *Osteoporos Int* 2019;30:601-9. DOI: 10.1007/s00198-019-04852-8
19. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, Gudnason V, Sigurdsson G, Siggeirsdóttir K, et al. Adjusting conventional FRAX estimates of fracture probability according to the recency of sentinel fractures. *Osteoporos Int* 2020;31:1817-28. DOI: 10.1007/s00198-020-05517-7
20. Leslie WD, Morin SN, Lix LM, McCloskey EV, Johansson H, Harvey NC, et al. The effect of fracture recency on observed 10-year fracture probability: a registry-based cohort study. *J Bone Miner Res* 2022;37:848-55. DOI: 10.1002/jbmr.4526
21. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, Lorentzon M, Liu E, Vandendput L, et al. An assessment of intervention thresholds for very high fracture risk applied to the NOGG guidelines: A report for the National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). *Osteoporos Int* 2021;32:1951-60. DOI: 10.1007/s00198-021-05942-2
22. Thorley J. NICE approves romosozumab for postmenopausal osteoporosis. *The Lancet Rheumatology* 2022;4:e532. DOI: 10.1016/S2665-9913(22)00188-6
23. McClung MR, Rothman MS, Lewiecki EM, Hanley DA, Harris ST, Miller PD, et al. The role of osteoanabolic agents in the management of patients with osteoporosis. *Postgrad Med* 2022;134:541-55. DOI: 10.1080/00325481.2022.2069582
24. Ettinger B, San Martin J, Crans G, Pavo I. Differential effects of teriparatide on BMD after treatment with raloxifene or alendronate. *J Bone Miner Res* 2004;19:745-51. DOI: 10.1359/jbmr.040117
25. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, Wallace PM, Lee H, Neer RM, et al. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (the DATA-Switch study): extension of a randomised controlled trial. *Lancet* 2015;386:1147-55. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)61120-5
26. Cosman F, Nieves JW, Dempster DW. Treatment sequence matters: anabolic and antiresorptive therapy for osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2017;32:198-202. DOI: 10.1002/jbmr.3051
27. Cosman F, Kendler DL, Langdahl BL, Leder BZ, Lewiecki EM, Miyauchi A, et al. Romosozumab and antiresorptive treatment: the importance of treatment sequence. *Osteoporos Int* 2022;33:1243-56. DOI: 10.1007/s00198-021-06174-0
28. Kendler DL, Marin F, Zerbini CAF, Russo LA, Greenspan SL, Zikan V, et al. Effects of teriparatide and risedronate on new fractures in post-menopausal women with severe osteoporosis (VERO): a multicentre, double-blind, double-dummy, randomised controlled trial. *Lancet* 2018;391:230. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32137-2
29. Kanis JA, Harvey NC, McCloskey E, Bruyère O, Veronese N, Lorentzon M, et al. Algorithm for the management of patients at low, high and very high risk of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2020;31:797-8. DOI: 10.1007/s00198-020-05297-0
30. Riancho JA, Peris P, González-Macías G, Pérez-Castrillón JL; en nombre de la Comisión de Redacción de las Guías de Osteoporosis de la SEIOMM. Guías de práctica clínica en la osteoporosis posmenopáusica, glucocorticoidea y del varón (actualización 2022). Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM). *Rev Osteoporos Metab Miner* 2022;14:13-33. DOI: 10.4321/S1889-836X2022000100003

Escenario Clínico y Toma de Decisiones

Osteoporosis posmenopáusica con fractura vertebral: teriparatida frente a romosozumab

Caso clínico:

Una mujer de 66 años acude a su clínica. Se queja de dolor lumbar bajo que apareció después de saltar mientras jugaba voleibol en la playa. Se realizó una radiografía dorso-lumbar en la que se observaron dos fracturas vertebrales. La densitometría (DXA) mostró una puntuación T de -3 en el cuello femoral. La paciente había padecido cáncer de mama 15 años antes, por lo que recibió quimioterapia, pero no radioterapia local. Sin recidiva desde entonces.

Tiene un historial de tabaquismo con una carga tabáquica de 20 paquetes/año, pero lo ha dejado hace más de un año, cuando su hermana sufrió un infarto de miocardio a los 50 años. La paciente no hace ejercicio, pero camina a diario durante una hora. Padece hipertensión, no es diabética y en la analítica se detectan niveles elevados de colesterol total (250 mg/dL). Su colesterol HDL es de 30 mg/dL.

En el examen físico, sus signos vitales son normales, su índice de masa corporal (IMC) es de 24,4, y en la exploración física, a parte de una cicatriz de mastectomía previa, no hay nada relevante.

El riesgo de fractura calculado por la herramienta FRAX, estima un riesgo de fractura osteoporótica mayor y de fractura de cadera a 10 años del 25 % y el 8,6 %, respectivamente. La paciente aún no ha sufrido ningún evento cardiovascular. Sin embargo, el riesgo de evento cardiovascular calculado con la herramienta SCORE2 estima que un riesgo a 10 años del 6,8 %.

Opciones de tratamiento:

Debe decidir cuál sería la mejor opción para el tratamiento inicial de la osteoporosis en este escenario clínico en el que conviene valorar el equilibrio entre riesgo de fractura y riesgo cardiovascular:

¿Cuál de los siguientes enfoques adoptaría para este paciente? En base a su experiencia clínica, la bibliografía publicada, las guías disponibles y otras fuentes de información.

- 1. Se recomienda iniciar tratamiento con romosozumab.*
- 2. Se recomienda iniciar tratamiento con teriparatida.*

Para ayudarle en la toma de decisiones, hemos pedido a dos expertos del campo del metabolismo mineral óseo que argumenten la postura asignada por los editores. Al final, dispondremos también del comentario de un cardiólogo que ha valorado los aspectos cardiovasculares de la enferma.

Recibido: 31/05/2023 • Aceptado: 13/06/2023

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

Ferrari S, Muñoz Torres M, González-Juanatey JR. Osteoporosis posmenopáusica con fractura vertebral: teriparatida frente a romosozumab. Rev Osteoporos Metab Miner 2023;15(2):88-91

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00022

Correspondencia:

Manuel Muñoz Torres. Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Avda. del Conocimiento, s/n. 18016 Granada
e-mail: mmt@mamuto.es

OPCIÓN 1. START EARLY TREATMENT WITH ROMOSUZUMAB IS ADVISED

Dr. Serge Ferrari

*Full Professor of Medicine at the Geneva Faculty of Medicine.
Head of the Service of Bone Diseases of the Geneva University
Hospital. Switzerland*

This 66-yr-old woman with two recent vertebral fractures is at “imminent” risk of another fragility fracture. Indeed, up to 25% of women with a recent vertebral osteoporotic fracture refracture within 1 year, particularly after 65 years of age (1). In addition, her low BMD at the femoral neck (-3.0 T-scores) indicates a generalized bone fragility also affecting the cortical compartment. Her high fracture risk is confirmed by the FRAX score, namely a 10-year risk of major osteoporotic fracture and a hip fracture at 25 % and 8.6 %, respectively, although in this case it might underestimate her actual fracture risk in the next couple of years since FRAX does not yet take into account the multiplicity nor the recency of the prevalent fractures.

Treatment must therefore be introduced promptly, not only to quickly reduce her risk of a subsequent fracture, but also to improve hip BMD in order to prevent peripheral, and notably hip, fractures. In her case I would prescribe romosozumab as first line therapy for one year, followed by an antiresorptive. Indeed romosozumab has been shown to significantly decrease the incidence of new vertebral and clinical fractures within one year as compared to alendronate (the ARCH trial [2] in women at high risk similar to this patient (i.e. with prevalent vertebral fractures, T-scores around -3.0 and average FRAX scores of 20 %). In addition, romosozumab has been shown to significantly increase hip BMD compared to alendronate (2) and also teriparatide (3,4), which in the case of our patient is a very relevant issue. Regarding her CV risk, the patient is not known for suffering from ischemic disease, which would contra-indicate the use of romosozumab. Her moderate CV risk can be improved by the appropriate use of anti-hypertensive medication, hypocholesterolemic agents, and by maintaining a healthy lifestyle (refraining from smoking). Finally, the history of breast cancer is not a contra-indication for romosozumab either.

I would therefore strongly recommend romosozumab therapy for one year, with a re-evaluation of BMD before switching to an anti-resorptive, either a BP or denosumab (5).

OPCIÓN 2. SE RECOMIENDA INICIAR TRATAMIENTO CON TERIPARATIDA

Dr. Manuel Muñoz Torres

*Catedrático de Medicina. Facultativo Especialista de Área
del Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario
Clínico San Cecilio. Granada*

El caso presentado corresponde a lo que se denomina “riesgo de fractura muy alto”. Aunque esta denominación no tiene una definición universalmente consensada es recogida en las guías de práctica clínica más recientes. Así, la guía de tratamiento farmacológico de la osteoporosis postmenopáusica de la Endocrine Society (6) establece que personas con fracturas vertebrales múltiples y un T score de DMO < -2,5 en columna o cadera cumplen con este criterio. Más recientemente, la última versión de las guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (7) reserva esta categoría de riesgo para aquellas personas con 2 o más fracturas vertebrales, una fractura vertebral o de cadera con un T score < -3,0 o un valor de T score < -3,5. En estos casos el tratamiento inicial con un fármaco osteoformador y continuado con un antirresortivo se considera la pauta de elección (8). Teriparatida y romosozumab son los dos fármacos osteoformadores disponibles en España en la actualidad. Para decidir cuál de los dos fármacos es más apropiado para esta paciente debemos considerar cuáles son sus comorbilidades más significativas además de la eficacia de cada opción.

El tratamiento con teriparatida durante 2 años ha demostrado una reducción del riesgo fracturas vertebrales del 65 %, 50 % para las no vertebrales y, en metaanálisis, en torno al 50 % las de cadera (9). Las contraindicaciones para su uso incluyen elevaciones inexplicadas de la fosfatasa alcalina, pacientes que hayan recibido anteriormente radiación externa o radioterapia localizada sobre el esqueleto y la presencia de tumores o metástasis óseas. Existe una amplia experiencia con este fármaco y recientemente se han desarrollado biosimilares que han abaratado su coste.

Romosozumab es un anticuerpo monoclonal que inhibe a la esclerostina, con un efecto beneficioso en la homeostasis ósea, ya que estimula la formación ósea e inhibe la resorción de forma simultánea. Romosozumab disminuye rápida y significativamente el riesgo de fracturas vertebrales y fracturas clínicas en monoterapia a 12 meses, y de todo tipo de fracturas en tratamiento secuencial, tanto con denosumab como con alendronato a largo plazo (10). La tolerancia al fármaco es buena, pero en uno de los estudios se ha descrito un desequilibrio en la incidencia de eventos cardiovasculares. Las diferencias fueron pequeñas (1,3 % frente

a 0,9 % en el grupo control) y, aunque no existe una explicación biológica plausible para este hallazgo, está contraindicado en personas con antecedentes de infarto de miocardio o accidente cerebrovascular.

En el caso que nos ocupa destaca el antecedente de cáncer de mama hace 15 años, actualmente en remisión, que no recibió radioterapia y sin evidencia de metástasis óseas. Aunque sería necesario disponer de una analítica completa que incluya fosfatasa alcalina no parece existir una contraindicación formal para la utilización de teriparatida. Por otra parte, no existen antecedentes de eventos cardiovasculares. Sin embargo, la historia clínica sí identifica varios factores de riesgo cardiovascular como tabaquismo hasta hace 1 año, dislipemia, hipertensión y antecedentes familiares de enfermedad coronaria precoz. De esta forma el índice de riesgo cardiovascular SCORE mostro un valor de 6,8 %. En España, el Servicio Nacional Salud ha establecido unas condiciones específicas para su financiación que incluyen, entre otras, un riesgo cardiovascular bajo o moderado (SCORE < 5 %).

En resumen, esta paciente con riesgo de fractura muy alto debería recibir tratamiento inicial con un fármaco osteoformador como primera opción. Si consideramos las comorbilidades descritas y las limitaciones de financiación en España la opción recomendable sería teriparatida tras discutirlo y acordarlo con la paciente.

COMENTARIO SOBRE ASPECTOS RELACIONADOS CON RIESGO CARDIOVASCULAR

Dr. José R. González-Juanatey

Servicio de Cardiología. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. CIBERCV, IDIS. Jefe del Servicio de Cardiología y UCC. Catedrático de Cardiología. Presidente Anterior de la Sociedad Española de Cardiología

La estimación del riesgo cardiovascular debe llevarse a cabo en individuos mayores de 40 años (11) de forma rutinaria en cualquier contacto sanitario y, en especial en mujeres como la que se describe en este caso que han sufrido un cáncer de mama y recibieron quimioterapia. En este sentido, datos recientes del Registro Español CARDIOTOX (12) indican que el riesgo de sufrir cardiotoxicidad, definida como una reducción de la fracción de eyección ventricular izquierda < 40 % o el desarrollo de insuficiencia cardíaca clínica, se relaciona entre otros factores con el riesgo cardiovascular basal de los pacientes.

La paciente del caso presenta un riesgo cardiovascular SCORE2 del 6,8 % que se inscribe en el grupo de moderado riesgo en el que las recientes Guías Europeas de Prevención recomiendan intervenciones sobre su estilo

de vida que además del abandono del tabaco, incluyen recomendaciones sobre ejercicio y modificaciones dietéticas. Por otro lado, indican que el nivel de LDL colesterol debería ser < 100 mg/dL y una presión arterial < 140-130 mmHg. Como factores a tener en cuenta en el riesgo de la paciente, y no contemplados en la estimación del SCORE2 (11), estaría la historia de infarto de miocardio en su hermana a los 50 años, niveles bajos de HDL colesterol y haber sufrido un cáncer de mama tratado con quimioterapia. Aunque no se indica el nivel de LDL, solo que su colesterol total era de 250 mg/dL con HDL bajo es de suponer que el LDL sea muy superior a 100 mg/dL por lo que la paciente debería recibir tratamiento al menos con una estatina de potencia suficiente para reducir el LDL a < 100 mg/dL y si fuese preciso asociar la estatina con ezetimibe. Por otro lado tampoco se indica sus cifras de presión arterial y en caso de estar en el rango de hipertensión (> 140 y/o 90 mmHg), además de recomendaciones sobre el estilo de vida que deben también contemplar la reducción de la ingesta de sal, iniciar tratamiento antihipertensivo en monoterapia con un IECA, ARA II, tiazida o calcioantagonista dihidropiridínico y en caso que para lograr la normotensión sea necesario reducir la presión sistólica > 20 mmHg y/o la diastólica > 10 mmHg iniciar terapia combinada a dosis bajas con IECA o RAR II más una tiazida o calcioantagonista.

En resumen, se trata de una paciente que precisa una evaluación de su riesgo cardiovascular por cualquier profesional sanitario responsable de su seguimiento e instruir sobre cambios en el estilo de vida e intervenciones terapéuticas específicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Balashramanian A, Zhang J, Chen L, Wenkert D, Daigle SG, Grauer A, et al. Risk of subsequent fracture after prior fracture among older women. *Osteoporos Int* 2019;30(1):79-92. DOI: 10.1007/s00198-018-4732-1
- Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or Alendronate for Fracture Prevention in Women with Osteoporosis. *N Engl J Med* 2017;377(15):1417-27. DOI: 10.1056/NEJMoa1708322
- McClung MR, Grauer A, Boonen S, Bolognese MA, Brown JP, Diez-Perez A, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2014;370(5):412-20. DOI: 10.1056/NEJMoa1305224
- Langdahl BL, Libanati C, Crittenden DB, Bolognese MA, Brown JP, Daizadeh NS, et al. Romosozumab (sclerostin monoclonal antibody) versus teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis transitioning from oral bisphosphonate therapy: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2017;390(10102):1585-94. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31613-6
- Cosman F, Crittenden DB, Grauer A. Romosozumab Treatment in Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med* 2017;376(4):396-7. DOI: 10.1056/NEJMc1615367

6. Shoback D, Rosen CJ, Black DM, Cheung AM, Murad MH, Eastell R. Pharmacological Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: An Endocrine Society Guideline Update. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105(3):dgaa048. DOI: 10.1210/clinem/dgaa048
7. Riancho JA, Peris P, González-Macías J, Pérez-Castrillón JL. Guías de práctica clínica en la osteoporosis postmenopáusica, glucocorticoidea y del varón (actualización 2022). *Rev Osteoporos Metab Miner* 2022;14(1):13-33. DOI: 10.4321/S1889-836X2022000100002
8. Guañabens N, Moro-Álvarez MJ, Casado E, Blanch-Rubió J, Gómez-Alonso C, Díaz-Guerra GM, et al.; SEIOMM Working Group. The next step after anti-osteoporotic drug discontinuation: an up-to-date review of sequential treatment. *Endocrine* 2019;64(3):441-55. DOI: 10.1007/s12020-019-01919-8
9. Díez-Pérez A, Marin F, Eriksen EF, Kendler DL, Krege JH, Delgado-Rodríguez M. Effects of teriparatide on hip and upper limb fractures in patients with osteoporosis: A systematic review and meta-analysis. *Bone* 2019;120:1-8. DOI: 10.1016/j.bone.2018.09.02
10. Castañeda S, Gómez-Alonso C, Graña J, Guañabens N, Muñoz-Torres M, Peris P, et al. Position of the Spanish Society of Rheumatology (SER) and the Spanish Society for Bone Research and Mineral Metabolism (SEIOMM) on romosozumab. *Reumatol Clin (Engl Ed)* 2022;18(7):383-6. DOI: 10.1016/j.reumae.2021.10.001
11. Authors/Task Force Members & ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Euro Heart J* 2021;42:3227-337.
12. Caro-Codón J, López-Fernández T, Álvarez-Ortega C, Zamora Auñón P, Rodríguez IR, Gómez Prieto P, et al; CARDIOTOX registry investigators. Cardiovascular risk factors during cancer treatment. Prevalence and prognostic relevance: insights from the CARDIOTOX registry *Eur J Prev Cardiol* 2022;29 (6):859-68. DOI: 10.1093/eurjpc/zwaa034