



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 2025. 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, Emdcare, Academic Keys, CRUE, Hinari, REDIB, Emerging Sources Citation Index, British Library y ROAD.
Factor de impacto (JCR 2024): 0,5 / Q4

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/ Orense, 11, 4.º - 28020 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@sccsalud.es

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Rosa María Arboiro Pinel

Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid (España)

Correo electrónico: RMArboiro@quironsalud.es

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: tmbellido@uams.edu

Dr. Enrique Casado Burgos

Servicio de Reumatología. Unidad de Metabolismo Óseo. Parc Taulí Hospital Universitari. Institut d'Investigació i Innovació Parc Taulí (I3PT-CERCA). Universitat Autònoma de Barcelona. Sabadell, Barcelona (España)

Correo electrónico: ecasado@tauli.cat

Dr. Jesús Delgado Calle

Department of Physiology and Cell Biology. University of Arkansas for Medical Sciences. Little Rock, Arkansas (EE. UU.)

Correo electrónico: JDelgadocalle@uams.edu

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: mdcuriel@fjd.es

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. Luis Fernández de Castro

Skeletal Disorders and Mineral Homeostasis Section. National Institutes of Dental and Craniofacial Research. Bethesda, Maryland (EE. UU.)

Correo electrónico: luis.fernandezdecastro@nih.gov

Dra. Laia Gifre Sala

Servicio de Reumatología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona (España)

Correo electrónico: lgifre.germanstrias@gencat.cat

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

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

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 (ISPA). REDinREN del ISCIII. Universidad de Oviedo. Oviedo (España)

Correo electrónico: mnaves.huca@gmail.com

Dra. Lilian I. Plotkin

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

Correo electrónico: lplotkin@iupui.edu

Dr. José A. 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



Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral



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

Presidenta

Cristina Carbonell Abella

Vicepresidenta

Laia Gifre Sala

Secretario

Íñigo Etxebarria Foronda

Tesorera

Àngels Martínez Ferrer

Vocales

Beatriz García Fontana
Jesús Mora Fernández

Sumario

Vol. 17 ■ Octubre-Diciembre ■ N.º 4

Originales

Vitamin D and nutritional support in patients with heart failure: effect on circulating cytokines
A. D. Herrera-Martínez, C. Muñoz-Jiménez, A. Navas Romo, J. López Aguilera, M. A. Gálvez Moreno, M. J. Molina Puerta, A. Jurado Roger 139

Romozumab en la vida real: resultados de eficacia y seguridad en pacientes con osteoporosis grave en Castilla-La Mancha
D. Castro Corredor, L. A. Calvo Pascual, D. Velasco Sánchez, S. Sánchez Fernández, J. A. Carrasco Fernández, M. A. Ramírez Huaranga, M. González Peñas, P. Rozas Moreno, S. Masegosa Casanova, E. Cavalieri, D. E. Storino, M. Palma Moya 146

Osteoporosis precoz en relación con variantes del gen WNT1
A. García Tellado, A. I. Vega Pajares, A. del Real, G. Martínez de las Cuevas, N. Puente, M. Martín Millán, J. L. Hernández, J. M. Olmos, J. A. Riancho 153

mir-199b-5p as a potential biomarker of bone fragility in type 2 diabetes mellitus - Dual role in musculoskeletal pathophysiology
M. D. López Robles, L. Martínez Heredia, R. Sanabria de la Torre, F. L. Andújar Vera, S. González Salvatierra, G. Ferrero, A. Naccarati, M. Muñoz Torres, B. García Fontana, C. García Fontana 160

Documento Especial

Posicionamiento multidisciplinar de expertos sobre la prevención y manejo de la osteonecrosis de los maxilares relacionada con los fármacos antirresortivos óseos
P. Aguado-Acín, P. Infante-Cossío, J. V. Bagán, J. Nart, L. M. Redondo González, M. Zafra Poves, C. García Insausti, M. Casanova Espinosa, J. L. Cebrián Carretero, G. Martínez Díaz-Guerra 170

Imagen de portada:

Ortopantomografía de un paciente con osteonecrosis mandibular derecha

Cedida por Dr. José Luis Cebrián. Jefe del Servicio de Cirugía Maxilofacial. Hospital Universitario La Paz. Madrid

Original

Vitamin D and nutritional support in patients with heart failure: effect on circulating cytokines

Aura D. Herrera-Martínez^{1,2}, Concepción Muñoz-Jiménez^{1,2}, Ana Navas Romo^{1,4}, José López Aguilera^{1,3}, María Ángeles Gálvez Moreno^{1,2}, María José Molina Puerta^{1,2}, Aurora Jurado Roger^{1,4}

¹Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC). Córdoba, Spain. ²Endocrinology and Nutrition Service. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba, Spain. ³Cardiology Service. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba, Spain. ⁴Immunology Service. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba, Spain

Abstract

Background: heart failure (HF) is recognized as a highly state of inflammation. Increased circulating levels of cytokines have been previously reported and generally associated with worse clinical outcomes. In this context, the modulation of inflammation-related parameters seems to be a reasonable therapeutic option for improving the clinical course of the disease.

Aim: to compare changes in circulating cytokines and clinical progression of patients with HF when calcifediol supplementation is administered along with Mediterranean diet alone or with Mediterranean diet and 2 hypercaloric, hyperproteic oral nutritional supplements (ONS) enriched with eicosapentaenoic acid (EPA) docosahexaenoic acid (DHA) fatty acids.

Patients and methods: 25-hydroxy-vitamin D (25OHvitD) and circulating cytokines (IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1) were determined at baseline and after 24 weeks of nutritional support in a cohort of 38 patients previously included in an open label, controlled clinical trial; briefly patients were randomized to receive calcifediol plus Mediterranean Diet (control group) vs calcifediol plus Mediterranean Diet and ONS (intervention group). Epidemiological, clinical, anthropometric, and biochemical evaluation was also performed.

Results: 25OHvitD insufficiency was observed in 58.3 % of patients. Patients from the intervention group exhibited higher increase in serum 25OHvitD, higher decrease in ferritin, C-reactive protein (C-RP), IL-8, IL-6 and IP-10; although 25OHvitD levels positively correlated at baseline with body cell mass and the phase angle ($p < 0.05$) they did not correlate with serum ferritin, C-RP or the circulating evaluated interleukins. Any associations were observed between serum 25OHvitD and left ventricular ejection fraction (LVEF) or the N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP). An age-, sex- and 25OHvitD adjusted multivariate analysis showed that the only cytokine associated with increased mortality in patients with HF was MCP-1 (OR 1.01, 95 %CI, 1.01-1.02), which was not modulated in the intervention or the control group after 24-weeks of treatment.

Conclusion: although the combination of calcifediol, Mediterranean diet and hypercaloric, hyperproteic, EPA and DHA enriched ONS with decreased serum levels of inflammation related parameters (C-RP) and ferritin, as well as circulating cytokines, 25OHvitD levels were not correlated with these inflammation markers or the clinical progression of patients (mortality and new hospital admissions).

Keywords:

Oral supplements.
Calcifediol. Heart failure. Cytokines. Mortality. Outcomes.

Received: 04/16/2025 • Accepted: 07/07/2025

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Artificial intelligence: The authors declare not to have used artificial intelligence (AI) or any AI-assisted technologies in the elaboration of the article.

Herrera-Martínez AD, Muñoz-Jiménez C, Navas Romo A, López Aguilera J, Gálvez Moreno MA, Molina Puerta MJ, Jurado Roger A. Vitamin D and nutritional support in patients with heart failure: effect on circulating cytokines. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2025;17(4):139-145

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00081

Correspondence:

Aura D. Herrera-Martínez. Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba, Edificio IMIBIC. Av. Menéndez Pidal s/n. 14004 Córdoba, Spain
e-mail: aurita.dhm@gmail.com

INTRODUCTION

Vitamin D deficiency (VDD) is increasingly recognized as a significant factor in cardiovascular health, with associations identified in both coronary heart disease (CHD) and heart failure (HF) (1). Specifically, VDD, defined as 25-hydroxyvitamin D (25-OH-Vit D) levels < 20 ng/mL, has been associated with risk factors for cardiovascular disease and adverse outcomes (2) including all-cause mortality, cardiovascular mortality, and major adverse cardiovascular events (MACE) (1). Similarly, in patients with HF, multiple studies have revealed a striking correlation between VDD and worse prognosis (3). Furthermore, VDD in HF patients has been associated with reduced left ventricular ejection fraction (LVEF), increased natriuretic peptides, and increased mortality (4). Prospective studies have even indicated that the risk of developing HF is higher in patients with VDD (5). These associations highlight the potential role of vitamin D in the pathogenesis and progression of HF. Despite the strong epidemiological evidence implicating VDD in adverse cardiovascular outcomes, clinical trials involving vitamin D supplementation have largely failed to demonstrate consistent improvements in CVD outcomes; this discrepancy suggests that the relationship between vitamin D and cardiovascular disease is complex and may involve intermediary factors or specific patient subgroups that could benefit from intervention (1).

VDD has been involved in and may promote greater risk through inflammation; individuals with both VDD and elevated high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) levels exhibit an approximately 3-fold greater hazard of cardiovascular mortality vs those with normal vitamin D levels and low hsCRP (1). Similar findings have been observed for all-cause mortality and MACE, suggesting a synergistic detrimental effect of VDD and inflammation in cardiac heart disease (1).

Evidence from these sources consistently points towards a significant association between VDD and adverse cardiovascular outcomes, including HF. Inflammation seems to be a crucial mediator in this relationship, with lower vitamin D levels often correlating with higher levels of pro-inflammatory markers (5). Additionally, it has been described that vitamin D may exhibit immunomodulatory properties in reducing certain inflammatory cytokines like α necrosis tumor factor (TNF- α) in patients with HF, despite this, vitamin D supplementation trials have not consistently translated these effects into improved clinical outcomes (1).

HF is recognized as a systemic pro-inflammatory state that involves the activation of both innate and adaptive immunity mechanisms. Hemodynamic stress and volume overload in HF can lead to cardiomyocyte damage, stimulating the release of pro-inflammatory cytokines such as MCP-1, and IL-6 (5). These inflammatory signals can have effects on additional organs,

which contributes to skeletal muscle inflammation, adipose tissue inflammation and atherogenesis. This pro-inflammatory state deteriorates ventricular function by inducing myocardial contractile dysfunction, hypertrophy, apoptosis, and fibrosis, ultimately leading to the progression of HF due to cardiac remodeling (6). Elevated concentrations of inflammatory markers in HF patients have been associated with adverse outcomes such as reduced LVEF, increased pro-BNP, and increased mortality (5). The complex interplay between inflammation and HF suggests that targeting inflammatory pathways could be a potential therapeutic strategy (1).

Several authors suggest that vitamin D possesses immunoregulatory functions, furthermore, *in vitro* and *in vivo* models have demonstrated protective roles through mechanisms involving various inflammatory pathways (5). Despite this, there is inconsistent evidence from the clinical trials about the use of vitamin D supplementation for decreasing inflammation in these patients (7,8).

In this context, we aimed to evaluate the correlation between vitamin D and circulating cytokines levels in patients with a recent admission due to HF, their relation with nutritional parameters (combining anthropometric, instrumental and biochemical measurements) and determine their progression after 24-weeks of vitamin D supplementation along with Mediterranean diet alone or vitamin D supplementation, Mediterranean diet and nutritional support with a hypercaloric, hyperproteic, omega 3 (*n-3*)- enriched oral nutritional supplement (ONS).

MATERIAL AND METHODS

PATIENTS

This study was approved by *Hospital Universitario Reina Sofía* Ethics Committee (Cordoba, Spain; reference No. 5164 approved on October 21st, 2021 and updated on May 30th, 2023). The study was conducted in full compliance with the criteria set forth in the Declaration of Helsinki and national and international clinical practice guidelines. We conducted a prospective open-label study in which written informed consent was obtained from each participant prior to their inclusion in the study. All patients received comprehensive information about the study before consenting to participate. Only those who agreed to participate were subsequently included. This cohort was initially evaluated in an open, randomized, controlled clinical trial (ClinicalTrials.gov number: NCT05848960) (9). The trial included patients of both sexes, aged between 18 and 85 years, with a left ventricular ejection fraction (LVEF) < 50 % and who had been hospitalized due to heart failure over the past 6 months.

NUTRITIONAL SUPPORT

In the clinical trial, patients received vitamin D supplementation with calcifediol at a different dose depending on the baseline levels of 25-OH-Vit D (25-OH-Vit D > 30 ng/mL: dose 0.266 mg every 30 days; 25-OH-Vit D 20-29 ng/mL: dose of 0.266 mg calcifediol every 21 days; 25-OH-Vit D 10-19 ng/mL: dose of 0.266 mg calcifediol every 15 days; 25-OH-Vit D < 10 ng/mL: dose of 0.266 mg calcifediol every 10 days. Additionally, patients were randomized by the clinical investigator to receive either Mediterranean diet alone or Mediterranean diet plus 2 hypercaloric, hyperproteic ONS per day, with a 1:1 allocation for 24 weeks. The ONS included slow-release carbohydrates, fiber mixture and a combination of *n*-3 and *n*-6 fatty acids. ONS were kindly donated by Vegenat Healthcare®, bottles were administered every 3 weeks. A total of 19 patients were included in each arm. All patients referred an adherence > 75 % to treatment. At baseline, all patients received general education and advice about nutritional support, Mediterranean diet and physical activity.

NUTRITIONAL EVALUATION

A morphofunctional nutritional evaluation was performed as previously described (10-12). Briefly, physical examination included body composition analysis (bioelectrical bioimpedance, abdominal, arm and calf circumferences), functional tests (up and go test and handgrip strength) and nutritional ultrasound of abdominal adipose tissue and rectus-femoris (RF) muscle of the quadriceps. Biochemical nutritional analysis was also performed (hemoglobin, lymphocytes, total cholesterol, total, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low density lipoprotein (LDL) cholesterol, triglycerides, transferrin, albumin, prealbumin), heart-related markers (N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP)) and inflammation markers (C-reactive protein (C-RP) and ferritin) were included. Left ventricular ejection fraction (LVEF) measured using transthoracic ultrasound was also evaluated.

CYTOKINE MEASUREMENT

Serum cytokines were quantified by Cytometry Bead Array (CBA, BD Cytometric Bead Array Human Soluble Protein Master, ref. 558264/558265; Becton Dickinson and Company, San Jose, CA, USA). The following cytokines were analysed based on the manufacturer's instructions for use: IL-6 (ref. 558276), IL-8 (CXCL8, ref. 558277), IL-10 (ref. 558274), MCP-1 (CCL2, ref. 558287) and IP-10 (CXCL10, ref. 558280). For sample acquisition, a FACS Canto II was used, and a minimum of 300 events were recorded per each cytokine. Median Fluorescence Intensity (MFI) data was transformed in concentration (pg/mL) using a calibration curve as a reference.

STATISTICAL ANALYSIS

The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess the data normal distribution. For the descriptive statistics, the mean and standard deviation of the continuous variables and the frequencies and percentages of the discrete variables were calculated. To assess differences across continuous variables, the Mann-Whitney U test was used (nonparametric data). Paired analysis was performed by Wilcoxon test (nonparametric data). For differences between the discrete variables, Pearson's test was used. Statistical analyses were performed using SPSS statistical software version 20, and Graph Pad Prism version 6. Significance was defined as a *p*-value of < 0.05.

RESULTS

BASELINE CHARACTERISTICS OF THE GROUPS

A total of 38 patients were included in the study, 28.9 % were women, 42.1 % had type 2 diabetes mellitus and 34.2 % had ischemic cardiomyopathy; the median ejection fraction was 33 % and baseline NT-proBNP was 4225 pg/mL. A total of 73.7 % exhibited overweight or obesity. There were no differences in patients that underwent Mediterranean diet alone (control group) and those who received additional nutritional support (intervention group) (Table I). Median 25-OHvitD at baseline was 18 (11-26) ng/dL, 58.3 % of patients had 25OHvitD < 20 ng/dL. Specific baseline characteristics are shown in table I.

After 6 months of nutritional intervention, 25-OHvitD increased to 22 (16-31) ng/dL, this increase was higher in the intervention group [from 17 (9-29) to 25 (19-38), *p* = 0.08] than the control group [from 15 (11-21) to 17 (9-29)]. In parallel, serum ferritin and C-RP significantly decreased in the intervention group (*p* < 0.01) but not in the control group (*p* > 0.05); additionally, also NT-proBNP levels significantly decreased in patients that received nutritional support with ONS (Table II).

CLINICAL ASSOCIATIONS AND CORRELATIONS BETWEEN SERUM 25-OHvitD AND NUTRITIONAL PARAMETERS

In this cohort, 25OHvitD at baseline was correlated with body cell mass (BCM) *r* = 0.612 (*p* < 0,01) and the phase angle (PA) *r* = 0.349 (*p* < 0.05). Baseline 25OHvitD < 20 ng/dL was associated with increased BMI (29.9 kg/m² (IQR 5.55) vs 26.4 kg/m² (IQR 7.9), any other association with anthropometric or biochemical parameters, including LVEF and NT-proBNP was observed.

Table I. Baseline clinical characteristics of the patients. Inter-group comparison based on nutritional intervention

Characteristics	Total (n = 38)	Calcitriol plus Mediterranean diet (n = 19)	Calcitriol plus Mediterranean diet and ONS (n = 19)	p
Sex (♂/♀)	71.1%/28.9% (11/27)	31.6/68.4 (6/13)	73.7/26.3 (14/5)	0.50
Age (years)	67.5 (61-78)	72 (64.5-80)	65 (56-72)	0.06
Tobacco exposure (%)				
No	57.9 (22/38)	42.1 (8/19)	73.7 (14/19)	
Active	18.4 (7/38)	15.8 (3/19)	21.1 (4/19)	
Previous exposure	23.7 (9/38)	42.1 (8/19)	5.3 (1/19)	
Type 2 diabetes mellitus	42.1 (16/38)	36.8 (7/19)	47.4 (9/19)	0.38
Previous ischemic cardiomyopathy	34.2 (13/38)	36.8 (7/19)	31.6 (6/19)	0.50
Ejection fraction (%)	33 (25-49.5)	40 (32.5-54)	38 (23-35)	0.46
NT-proBNP (pg/mL)	4225 (2001-7289)	3678 (1966-7203)	4412 (2177-7255)	0.59
Current weight (kg)	78 ± (70.3-89.5)	81 (75-90)	76 (70-85)	0.17
Overweight/obesity (%)	73.7 (28/38)	57.1 (16/19)	42.9 (12/19)	0.14
Mortality (%)	13.2 (5/38)	21.1 (4/19)	5.3 (1/19)	0.17

Categorical data are expressed as percentages and absolute number in brackets. Continuous variables are expressed as median with interquartile range in brackets. ONS: oral nutritional supplement.

Table II. Biochemical analysis at baseline and 6 months after nutritional support

Characteristics	Total			Mediterranean diet			Mediterranean diet and OS		
	Baseline (n = 38)	6 months (n = 33)	p1	Baseline (n = 19)	6 months (n = 15)	p2	Baseline (n = 19)	6 months (n = 18)	p3
Biochemical parameters									
Ferritin (mg/dL)	106 (35-176)	73 (32 - 111)	0.003	74 (32 - 171)	80 (37 - 113)	0.46	130 (104 - 169)	80 (37 - 113)	< 0.01
C-RP (mg/L)	2.1 (0.5-6.9)	1.0 (0.5-2.6)	0.02	2.2 (0.5-15)	2.1 (0.5-5.6)	0.79	1.4 (0.7-5.8)	0.7 (0.5-1.5)	< 0.01
NT-proBNP (pg/mL)	1855 (1080-4364)	741 (393-1992)	<0.01	1757 (557-6027)	489 (178-1676)	0.17	1952 (1179-3307)	1303 (741-2111)	0.02
Vitamin D (ng/dL)	18 (11-26)	22 (16-31)	0.08	15 (11-21)	17 (9-29)	0.51	17 (9-29)	25 (19-38)	0.08
Interleukin levels									
IL-6	0.8 (0-11)	0	0.001	2.4 (0 -14.97)	0	0.07	0 (0 - 7.55)	0	0.01
IL-8	116 (26-311)	8.84 (2.8-14.9)	< 0.0001	190 (38.1-621.7)	10.27 (2.41-14.56)	0.001	53.1 (20-160.5)	7.83 (5.63-20.65)	0.001
IP-10	314.5 (226-409)	196 (94-328)	0.002	288 (229-492)	208 (120-419)	0.25	319 (219-391)	193 (70-318)	0.002
IL-10	0	0		0	0		0	0	
MCP-1	154 (85-234)	163 (84-220)	0.30	173 (148-244)	163 (89-206)	0.18	126 (51- 205)	162 (83-277)	0.93

p1 refers to the comparison between all patients at baseline and after 24 weeks; p2 indicates the comparison between patients of the control group (Mediterranean diet) at baseline and after 24 weeks; p3 indicates the comparison between patients of the intervention group (Mediterranean diet plus oral nutritional supplementation) at baseline and after 24 weeks.

After 24-weeks of intervention, 25-OHvitD < 20 ng/mL was associated with higher serum ferritin ($p < 0.05$) and remarkably, 25-OHvitD > 30 ng/mL were associated with lower body cell mass (BCME), extracellular cell mass (ECME), lean mass, water and bone mass (Fig. 1).

CORRELATIONS AMONG 25OHvitD, BODY COMPOSITION AND CIRCULATING CYTOKINE LEVELS

Although, at baseline, 25OHvitD positively correlated with phase angle ($r = 0.428$; $p = 0.01$) and negatively with C-reactive protein serum levels (C-RP; $r = -0.378$; $p = 0.02$) serum 25OHvitD levels did not significantly correlate with circulating levels of IL6, IL8, IL10, MCP1 and IP10. After 24-weeks of intervention, serum 25OHvitD negatively correlated with extracellular mass ($r = -0.375$; $p = 0.03$) and IL6 levels $r = -0.390$ ($p < 0.05$).

CLINICAL ASSOCIATION BETWEEN HF-RELATED OUTCOMES AND CIRCULATING INTERLEUKINS

At the 24-week follow-up, 27.3 % of patients ($n = 9$) experienced at least 1 hospital readmission due to HF. Most (6/9) had a single readmission, while the remaining 3 patients had 2 or more. Among those readmitted, 55.6 % ($n = 5$) belonged to the control group and

44.4 % ($n = 4$) to the intervention group ($p = 0.3$). Despite mortality rate was higher in the control group (21.1 %) vs the intervention group (5.3 %), this difference was not statistically significant. An age-, sex- and 25OHvitD adjusted multivariate analysis showed that the only cytokine associated with increased mortality in patients with HF was MCP-1 (OR 1.01, 95 %CI, 1.01-1.02). In contrast, no circulating cytokine was associated with new hospital admissions due to HF at the 24-week follow-up.

DISCUSSION

Given the conflicting evidence on the anti-inflammatory effects of vitamin D supplementation in specific contexts, we evaluated the clinical impact of its combination with oral nutritional supplements (ONS) in patients recently hospitalized for HF. In this cohort, we observed that patients from the intervention group resulted in clinical improvements including lean mass gain, cell mass gain, decreased levels of serum ferritin and C-RP, and a more significant improvement in functionality, quality of life, LVEF and decrease in NT-proBNP serum levels after 24 weeks of intervention. In parallel, we observed that Mediterranean diet and vitamin D supplementation with calcifediol resulted in decreased IL-8 circulating levels in these patients, while its combination with an ONS (with slow-release carbohydrates, fiber mixture and enriched with EPA and DHA) resulted in an additional significant decrease in serum IL-6 and IP-10 (13). Clinically, as expected, lower 25OHvitD levels

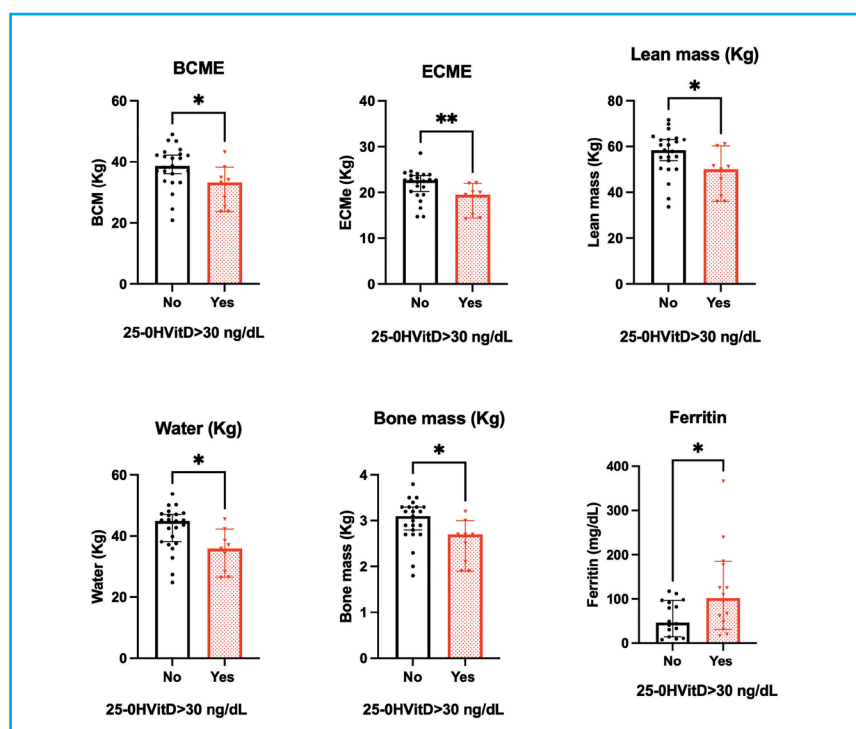


Figure 1. Clinical associations between 25OHvitD, clinical and biochemical parameters after 24-weeks of nutritional support and vitamin D supplementation. Serum 25-OHvitD levels tended to correlate with transferrin ($p = 0.05$). Additionally, serum 25-OHvitD negatively correlated with body weight $r = -0.380$ ($p < 0.05$), BMI $r = -0.359$ ($p < 0.05$) and adipose tissue in the rectus femoris $r = -0.375$ ($p < 0.05$). Both, at baseline and at the end of the study, 25-OHvitD levels were not associated with circulating interleukins.

were observed in patients with increased C-RP and decreased phase angle as previously described in different cohorts of patients (14), suggesting decreased muscle quality and functionality in patients with decreased serum 25OHvitD levels (15). Despite this findings, serum 25OHvitD levels were not associated with mortality or additional hospital admissions due to HF. Furthermore, it did not correlate with circulating interleukin levels and only after 24-weeks of intervention it negatively correlated with IL-6 serum levels.

As in our cohort, former studies have reported a high prevalence of VDD in HF patients; however, in contrast to our study, they observed a significant inverse correlation between serum 25OHvitD levels and several pro-inflammatory cytokines, including IL1 β , TNF- α , IL6, IL8, and IL17A (5). In line with our study, a few meta-analyses of randomized controlled trials have shown no significant differences in inflammation-related markers including C-RP (4, 16). In contrast, another meta-analysis suggested a potential, anti-inflammatory effect of vitamin D supplementation on TNF- α (17), however, it is unknown whether this reduction in TNF- α turns into a significant improvement in the clinical evolution for HF (18).

Another area of interest is the clinical relationship between 25-hydroxyvitamin D (25OHvitD) and body composition parameters. In this regard, we observed positive clinical correlations with BCM and the phase angle, indicating that in HF patients, higher levels of 25OHvitD are associated with better clinical conditions (19,20).

This study has some limitations. First the number of participants; furthermore, we cannot determine a specific relation between the combination of the supplementation with calcifediol and ONS and the clinical benefit. Finally, underlying molecular mechanisms were not evaluated.

Overall, our results reveal a close relation between 25OHvitD, circulating cytokines and body composition parameters in patients with HF, but no specific relations between circulating cytokines and VDD have been observed at baseline. Remarkably, the combination of nutritional support with ONS and calcifediol produced significant decrease in serum IL-6 and IP-10, suggesting that nutritional interventions can affect the clinical evolution of the heart function patients with previous admissions due to HF. Our results do not allow to differentiate whether this effect was improved by the vitamin D supplementation or the composition of the ONS itself. Importantly, MCP-1 was the only parameter independently associated with mortality and it does not change after nutritional and calcifediol supplementation.

Importantly, according to former studies, the synergistic combination of vitamin D with hypercaloric/hyperproteic ONS demonstrates clinically significant

benefits in specific populations, primarily through enhanced muscle protein synthesis and metabolic optimization (9,11,21). In this context, it is hypothesized that vitamin D potentiates the effect of the nutritional support downregulating myostatin, which is a muscle growth inhibitor and enhancing leptin sensitivity (redirecting calories toward muscle synthesis) (22).

This data suggests that the role of vitamin D as an anti-inflammatory drug in cardiovascular disease is complex, maybe some factors can mask the real effect, including the origin and evolution of the HF, the severity of the deficiency, the type and dosage of supplementation, and the presence of other comorbidities (4). Large-scale, well-designed clinical trials focusing on VDD individuals with HF and assessing both inflammatory markers and long-term clinical endpoints, are necessary to fully elucidate the therapeutic potential of vitamin D supplementation in these patients since it would help to develop effective strategies for improving clinical outcomes in these patients.

CORRESPONDING AUTHORS

Aura D. Herrera-Martínez, María José Molina Puertas, and Aurora Jurado Roger are the corresponding authors of this article.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Conceptualization: A. D. H. M., C. M. J., M. J. M.P., and A. J. R.; funding acquisition: A. D. H. M.; practical performance: S. C. P., A. S. S., J. L. A., A. D. H. M., G. M. G., C. M. J., and M. A. G. M.; formal and data analysis: A. D. H. M.; preparation manuscript: A. D. H. M., M. J. M. P., and C. M. J.; critical review of manuscript: A. D. H. M., M. J. M. P., and A. J. R. Final review of the manuscript: all authors.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the Spanish Society for Bone Research and Mineral Metabolism and Vegenat Healthcare® for their support to clinical research in our center and specially to this study.

FUNDING

Project PI23/01554 funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) and co-funded by the European Union. Spanish Society for Bone Research and Mineral Metabolism (SEIOMM Traslational Grant 2023). Vegenat Healthcare® has also kindly contributed with the funding of

this study. The funders were not involved in the study design, collection, analysis, interpretation of data, the writing of the manuscript or the decision to submit it for publication.

REFERENCES

- Desai SR, Ko YA, Liu C, Hafeez Z, Park J, Faaborg-Andersen C, et al. Vitamin D Deficiency, Inflammation, and Diminished Endogenous Regenerative Capacity in Coronary Heart Disease. *JACC Adv* 2024;3(2):100804. DOI: 10.1016/j.jacadv.2023.100804
- Chowdhury R, Kunutsor S, Vitezova A, Oliver-Williams C, Chowdhury S, Kieft-de-Jong JC, et al. Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies. *BMJ* 2014;348:g1903. DOI: 10.1136/bmj.g1903
- Li Q, Wang Q, Xu W, Ma Y, Wang Q, Eatman D, et al. C-Reactive Protein Causes Adult-Onset Obesity Through Chronic Inflammatory Mechanism. *Front Cell Dev Biol* 2020;8:18. DOI: 10.3389/fcell.2020.00018
- Rodriguez AJ, Mousa A, Ebeling PR, Scott D, de Courten B. Effects of vitamin D supplementation on inflammatory markers in heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep* 2018;8(1):1169. DOI: 10.1038/s41598-018-19708-0
- Roffe-Vazquez DN, Huerta-Delgado AS, Castillo EC, Villarreal-Calderón JR, Gonzalez-Gil AM, Enriquez C, et al. Correlation of Vitamin D with Inflammatory Cytokines, Atherosclerotic Parameters, and Lifestyle Factors in the Setting of Heart Failure: A 12-Month Follow-Up Study. *Int J Mol Sci* 2019;20(22):5811. DOI: 10.3390/ijms20225811
- Shirazi LF, Bissett J, Romeo F, Mehta JL. Role of Inflammation in Heart Failure. *Curr Atheroscler Rep* 2017;19(6):27. DOI: 10.1007/s11883-017-0660-3
- Grandi NC, Breitling LP, Vossen CY, Hahmann H, Wüsten B, März W, et al. Serum vitamin D and risk of secondary cardiovascular disease events in patients with stable coronary heart disease. *Am Heart J* 2010;159(6):1044-51. DOI: 10.1016/j.ahj.2010.03.031
- Welles CC, Whooley MA, Karumanchi SA, Hod T, Thadhani R, Berg AH, et al. Vitamin D deficiency and cardiovascular events in patients with coronary heart disease: data from the Heart and Soul Study. *Am J Epidemiol* 2014;179(11):1279-87. DOI: 10.1093/aje/kwu059
- Herrera-Martínez AD, Muñoz Jiménez C, López Aguilera J, Crespin MC, Manzano García G, Gálvez Moreno M, et al. Mediterranean Diet, Vitamin D, and Hypercaloric, Hyperproteic Oral Supplements for Treating Sarcopenia in Patients with Heart Failure-A Randomized Clinical Trial. *Nutrients* 2023;16(1):110. DOI: 10.3390/nu16010110
- García Almeida JM, García García C, Vegas Aguilar IM, Bellido Castaneda V, Bellido Guerrero D. Morphofunctional assessment of patient's nutritional status: a global approach. *Nutr Hosp* 2021;38(3):592-600. DOI: 10.20960/nh.03378
- Herrera-Martínez AD, León Idougourram S, Muñoz Jiménez C, Rodríguez-Alonso R, Alonso Echague R, Chica Palomino S, et al. Standard Hypercaloric, Hyperproteic vs. Leucine-Enriched Oral Supplements in Patients with Cancer-Induced Sarcopenia, a Randomized Clinical Trial. *Nutrients* 2023;15(12):2726. DOI: 10.3390/nu15122726
- Leon-Idougourram S, Perez-Gomez JM, Munoz Jimenez C, F LL, Manzano Garcia G, Molina Puertas MJ, et al. Morphofunctional and Molecular Assessment of Nutritional Status in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Systemic Treatment: Role of Inflammation in Clinical Nutrition. *Cancers (Basel)* 2022;14(3):494. DOI: 10.3390/cancers14030494
- Herrera-Martínez AD, Jiménez CM, Romo AN, Aguilera JL, Crespin MC, Baena BT, et al. Nutritional Support Reduces Circulating Cytokines in Patients with Heart Failure. *Nutrients* 2024;16(11):1637. DOI: 10.3390/nu16111637
- Inglis JE, Fernandez ID, van Wijngaarden E, Culakova E, Reschke JE, Kleckner AS, et al. Effects of High-Dose Vitamin D Supplementation on Phase Angle and Physical Function in Patients with Prostate Cancer on ADT. *Nutr Cancer* 2021;73(10):1882-9. DOI: 10.1080/01635581.2020.1819348
- Barrea L, Muscogiuri G, Laudisio D, Di Somma C, Salzano C, Pugliese G, et al. Phase Angle: A Possible Biomarker to Quantify Inflammation in Subjects with Obesity and 25(OH)D Deficiency. *Nutrients* 2019;11(8):1747. DOI: 10.3390/nu11081747
- Mazidi M, Rezaie P, Vatanparast H. Impact of vitamin D supplementation on C-reactive protein; a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Nutr* 2018;4:1. DOI: 10.1186/s40795-017-0207-6
- Dashti F, Mousavi SM, Larijani B, Esmailzadeh A. The effects of vitamin D supplementation on inflammatory biomarkers in patients with abnormal glucose homeostasis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res* 2021;170:105727. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105727
- Charakida M, Halcox JP. Tumor necrosis factor-alpha in heart failure: more questions than answers. *Rev Esp Cardiol* 2005;58(5):470-2.
- Wang Z, Wang H, Zheng D, Liu J, Liu Y. Body composition phase angle: A potential predictor of vitamin D status in early pregnancy. *Food Sci Nutr* 2023;11(12):8027-34. DOI: 10.1002/fsn3.3722
- Mentella MC, Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, Gasbarrini A, Miggianno GAD. The Association of Disease Activity, BMI and Phase Angle with Vitamin D Deficiency in Patients with IBD. *Nutrients* 2019;11(11):2583. DOI: 10.3390/nu11112583
- Herrera-Martínez AD, Castillo-Peinado LLS, Molina-Puerta MJ, Calañas-Continente A, Membrives A, Castilla J, et al. Bariatric surgery and calcifediol treatment, Gordian knot of severe-obesity-related comorbidities treatment. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023;14:1243906. DOI: 10.3389/fendo.2023.1243906
- Roizen J, Long C, Casella A, Nguyen M, Danahy L, Seiler C, et al. High dose dietary vitamin D allocates surplus calories to muscle and growth instead of fat via modulation of myostatin and leptin signaling. *Res Sq [Preprint]*. 2024 May 8;rs.3.rs-4202165. DOI: 10.21203/rs.3.rs-4202165/v1

Original

Romosozumab en la vida real: resultados de eficacia y seguridad en pacientes con osteoporosis grave en Castilla-La Mancha

David Castro Corredor¹, Luis Ángel Calvo Pascual², David Velasco Sánchez¹, Simón Sánchez Fernández³, José Antonio Carrasco Fernández³, Marco Aurelio Ramírez Huaranga¹, Marina González Peñas¹, Pedro Rozas Moreno⁴, Sandra Masegosa Casanova⁵, Emma Cavalieri⁶, Diana Edith Storino⁶, Mercedes Palma Moya⁷

¹Servicio de Reumatología. Hospital General Universitario de Ciudad Real. Ciudad Real. ²Departamento de Métodos Cuantitativos. ICADE. Universidad de Comillas. Madrid. ³Servicio de Reumatología. Hospital La Mancha Centro de Alcázar de San Juan. Alcázar de San Juan, Ciudad Real. ⁴Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital General Universitario de Ciudad Real. Ciudad Real. ⁵Servicio de Reumatología. Hospital General de Tomelloso. Tomelloso, Ciudad Real. ⁶Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Santa Bárbara de Puertollano. Puertollano, Ciudad Real. ⁷Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Gutiérrez Ortega de Valdepeñas. Valdepeñas, Ciudad Real

Resumen

Introducción: la osteoporosis grave representa un desafío significativo en la práctica clínica, debido a su impacto en la calidad de vida de los pacientes y al alto riesgo de fracturas que conlleva. Romosozumab, un anticuerpo monoclonal inhibidor de la esclerostina, ha demostrado mejorar la densidad mineral ósea (DMO) mediante un mecanismo dual, incrementando la formación ósea y reduciendo la resorción. Sin embargo, su eficacia y seguridad en la práctica clínica real requieren una evaluación detallada.

Objetivo: evaluar la eficacia y seguridad de romosozumab en pacientes con osteoporosis grave y alto riesgo de fractura en un entorno clínico real.

Metodología: estudio multicéntrico retrospectivo observacional, de pacientes con osteoporosis grave y/o alto riesgo de fractura que recibieron romosozumab entre mayo de 2023 y noviembre de 2024 en diversos hospitales y servicios de Castilla-La Mancha y con un seguimiento de 12 meses para evaluar los cambios en la DMO, la incidencia de fracturas y los efectos adversos.

Resultados: después de un año de tratamiento con romosozumab, las 58 mujeres posmenopáusicas incluidas en el estudio (edad media: 71,7 años) presentaron un aumento de la DMO del 11,4 % en la columna lumbar, del 3,7 % en el cuello femoral y del 2,6 % en la cadera total. Se registraron 2 fracturas vertebrales, sin eventos cardiovasculares mayores, y con los marcadores de remodelado óseo sin sufrir grandes variabilidades numéricas.

Conclusión: romosozumab mejora significativamente la DMO en pacientes con osteoporosis grave, mostrando un perfil de seguridad adecuado y resultados prometedores en práctica clínica real.

Palabras clave:
Osteoporosis. Vida real. Romosozumab.

Recibido: 26/05/2025 • Aceptado: 06/10/2025

Conflicto de intereses: David Castro Corredor ha participado como ponente en actividades formativas patrocinadas por Amgen y UCB, y ha recibido apoyo para asistir a congresos nacionales por parte de ambas compañías. David Velasco Sánchez ha participado en cursos organizados con financiación no condicionada de Amgen. Luis Ángel Calvo Pascual, Simón Sánchez Fernández, José Antonio Carrasco Fernández, Marco Aurelio Ramírez Huaranga, Marina González Peñas, Pedro Rozas Moreno, Sandra Masegosa Casanova, Emma Cavalieri, Diana Edith Storino y Mercedes Palma Moya declaran no tener conflictos de interés relevantes con respecto al contenido de este manuscrito.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial en la preparación del manuscrito: durante la preparación de este manuscrito, los autores utilizaron un modelo de lenguaje basado en inteligencia artificial (ChatGPT, OpenAI) para mejorar la claridad, el estilo y la gramática del texto. Los autores verificaron de forma independiente todas las sugerencias generadas por la IA y mantuvieron plena responsabilidad sobre la exactitud, integridad y contenido final del manuscrito, incluidas todas las interpretaciones y conclusiones.

Castro Corredor D, Calvo Pascual LA, Velasco Sánchez D, Sánchez Fernández S, Carrasco Fernández JA, Ramírez Huaranga MA, González Peñas M, Rozas Moreno P, Masegosa Casanova S, Cavalieri E, Storino DE, Palma Moya M. Romosozumab en la vida real: resultados de eficacia y seguridad en pacientes con osteoporosis grave en Castilla-La Mancha. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(4):146-152

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00083

Correspondencia:

David Castro Corredor. Servicio de Reumatología.
Hospital General Universitario de Ciudad Real.
C/ Obispo Rafael Torija, s/n. 13005 Ciudad Real
e-mail: d.castrocorredor@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por la disminución progresiva de la densidad mineral ósea (DMO) y el deterioro de la microarquitectura del hueso, lo que provoca un incremento en su fragilidad y, en consecuencia, un mayor riesgo de fracturas (1,2). Esta patología afecta predominantemente a mujeres posmenopáusicas debido a la reducción en los niveles de estrógenos, lo que acelera la pérdida ósea. No obstante, también puede presentarse en hombres y en personas con comorbilidades asociadas a la pérdida de masa ósea (3).

Las fracturas osteoporóticas constituyen una de las principales causas de discapacidad en la población anciana, afectando de manera considerable la movilidad y la independencia funcional de los pacientes. Entre ellas, las fracturas vertebrales y de cadera tienen un impacto particularmente severo, ya que incrementan la mortalidad y el riesgo de futuras fracturas. La prevención y el tratamiento eficaz de la osteoporosis son, por tanto, de suma importancia para reducir la carga clínica y económica de la enfermedad.

En este contexto, romosozumab ha emergido como una alternativa terapéutica innovadora. Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado que inhibe la esclerostina, una glicoproteína producida por los osteocitos que actúa como un regulador negativo de la formación ósea. Al bloquear la acción de la esclerostina, romosozumab favorece la diferenciación y actividad de los osteoblastos, promoviendo la formación de nuevo tejido óseo. Además, ejerce un efecto inhibitorio sobre los osteoclastos, reduciendo la resorción ósea. Esta doble acción lo diferencia de otros tratamientos disponibles para la osteoporosis, como los bisfosfonatos y el denosumab, que se centran principalmente en la inhibición de la resorción ósea.

La eficacia de romosozumab ha sido ampliamente evaluada en ensayos clínicos de fase III. En el estudio FRAME (Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis), que incluyó a más de 7000 mujeres posmenopáusicas con osteoporosis, el tratamiento con romosozumab durante 12 meses se asoció con un incremento significativo de la DMO en columna lumbar (13,3 %) y cadera total (6,9 %), y con una reducción del 73 % en el riesgo de fracturas vertebrales nuevas en comparación con placebo (4).

Por su parte, el estudio ARCH (Active-Controlled Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis at High Risk), que comparó romosozumab frente a alendronato en mujeres con antecedentes de fracturas por fragilidad, demostró que romosozumab seguido de alendronato redujo significativamente el riesgo de fracturas vertebrales (-48 %), no vertebrales (-19 %) y clínicas (-27 %) en comparación con alendronato solo (5). Estos resultados consolidan a romosozumab como

una opción terapéutica eficaz, especialmente en mujeres con alto riesgo de fractura.

Sin embargo, dado que ambos estudios se desarrollaron en condiciones controladas, resulta esencial confirmar estos hallazgos mediante estudios en vida real que evalúen su efectividad, tolerabilidad y seguridad en poblaciones más heterogéneas y en escenarios asistenciales habituales.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio observacional retrospectivo, multicéntrico y multidisciplinar, en el que participaron los servicios de Reumatología y Endocrinología de distintos hospitales de Castilla-La Mancha. Se incluyeron pacientes diagnosticados de osteoporosis grave y/o con alto riesgo de fractura que iniciaron tratamiento con romosozumab entre mayo de 2023 y noviembre de 2024, con un seguimiento de 12 meses. El estudio se llevó a cabo en un contexto de práctica clínica real, sin intervención externa en la elección del tratamiento por parte de los investigadores.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se incluyeron mujeres posmenopáusicas con osteoporosis grave confirmada mediante densitometría ósea (DXA) y un historial de fracturas previas. Se excluyeron pacientes con antecedentes de eventos cardiovasculares mayores recientes (infarto de miocardio o accidente cerebrovascular) o con hipocalcemia no controlada, debido a las advertencias de seguridad previamente descritas para romosozumab.

VARIABLES ESTUDIADAS

Las *variables principales* analizadas fueron:

- *Edad, índice de masa corporal (IMC) y comorbilidades relevantes* (como hipertensión, dislipidemia, diabetes *mellitus* y antecedentes de fractura osteoporótica).
- *Densidad mineral ósea (DMO)*: se midió en la columna lumbar, el cuello femoral y la cadera total mediante absorciometría de rayos X de doble energía (DXA), con evaluaciones al inicio y a los 12 meses.
- *A nivel analítico*, se recogieron los valores séricos de creatinina, calcemia corregida, fósforo, fosfatasa alcalina, hormona paratiroidea (PTH) y vitamina D, con evaluaciones al inicio y a los 12 meses.

- *Marcadores de remodelado óseo*: se evaluaron los niveles séricos de P1NP (propéptido N-terminal del procolágeno tipo 1) como indicador de formación ósea y el CTX (telopéptido C-terminal del colágeno tipo 1) como marcador de resorción ósea, con evaluaciones al inicio y a los 12 meses.
- *Incidencia de nuevas fracturas*: se documentó la aparición de fracturas vertebrales y no vertebrales durante el período de seguimiento.
- *Efectos adversos*: se registraron eventos adversos relacionados con el tratamiento, incluyendo reacciones en el sitio de inyección, hipocalcemia y eventos cardiovasculares, durante el periodo de seguimiento.

Las *variables secundarias* que se estudiaron fueron:

- Edad de inicio de la menopausia y tipo de menopausia (natural o quirúrgica), de cada una de las pacientes.

- Riesgo cardiovascular previo: estimado mediante la herramienta REGICOR.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En primer lugar, se hizo una limpieza de las variables, eliminando *outliers* y se llevó a cabo un análisis descriptivo de las variables numéricas, que incluyeron los valores mínimo y máximo, cuartiles, media y desviación típica (DT) (Tabla I).

Por otro lado, para evaluar los cambios en la densidad mineral ósea (DMO) tras un año de tratamiento con romosozumab, se elaboró un *boxplot* comparativo entre las mediciones basales y al año (Fig. 1) y un contraste de hipótesis para la diferencia de medias (Tabla II), aplicando previamente, un test de normalidad Shapiro-Wilk).

Tabla I. Resumen estadístico de variables clínicas en mujeres tratadas con romosozumab

Variables	Media	DT	Mínimo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Máximo
Edad	71,74	10	34	66	73	78	92
Índice de masa corporal	26,11	4,82	18,79	22,32	24,85	29,05	37,30
Edad de menopausia	47,26	6	30	45	48	51	56
Menopausia quirúrgica	0,10	0	0	0	0	0	1
Riesgo cardiovascular previo	3,06	3,18	0,00	1,00	2,00	5,00	15,00
Número de días tratamiento	365,47	51,20	28,00	364,00	365,00	369,75	486,00
DMO lumbar (g/cm ²) basal	0,78	0,18	0,51	0,67	0,74	0,85	1,32
DMO cuello femoral (g/cm ²) basal	0,60	0,13	0,30	0,52	0,62	0,69	0,85
DMO cadera total (g/cm ²) basal	0,66	0,13	0,32	0,56	0,67	0,74	1,00
DMO lumbar (g/cm ²) al año de tto.	0,90	0,18	0,67	0,77	0,85	1,00	1,40
DMO cuello femoral (g/cm ²) al año de tto.	0,66	0,10	0,47	0,59	0,65	0,74	0,87
DMO cadera total (g/cm ²) al año de tto.	0,71	0,11	0,50	0,62	0,72	0,80	0,89
Fósforo basal	3,54	0,66	1,70	3,20	3,50	3,80	5,00
Fosfatasa alcalina basal	82,38	35,12	37,00	60,00	73,00	93,00	223,00
PTH basal	68,52	33,23	30,30	40,18	60,15	91,15	153,00
Vitamina D basal	35,73	15,48	6,00	25,00	32,00	44,70	77,30
P1NP basal	46,20	29,96	0,17	24,50	36,20	63,60	102,00
CTX basal	35,05	183,43	0,04	0,16	0,29	0,60	971,00
Creatinina a los 6 meses	0,76	0,16	0,49	0,67	0,72	0,86	1,17
Calcemia corregida a los 6 meses	9,43	0,36	8,70	9,10	9,40	9,70	10,30
Fósforo a los 6 meses	3,52	0,62	1,90	3,18	3,45	4,00	5,00
Fosfatasa alcalina a los 6 meses	98,30	36,55	51,00	75,50	87,00	108,00	199,00

(Continúa en página siguiente)

Tabla I (cont.). Resumen estadístico de variables clínicas en mujeres tratadas con romosozumab

Variables	Media	DT	Mínimo	Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Máximo
PTH a los 6 meses + BD1	74,19	45,09	26,20	41,58	63,30	88,85	202,00
Vitamina D a los 6 meses	37,82	11,79	7,00	31,50	38,00	43,60	75,00
P1NP a los 6 meses	100,13	121,97	11,10	45,80	58,40	105,50	610,00
CTX a los 6 meses	0,47	0,50	0,08	0,16	0,37	0,52	2,57
Creatinina a los 12 meses	0,79	0,19	0,54	0,66	0,75	0,90	1,34
Calcemia corregida a los 12 meses	9,48	0,48	8,72	9,13	9,40	9,90	11,06
Fósforo a los 12 meses	3,38	0,80	1,90	3,00	3,30	3,70	6,80
Fosfatasa alcalina a los 12 meses	87,76	31,45	38,00	68,00	74,00	101,00	176,00
PTH a los 12 meses	77,43	43,32	29,00	48,00	63,70	95,30	212,00
Vitamina D a los 12 meses	35,68	19,62	0,00	25,90	35,70	43,00	101,00
P1NP a los 12 meses	53,12	40,45	15,30	26,50	37,75	61,13	191,00
CTX a los 12 meses	0,67	0,96	0,10	0,17	0,29	0,64	3,75
Fracturas con romosozumab	0,02	0	0	0	0	0	1

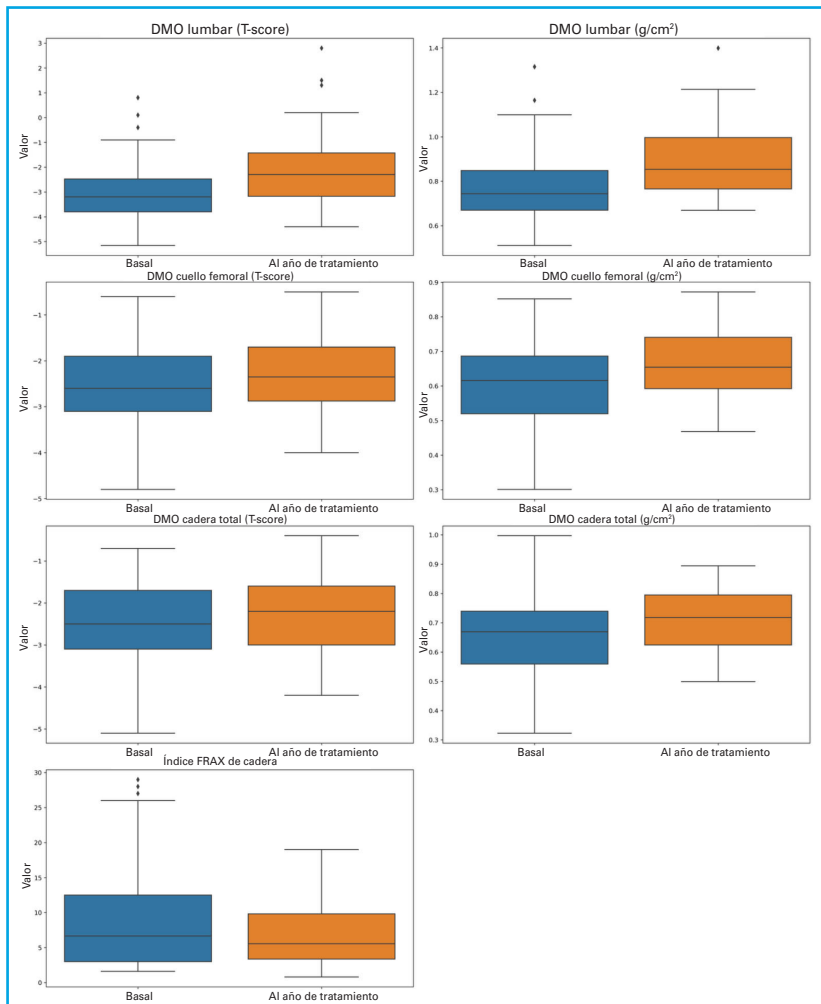


Figura 1. Evolución de DMO de los valores basales a los valores al año de tratamiento.

Tabla II. Contraste de hipótesis de biomarcadores óseos y renales para la diferencia de medias entre valores basales y al año de tratamiento

Variable	Test usado	Estadístico	Valor p	Diferencia significativa
DMO lumbar (<i>T-score</i>)	Wilcoxon	24	0	Sí
DMO lumbar (g/cm ²)	t de Student pareada	-6,4351	0	Sí
DMO cuello femoral (<i>T-score</i>)	t de Student pareada	-2,1984	0,0336	Sí
DMO cuello femoral (g/cm ²)	Wilcoxon	204	0,0094	Sí
DMO cadera total (<i>T-score</i>)	t de Student pareada	-2,8122	0,0091	Sí
DMO cadera total (g/cm ²)	t de Student pareada	-4,0553	0,0002	Sí

Se usó, en caso de normalidad, la prueba t de Student y en el caso de no normalidad, la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Se hizo otro contraste de hipótesis para evaluar la diferencia la diferencia de medias en valores basales y al año de tratamiento para biomarcadores óseos y renales (Tabla III).

Todo el análisis se llevó a cabo utilizando *Python* y las librerías *numpy*, *matplotlib*, *seaborn* y *scipy.stats*.

COMITÉ ÉTICO

El estudio fue aprobado por el comité de ética de investigación de los hospitales participantes, así como del Hospital General Universitario de Ciudad Real, el cual lideró el estudio (acta n.º 12/2023) y se llevó a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Además, hemos obtenido el consentimiento informado por escrito del paciente para publicar el material antes del procedimiento (se pueden solicitar al investigador principal con una justificación previa). Se garantizó la confidencialidad de los datos de los pacientes conforme a la normativa vigente en protección de datos personales.

RESULTADOS

La cohorte estuvo compuesta por 58 mujeres con una edad media de 71,74 años (DT ± 10), con un índice de masa corporal promedio de 26,11 kg/m². La edad media de inicio de la menopausia fue de 47,26 años, siendo la menopausia quirúrgica poco frecuente (10 %). El riesgo cardiovascular previo medio fue de 3,06 (DT ± 3,18) y la duración promedio del tratamiento con romosozumab fue de un año (Tabla 1). Las principales comorbilidades fueron la hipertensión arterial (16 %) y la dislipidemia (12 %), seguidas de la diabetes *mellitus* (3 %), tabaco (2 %) y malabsorción intestinal (1 %).

Al comparar los valores de DMO medidos por *T-score* antes y después de un año de tratamiento, se observó una mejoría significativa en todas las regiones analizadas. La DMO estimada mejoró aproximadamente un 11,4 % en columna lumbar, un 3,7 % en cuello femoral y un 2,6 % en cadera total, lo que se corresponde con una mejoría del *T-score* de -2,97 (DT ± 1,37) a -2,02 (DT ± 1,66), de -2,61 (DT ± 0,91) a -2,30 (DT ± 0,83) y de -2,46 (DT ± 0,97) a -2,24 (DT ± 0,94), respectivamente.

En todas las localizaciones evaluadas mediante densitometría ósea, se observó un aumento consistente tanto

Tabla III. Contraste de hipótesis de biomarcadores óseos y renales para la diferencia de medias entre valores basales y al año de tratamiento

Variable	Test usado	Estadístico	Valor p	Diferencia significativa
Creatinina (mg/dL)	Wilcoxon	313,5	0,1945	No
Calcemia corregida (mg/dL)	t de Student pareada	-0,9334	0,3561	No
Fósforo (mg/dL)	t de Student pareada	1,7521	0,0876	No
Fosfatasa Alcalina (U/L)	Wilcoxon	264	0,1866	No
PTH (pg/mL)	t de Student pareada	-0,797	0,4301	No
Vitamina D (ng/mL)	t de Student pareada	0,0384	0,9696	No
P1NP (ng/mL)	Wilcoxon	20	0,8203	No
CTX (ng/mL)	Wilcoxon	61	0,4874	No

en la media como en los cuartiles de los valores de DMO tras un año de tratamiento, tal como se muestra en los *boxplots* (Fig. 1). En un análisis exploratorio, se observó que la ganancia en DMO al año fue menor en aquellas pacientes con valores basales más altos en cuello femoral. No obstante, esta diferencia no alcanzó significación estadística y no se realizó un análisis multivariante. Además, los contrastes de hipótesis presentados en la tabla II confirman que las diferencias entre los valores medios de DMO basal y los obtenidos al año, son estadísticamente significativas, con *p*-valores inferiores a 0,05.

En relación con los biomarcadores óseos y renales, los valores medios basales fueron los siguientes: creatinina 0,76 mg/dL, calcemia corregida 9,42 mg/dL, fósforo 3,54 mg/dL, fosfatasa alcalina 82,38 U/L, PTH 68,52 pg/mL y vitamina D 35,73 ng/mL. A los 6 y 12 meses de seguimiento, estos parámetros se mantuvieron relativamente estables, con ligeras fluctuaciones que no alcanzaron relevancia clínica. Los marcadores de recambio óseo CTX y P1NP presentaron una elevada dispersión, especialmente en las mediciones basales, lo cual refleja una notable heterogeneidad en la respuesta individual. Los contrastes de hipótesis realizados para evaluar diferencias entre las medias en los distintos momentos del seguimiento no mostraron resultados estadísticamente significativos para ninguno de estos biomarcadores, como se detalla en la tabla III.

En cuanto a la incidencia de fracturas, se registró una fractura vertebral en dos pacientes durante el periodo de tratamiento, lo que representa un porcentaje significativamente menor que en cohortes históricas sin tratamiento osteoformador.

En términos de seguridad, seis pacientes reportaron efectos adversos leves, incluyendo cefalea y reacciones locales en el punto de inyección. Solo en dos casos se suspendió el tratamiento debido a efectos secundarios. No se registraron eventos cardiovasculares mayores.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio coinciden con los hallazgos de ensayos clínicos previos como FRAME y ARCH, donde se observó una mejora significativa en la DMO y una reducción del riesgo de fracturas con romosozumab (4,5). En FRAME, se reportó un incremento del 13 % en la DMO de la columna lumbar tras 12 meses de tratamiento, mientras que en ARCH se evidenció una reducción del 50 % en el riesgo de fracturas vertebrales. Nuestros hallazgos en cuanto a la incidencia de fracturas, aunque limitados por la ausencia de un grupo control, son consistentes con los datos de ensayos clínicos como FRAME y ARCH, donde se observó una reducción significativa del riesgo de fractura vertebral con romosozumab (1,2).

La tasa de efectos adversos en nuestra cohorte fue relativamente baja. No obstante, sin un grupo comparador directo ni un análisis específico de subgrupos, no es posible establecer si este hallazgo se debe a una mejor tolerabilidad o a diferencias en la selección de pacientes.

En nuestra cohorte, los niveles de los marcadores de remodelado óseo CTX y P1NP mostraron una elevada dispersión, sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas durante el seguimiento. Esta variabilidad sugiere una respuesta heterogénea entre pacientes, posiblemente condicionada por tratamientos previos. El efecto dual de romosozumab sobre la formación y la resorción ósea ha sido ampliamente descrito en estudios clínicos controlados. En el trabajo de Mineta et al., por ejemplo, se observó un aumento significativo de P1NP a los 6 meses (58,9 %; *p* < 0,01) y a los 12 meses (55,9 %; *p* < 0,01), junto con una disminución marcada de TRACP-5b —un marcador de resorción ósea— tanto a los 6 meses (−14,7 %; *p* < 0,001) como a los 12 meses (−18,8 %; *p* < 0,001), en comparación con los valores basales (7). Estos hallazgos confirman el perfil anabólico y antirresortivo de romosozumab en contextos controlados. Sin embargo, nuestros resultados no reproducen este patrón de forma concluyente, probablemente debido a la influencia de tratamientos antirresortivos previos, que podrían haber modulado la respuesta bioquímica. En este sentido, estudios realizados en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis han evidenciado que la respuesta a romosozumab o denosumab puede diferir en función del tratamiento previo. Así, en pacientes *naïve*, la administración de denosumab se asocia a un incremento precoz de P1NP y a una reducción significativa de CTX desde el primer mes, mientras que en pacientes previamente tratadas con bisfosfonatos, la respuesta es menos intensa o más tardía, posiblemente debido al efecto residual de dichos fármacos sobre la remodelación ósea (8).

Estos resultados sugieren que el tipo de tratamiento recibido previamente podría influir significativamente en la respuesta clínica y densitométrica a romosozumab. En una cohorte prospectiva suiza de 99 pacientes (9), aquellos sin tratamiento previo (*naïve*) mostraron una respuesta significativamente mayor en la densidad mineral ósea (DMO), tanto en la columna lumbar como en la cadera, en comparación con los pacientes pretratados. En nuestra experiencia en práctica clínica, la mayoría de los pacientes candidatos a romosozumab han recibido tratamientos antiosteoporóticos previos. En la cohorte analizada, únicamente 6 pacientes eran *naïve*, por lo que no se realizó una comparación estadística con el grupo pretratado debido al tamaño reducido de esta submuestra. En este contexto, la heterogeneidad de tratamientos anteriores podría haber condicionado parcialmente los resultados obtenidos.

Además, nuestros datos refuerzan la evidencia sobre la seguridad del fármaco. En comparación con el estu-

dio STRUCTURE (6), donde se documentaron eventos cardiovasculares en un 2 % de los pacientes, en nuestro estudio no se registraron eventos mayores, lo que podría sugerir un perfil de seguridad más favorable en la población evaluada.

Cabe destacar que este estudio se centró exclusivamente en mujeres posmenopáusicas, en línea con la indicación aprobada en la ficha técnica de romosozumab. No obstante, el ensayo BRIDGE —un estudio de fase III, aleatorizado, controlado con placebo y doble ciego— mostró resultados similares en cuanto a eficacia (10), lo que sugiere un potencial beneficio más allá de la población femenina. Sin embargo, se requiere mayor evidencia para su uso rutinario en varones, ya que se observó un desequilibrio numérico en los eventos cardiovasculares graves confirmados [romosozumab: 8 (4,9 %) frente a placebo: 2 (2,5 %)].

Por otro lado, existen estudios de extensión en fase II que han evaluado la eficacia y seguridad del fármaco durante un período prolongado de 24 meses, mostrando que la ganancia en densidad mineral ósea continúa aumentando más allá del primer año, especialmente con dosis de 210 mg mensuales, y que la transición a tratamientos posteriores como denosumab puede mantener o incluso potenciar estos beneficios (11). Nuestro patrón sugiere que el impacto del tratamiento con romosozumab podría ser más marcado en pacientes con DMO basal más baja, como también apunta el trabajo mencionado previamente de McClung (11). Sin embargo, al tratarse de un análisis exploratorio no ajustado, debe interpretarse con cautela.

En conjunto, estos resultados refuerzan la utilidad de romosozumab en pacientes con osteoporosis grave y alto riesgo de fractura, destacando su impacto positivo en la DMO y su perfil de seguridad adecuado en la práctica clínica. No obstante, la respuesta terapéutica está modulada por el historial de tratamientos previos, por lo que futuras investigaciones deberían centrarse en identificar perfiles clínicos específicos que permitan predecir mejor la eficacia del fármaco, así como en evaluar estrategias de secuenciación terapéutica óptima con otros tratamientos antiosteoporóticos para maximizar los beneficios a largo plazo.

CONCLUSIONES

Romosozumab es un tratamiento eficaz en la mejora de la DMO en pacientes con osteoporosis grave y/o alto riesgo de fractura. Los resultados obtenidos en la práctica clínica real confirman su eficacia y seguridad, alineándose con los hallazgos de estudios previos. Su uso debería considerarse en pacientes seleccionados, especialmente en aquellos con baja DMO inicial y alto riesgo de fractura.

BIBLIOGRAFÍA

1. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* 2001;285(6):785-95. DOI: 10.1001/jama.285.6.785
2. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY; 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. *Osteoporos Int* 2019;30(1):3-44. DOI: 10.1007/s00198-018-4704-5
3. Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002;359(9319):1761-7. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)08657-9
4. 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(16):1532-43. DOI: 10.1056/NEJMoa1607948
5. 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
6. 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
7. Reid IR, Miller PD, Brown JP, et al. Romosozumab compared with teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis transitioning from bisphosphonate therapy: results from the STRUCTURE study. *J Bone Miner Res* 2018;33(9):1601-10.
8. Mineta K, Nishisho T, Okada M, Kamada M, Saiyo K. Real-world effects, safety, and predictors of the effectiveness of romosozumab in primary and secondary osteoporosis: An observational study. *Bone* 2024;186:117164. DOI: 10.1016/j.bone.2024.117164
9. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, Brown JP, Lillestol M, Siddhanti S, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 2010;25(1):72-81. DOI: 10.1359/jbmr.090716
10. Everts-Graber J, Wenger M, Oser S, Studer U, Steiner C, Ziswiler HR, et al. The effect of romosozumab on bone mineral density depending on prior treatment: a prospective, multicentre cohort study in Switzerland. *Osteoporos Int* 2024;35(9):1605-13. DOI: 10.1007/s00198-024-07155-9
11. McClung MR, Brown JP, Diez-Perez A, Resch H, Caminis J, Meisner P, et al. Effects of 24 Months of Treatment With romosozumab Followed by 12 Months of Denosumab or Placebo in Postmenopausal Women with Low Bone Mineral Density: A Randomized, Double-Blind, Phase 2, Parallel Group Study. *J Bone Miner Res* 2018;33(8):1397-406. DOI: 10.1002/jbmr.3452

Original

Osteoporosis precoz en relación con variantes del gen *WNT1*

Álex García Tellado¹, Ana I. Vega Pajares², Álvaro del Real², Gonzalo Martínez de las Cuevas¹, Nuria Puente^{1,3}, Marta Martín Millán¹, José L. Hernández¹, José M. Olmos¹, José A. Riancho^{1,3}

¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria, IDIVAL. Santander. ²Servicio de Genética. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, IDIVAL. Santander. ³Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria, IDIVAL. CIBERER. Santander

Resumen

Introducción: la osteoporosis de inicio precoz es una entidad poco reconocida que afecta a varones jóvenes y mujeres premenopáusicas. En algunos casos, puede tener un origen monogénico, con variantes en genes implicados en la homeostasis ósea. *WNT1* codifica un ligando de la vía de señalización Wnt, que es fundamental para la diferenciación osteoblástica. Este estudio describe una serie de pacientes con osteoporosis precoz asociada a variantes en heterocigosis del gen *WNT1*.

Pacientes y métodos: se revisaron los pacientes con osteoporosis de inicio precoz sin causa secundaria identificable remitidos a nuestra Unidad de Metabolismo Óseo. Se realizaron estudios bioquímicos, densitométricos y secuenciación de nueva generación de un panel de genes relacionados con el metabolismo óseo. Las variantes se analizaron mediante herramientas bioinformáticas y se evaluó su posible impacto clínico.

Resultados: se identificaron 6 pacientes (2 varones y 4 mujeres) con variantes en el gen *WNT1*. La media de la edad al diagnóstico fue de 36 años. Cuatro presentaron osteoporosis con fracturas vertebrales y periféricas, mientras que uno tuvo múltiples fracturas periféricas. Una paciente presentaba también hipermovilidad y se identificó en heterocigosis una variante en el gen *FLNA*. Otra debutó con fracturas vertebrales durante la lactancia. Todos recibieron tratamiento para la osteoporosis, con respuesta variable.

Conclusiones: las variantes en heterocigosis en el gen *WNT1* pueden asociarse a osteoporosis de inicio precoz y elevado riesgo de fracturas. La secuenciación genética permite mejorar el diagnóstico etiológico, aunque se precisan estudios adicionales para optimizar el manejo terapéutico, incluyendo el potencial beneficio de fármacos moduladores de la actividad de la vía Wnt.

Palabras clave:

Alteraciones monogénicas óseas. *WNT1*. Osteoporosis de inicio temprano.

Recibido: 29/05/2025 • Aceptado: 14/10/2025

Financiación: estudio cofinanciado en parte por Instituto de Salud Carlos III (PI21/00532) y con fondos FEDER de la Unión Europea.

Consideraciones éticas: el estudio se aprobó por el Comité de ética de investigación con medicamentos de Cantabria con el número 2022.156.

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

Inteligencia artificial: los autores declaran no haber usado inteligencia artificial (IA) ni ninguna herramienta que use IA para la redacción del artículo.

García Tellado A, Ana I. Pajares V, del Real A, Martínez de las Cuevas G, Puente N, Martín Millán M, Hernández JL, Olmos JM, Riancho JA. Osteoporosis precoz en relación con variantes del gen *WNT1*. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(4):153-159

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00084

Correspondencia:

Álex García Tellado. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Avda. de Valdecilla, s/n. 39008 Santander
e-mail: agt1695@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por una reducción de la masa ósea y una alteración de la microarquitectura del hueso, con el consiguiente incremento del riesgo de fractura ante traumatismos de bajo impacto. Afecta de forma predominante a mujeres posmenopáusicas y a varones de más de 50 años. Sin embargo, existen formas precoces de la enfermedad en hombres jóvenes y mujeres premenopáusicas, cuya incidencia aún no está claramente establecida (1). Estos individuos jóvenes presentan una mayor expectativa de vida y, por tanto, cabe especular que tienen un mayor riesgo acumulado de sufrir una fractura por fragilidad a lo largo de su vida.

En la evaluación inicial de estos pacientes, es fundamental descartar una potencial causa subyacente de osteoporosis. En ciertos casos, la fractura por fragilidad puede representar la primera manifestación de una osteoporosis de origen monogénico, por lo que es importante identificar la presencia de variantes en genes relacionados con la homeostasis esquelética. En este sentido, la enfermedad mejor conocida es la osteogénesis imperfecta, debida generalmente a variantes patogénicas en los genes que codifican las cadenas del colágeno tipo 1 (*COL1A1* y *COL1A2*) y, más raramente, a variantes en otros genes que influyen en la formación de hueso y la producción de la matriz osteoide (2). Sin embargo, otros pacientes presentan una osteoporosis de inicio precoz, que se detecta en niños o en adultos jóvenes, sin que por otro lado presenten características propias de la osteogénesis imperfecta. La patogenia de esos casos no es bien conocida, pero algunos presentan variantes en genes implicados en la formación ósea, como los que codifican los ligandos de la vía Wnt, una vía de señalización que desempeña un papel esencial en la formación de los osteoblastos (3). El objetivo de este trabajo ha sido describir las características de una serie de pacientes que presentaron una osteoporosis de inicio precoz, asociada con variantes en el gen *WNT1*, que codifica uno de esos ligandos Wnt.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se revisaron todos los pacientes remitidos a nuestra Unidad de Metabolismo Óseo del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (centro de referencia de la comunidad autónoma de Cantabria), por osteoporosis de inicio precoz (mujeres premenopáusicas y varones menores de 50 años) sin evidencia de una causa secundaria de osteoporosis.

Además de los estudios bioquímicos y radiológicos convencionales, en todos los pacientes se realizaron

estudios genéticos mediante secuenciación de nueva generación, donde analizamos un total de 49 pacientes.

El ADN extraído a partir de sangre periférica se analizó con un panel de genes personalizado SureSelect QXT (Agilent), que incluía los genes relacionados con el metabolismo óseo *ABCC6*, *ABL1*, *ADAMTS10*, *ADAMTS17*, *ADAMTSL4*, *ALDH18A1*, *ALPL*, *AMER1*, *ANKH*, *AP2S1*, *ATP6V0A2*, *ATP7A*, *B3GAT2*, *BMP1*, *CA2*, *CASR*, *CHST14*, *CBS*, *CDKN1C*, *CLCN5*, *CLCN7*, *COL11A1*, *COL11A2*, *COL1A1*, *COL1A2*, *COL2A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL5A2*, *COMP*, *CREB3L1*, *CRTAP*, *CTSK*, *CYP27B1*, *DHCR7*, *DMP1*, *DVL1*, *ELN*, *ENPP1*, *FAM20C*, *FBLN5*, *FBN1*, *FDPS*, *FGF23*, *FGFR1*, *FGFR3*, *FKBP10*, *FLNA*, *FUCA1*, *GAA*, *GALNS*, *GALNT3*, *GBA*, *GDF3*, *GDF6*, *GLA*, *GLB1*, *GNA11*, *GNAS*, *IDS*, *IDUA*, *IFITM5*, *LEMD3*, *LGR4*, *LMX1B*, *LRP4*, *LRP5*, *LRP6*, *MED12*, *MEOX1*, *P3H1*, *PHEX*, *PLOD1*, *PLOD2*, *PLS3*, *PPIB*, *PTH1R*, *ROR2*, *RUNX2*, *SEC24D*, *SERPINF1*, *SERPINH1*, *SGSH*, *SHOX*, *SLC29A3*, *SLC2A10*, *SLC34A3*, *SLCO2A1*, *SMAD3*, *SMAD6*, *SMPD1*, *SOST*, *SOX9*, *SP7*, *SPARC*, *TCIRG1*, *TGFB1*, *TGFB2*, *TGFB3*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, *TMEM38B*, *TNFRSF11A*, *TNFRSF11B*, *TNFSF11*, *TNXB*, *VDR*, *WNT1*, *WNT16*, *WNT5A*, *BMS1*, *XYLT2*, *ZNF469*. La calidad y concentración de las librerías se cuantificaron con un sistema de electroforesis capilar en chip (TapeStation, Agilent) y se secuenciaron en la plataforma MiSeq (Illumina). Para el filtrado y análisis de variantes se utilizó la plataforma bioinformática Alisa (Agilent) considerando aquellas que están descritas con relevancia clínica según ClinVar 20180401 y aquellas que resultan patogénicas según los programas predictivos (PolyPhen, Sift, Mutation Taster y Human Splice Finder). El análisis de variaciones en el número de copias se realizó con el software DECoN. La clasificación de las variantes genéticas detectadas se realizó de acuerdo con las guías del American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) (4).

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para la extracción y análisis del estudio genético. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética (Código interno: 2022.156).

RESULTADOS

Identificamos 6 pacientes con variantes (patogénicas, probablemente patogénicas o de significado incierto) en heterocigosis en el gen *WNT1*. Dos de ellos eran varones y 4 mujeres, con una mediana de edad al diagnóstico genético de 49 años (intervalo: 37-66 años). La mediana de edad a la que sufrieron la primera fractura fue a los 40 años (intervalo: 5-49 años).

Las principales características clínicas y densitométricas de los pacientes se exponen en la tabla I. En la tabla II se detallan las alteraciones genéticas encontradas.

Tabla I. Características fenotípicas y densitométricas de los pacientes

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5	Caso 6
Edad debut / sexo	47 / Varón	41 / Varón	49 / Mujer	37 / Mujer	39 / Mujer	5 / Mujer
Fracturas	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Tipo de fracturas	5.º y 7.º arcos costales T8 y T9 Cúbito Radio Metacarpiano	Peroné Metacarpiano Codo labrum cadera	T11, T12, L1 y L2 Rótula Cóndilo femoral Fractura de cadera	T9, T11, L2 y L5	Metatarsiano	Fémur Radio T11-T12
Columna lumbar	Z: -2.9 T: -3.9	Z: -1.8 T: -1.8	Z: -1.8 T: -3.4	Z: -3.4 T: -3.5	Z: -0.5 T: -1.6	Z: -1.6 T: -3.7
Cuello femoral	Z: -1.7 T: -2.7	Z: -1.3 T: -1.8	Z: -2.0 T: -3.4	Z: -1.2 T: -1.5	Z: -1.6 T: -2.6	Z: 0.4 T: -1.4
Cadera total	Z: -1.7 T: -2.7	Z: -0.9 T: -1.1	Z: -1.9 T: -3.0	Z: -0.9 T: -1.0	Z: -2.1 T: -2.8	Z: 0.3 T: -1.2
Trabecular <i>bone score</i>	No disponible	L1-L4: 1.280	L1-L4: 1.110	No disponible	L1-L4: 1.175	L1-L4: 1.012

Tabla II. Características genotípicas de las variantes en *WNT1*. En todos los casos, las variantes estaban en heterocigosis

	N.º referencia	ADN	Proteína	Tipo de variante	Efecto	Otras variantes
Caso 1	NM_005430.4	c.1005_1027del23	p.Thr336Alafs*125	Desplazamiento del marco de lectura	Probablemente patogénica	DVL1 (VUS) p.Ala658Thr
Caso 2	NM_005430.4	c.541G>A	p.Gly181Ser	Cambio de sentido	Significado incierto	-
Caso 3	NM_005430.4	c.105-4C>T	p.?	En el sitio de empalme	Significado incierto	FLNA (VUS) p.Ile2115Val
Caso 4	NM_005430.4	c.506dupG	p.Cys170Leufs*6	Desplazamiento del marco de lectura	Patogénica	-
Caso 5	NM_005430.4	c.105-6C>T	p.?	En el sitio de empalme	Significado incierto	BMS1 (VUS) p.Arg1068Lys
Caso 6	NM_005430.4	c.308A>C	p.Asn103Thr	Cambio de sentido	Significado incierto	CREB3L1 (VUS) p.Leu390Serfs*15

Los casos 1, 3, 4 y 6 tenían valores bajos de densidad mineral ósea (DMO) y fracturas vertebrales y periféricas. Todos los pacientes, excepto los casos 2 y 4, habían sufrido dos o más fracturas vertebrales en el momento del diagnóstico. El caso 2 debutó con múltiples fracturas periféricas ante traumatismos de baja energía.

El caso 3 asoció un síndrome de hiper movilidad con luxación recidivante de rótula (> 10 veces) y una fractura combinada de rótula y del cóndilo femoral. En este pa-

ciente se detectó, además, una variante en heterocigosis en el gen *FLNA*, que codifica la filamina A y que podría justificar la hiper movilidad articular.

El caso 4 debutó como una osteoporosis de inicio temprano en el periodo posparto, mientras daba lactancia. Presentó al diagnóstico 4 fracturas vertebrales con intensa lumbalgia y, tras finalizar la lactancia e iniciar tratamiento anabólico, experimentó una recuperación clínica satisfactoria.

El caso 5 presentó una osteoporosis regional transitoria en ambos pies y una fractura de estrés sobre metatarsófalangicas años antes de su diagnóstico densitométrico.

El caso 6 debutó con una fractura de fémur de bajo impacto en la edad pediátrica, con posterior desarrollo de fracturas periféricas en la premenopausia y valores de DMO en rango de osteoporosis, por lo que recibió tratamiento sucesivamente con raloxifeno, aminobisfosfonatos, teriparatida y denosumab.

El tratamiento recibido varió en función del clínico que atendió al paciente en cada momento. Todos los pacientes recibieron tratamiento para la osteoporosis al menos con teriparatida, excepto el caso 5 que recibió aminobisfosfonatos exclusivamente. Los casos 3 y 6 volvieron a presentar otra fractura de fragilidad a pesar del tratamiento. El caso 3 tuvo una fractura de cadera a los 8 años del diagnóstico, a pesar de que se encontraba en tratamiento con ácido zoledrónico y habían mejorado los parámetros densitométricos. El caso 6 presentó una fractura vertebral cuando se encontraba en tratamiento con ibandronato. No volvió a presentar nuevas fracturas tras completar ciclos con zoledronato, teriparatida y finalmente denosumab.

DISCUSIÓN

Es bien conocido que la pérdida de función de la vía Wnt canónica, y la subsiguiente disminución de señalización Wnt/ β -catenina, provoca una disminución de la diferenciación osteoblástica y por tanto menor formación ósea. Asimismo, la menor actividad Wnt induce una menor expresión de osteoprotegerina y aumento de RANKL, lo que provoca un incremento en la resorción de hueso (5,6).

Wnt1 es un ligando soluble que se une a los receptores formados por las proteínas LRP5/6 y Frizzled en las células precursoras de osteoblastos. Los defectos bialélicos (variantes homocigotas o dos heterocigotas en trans) de *WNT1* originan una forma poco frecuente de osteogénesis imperfecta, clasificada como tipo XV (2). Los pacientes presentan estatura baja, múltiples fracturas vertebrales, periféricas y, frecuentemente, deformidades. Aproximadamente la mitad de los pacientes presentan anomalías craneales, como microcefalia, asimetría craneal, ptosis palpebral, hidrocefalia, hipoplasia cerebelosa o malformación tipo I de Chiari, y alrededor del 40 % tienen retraso del neurodesarrollo o discapacidad intelectual severa (7). A diferencia de esos pacientes, los defectos monoalélicos de *WNT1* (una variante en heterocigosis) parecen asociarse a osteoporosis de inicio precoz.

La osteoporosis de inicio precoz puede tener diferentes etiologías. Muchos casos son secundarios a diversas enfermedades (celiaquía, hipertiroidismo, malnutrición, mastocitosis, etc.) o fármacos (glucocorticoides, antagonistas de hormonas sexuales, etc.). Otras formas de osteoporosis precoz son de causa genética. Algunas se asocian a síndromes reconocibles (ej., síndrome de Turner). En otras, la alteración esquelética es la manifestación única o predominante. Las nuevas técnicas genéticas de secuenciación masiva permiten identificar una variante causal en aproximadamente el 20 % de los pacientes (8). Se trata pues de osteoporosis "primarias", pudiendo el resto ser consideradas como osteoporosis "idiopáticas", posiblemente ocasionadas por una combinación de factores, incluyendo variantes de repercusión funcional limitada localizadas en múltiples genes, factores ambientales y mecanismos epigenéticos.

Entre los genes asociados a formas primarias de osteoporosis de inicio precoz, se encuentran los relacionados con la vía Wnt, bien con sus receptores LRP5/6 (9), bien con ligandos como *WNT1* (10). Además de la nuestra, se han publicado algunas otras series de pacientes con variantes en heterocigosis en el gen *WNT1* (Tabla II). En nuestro caso, no disponemos de una estimación precisa de la proporción de pacientes con osteoporosis de inicio precoz que suponen estos con variantes en *WNT1*. Sin embargo, se estima que pueden constituir hasta el 10 % de los casos de osteoporosis precoz, según algunos estudios (11). En total, se han registrado unas 160 mutaciones en este gen (<https://databases.lovd.nl/shared/genes/WNT1>).

Para poner en contexto las variantes genéticas encontradas en este estudio, reflejamos en la figura 1 la localización de las variantes en heterocigosis identificadas en nuestros pacientes y en otros casos publicados anteriormente. En la tabla III se describen algunas series de pacientes con variantes en el gen *WNT1* publicadas previamente. La figura 2 muestra las mutaciones en homocigosis en *WNT1* asociadas a la osteogénesis imperfecta tipo XV.

A falta de realizar estudios funcionales de las variantes que demuestren su carácter patogénico, resulta imposible determinar en qué proporción estas variantes en *WNT1* contribuyen a la patogenia de la fragilidad esquelética en estos pacientes. No obstante, cabe pensar que sean un factor importante, añadido al papel de otras variantes genéticas, identificadas o no en nuestro análisis. Una de las pacientes presentaba una variante en *DVL1*, gen que codifica otro de los componentes de la cadena de señalización Wnt (12). Sin embargo, no se ha descrito que las variantes en este gen se asocien a osteoporosis. Las variantes en *FLNA* tampoco se han asociado con osteoporosis precoz, aunque sí con alteraciones vasculares y del tejido conectivo, incluyendo hiper movilidad articular, como la que presentaba el caso 3 (13).

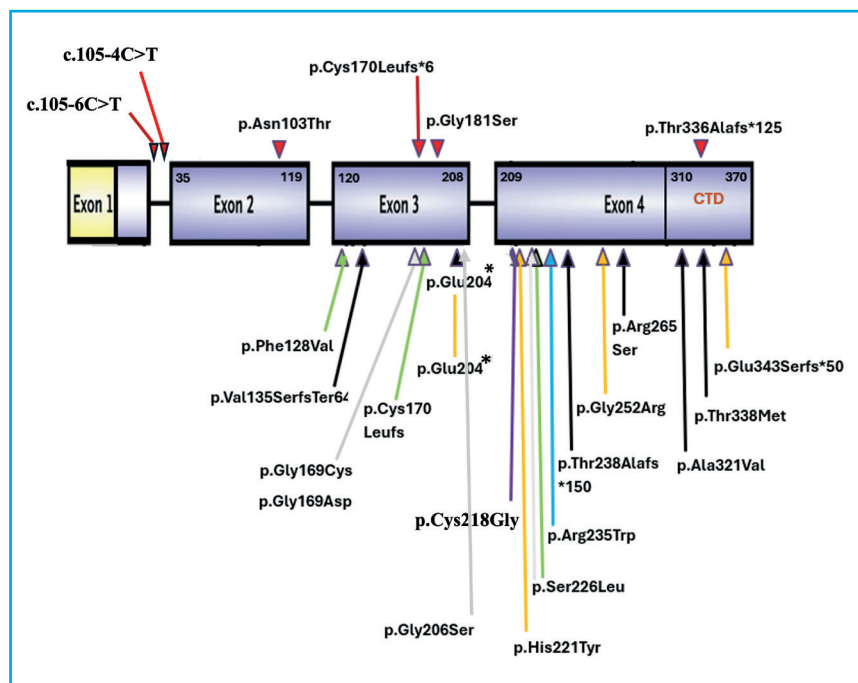


Figura 1. Variantes en heterocigosis en *WNT1* en los pacientes con osteoporosis de inicio precoz. Las flechas rojas muestran las posiciones mutadas en nuestra serie de casos. Las flechas amarillas muestran las variantes publicadas por Peris et al. (11). Las flechas verdes muestran las publicadas por Hu et al. (22). La flecha azul las publicadas por Palomo et al. (23). Las flechas violetas muestran las regiones afectadas en los pacientes de Mäkitie et al. (24). Las flechas negras corresponden a las regiones de Rouleau et al. (26). Las flechas grises corresponden al trabajo publicado por Wang et al. (27). CTD: dominio C-terminal. En amarillo, la parte del exón transcrita pero no traducida; en violeta, la que se traduce en proteína.

Tabla III. Tabla descriptiva comparativa en las series de pacientes publicadas con mutación en *WNT1* *

Autores	Población	Mutación <i>WNT1</i> en homocigosis (n.º pacientes)	Mutación <i>WNT1</i> en heterocigosis (n.º pacientes)	Edad media** y rango (años)	Fracturas	Tratamiento
Peris et al. (11)	OP de inicio precoz	0	5	27 (2-48)	3 vertebrales 11 periféricas 1 fémur 1 pelvis	Teriparatida Denosumab
Hu et al. (22)	OP de inicio precoz Osteogénesis imperfecta	12	4	31 (7.3-47)	8 vertebrales 9 periféricas	Bisfosfonatos Denosumab
Palomo et al. (23)	OP de inicio precoz Osteogénesis imperfecta	4	6	35 (10-45)	8 vertebrales 3 periféricas	No especifican
Mäkitie et al. (24,25)	OP de inicio precoz	0	18	22 (8-42)	9 vertebrales 60 periféricas	Bisfosfonatos Teriparatida Denosumab
Välimäki et al. (20)	OP de inicio precoz	0	3	No especifican	11 vertebrales 2 periféricas 1 fémur	Bisfosfonatos
Rouleau et al. (26)	OP primaria idiopática	0	6	23 (7-52)	3 vertebrales 5 periféricas 3 fémur	No especifican
Wang et al. (27)	OP de inicio precoz	0	4	8 (2-12)	8 vertebrales 4 periféricas	Bisfosfonatos

*La tabla no refleja una revisión exhaustiva de todos los casos publicados en la literatura.

**La edad del diagnóstico viene definida por la primera fractura clínica.

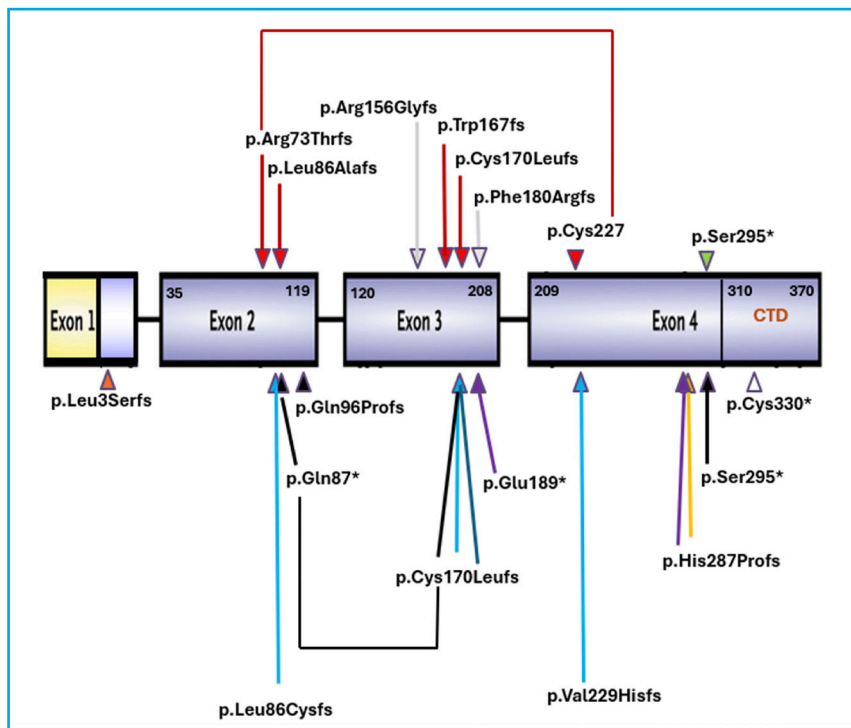


Figura 2. Variaciones bialélicas en *WNT1* de pacientes con osteogénesis imperfecta tipo XV. Las flechas azules muestran las publicadas por Nampoothiri et al. (7). Las flechas violetas muestran las posiciones afectadas en los pacientes de Keupp et al. (21). Las flechas rojas muestran las mutaciones publicadas por Hu et al. (22). La flecha verde muestra las publicadas por Laine et al. (28). Las flechas grises corresponden al trabajo publicado por Lu et al. (29). Las flechas negras corresponden a las regiones de Pyott et al. (30). La flecha amarilla muestra la mutación publicada por Kantaputra et al. (31). La flecha naranja el trabajo de Kuptanon et al. (32), la flecha blanca la de Faqeih et al. (33) y finalmente la azul marino la de Mrosk et al. (34). Se unen con líneas de color las mutaciones publicadas en heterocigosis compuestas. CTD: dominio C-terminal. En amarillo, la parte del exón transcrita pero no traducida; en violeta, la que se traduce en proteína.

Se han publicado algunos casos de osteoporosis familiar y de osteogénesis imperfecta en relación con variantes en los genes *BMS1* y *CREB3L1*, respectivamente (14,15). Por tanto, quizás las variantes de significado incierto encontradas en estos genes podrían contribuir a la osteoporosis que presentaban estos pacientes. De hecho, frente a la concepción tradicional de que las enfermedades comunes se deben a variantes comunes de bajo impacto funcional y las enfermedades mendelianas a variantes raras con mucha repercusión, en los últimos años parece configurarse la idea de que tanto las variantes comunes como las variantes raras influyen en el fenotipo de los pacientes con enfermedades prevalentes (16,17).

Existen pocos datos respecto al tratamiento de los pacientes con variantes patogénicas en genes de la vía Wnt. En algunas publicaciones se ha sugerido que la respuesta a los bisfosfonatos sería pobre (18), pero otros autores han señalado que los fármacos antiresortivos, como el denosumab o los aminobisfosfonatos, tienen un efecto beneficioso en términos de ganancia de masa ósea (19). En nuestros pacientes se optó a menudo por el tratamiento con un fármaco anabólico como la teriparatida, para tratar de favorecer la osteoblastogénesis (20). No se conoce bien el posible papel de los anticuerpos bloqueantes de inhibidores de la Vía Wnt, como la esclerostina o el DKK1, en esta entidad.

En conclusión, los defectos bialélicos en *WNT1* causan una forma de osteogénesis imperfecta. Los defectos monoalélicos pueden asociarse a una osteoporosis de inicio precoz con tendencia a presentar fracturas verte-

brales y periféricas. Sería interesante desarrollar ensayos clínicos para identificar el tratamiento de elección en esta población y, en especial, valorar el potencial beneficio del uso de fármacos inhibidores de la vía Wnt.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mäkitie O, Zillikens MC. Early-onset osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2022;110(5):546-61. DOI: 10.1007/s00223-021-00885-6
2. Jovanovic M, Guterman-Ram G, Marini JC. Osteogenesis imperfecta: Mechanisms and signaling pathways connecting classical and rare OI types. *Endocr Rev* 2022;43(1):61-90. DOI: 10.1210/edrv/bnab017
3. Wesseling-Perry K, Mäkitie RE, Välimäki V-V, Laine T, Laine CM, Välimäki MJ, et al. Osteocyte protein expression is altered in low-turnover osteoporosis caused by mutations in *WNT1* and *PLS3*. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102(7):2340-8. DOI: 10.1210/jc.2017-00099
4. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24. DOI: 10.1038/gim.2015.30
5. Glass DA 2nd, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005;8(5):751-64. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.02.017
6. Otero K, Shinohara M, Zhao H, Cella M, Gilfillan S, Colucci A. *TREM2* and β -catenin regulate bone homeostasis by controlling

- the rate of osteoclastogenesis. *J Immunol* 2012;188(6):2612-21. DOI: 10.4049/jimmunol.1102836
7. Nampoothiri S, Guillemyn B, Elcioglu N, Jagadeesh S, Yesodharan D, Suresh B, et al. Ptosis as a unique hallmark for autosomal recessive WNT1-associated osteogenesis imperfecta. *Am J Med Genet A* 2019;179(6):908-14. DOI: 10.1002/ajmg.a.61119
 8. Luther J, Yorgan TA, Rolvien T, Ulsamer L, Koehne T, Liao N, et al. Wnt1 is an Lrp5-independent bone-anabolic Wnt ligand. *Sci Transl Med* 2018;10(466):eaau7137. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau7137
 9. Xu G-Y, Qiu Y, Mao H-J. Common polymorphism in the LRP5 gene may increase the risk of bone fracture and osteoporosis. *Biomed Res Int* 2014;2014:1-13.
 10. Mäkitie RE, Kämpe A, Costantini A, Alm JJ, Magnusson P, Mäkitie O. Biomarkers in WNT1 and PLS3 osteoporosis: Altered concentrations of DKK1 and FGF23. *J Bone Miner Res* 2020;35(5):901-12. DOI: 10.1002/jbmr.3959
 11. Peris P, Monegal A, Mäkitie RE, Guañabens N, González-Roca E. Osteoporosis related to WNT1 variants: a not infrequent cause of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2023;34(2):405-11. DOI: 10.1007/s00198-022-06609-2
 12. Michigami T. Wnt signaling and skeletal dysplasias. *Clin Calcium* 2019;29(3):323-8. DOI: 10.20837/4201903323
 13. Chen MH, Walsh CA. FLNA deficiency. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al. GeneReviews [Internet]. University of Washington, Seattle; 1993-2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1213/>
 14. Lee SH, Kang MI, Ahn SH, Lim KH, Lee GE, Shin ES, et al. Common and rare variants in the exons and regulatory regions of osteoporosis-related genes improve osteoporotic fracture risk prediction. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(11):E2400-11. DOI: 10.1210/jc.2014-1584.
 15. Zhao Y, Yu Z, Song Y, Fan L, Lei T, He Y, et al. The regulatory network of CREB3L1 and its roles in physiological and pathological conditions. *Int J Med Sci* 2024;21(1):123-36. DOI: 10.7150/ijms.90189
 16. Fiziev PP, McRae J, Ulirsch JC, Dron JS, Hamp T, Yang Y, et al. Rare penetrant mutations confer severe risk of common diseases. *Science* 2023;380(6648):eabo1131. DOI: 10.1126/science.abo1131
 17. Lu T, Zhou S, Wu H, Forgetta V, Greenwood CMT, Richards JB. Individuals with common diseases but with a low polygenic risk score could be prioritized for rare variant screening. *Genet Med* 2021;23(3):508-15. DOI: 10.1038/s41436-020-01007-7
 18. Mäkitie RE, Costantini A, Kämpe A, Alm JJ, Mäkitie O. New insights into monogenic causes of osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;10:70. DOI: 10.3389/fendo.2019.00070
 19. Matos TC, Dias MKG, Franco AS. Use of teriparatide, denosumab, and romosozumab in a postpartum monogenic osteoporosis with a WNT1 pathogenic variation. *JCEM Case Rep* 2025;3(4):luaf053. DOI: 10.1210/jcemcr/luaf053
 20. Välimäki V-V, Mäkitie O, Pereira R, Laine C, Wesseling-Perry K, Määttä J, et al. Teriparatide treatment in patients with WNT1 or PLS3 mutation-related early-onset osteoporosis: a pilot study. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102(2):535-44. DOI: 10.1210/jc.2016-2423
 21. Keupp K, Beleggia F, Kayserili H, Barnes AM, Steiner M, Semler O, et al. Mutations in WNT1 cause different forms of bone fragility. *Am J Hum Genet* 2013;92(4):565-74. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.02.010
 22. Hu J, Lin X, Gao P, Zhang Q, Zhou B, Wang O, et al. Genotypic and phenotypic spectrum and pathogenesis of WNT1 variants in a large cohort of patients with OI/osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2023;108(7):1776-86. DOI: 10.1210/clinem/dgac752
 23. Palomo T, Al-Jallad H, Moffatt P, Glorieux FH, Lentle B, Roschger P, et al. Skeletal characteristics associated with homozygous and heterozygous WNT1 mutations. *Bone* 2014;67:63-70. DOI: 10.1016/j.bone.2014.06.041
 24. Mäkitie RE, Niinimäki T, Nieminen MT, Schalin-Jäntti C, Niinimäki J, Mäkitie O. Impaired WNT signaling and the spine-Heterozygous WNT1 mutation causes severe age-related spinal pathology. *Bone* 2017;101:3-9. DOI: 10.1016/j.bone.2017.04.001
 25. Mäkitie RE, Haanpää M, Valta H, Pekkinen M, Laine CM, Lehesjoki A-E, et al. Skeletal characteristics of WNT1 osteoporosis in children and young adults. *J Bone Miner Res* 2016;31(9):1734-42. DOI: 10.1002/jbmr.2841
 26. Rouleau C, Malorie M, Collet C, Porquet-Bordes V, Gennero I, Eddiry S, et al. Diagnostic yield of bone fragility gene panel sequencing in children and young adults referred for idiopathic primary osteoporosis at a single regional reference centre. *Bone Rep* 2022;16(101176):101176. DOI: 10.1016/j.bonr.2022.101176
 27. Wang Q, Liu M, Cao B-Y, Su C, Meng X, Ding Y, et al. Osteoporosis caused by monoallelic variant of WNT1 gene in four pediatric patients. *Am J Med Genet A*. 2025;197(5):e63987. DOI: 10.1002/ajmg.a.63987
 28. Laine CM, Joeng KS, Campeau PM, Kiviranta R, Tarkkonen K, Grover M, et al. WNT1 mutations in early-onset osteoporosis and osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med* 2013;368(19):1809-16. DOI: 10.1056/NEJMoa1215458
 29. Lu Y, Ren X, Wang Y, Bardai G, Sturm M, Dai Y, et al. Novel WNT1 mutations in children with osteogenesis imperfecta: clinical and functional characterization. *Bone* 2018;114:144-9. DOI: 10.1016/j.bone.2018.06.018
 30. Pyott SM, Tran TT, Leistritz DF, Pepin MG, Mendelsohn NJ, Temme RT, et al. WNT1 mutations in families affected by moderately severe and progressive recessive osteogenesis imperfecta. *Am J Hum Genet* 2013;92(4):590-7. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.02.009
 31. Kantaputra PN, Sirirungruangsarn Y, Visrutaratna P, Petcharunpaisan S, Carlson BM, Intachai W, et al. WNT1-associated osteogenesis imperfecta with atrophic frontal lobes and arachnoid cysts. *J Hum Genet* 2019;64(4):291-6. DOI: 10.1038/s10038-019-0565-9
 32. Kuptanon C, Srichomthong C, Sangsin A, Kovitvanitcha D, Supha-peatiporn K, Shotelersuk V. The most 5' truncating homozygous mutation of WNT1 in siblings with osteogenesis imperfecta with a variable degree of brain anomalies: a case report. *BMC Med Genet* 2018;19(1):117. DOI: 10.1186/s12881-018-0639-0
 33. Faqeih E, Shaheen R, Alkuraya FS. WNT1 mutation with recessive osteogenesis imperfecta and profound neurological phenotype. *J Med Genet* 2013;50(7):491-2. DOI: 10.1136/jmedgenet-2013-101750
 34. Mrosk J, Bhavani GS, Shah H, Hecht J, Krüger U, Shukla A. Diagnostic strategies and genotype-phenotype correlation in a large Indian cohort of osteogenesis imperfecta. *Bone* 2018;110:368-77. DOI: 10.1016/j.bone.2018.02.029

Original

mir-199b-5p as a potential biomarker of bone fragility in type 2 diabetes mellitus – Dual role in musculoskeletal pathophysiology

María Dolores López Robles¹, Luis Martínez Heredia^{1,2}, Raquel Sanabria de la Torre^{1,3}, Francisco Luis Andújar Vera^{4,5,6}, Sheila González Salvatierra^{1,2}, Giulio Ferrero⁷, Alessio Naccarati⁷, Manuel Muñoz Torres^{1,2,8,9}, Beatriz García Fontana^{1,2,8}, Cristina García Fontana^{1,2,8}

¹Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada. Granada, Spain. ²CIBER on Frailty and Healthy Aging (CIBERFES). Instituto de Salud Carlos III. Madrid, Spain. ³Department of Biochemistry and Molecular Biology III and Immunology. Universidad de Granada. Granada, Spain. ⁴Bioinformatic Unit. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (Ibs. Granada). Granada, Spain. ⁵Department of Computer Science and Artificial Intelligence. Universidad de Granada. Granada, Spain. ⁶Andalusian Research Institute in Data Science and Computational Intelligence (DaSCI Institute). Granada, Spain. ⁷Italian Institute for Genomic Medicine (IIGM). Torino, Italy. ⁸Endocrinology and Nutrition Unit. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Granada, Spain. ⁹Department of Medicine. Universidad de Granada. Granada, Spain

Abstract

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with increased risk of bone fragility and fractures, yet early diagnostic tools for musculoskeletal complications remain lacking. This study aimed to identify microRNAs (miRNAs) differentially expressed in T2DM patients and assess their potential as biomarkers for bone fragility. Serum samples from 8 T2DM patients and 8 matched healthy controls were analyzed using high-throughput sequencing and RT-qPCR. Among the miRNAs examined, hsa-miR-199b-5p was significantly under-expressed in T2DM patients, particularly in those with degraded trabecular bone score (TBS) and lower bone mineral density (BMD).

Statistical analyses revealed strong positive correlations between miR-199b-5p expression and indicators of bone integrity, including cortical and trabecular volumetric BMD, and serum periostin levels. Conversely, negative correlations were found with fracture risk (FRAX), TBS-adjusted FRAX, and CTX levels, supporting its role in bone metabolism. Literature suggests miR-199b-5p promotes osteogenesis via the GSK-3 β / β -catenin and periostin-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathways. Thus, its reduced expression may contribute to impaired bone remodeling in T2DM. Interestingly, miR-199b-5p shows contrasting effects in osteoarthritis (OA), where it is upregulated and contributes to cartilage degradation. Periostin, similarly, promotes bone formation in T2DM but may exacerbate inflammation in OA. These findings underscore the context-dependent roles of miR-199b-5p and highlight its potential as a dual biomarker: protective in T2DM bone loss, yet detrimental in OA. Further research is needed to clarify its therapeutic relevance and ensure disease-specific targeting strategies.

Keywords:

Type 2 diabetes mellitus. microRNAs. Bone fragility. Osteoarthritis. Biomarkers.

Received: 06/04/2025 • Accepted: 07/23/2025

María Dolores López Robles and Luis Martínez Heredia contributed equally to this work.

Manuel Muñoz Torres and Beatriz García Fontana are the corresponding authors of this article.

Funding: This work was supported by the Junta de Andalucía (grant PI-0268-2019) and Instituto de Salud Carlos III (grant PI18-00803), co-funded by the European Regional Development Fund (FEDER) and CIBERFES (CB16/10/00475). C. G. F., and B. G. F. were funded by grants C1-S0033 and CP22/00022 from the Junta de Andalucía and Instituto de Salud Carlos III, respectively.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Artificial intelligence: The authors declare not to have used artificial intelligence (AI) or any AI-assisted technologies in the elaboration of the article

López Robles MD, Martínez Heredia L, Sanabria de la Torre R, Andújar Vera FL, González Salvatierra S, Ferrero G, Naccarati A, Muñoz Torres M, García Fontana B, García Fontana C. mir-199b-5p as a potential biomarker of bone fragility in type 2 diabetes mellitus – Dual role in musculoskeletal pathophysiology. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(4):160-169

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00085

Correspondence:

Beatriz García Fontana. Endocrinology and Nutrition Unit. Hospital Regional Universitario de Málaga. Avda. de Carlos Haya, 84. 29010 Málaga, Spain
 e-mail: bgfontana@fibao.es

INTRODUCTION

Diabetes *mellitus* is a leading cause of morbidity and mortality worldwide (1), with type 2 diabetes *mellitus* (T2DM) accounting for 90% % of all diabetes cases (2). The recent surge in the diagnosis rates of these and other lifestyle-related metabolic disorders can largely be attributed to the widespread adoption of sedentary lifestyles and excessive energy consumption in industrialized nations (3). Additional factors such as advanced age, hypertension, and family history further increase the predisposition to develop T2DM (4).

Currently, 13.8% % of the Spanish population suffers from T2DM, with an estimated 6% % of individuals unaware of their condition. Furthermore, approximately 12.6% % of the Spanish population is at risk of developing T2DM due to impaired glucose tolerance or abnormal fasting glucose levels (5). According to the *di@bet.es* study, 5.98 million Spaniards have issues with glucose metabolism (5). The International Diabetes Federation (IDF) projects that the number of diabetic patients globally will reach 643 million by 2030, making diabetes one of the “epidemics of the 21st century” (6,7).

In the early stages of T2DM, metabolic disturbances such as hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, and hyperinsulinemia contribute to cellular and organ-level damage, resulting in both microvascular complications (e. g, retinopathy, nephropathy, neuropathy) and macrovascular complications (e. g, coronary artery disease, cerebrovascular disease, peripheral artery disease). These vascular issues account for approximately 70–80% % of diabetes-related mortality (8,9). In addition to these vascular issues, growing evidence has highlighted that bone fragility is also prevalent in T2DM (10). The risk of fractures in patients with T2DM has significantly increased due to changes in bone remodeling and microarchitecture. Several studies have demonstrated a higher risk of fractures, particularly at the hip and vertebrae (11,12). This fragility is driven by chronic hyperglycemia, insulin resistance, and the accumulation of advanced glycation end products (AGEs), which impair bone quality and disrupt osteoblast-osteoclast balance (10). Indeed, multiple meta-analyses have confirmed an increased risk of incident hip, vertebral, and non-vertebral fractures in individuals with T2DM, with major consequences for quality of life (QoL) and long-term disability (13,14). On the other hand, recent studies have also drawn a connection between osteoarthritis (OA) and metabolic syndrome, a cluster including insulin resistance, dyslipidemia, and hypertension, further linking diabetes to musculoskeletal deterioration (15,16). The presence of diabetes is believed to accelerate the progression of OA and complicate its management, leading to the proposed diabetes-induced osteoarthritis (DM-OA) phenotype (17). This phenotype suggests that systemic inflammation and oxidative stress in diabetes predispose patients to OA, with chronic hyperglycemia promoting cartilage degradation, joint

inflammation, AGEs accumulation, and matrix stiffening, all of which impair joint cushioning and function (18). Recognizing musculoskeletal complications of type 2 diabetes *mellitus* as clinically significant outcomes, comparable with traditional vascular complications, underscores the urgent need for early detection strategies and targeted therapies to preserve bone and joint health in this growing patient population.

However, there is currently no tool available for the early diagnosis of these musculoskeletal complications. In this context, evaluating the differential expression of molecules such as microRNAs (miRNAs) may offer valuable insights into the development of diagnostic techniques for this population. The potential of miRNAs as biomarkers for musculoskeletal complications is supported by a growing body of scientific literature, which reports differential miRNA responses to various diseases (19,20), further highlighting the importance of investigating their role in T2DM-associated musculoskeletal deterioration.

In addition to miRNAs, proteins such as periostin have also emerged as important biomarkers in T2DM-related bone fragility. Periostin, a protein originally identified as osteoblast-specific factor-2, is involved in bone formation and remodeling but also plays a role in other complications of T2DM, such as cardiovascular disease (21). The interaction of periostin with pathways such as Wnt/ β -catenin, which regulate osteoblast differentiation and bone metabolism, makes it a potential therapeutic target for improving bone health in diabetes (22). Its levels are altered in various musculoskeletal disorders, including those seen in T2DM, making it a promising biomarker for osteoporosis and bone fragility in these patients.

MicroRNAs (miRNAs) are small endogenous RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression. They have been shown to play key roles in a wide range of biological processes. Recent advancements in transcriptomic technologies, especially next-generation sequencing and advanced bioinformatics tools, enable more in-depth exploration of messenger RNAs (mRNAs) and non-coding RNAs (ncRNAs), including miRNAs (23). Over 2,000 miRNAs have currently been identified, and it is estimated that they regulate approximately 30% % of all human genes. miRNAs are present in circulating blood, representing an opportunity to use these disease-related circulating miRNAs as potential biomarkers (24). In this study, the miRNome of a group of healthy individuals and patients with T2DM was analyzed to identify differentially expressed miRNAs between the 2 groups. The differential expression of selected miRNAs was subsequently validated using RT-qPCR. Following validation, the potential role of these miRNAs, particularly miR-199b-5p, as biomarkers in T2DM was further investigated through statistical analysis of their correlation with determinants of bone fragility and fracture risk.

MATERIALS AND METHODS

STUDY POPULATION

This study included a total of 16 participants, 8 T2DM patients (males with a mean age of 60 ± 5 years) and 8 control subjects, sex and aged matched. T2DM was diagnosed according to the American Diabetes Association criteria of 2017. T2DM patients were recruited during 2015 from the Endocrinology and Nutrition Unit of Hospital Universitario Clínico San Cecilio (Granada, Spain). Samples from healthy controls were managed and provided by the Andalusian Biobank.

Inclusion criteria for patients with T2DM were absence of cardiovascular disease, history of cardiovascular events, or renal, hepatic, GI, or thyroid disease. All patients were on diabetes drugs, such as metformin, sulfonylureas, insulin, or a combination of these drugs.

Venous blood samples were obtained at the Clinical Analysis Unit of Hospital Universitario Clínico San Cecilio.

The study was approved by the Ethics Committee of Jaén, Andalucía (ID 1630-M1-18/PI-0514-2018; December 20, 2018), and conducted in accordance with relevant ethical guidelines for human and animal research. Written informed consent was obtained from all participants.

CLINICAL EVALUATION, BIOCHEMICAL AND BONE PARAMETERS OF THE STUDY POPULATION

Anthropometric and biochemical measurements

Height, weight, and waist circumference were recorded following standard protocols. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Fasting venous blood samples were collected in the morning, with serum stored at $80^\circ C$ until analysis. Biochemical parameters measured included HbA1c, total cholesterol, HDL-c, LDL-c, triglycerides, creatinine, calcium, phosphorus, and vitamin D, using routine automated methods. Serum bioactive periostin was quantified in duplicate by ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH), with detection ranges of 20-4,000 pmol/L and intra-/inter-assay variation $\leq 6\%$ and $\leq 3\%$, respectively. Average periostin levels in healthy individuals are ~ 864 pmol/L.

Hypertension and Dyslipidemia Assessment: Blood pressure was measured using an automated sphygmomanometer after 5 minutes of rest, with 2 readings 1-2 minutes apart; additional readings were taken if differences exceeded 10 mmHg. The mean of the last 2 readings was used. Hypertension was defined as sys-

tolic/diastolic $\geq 140/90$ mmHg or antihypertensive treatment. Dyslipidemia was defined by HDL-c < 50 mg/dL, LDL-c > 100 mg/dL, triglycerides > 150 mg/dL, and/or lipid-lowering drug use.

Areal bone mineral density (aBMD)

aBMD of the left hip was measured using a Hologic QDR 4500 densitometer. The shaft region was located 2 cm distal to the midpoint of the lesser trochanter along the shaft axis. Osteoporosis and osteopenia were categorized based on World Health Organization (WHO) criteria. Scans were performed by an experienced operator following ISCD guidelines; the device was calibrated daily with a spine phantom. Laboratory coefficients of variation were 1.8% (femoral neck) and 1.5% (total hip), with prior studies reporting 2.13% and 3.14% for shaft and trochanter, respectively.

Trabecular Bone Score (TBS)

TBS was measured at the LS using the latest version of TBS iNsight (version 3.0.2.0, Medimaps, Merignac, France). TBS was calculated as the mean value of the individual measurements for vertebrae L1-L4, based on a grey-level analysis of the DXA images. The TBS precision error (percentage of the coefficient of variation) was 1.82%. Diagnosis of preserved and degraded microarchitecture was based on the following TBS ranges: patients with TBS values ≥ 1.31 were categorized as preserved TBS and patients with TBS values < 1.31 were categorized as degraded TBS (25).

3D-DXA modeling

Trabecular macrostructure, cortical thickness, and femoral shape were assessed using 3D-Shaper software (v2.2), which generates participant-specific QCT-like models by registering a statistical shape and density model from QCT scans onto DXA images. Cortical thickness and density were derived from fitted mathematical functions along the femur surface. Measures included volumetric BMD (vBMD) of trabecular, cortical, and integral compartments, and cortical surface BMD (sBMD). Strong correlations with Quantitative Computed Tomography (QCT) ($r = 0.86-0.95$) and low coefficients of variation demonstrated high accuracy and precision.

Fracture Risk Assessment (FRAX)

FRAX estimates the 10-year probability of hip and major osteoporotic fractures by integrating clinical risk factors such as age, sex, BMI, fracture history, parental

hip fracture, smoking, glucocorticoid use, rheumatoid arthritis, secondary osteoporosis, alcohol intake adjusted by BMD and TBS values.

RNA EXTRACTION

miRNeasy Serum/Plasma kit (QIAGEN) was used to extract total RNA from 200 µL of serum samples following the protocol in full compliance with the manufacturer's instructions for use. UniSp2, UniSp4 and UniSp5 sequences were added using RNA Spike-in mix (vial 1 of the miRNeasy Serum/Plasma kit) to be used as a control for this step. The extracted RNA was used to carry out the sequencing and validation steps.

SEQUENCING

Library development and sequencing

The extracted total RNA samples were sequenced through Illumina technology. miRNA libraries development was performed using the QIAseq miRNA Library Kit (QIAGEN). Adapters were ligated with molecular unique identifiers to subsequently back-transcribe the samples to cDNA, which was amplified by PCR. To guarantee the quality of the amplified samples, these were purified by capillary electrophoresis analysis (Alignent DNA 1000 Chip). Libraries were pooled equimolar and quantified by qPCR. Libraries were sequenced using a NextSeq sequencer (Illumina Inc). FASTAQ files of the sequences were created using bcl2fastq software.

Differential gene expression

Differential expression of miRNAs was analyzed using the Empirical Analysis of Differential Gene Expression (DGE) algorithm implemented in CLC Genomics Workbench v20.0.4. The NormFinder program, developed by Andersen et al. (26), was used to identify endogenous control miRNAs and to generate the volcano plot. Visualization of the volcano plot was performed using the ggplot2 and ggrepel packages in RStudio. For miRNAs selected based on the volcano plot criteria, Mann-Whitney tests were conducted on variance stabilizing transformation (VST)-normalized data, retaining those with p -values < 0.05.

VALIDATION

Polyadenylation and reverse transcription

miRNA molecules were reverse transcribed to cDNA with a poly(A) tail at the 3' end using the miRCURY

LNA RT Kit (Qiagen), according to the manufacturer's protocol. UniSp6 6 RNA spike-in was included as a control.

Quality control

RNA sequences added in the total RNA extraction step (UniSp2, UniSp4 and UniSp5) and in reverse transcription step (UniSp6) were amplified to make sure that the process had been conducted correctly. In addition, hemolysis-related sequences (has-miR-451a and has-miR-23a-3p) and endogenous miRNA sequences (hsa-miR-26a-5p and has-miR-30d-5p) were amplified to determine the quality of starting samples. All reactions were performed in triplicate. miRCURY LNA SYBR Green PCR kit was used to perform RT-qPCR following the protocol indicated by the manufacturer. According to the miRCURY LNA miRNA PCR assay protocol, the PCR conditions consisted of 2 steps: first, a denaturation step at 95 °C for 10 seconds, followed by a combined annealing/extension step at 56 °C for 60 seconds. The reaction occurred for a total of 40 cycles.

RT-qPCR

First, miRCURY LNA miRNA Custom PCR Panels were designed (Fig. 1). These plates were designed to amplify: 1) miRNAs identified in the sequencing; 2) 3 endogenous miRNAs; and 3) 2 control miRNAs (UniSp3 and UniSp6) in triplicate. miRCURY LNA SYBR Green PCR kit as well as in the quality control step was used.

miRNA expression analysis

The $\Delta\Delta Ct$ relative quantification method was used to evaluate the differential expression of miRNAs in the study groups. miRNA expression data are expressed as mean \pm standard deviation (SD).

$$\begin{aligned} \Delta Ct (\text{patients}) &= Ct (\text{miRNA study}) - Ct (\text{miRNA problem}) \\ \Delta Ct (\text{controls}) &= Ct (\text{miRNA study}) - Ct (\text{miRNA problem}) \\ \Delta\Delta Ct &= \Delta Ct (\text{patients}) - \Delta Ct (\text{controls}) \\ FC &= 2^{-\Delta\Delta Ct} \end{aligned}$$

Statistical analysis

Student t tests were performed, with $p \leq .05$ considered statistically significant. Binary logistic regression was conducted using the Wald forward stepwise method. Receiver operating characteristic (ROC) curves were generated from the regression results. Statistical analyses were performed with SPSS, version 25.5 (IBM Corp).

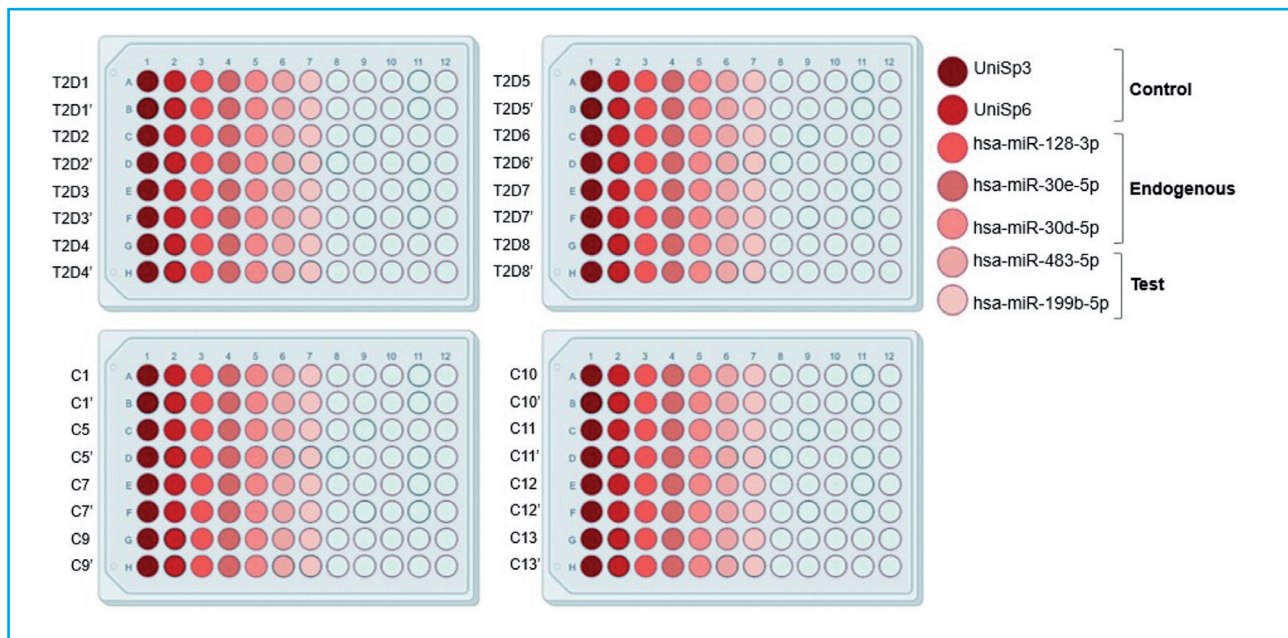


Figura 1. miRCURY LNA miRNA Custom PCR Panels scheme.

RESULTS

STUDY POPULATION

Tables I and II illustrate the clinical, biochemical, and bone-related parameters of T2DM patients stratified by preserved vs degraded TBS. Patients with degraded TBS tended to have higher BMI and waist circumference and lower levels of total cholesterol, LDL, and HDL. Regarding bone parameters, this group showed lower values of BMD (both volumetric and areal), low levels of periostin and CTX, and higher PTHi concentrations, suggesting a trend toward impaired bone quality in individuals with degraded TBS.

DIFFERENTIAL EXPRESSION ANALYSIS AND VALIDATION OF SEQUENCING DATA BY RT-QPCR

Differential expression analysis was conducted to identify miRNAs with significant and biologically relevant changes between T2DM patients and healthy control. A volcano plot was generated to visualize differential expression, with cut-off thresholds set at a false discovery rate (FDR) < 0.05 and an absolute log₂ fold change [Log₂FC] > 1. Based on these criteria, hsa-miR-199b-5p and hsa-miR-491-5p were found to be significantly downregulated in T2DM, while hsa-miR-483-5p, hsa-miR-122-5p, hsa-miR-5010-5p, hsa-miR-193b-5p, and hsa-miR-320c were upregulated (Fig. 2A).

To confirm these findings, raw count data were normalized using the variance stabilizing transformation (VST), and a non-parametric hypothesis test was

Table I. Biochemical characteristics of T2DM patients

	Preserved TBS	Degraded TBS
Age (years)	61.75 ± 2.75	60.50 ± 2.08
Weigh (kg)	85.83 ± 10.74	98.33 ± 14.87
Height(cm)	169.75 ± 9.00	170.25 ± 10.34
BMI (kg/m ²)	29.72 ± 2.28	33.96 ± 4.54
Waist (cm)	102.25 ± 6.59	112.25 ± 10.90
HbA1c (%)	7.95 ± 1.42	7.68 ± 1.89
Uric acid (mg/dL)	5.98 ± 1.54	5.93 ± 0.97
Cholesterol (mg/dL)	215 ± 29.92	148 ± 35.42
LDL (mg/dL)	158 ± 29.07	80.25 ± 30.89
HDL (mg/dL)	53.75 ± 9.64	45.50 ± 11.82
TGs (mg/dL)	207 ± 123.94	113 ± 38.03
Creatinine (mg/dL)	0.72 ± 0.12	0.84 ± 0.1
AHT (%)	50 %	50 %
Dyslipidemia (%)	100 %	75 %

BMI: body mass index; HBA1c: glycated hemoglobin; LDL: low-density lipoprotein; HDL: high-density lipoprotein; TGs: triglycerides; AHT: arterial hypertension; T2DM: type 2 diabetes mellitus; TBS: trabecular bone score.

applied to compare miRNA expression levels across groups. Significant differences were observed for all selected miRNAs except hsa-miR-193b-5p (Fig. 2B).

Table II. Bone and fracture risk parameters in T2DM patients

	Preserved TBS	Degraded TBS
TBS	1.28 ± 0.05	1.02 ± 0.10
Hip FRAX	0.30 ± 0.18	0.20 ± 0.22
Hip FRAX_TBS	0.38 ± 0.28	0.5 ± 0.68
Trabecular_vBMD (g/cm ³)	193.29 ± 40.75	170.15 ± 91.13
Cortical_vBMD (g/cm ³)	869.13 ± 72.35	860.24 ± 84.04
Cortical_sBMD (g/cm ³)	186.42 ± 35.52	174.69 ± 21.79
Integral_vBMD (g/cm ³)	339.17 ± 67.44	315.58 ± 107.29
TH_BMD (g/cm ²)	1.205 ± 0.17	1.11 ± 0.25
Periostin (pmol/L)	1799.99 ± 346.31	1339.66 ± 245.23
iPTH (pg/mL)	25.35 ± 1.34	33.83 ± 9.77
VitD (ng/mL)	20.63 ± 5.98	19.08 ± 6.69
Calcemia (mg/dL)	9.98 ± 0.26	9.85 ± 0.24
Phosphorus (mg/dL)	3.20 ± 0.22	3.53 ± 0.50
CTX (ng/L)	0.46 ± 0.31	0.26 ± 0.12

FRAX: BMD-adjusted (with or without TBS) hip Fracture Risk Assessment Tool; vBMD: volumetric bone mineral density; sBMD: subchondral bone mineral density; TH_BMD: total hip bone mineral density; iPTH: intact parathyroid hormone; CTX: C-terminal telopeptide of type I collagen.

These miRNAs were subsequently selected for validation by RT-qPCR. Among them, only hsa-miR-199b-5p was successfully validated. Consistent with sequencing data, hsa-miR-199b-5p was found to be significantly downregulated in T2DM patients vs healthy controls (0.496 ± 0.043-fold, $p < 0.05$).

CORRELATION BETWEEN HSA-MIR-199B-5P EXPRESSION AND DETERMINANTS OF BONE FRAGILITY AND INCREASED RISK OF FRACTURE IN T2DM PATIENTS (Fig. 3)

Within the T2DM group, the expression of hsa-miR-199b-5p was correlated with several clinical markers of bone fragility and fracture risk. Spearman correlation analysis revealed significant negative correlations between hsa-miR-199b-5p expression and A) FRAX hip fracture risk ($p = -0.74$, 95% %CI, {-0.95, -0.05}, $p = 0.036$); B) FRAX hip fracture risk (TBS adjust) ($p = -0.862$, 95% %CI, {-0.98, -0.38}, $p = 0.005$); C) CTX (pg/ml) ($p = -0.719$, 95% %CI, {-0.95, 0}, $p = 0.0446$).

In contrast, positive correlations were observed between hsa-miR-199b-5p expression and D) serum levels of periostin (pmol/L) ($p = 0.786$, 95% %CI, {0.16, 0.96}, $p = 0.0208$); E) Cortical vBMD (g/cm³) ($p = 0.893$,

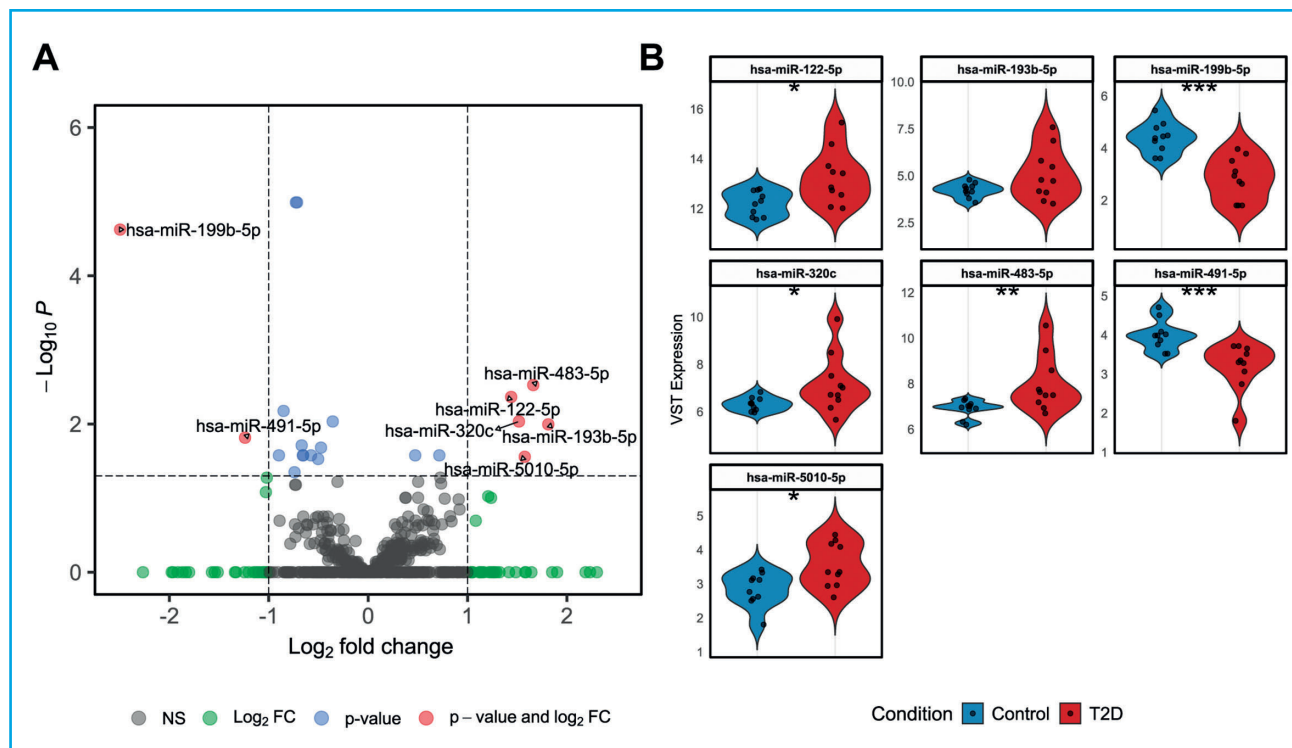


Figure 2. Differential expression of miRNAs. A. Volcano plot showing Log₂ fold change (x-axis) vs -Log₁₀ p-value (y-axis). Dashed lines indicate cut-offs for significance (FDR < 0.05) and expression change (|Log₂FC| > 1). Labeled miRNAs passed both thresholds. B. Violin plots of selected miRNAs showing expression levels after variance stabilizing transformation (VST).

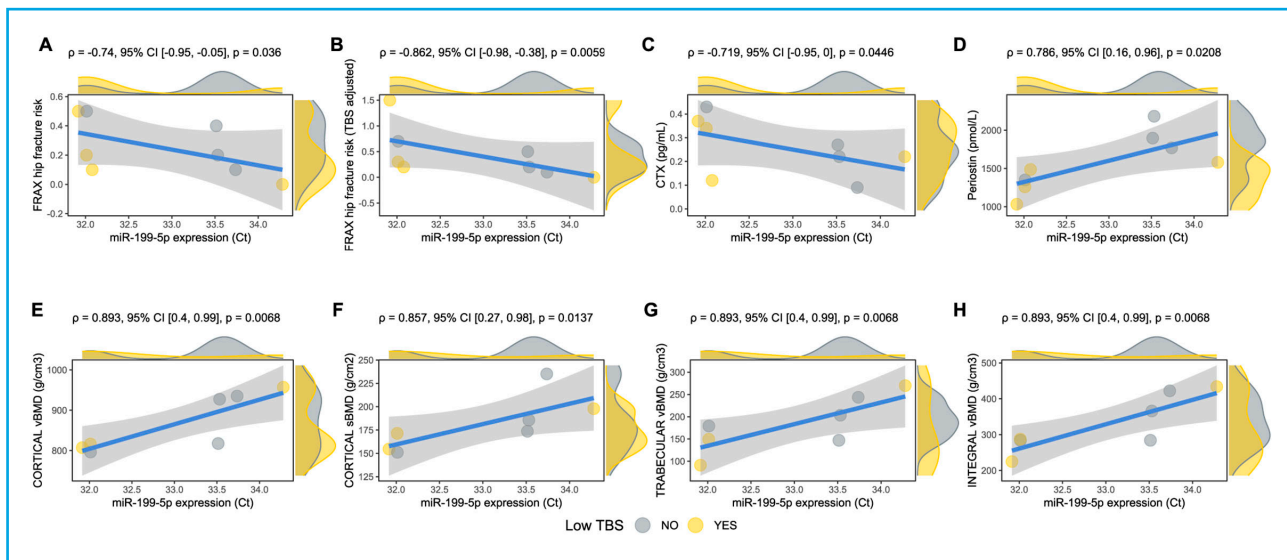


Figure 3. Scatter plots showing the correlation between hsa-miR-199b-5p expression and FRAX hip fracture risk (A); FRAX hip fracture risk (TBS adjust) (B); CTX (pg/mL) (C); serum levels of periostin (pmol/L) (D); Cortical vBMD (g/cm³) (E); Cortical sBMD (g/cm³) (F); Trabecular vBMD (g/cm³) (G); Integral vBMD (g/cm³) (H), in T2DM patients ($n = 8$). The p -values between the different associations were obtained via Spearman's correlation coefficients (showing $p < 0.05$ in each scatter plot).

95% %CI, {0.4, 0.99}, $p = 0.0068$); F) Cortical sBMD (g/cm³) ($p = 0.857$, 95% %CI, {0.27, 0.98}, $p = 0.0137$); G) Trabecular vBMD (g/cm³) ($p = 0.893$, 95% %CI, {0.4, 0.99}, $p = 0.0068$), E) Integral vBMD (g/cm³) ($p = 0.893$, 95% %CI, {0.4, 0.99}, $p = 0.0068$).

DISCUSSION

Our results obtained from sequencing and validation steps suggest differential expression of hsa-miR-199b-5p in T2DM patients vs the healthy group. With the aim of exploring the potential of miR-199b-5p as a novel therapeutic target for the prevention and management of bone fragility associated with T2DM, we conducted multiple correlation analyses in T2DM patients. Our work reveals a positive correlation between miR-199b-5p expression and bone mineral density parameters, including cortical vBMD (mg/cm³), cortical sBMD (mg/cm³), trabecular vBMD (mg/cm³), and integral vBMD (mg/cm³). Consistently, we also observed a negative correlation between hsa-miR-199b-5p expression and FRAX hip fracture risk, FRAX hip fracture risk adjusted for trabecular bone score (TBS), and serum C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX) levels (pg/mL), all of which are established indicators of demineralization and bone fragility. These clinical findings are in line with emerging molecular evidence supporting the involvement of miRNA, particularly miR-199b-5p, in osteogenesis and bone metabolism. It has been demonstrated that primary mesenchymal stem cells (MSCs) secrete small RNAs via exosomes, which are increasingly recognized for their role in

intercellular communication (27). Bioinformatics analysis using DIANA-mirPath revealed that the expression of exosomal miR-199b-5p, among other miRNAs, is impaired during osteogenic differentiation, suggesting that exosomal miR-199b-5p may play a key role in regulating osteoblast differentiation (28). The effects of knockdown and overexpression of miR-199b-5p on osteoblast differentiation have been studied by measuring alkaline phosphatase (ALP) expression and activity, as well as the expression of the osteogenic marker gene Runx2 (29). The findings indicated that miR-199b-5p enhanced the osteogenic potential of bone marrow-derived MSCs (BMSCs) by modulating the GSK-3 β / β -catenin signaling pathway, suggesting that miR-199b-5p and its analogs could serve as promising therapeutic candidates for bone and musculoskeletal disorders. Furthermore, the screening and validation of miRNAs associated with osteoporosis, using high-throughput sequencing, revealed a reduced expression of miR-199b-5p (20). Based on all this evidence, our results suggest that reduced expression of miR-199b-5p in T2DM patients may disrupt the regulation of osteogenesis, potentially resulting in diminished bone mineralization and increased skeletal fragility.

Additionally, our results also demonstrated a positive correlation between miR-199b-5p expression and serum periostin levels (pmol/L). Periostin is a ubiquitous protein originally known as osteoblast-specific factor-2 and belongs to a group of nonstructural extracellular matrix (ECM) proteins. This protein not only plays a role in adverse cardiac remodeling, being associated with cardiovascular disease in T2DM according to the SCORE2-Diabetes algorithm (21), but also

promotes bone formation, regeneration, and repair (22). An experimental study on bone loss prevention demonstrated that periostin-induced downregulation of sclerostin can activate the Wnt/ β -catenin signaling pathway, thereby inhibiting bone loss (30). This mechanism likely involves the interaction of Wnt proteins with the FZD and LRP6 receptors, leading to the inactivation of the cytoplasmic GSK-3 β /Axin2/APC complex. As a result, β -catenin accumulates in the cytoplasm and translocates into the nucleus, where it promotes the transcription of target genes involved in bone formation, ultimately facilitating osteoblast differentiation (31). In this line, our findings suggest that reduced expression of miR-199b-5p in T2DM patients may contribute to impaired osteogenesis through its regulatory effect on periostin. The observed positive correlation between miR-199b-5p expression and serum periostin levels supports the hypothesis that miR-199b-5p may modulate bone metabolism, at least in part, via the periostin–Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Overall, our results suggest that miR-199b (with osteoprotective role in T2DM) could serve as a predictive biomarker, potentially enabling the early identification and monitoring of osteoporosis progression associated with T2DM.

Interestingly, while our findings support a protective role for miR-199b-5p in bone metabolism and osteogenesis, particularly in the context of T2DM-related osteoporosis, emerging evidence suggests that this microRNA may exert deleterious effects in osteoarthritis (OA). Multiple studies have highlighted the role of miR-199b-5p in chondrogenesis. A longitudinal bioinformatics analysis identified miR-199b-5p as a key pro-chondrogenic regulator (32). Experimental data from the same study showed that inhibition of miR-199b-5p during the early stages of chondrogenesis led to downregulation of chondrogenic markers. A deeper understanding of the regulatory mechanisms involved in chondrogenesis may offer valuable insights into OA pathogenesis. The mechanisms of differentiation differ between growth plate cartilage and articular cartilage. While the growth plate drives longitudinal bone growth via cartilage-to-bone substitution, articular cartilage maintenance depends on delayed chondrocyte maturation and hypertrophy (33). Therefore, it is plausible that, in OA, the cartilage maturation process becomes aberrantly activated, leading to a loss of biomechanical integrity. In this context, serum exosomal small RNA sequencing from clinical OA patients, along with gene expression data from serum and cartilage samples retrieved from the GEO database, revealed that miR-199b-5p is consistently upregulated (19). In vitro studies further demonstrated that miR-199b-5p negatively affects chondrocyte viability and promotes extracellular matrix degradation. Conversely, inhibition of miR-199b-5p under inflammatory conditions exerted protective effects against tissue damage. Additionally, in an OA model, blocking miR-199b-5p, al-

leviated disease progression, suggesting that, in contrast to its osteoprotective role in T2DM, miR-199b-5p may contribute to cartilage degeneration in OA. Of note, none of the patients included in our study had a diagnosis of osteoarthritis (OA), supporting the interpretation that the observed downregulation of miR-199b-5p is specifically linked to diabetic bone fragility rather than joint-related pathology.

Similarly, periostin, which was positively correlated with miR-199b-5p expression in our T2DM cohort, appears overexpressed in OA cartilage (34). Immunohistochemical analysis localized periostin to chondrocytes and their surrounding matrix, particularly near erosive regions. In vitro, periostin stimulation of chondrocytes induced the upregulation of MMPs, IL-6, and IL-8, supporting its involvement in OA-associated inflammatory responses.

Overall, these findings underscore the context-dependent nature of miR-199b-5p activity. While it may confer protection vs bone fragility in T2DM by promoting osteogenesis through periostin-mediated Wnt/ β -catenin signaling, its upregulation in joint tissues under inflammatory conditions may exacerbate OA disease. Therefore, the development of miR-199b-5p-based therapies requires a nuanced understanding of its distinct effects in bone versus cartilage to ensure the safety and efficacy profile.

Our study has several strengths and limitations. One of the main limitations is its cross-sectional design, which does not allow us to establish causal relationships between miR-199b-5p expression and bone fragility parameters in T2DM. While our findings are consistent with the biological role of this microRNA in osteogenesis, longitudinal studies are required to determine if its downregulation precedes bone loss or results from it. In addition, although the sample size of our population was small, it is acceptable for a pilot study exploring novel molecular markers in a well-defined clinical context. However, caution is advised when extrapolating these findings to broader populations. Moreover, the study cohort included only male participants, which limits the assessment of potential sex-specific differences, so further studies including both, larger populations and women, especially postmenopausal who are at increased risk of osteoporosis, are needed to confirm these results and to enhance generalizability.

Despite these limitations, our study has notable strengths. As far as we know, this is the first study linking reduced serum miR-199b-5p expression to diabetic bone fragility offering novel insights into its potential role as a biomarker. The associations were robust and supported by correlations with multiple clinical parameters, including BMD, TBS-adjusted FRAX, serum periostin and CTX levels. Additionally, the study excluded patients with osteoarthritis, reducing the risk

of confounding from inflammatory joint disease and reinforcing the specificity of the observed associations with bone metabolism. The integration of bioinformatic analysis and molecular validation strengthens the biological plausibility of our findings.

While our study highlights the potential of miR-199b-5p as a biomarker for bone fragility in T2DM, we acknowledge that the use of circulating microRNAs in clinical practice remains limited. Nevertheless, significant progress has been made in recent years toward the development of robust and standardized assays, and circulating miRNAs are increasingly recognized as promising candidates for non-invasive diagnostics. In this context, our findings contribute to the growing foundation for the future incorporation of miRNA profiling into clinical decision-making as a complementary tool for fracture risk assessment.

CONCLUSIONS

This study identifies hsa-miR-199b-5p as a promising biomarker for bone fragility in T2DM patients. Its reduced expression is significantly associated with lower bone mineral density and increased fracture risk, suggesting a potential role in impaired osteogenesis. Furthermore, the strong correlation between miR-199b-5p and periostin levels highlights its involvement in the Wnt/ β -catenin signaling pathway. However, its contrasting role in OA underscores the need for context-specific interpretation. These findings support the potential of miR-199b-5p as both a diagnostic tool and a therapeutic target for skeletal complications in T2DM.

REFERENCES

- Bailes BK. Diabetes mellitus and its chronic complications. *AORN J* 2002;76(2):266-76, 278-82; quiz 283-6. DOI: 10.1016/S0001-2092(06)61066-1
- Guthrie RA, Guthrie DW. Pathophysiology of diabetes mellitus. *Crit Care Nurs Q* 2004;27(2):113-25. DOI: 10.1097/00002727-200404000-00003
- Booth FW, Roberts CK. Linking performance and chronic disease risk: indices of physical performance are surrogates for health. *Br J Sports Med* 2008;42(12):950-2. DOI: 10.1136/bjism.2008.052589
- Fletcher B, Gulanick M, Lamendola C. Risk factors for type 2 diabetes mellitus. *J Cardiovasc Nurs* 2002;16(2):17-23. DOI: 10.1097/00005082-200201000-00003
- Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia* 2012;55(1):88-93. DOI: 10.1007/s00125-011-2336-9
- Magliano DJ, Boyko EJ, IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee. IDF DIABETES ATLAS [Internet]. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2021 [citado 21 de mayo de 2025]. (IDF Diabetes Atlas). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581934/>
- Standl E, Khunti K, Hansen TB, Schnell O. The global epidemics of diabetes in the 21st century: Current situation and perspectives. *Eur J Prev Cardiol* 2019;26(2_suppl):7-14. DOI: 10.1177/2047487319881021
- Sanabria-de la Torre R, García-Fontana C, González-Salvatierra S, Andújar-Vera F, Martínez-Heredia L, García-Fontana B, et al. The Contribution of Wnt Signaling to Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci* 2022;23(13):6995. DOI: 10.3390/ijms23136995
- García-Fontana B, Morales-Santana S, Díaz Navarro C, Rozas-Moreno P, Genilloud O, Vicente Pérez F, et al. Metabolomic profile related to cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A pilot study. *Talanta* 2016;148:135-43. DOI: 10.1016/j.talanta.2015.10.070
- Khosla S, Samakkarnthai P, Monroe DG, Farr JN. Update on the pathogenesis and treatment of skeletal fragility in type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2021;17(11):685-97.
- Schousboe JT, Morin SN, Kline GA, Lix LM, Leslie WD. Differential risk of fracture attributable to type 2 diabetes mellitus according to skeletal site. *Bone* 2022;154:116220. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116220
- Schwartz AV. Epidemiology of fractures in type 2 diabetes. *Bone* 2016;82:2-8. DOI: 10.1016/j.bone.2015.05.032
- Koromani F, Oei L, Shevroja E, Trajanoska K, Schoufour J, Muka T, et al. Vertebral Fractures in Individuals With Type 2 Diabetes: More Than Skeletal Complications Alone. *Diabetes Care* 2020;43(1):137-44. DOI: 10.2337/dc19-0925
- Vilaca T, Schini M, Harnan S, Sutton A, Poku E, Allen IE, et al. The risk of hip and non-vertebral fractures in type 1 and type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis update. *Bone* 2020;137:115457. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115457
- Seow SR, Mat S, Ahmad Azam A, Rajab NF, Safinar Ismail I, Singh DKA, et al. Impact of diabetes mellitus on osteoarthritis: a scoping review on biomarkers. *Expert Rev Mol Med* 2024;26:e8. DOI: 10.1016/j.bone.2015.05.032
- Courties A, Berenbaum F, Sellam J. The Phenotypic Approach to Osteoarthritis: A Look at Metabolic Syndrome-Associated Osteoarthritis. *Joint Bone Spine* 2019;86(6):725-30. DOI: 10.1016/j.jbspin.2018.12.005
- Courties A, Sellam J. Osteoarthritis and type 2 diabetes mellitus: What are the links? *Diabetes Res Clin Pract* 2016;122:198-206. DOI: 10.1016/j.diabres.2016.10.021
- Verzijl N, Bank RA, TeKoppele JM, DeGroot J. AGEing and osteoarthritis: a different perspective. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15(5):616-22. DOI: 10.1097/00002281-200309000-00016
- Feng T, Zhang Q, Li SH, Ping YL, Tian MQ, Zhou SH, et al. Inhibition of miR-199b-5p reduces pathological alterations in osteoarthritis by potentially targeting Fzd6 and Gcnt2. *Elife* 2024;12:RP92645. DOI: 10.7554/eLife.92645
- Huang J, Yang H, Chai S, Lin Y, Zhang Z, Huang H, et al. Identification of miRNAs related to osteoporosis by high-throughput sequencing. *Front Pharmacol* 2024;15:1451695. DOI: 10.3389/fphar.2024.1451695

21. González-Salvatierra S, García-Martín A, García-Fontana B, Martínez-Heredia L, García-Fontana C, Muñoz-Torres M. Bone proteins are associated with cardiovascular risk according to the SCORE2-Diabetes algorithm. *Cardiovasc Diabetol* 2024;23(1):311. DOI: 10.1186/s12933-024-02406-9
22. Yuan C, Li J. Research progress of periostin and osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2024;15:1356297. DOI: 10.3389/fendo.2024.1356297
23. Do DN, Dudemaine PL, Mathur M, Suravajhala P, Zhao X, Ibeagha-Awemu EM. miRNA Regulatory Functions in Farm Animal Diseases, and Biomarker Potentials for Effective Therapies. *Int J Mol Sci* 2021;22(6):3080. DOI: 10.3390/ijms22063080
24. Songia P, Chiesa M, Valerio V, Moschetta D, Myasoedova VA, D'Alessandra Y, et al. Direct screening of plasma circulating microRNAs. *RNA Biol* 2018;15(10):1268-72. DOI: 10.1080/15476286.2018.1526538
25. McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, et al. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *J Bone Miner Res* 2016;31(5):940-8. DOI: 10.1002/jbmr.2734
26. Andersen CL, Jensen JL, Ørntoft TF. Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer Res* 2004;64(15):5245-50. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0496
27. Baglio SR, Rooijers K, Koppers-Lalic D, Verweij FJ, Pérez Lanzón M, Zini N, et al. Human bone marrow- and adipose-mesenchymal stem cells secrete exosomes enriched in distinctive miRNA and tRNA species. *Stem Cell Res Ther* 2015;6(1):127. DOI: 10.1186/s13287-015-0116-z
28. Xu JF, Yang GH, Pan XH, Zhang SJ, Zhao C, Qiu BS, et al. Altered microRNA expression profile in exosomes during osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2014;9(12):e114627. DOI: 10.1371/journal.pone.0114627
29. Zhao R, Li Y, Lin Z, Wan J, Xu C, Zeng Y, et al. miR-199b-5p modulates BMSC osteogenesis via suppressing GSK-3 β / β -catenin signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;477(4):749-54. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.06.130
30. Lv J, Sun X, Ma J, Ma X, Xing G, Wang Y, et al. Involvement of periostin-sclerostin-Wnt/ β -catenin signaling pathway in the prevention of neurectomy-induced bone loss by naringin. *Biochem Biophys Res Commun* 2015;468(4):587-93. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.10.152
31. Robinson JA, Chatterjee-Kishore M, Yaworsky PJ, Cullen DM, Zhao W, Li C, et al. Wnt/ β -catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *J Biol Chem* 2006;281(42):31720-8. DOI: 10.1074/jbc.M602308200
32. Patel K, Barter M, Soul J, Clark P, Proctor C, Clark I, et al. Systems analysis of miR-199a/b-5p and multiple miR-199a/b-5p targets during chondrogenesis. *Elife* 2024;12:RP89701. DOI: 10.7554/eLife.89701.4
33. Velasquillo C, Garciadiego D, Ibarra C. Joint cartilage differentiation and osteoarthritis. *Reumatol Clin* 2007;3 Suppl 3:S2-5. DOI: 10.1016/S1699-258X(07)73647-1
34. Chijimatsu R, Kunugiza Y, Taniyama Y, Nakamura N, Tomita T, Yoshikawa H. Expression and pathological effects of periostin in human osteoarthritis cartilage. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;16:215. DOI: 10.1186/s12891-015-0682-3

Documento Especial

Posicionamiento multidisciplinar de expertos sobre la prevención y manejo de la osteonecrosis de los maxilares relacionada con los fármacos antirresortivos óseos

Pilar Aguado-Acín¹, Pedro Infante-Cossío^{2,3}, José V. Bagán^{4,5}, José Nart⁶, Luis Miguel Redondo González⁷, Marta Zafra Poves⁸, Carmen García Insausti⁹, María Casanova Espinosa¹⁰, José Luis Cebrián Carretero¹¹, Guillermo Martínez Díaz-Guerra¹²

¹Servicio de Reumatología. Hospital Universitario La Paz, IdiPaz. Madrid. ²Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ³Departamento de Cirugía. Universidad de Sevilla. Sevilla. ⁴Departamento de Estomatología. Universidad de Valencia. Valencia. ⁵Hospital General Universitario de Valencia. Valencia. ⁶Departamento de Periodoncia. Facultad de Odontología. Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona. ⁷Hospital Universitario Río Hortega – Sacyl – Área Oeste. Valladolid. ⁸Servicio de Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia. ⁹Dirección Médica de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH). España. ¹⁰Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Costa del Sol. Marbella, Málaga. ¹¹Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial. Hospital Universitario La Paz. Madrid. ¹²Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid

Resumen

Introducción: la osteonecrosis de los maxilares relacionada con medicación (ONMRM) es una complicación grave asociada al uso de fármacos antirresortivos, como los bisfosfonatos y el denosumab, indicados en la osteoporosis y en enfermedades oncológicas con afectación ósea. Su manejo clínico continúa siendo objeto de controversias debido a la variabilidad en las estrategias de diagnóstico, prevención y tratamiento.

Objetivo: elaborar un documento de posicionamiento multidisciplinar que sintetice las principales recomendaciones internacionales y nacionales sobre la prevención y manejo de la ONMRM, así como proponer estrategias de práctica clínica que promuevan la adherencia terapéutica y minimicen el riesgo de complicaciones.

Material y métodos: se realizó una revisión de la literatura y reuniones telemáticas con especialistas en Cirugía Oral y Maxilofacial, odontología, Reumatología, Endocrinología, Hematología y Oncología Médica para formular recomendaciones basadas en la evidencia científica y la opinión de los expertos.

Resultados: se identifican los principales fármacos implicados en la ONMRM, los perfiles de riesgo, los factores de predisposición, los criterios diagnósticos y la estadificación clínica. Se proporcionan algoritmos de actuación clínica para la prevención y el tratamiento en pacientes con osteoporosis o con enfermedad oncológica (metástasis óseas y/o mieloma), así como pautas de actuación ante procedimientos dentales invasivos. También se aborda la necesidad de realizar una coordinación interdisciplinar y de implementar estrategias que fomenten la educación del paciente y la adherencia terapéutica.

Conclusión: la ONMRM presenta una gran variabilidad en su diagnóstico, prevención y abordaje terapéutico. Este documento facilita al clínico unas recomendaciones para abordar el manejo de estos pacientes desde un enfoque multidisciplinar. Con el fin de realizar una correcta prevención, se destaca la importancia de la evaluación dental previa, el control de los factores de riesgo y la educación del paciente. El tratamiento debe adaptarse a cada caso, priorizando las opciones conservadoras y fomentando la adherencia al tratamiento.

Palabras clave:

Fármacos antirresortivos. Antiangiogénicos. Bisfosfonatos. Denosumab. Exposición ósea en los maxilares. Osteonecrosis de los maxilares relacionada con medicación. Osteonecrosis maxilar.

Recibido: 27/10/2025 • Aceptado: 27/10/2025

Pilar Aguado-Acín y Pedro Infante-Cossío son considerados los primeros autores de este artículo.

Aguado-Acín P, Infante-Cossío P, Bagán JV, Nart J, Redondo González LM, Zafra Poves M, García Insausti C, Casanova Espinosa M, Cebrián Carretero JL, Martínez Díaz-Guerra G. Posicionamiento multidisciplinar de expertos sobre la prevención y manejo de la osteonecrosis de los maxilares relacionada con los fármacos antirresortivos óseos. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(4):170-183

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00107

Correspondencia:

Pilar Aguado-Acín. Servicio de Reumatología.
Hospital Universitario La Paz. P.º de la Castellana,
261. 28046 Madrid
e-mail: paguadoacin@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La osteonecrosis de los maxilares relacionada con medicamentos (ONMRM) es una reacción adversa grave que provoca la muerte del tejido óseo de la cavidad oral, manifestándose clínicamente mediante la exposición del hueso maxilar necrótico en pacientes tratados con ciertos medicamentos asociados a esta complicación (1). Este término fue introducido por primera vez en 2003, cuando Marx publicó la primera serie de 36 casos de ONMRM (2). Más adelante, en 2005, se comunicó una serie de 10 casos en pacientes sometidos a quimioterapia oncológica (3). Desde entonces, el concepto ha evolucionado para incluir diversos fármacos que regulan la remodelación ósea (4), especialmente los fármacos antirresortivos.

TIPOS DE FÁRMACOS ASOCIADOS A LA OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES RELACIONADA CON MEDICACIÓN Y PERFIL DEL PACIENTE

Los fármacos antirresortivos asociados a la ONMRM se utilizan principalmente para tratar la osteoporosis y prevenir complicaciones óseas en pacientes con enfermedades oncológicas que afectan al sistema esquelético o padecen mieloma múltiple (5,6). También se emplean en patologías menos comunes como la displasia fibrosa, la enfermedad de Paget, la osteogénesis imperfecta y los tumores de células gigantes.

Los fármacos antirresortivos más importantes incluyen los bisfosfonatos, que actúan inhibiendo la enzima farnesil pirofosfato sintasa, bloqueando la actividad de los osteoclastos y, por tanto, la resorción ósea. Y, el denosumab que impide la diferenciación y activación de los osteoclastos al interferir con la señalización del ligando RANK (RANK-L). Estos mecanismos de acción hacen que ambos fármacos sean muy efectivos para prevenir complicaciones óseas graves (7).

Clínicamente, se pueden diferenciar dos perfiles principales de pacientes: aquellos con osteoporosis tratada con fármacos antirresortivos y los pacientes con enfermedad oncológica con afectación ósea, como metástasis derivadas de tumores sólidos o mieloma múltiple.

En pacientes con osteoporosis, los bisfosfonatos y el denosumab se administran a dosis estándar y con menor frecuencia, habitualmente por vía oral y subcutánea, respectivamente (1). Recientemente, se ha incorporado el romosozumab, un anticuerpo monoclonal con doble acción osteoformadora y antirresortiva, indicado en pacientes con osteoporosis grave y alto riesgo de fracturas. No obstante, dado su efecto transitorio, requiere una fase posterior de consolidación con tratamiento antirresortivo para mantener los beneficios obtenidos (8).

En pacientes con enfermedad oncológica, los bisfosfonatos y el denosumab se emplean a dosis y frecuencias más elevadas, generalmente por vía intravenosa o subcutánea (9). Además, existen otros fármacos utilizados en oncología que se han relacionado con la ONMRM. Entre ellos destacan los agentes antiangiogénicos, como el bevacizumab, y los inhibidores de la tirosina cinasa (cabozantinib, axitinib, sunitinib y sorafenib) (10), así como los tratamientos adyuvantes habituales, como los corticoides, los inhibidores de la aromataasa (letrozol, anastrozol), los moduladores del receptor de estrógenos (raloxifeno), los inhibidores de mTOR y CDK4/6, los inmunomoduladores (lenalidomida), los agentes citotóxicos y los anticuerpos monoclonales (11).

PREVALENCIA E INCIDENCIA

La prevalencia e incidencia de la ONMRM depende de varios factores, incluyendo el perfil del paciente, el tipo de fármaco utilizado, la indicación clínica, así como la dosis y la frecuencia de administración. En pacientes tratados por osteoporosis, la incidencia reportada es baja, situándose entre 0,001 % y 0,04 % (12). Sin embargo, en pacientes oncológicos con enfermedad metastásica ósea o mieloma múltiple, esta incidencia se incrementa, alcanzando valores entre el 1,3 % y el 1,8 % (13).

RIESGO-BENEFICIO DEL TRATAMIENTO

En osteoporosis, los bisfosfonatos y el denosumab han demostrado reducir el riesgo de fractura vertebral hasta en un 70 % y de fractura de cadera hasta en un 40 % (13). Estos resultados no solo evidencian la eficacia terapéutica de los antirresortivos, sino también sus importantes beneficios clínicos, ya que contribuyen a reducir la morbimortalidad asociada a las fracturas osteoporóticas y mejoran significativamente la calidad de vida de los pacientes. Debido a que el beneficio clínico tiende a incrementarse con el tiempo de tratamiento, en algunos casos se puede contemplar la opción preventiva de implementar “vacaciones terapéuticas” después de varios años de uso continuo con bisfosfonatos (1). Esta estrategia aprovecha la capacidad de estos fármacos para permanecer en el tejido óseo durante un largo periodo, lo que permite mantener parcialmente su efecto antirresortivo tras la suspensión de la medicación. Sin embargo, la efectividad y seguridad a largo plazo de esta práctica aún siguen siendo objeto de debate (14,15). También es necesario diferenciar claramente estas “vacaciones terapéuticas” de la interrupción definitiva del tratamiento, la cual debe considerarse únicamente cuando exista una justificación clínica válida (16).

En oncología, dado que los antirresortivos se administran a dosis más altas y con mayor frecuencia que en el tratamiento de la osteoporosis, existe una mayor acumulación de exposición al fármaco. Sin embargo, este uso intensivo está plenamente justificado por la capacidad demostrada para prevenir complicaciones esqueléticas graves, como fracturas patológicas o compresión medular. Estas complicaciones tienen un impacto decisivo en la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes (13,17,18).

PROBLEMAS ACTUALES EN EL MANEJO DE ANTIRRESORTIVOS

Los principales problemas asociados al uso de fármacos antirresortivos incluyen la baja adherencia terapéutica, la variabilidad en su manejo entre diferentes especialidades médicas y la ausencia de consenso en las recomendaciones para prevenir la ONMRM.

En la osteoporosis, la falta de adherencia es una de las principales barreras. Se estima que hasta un 50 % de los pacientes abandonan la medicación dentro del primer año, reduciéndose significativamente los beneficios en la prevención de fracturas. Las causas más comunes son el desconocimiento sobre los beneficios del tratamiento y el temor a los efectos adversos, en particular a la ONMRM (12). Además, existe una gran variabilidad en el manejo clínico. Mientras que los reumatólogos y endocrinólogos priorizan la eficacia en la prevención de fracturas, los odontólogos, cirujanos orales y maxilofaciales se centran en reducir el riesgo de ONMRM. Estas diferencias en las prioridades pueden dar lugar a decisiones opuestas, especialmente cuando se evalúa si se debe continuar o suspender el tratamiento en pacientes que van a someterse a procedimientos odontológicos (19). En el caso de los pacientes oncológicos, la heterogeneidad es aún mayor. Las recomendaciones para el uso de bisfosfonatos y denosumab difieren según el tipo de tumor y la especialidad encargada del tratamiento (1).

A pesar de los esfuerzos de distintas sociedades científicas y las guías de práctica clínica (GPC) aún existen diferencias en cuanto al manejo de estos pacientes (4). Por todo ello, resulta prioritario disponer de recomendaciones consensuadas y basadas en evidencia, que promuevan un enfoque multidisciplinar que mejore la eficacia de estos fármacos y minimicen la aparición de ONMRM sin comprometer los beneficios terapéuticos.

El objetivo de este artículo es elaborar un documento de posicionamiento multidisciplinar actualizado sobre la prevención y el manejo de la ONMRM, integrando las recomendaciones internacionales y nacionales con mayor evidencia científica y proponiendo estrategias prácticas basadas en la opinión de los expertos para pacientes con osteoporosis o con metástasis óseas y/o mieloma múltiple tratados con fármacos antirresortivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración de este documento de posicionamiento, se constituyó un panel multidisciplinar compuesto por especialistas en Cirugía Oral y Maxilofacial, Odontología, Reumatología, Endocrinología, Hematología y Oncología Médica, seleccionados en función de su experiencia clínica, producción científica y participación en el manejo de pacientes tratados con agentes antirresortivos óseos.

Los objetivos fundamentales del grupo de expertos fueron: a) armonizar los criterios diagnósticos y terapéuticos; b) proponer estrategias de prevención adaptadas al perfil de riesgo del paciente y al tipo de agente implicado; y c) ofrecer recomendaciones prácticas para los profesionales sanitarios involucrados en la atención de estos pacientes desde diferentes especialidades.

Se llevó a cabo una revisión de la literatura científica en Medline/PubMed empleando la estrategia de búsqueda: ("Medication-related osteonecrosis of the jaws" OR osteonecrosis OR MRONJ) AND (jaw OR jaws OR maxillary OR mandible OR mandibular) AND ("clinical guideline" OR "consensus" OR "clinical practice guideline"). La búsqueda se limitó a publicaciones entre 2003 y 2025, en español e inglés. Se incluyeron guías de práctica clínica, consensos y revisiones sistemáticas sobre ONMRM, excluyendo cartas al editor y resúmenes de congresos. Esta búsqueda fue complementada con la selección de guías clínicas por parte del panel multidisciplinar y con la incorporación de la experiencia clínica acumulada de los expertos.

A lo largo de varias reuniones telemáticas y mediante el intercambio estructurado de documentos y comunicaciones electrónicas, el grupo trabajó de forma colaborativa en la elaboración de un documento de posicionamiento actualizado y consensuado.

RESULTADOS

De la revisión de los documentos seleccionados por el panel de expertos (1,4,12,13,19-23), se indican a continuación las principales recomendaciones para el diagnóstico, prevención y manejo de pacientes con riesgo de ONMRM o con la enfermedad establecida.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico de la ONMRM debe realizarse de forma exhaustiva para descartar otras formas de osteomielitis crónica no inducidas por antirresortivos. Entre los diagnósticos diferenciales se incluyen el retraso en la cicatrización, la exposición ósea o los secuestros óseos

secundarios a infecciones, traumatismos o procesos inflamatorios crónicos (24). Sobre esta base, las GPC coinciden en tres criterios fundamentales (25). Primero, es imprescindible la exposición actual o previa a un fármaco antirresortivo o antiangiogénico. Segundo, debe existir hueso expuesto o una fístula intraoral o extraoral con trayecto óseo con más de 8 semanas de evolución sin cicatrización. Tercero, ausencia de radioterapia previa en la región maxilofacial o exclusión de enfermedad metastásica en los maxilares (1,12,19).

FACTORES DE RIESGO

Existen múltiples factores de riesgo para desarrollar la ONMRM. Entre los factores farmacológicos, destacan la dosis acumulada del fármaco, la duración del tratamiento a partir de los 3 años y la frecuencia de administración. El riesgo es mayor en pacientes con enfermedad oncológica que reciben dosis altas de antirresortivos por vía intravenosa, en comparación con aquellos tratados por osteoporosis con formulaciones orales (23). Asimismo, el uso concomitante de antiangiogénicos, corticoides, inmunosupresores, inhibidores de la aromatasa o quimioterapia incrementa la susceptibilidad a desarrollar ONMRM (23,26). Los principales fármacos relacionados con esta complicación se resumen en la tabla I.

Entre los factores locales, los procedimientos dentales invasivos, como las extracciones dentales, las cirugías o la colocación de implantes que impliquen osteotomía, representan el desencadenante más frecuente, estando presentes en al menos la mitad de los casos (23). También contribuyen la enfermedad periodontal, las infecciones orales, las caries avanzadas y los factores mecánicos (por ejemplo, prótesis mal ajustadas o *torus* mandibulares). Finalmente, el consumo de tabaco y alcohol, junto con la presencia de enfermedades sistémicas como diabetes mal controlada o inmunodeficiencias (23,27,28).

ESTADIFICACIÓN DE LOS PACIENTES

La clasificación en estadios (0 a 3) de la ONMRM permite orientar las decisiones terapéuticas y establecer el pronóstico. La enfermedad puede presentarse con o sin exposición ósea, ya que la presencia de hueso sondable a través de una fístula también se considera criterio diagnóstico.

El estadio 0 es el más controvertido. Hasta el 50 % de los casos progresan a estadio 1, motivo por el cual la American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) lo considera un posible precursor de la ONMRM (1). Sin embargo, su reconocimiento no

Tabla I. Fuerza de la asociación entre medicamentos y la aparición de osteonecrosis de los maxilares relacionada con medicamentos (ONMRM)

Medicamentos con señales de intensidad fuerte	Medicamentos con señales de intensidad media	Medicamentos con señales de intensidad débil
<p>Ácido zoledrónico Ácido alendrónico Ácido pamidrónico Ácido ibandrónico Ácido risedrónico Ácido alendrónico + colecalciferol Denosumab Cloruro de radio-223</p>	<p>Cabazitaxel Romosozumab Fulvestrant Raloxifeno Letrozol</p>	<p>Ácido etidrónico Eribulina Exemestano Anastrozol Trióxido de arsénico Prednisolona Everolimus Lenalidomida Daratumumab Bevacizumab Ramucirumab Trastuzumab Sunitinib Lenvatinib Cabozantinib Palbociclib Abemaciclib</p>

La clasificación se basa en la señal de intensidad obtenida mediante el análisis farmacovigilancia del sistema FAERS (FDA Adverse Event Reporting System), utilizando el Componente de Información Esperado (EIC) y su intervalo de confianza del 95 %, según el método bayesiano de propagación de confianza (BCPNN). Se consideran señales de intensidad fuerte (+++) aquellas con IC-2SD > 3.0, media (++) si 1.5 < IC-2SD ≤ 3.0, y débil (+) si 0 < IC-2SD ≤ 1.5. Datos adaptados del estudio de Zhong et al. 2025.

es unánime entre las sociedades científicas, ya que algunas lo interpretan como una fase preclínica o una remisión de los estadios 1 a 3, pudiendo generar confusión en el manejo y derivar en errores diagnósticos (28-31). En la práctica clínica, el odontólogo suele ser el primer profesional en identificar estos casos, especialmente en pacientes con osteoporosis, los cuales son derivados al cirujano oral y maxilofacial cuando la situación es más severa.

El diagnóstico diferencial resulta complejo, ya que los síntomas del estadio 0 son inespecíficos y se solapan con patologías orales frecuentes. Manifestaciones como el dolor difuso, la odontalgia inespecífica o las molestias mandibulares persistentes, puede sugerir un estadio 0 de ONMRM, pero normalmente se deben a otras patologías más comunes, como disfunción temporomandibular, traumatismos oclusales, uso inadecuado de prótesis, periodontitis generalizadas avanzadas (estadios 3-4), caries, bruxismo o edentulismo severo de larga evolución. Según los expertos del consenso, esta superposición clínica explica que en atención primaria algunos pacientes sean erróneamente etiquetados como portadores de neuralgia facial atí-

pica, cuando en realidad presentan trastornos funcionales sin relación con la ONMRM.

La conducta clínica recomendada ante la sospecha de un posible estadio 0 de ONM es no suspender el tratamiento antirresortivo, realizar una derivación temprana al especialista maxilofacial y llevar a cabo un seguimiento estrecho que permita confirmar o descartar la lesión y guiar el manejo posterior de forma segura y coordinada. La suspensión precoz e injustificada del tratamiento puede comprometer la eficacia de la prevención de fracturas, especialmente en pacientes con alto riesgo esquelético (1,4,22).

La tabla II resume los estadios clínicos, los criterios diagnósticos y las propuestas terapéuticas basadas en la literatura científica. En la evaluación complementaria, las pruebas de imagen son fundamentales. La radiografía panorámica continúa siendo la técnica más utilizada, aunque la tomografía computarizada (TC) ha adquirido relevancia por su capacidad para detectar alteraciones precoces, delimitar con precisión la extensión de la lesión y confirmar el estadio clínico.

Tabla II. Clasificación clínica y manejo terapéutico por estadios de la ONMRM

Estadio	Descripción	Síntomas	Hallazgos clínicos	Hallazgos radiográficos	Manejo recomendado
Riesgo	No hay hueso expuesto, pero el paciente usa antirresortivos	—	—	—	Seguimiento semestral (no oncológico) o trimestral (oncológico), higiene oral estricta
0	Pacientes sin evidencia clínica de hueso necrótico pero que presentan síntomas no específicos o hallazgos clínicos y radiográficos	Odontotalgia no explicada por una casusa odontogénica. Dolor óseo sordo en la mandíbula, que puede irradiarse a la región de la articulación temporomandibular. Dolor de seno, que puede estar asociado con inflamación y engrosamiento de la pared sinusal maxilar Función neurosensorial alterada	Aflojamiento de dientes no explicado por enfermedad periodontal crónica. Inflamación intraoral o extraoral	Pérdida o reabsorción ósea alveolar no atribuible a enfermedad periodontal crónica. Cambios en el patrón trabecular, hueso esclerótico y ausencia de hueso nuevo en los alvéolos de extracción. Regiones de osteosclerosis que afectan el hueso alveolar y/o el hueso basilar circundante. Engrosamiento/oscurcimiento del ligamento periodontal (engrosamiento de la lámina dura, esclerosis y disminución del tamaño del espacio del ligamento periodontal)	Control del dolor, vigilancia clínica, antibióticos si hay signos infecciosos
1	Hueso expuesto y necrótico o fístula que se dirige al hueso en pacientes asintomáticos y que no tienen evidencia de infección/inflamación	—	—	Pueden presentar hallazgos radiográficos mencionados para la Etapa 0 que se localizan en la región ósea alveolar	Enjuagues con clorhexidina, seguimiento cada 4-6 semanas. En tratamientos quirúrgicos utilización del plasma rico en plaquetas si se comprueba que han pasado varios meses y el alveolo no se ha cerrado

(Continúa en página siguiente)

Tabla II (cont.). Clasificación clínica y manejo terapéutico por estadios de la ONMRM

Estadio	Descripción	Síntomas	Hallazgos clínicos	Hallazgos radiográficos	Manejo recomendado
2	Hueso expuesto y necrótico, o fístula que se dirige al hueso, con evidencia de infección/inflamación	—	—	Pueden presentar hallazgos radiográficos mencionados para la Etapa 0 que se localizan en la región ósea alveolar	Antibióticos orales (amoxicilina + metronidazol), analgesia, desbridamiento conservador. En tratamientos quirúrgicos utilización del plasma rico en plaquetas si se comprueba que han pasado varios meses y el alveolo no se ha cerrado
3	Hueso expuesto y necrótico o fístulas que se extienden hasta el hueso	Con evidencia de infección y uno o más de los siguientes: – Hueso necrótico expuesto que se extiende más allá de la región del hueso alveolar (es decir, borde inferior y rama en la mandíbula, seno maxilar y cigoma en el maxilar) – Fractura patológica – Fístula extraoral – Comunicación oral antral/oronasal. – Osteólisis que se extiende al borde inferior de la mandíbula o al piso del seno	—	—	Cirugía conservadora o resección ósea, manejo interdisciplinario

PREVENCIÓN Y MANEJO MULTIDISCIPLINAR

La prevención y el manejo multidisciplinar de la ONMRM son fundamentales para reducir su incidencia y mejorar el pronóstico de los pacientes en tratamiento con antirresortivos. Las estrategias preventivas deben iniciarse antes de comenzar el tratamiento e incluyen la identificación de factores de riesgo, una evaluación odontológica exhaustiva, la eliminación de focos infecciosos y garantizar una adecuada salud bucodental (32).

La necesidad y el momento de realizar la revisión odontológica previa dependen del perfil clínico y del riesgo individual. En pacientes con osteoporosis, la evaluación odontológica previa es recomendable cuando existen factores de riesgo de ONMRM, necesidades dentales urgentes o procedimientos invasivos pendientes. Sin embargo, en pacientes de bajo riesgo, y con el objetivo de no retrasar el inicio del tratamiento, la revisión bucal puede realizarse de forma concomitante al inicio del tratamiento. En cambio, en pacientes con enfermedad oncológica, la evaluación bucodental previa es obligatoria, y el inicio del tratamiento antirresortivo debe aplazarse hasta que haya

cicatrizado completamente cualquier lesión oral, siempre que la situación sistémica del paciente lo permita (33-35).

La frecuencia del control odontológico debe ajustarse al riesgo de ONMRM y al contexto clínico. El panel de expertos recomienda revisiones cada 6 a 12 meses en pacientes con osteoporosis y cada 3 a 6 meses en pacientes con enfermedad oncológica (metástasis óseas de tumores sólidos o mieloma múltiple) tratados con antirresortivos.

PROCEDIMIENTOS DENTALES EN PACIENTES TRATADOS CON ANTIRRESORTIVOS

El abordaje odontológico debe individualizarse según el tipo de fármaco, el perfil clínico y el riesgo de ONMRM. En todos los pacientes, los tratamientos conservadores no invasivos, como obturaciones, endodoncias no quirúrgicas, ortodoncia o prótesis dentales, se consideran seguros, y en ningún caso se recomienda suspender el tratamiento antirresortivo para su realización.

PACIENTES CON OSTEOPOROSIS Y BAJO RIESGO DE OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES RELACIONADA CON MEDICACIÓN

Los procedimientos de bajo riesgo, como cirugías dentoalveolares menores, extracciones dentales simples o colocación de implantes sin necesidad de osteotomía pueden realizarse de forma segura siempre que se utilice una técnica quirúrgica atraumática, se logre un cierre primario de la herida y se mantenga un seguimiento clínico y radiológico estrecho. En estos casos, no se recomienda suspender los bisfosfonatos.

En pacientes tratados con denosumab, la opción más segura consiste en programar el procedimiento entre los 5 y 6 meses posteriores a la última administración, procurando no retrasar la siguiente dosis, con el objetivo de minimizar el riesgo de complicaciones óseas y evitar la pérdida del efecto terapéutico (22).

PACIENTES CON OSTEOPOROSIS Y ALTO RIESGO DE OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES RELACIONADA CON MEDICACIÓN

En este grupo, la suspensión de los bisfosfonatos no ha demostrado reducir el riesgo de ONMRM, debido a su larga permanencia en el hueso (1,22,23). Sin embargo, algunos autores proponen una interrupción temporal del tratamiento para favorecer la cicatrización de la mucosa, con recomendaciones que varían entre 1 semana y 2 meses antes del procedimiento quirúrgico (22,36). El panel de expertos considera razonable valorar una suspensión de hasta 2 meses, manteniéndola hasta la cicatrización completa de la herida, siempre que el estado sistémico del paciente lo permita y garantizando la posterior reintroducción del tratamiento.

Por el contrario, en pacientes tratados con denosumab, no se aconseja su suspensión, ya que incluso breves retrasos pueden inducir una pérdida rápida de masa ósea y un aumento del riesgo de fracturas vertebrales múltiples (1,22,23). En estos casos, se recomienda programar los procedimientos entre los 5 y 6 meses tras la última dosis, y reanudar el tratamiento a las 4 a 6 semanas después del cierre mucoso, evitando retrasos superiores a 1 mes (22).

PACIENTES CON ENFERMEDAD ONCOLÓGICA (METÁSTASIS ÓSEAS O MIELOMA MÚLTIPLE)

La suspensión rutinaria del tratamiento antes de procedimientos dentales invasivos no está respaldada

por la evidencia científica, ya que no se ha demostrado una reducción significativa del riesgo de ONMRM (4,34). Estos pacientes deben considerarse de alto riesgo durante toda su vida, incluso tras la finalización del tratamiento. Por tanto, los procedimientos quirúrgicos invasivos deben evitarse siempre que sea posible, priorizando alternativas conservadoras, como las endodoncias no quirúrgicas, en lugar de las extracciones dentales (1,4).

Cuando la cirugía sea inevitable o urgente, se recomienda realizarla en una unidad quirúrgica de referencia y en coordinación con los servicios de Oncología y/o Hematología. Se deben utilizar técnicas atraumáticas con cierre primario, acompañadas de irrigación abundante con suero salino o clorhexidina, y cuando sea posible, del uso de concentrados plaquetarios para favorecer la cicatrización tisular (4). Algunos estudios observacionales sugieren que una suspensión temporal de los bisfosfonatos intravenosos durante al menos 3 meses antes de la intervención podría reducir el riesgo de ONMRM, aunque la evidencia es limitada (37). En estos casos, la reintroducción del tratamiento debe realizarse tras la cicatrización completa de la herida, pudiendo retrasarse hasta 3 meses según la evolución clínica.

En pacientes tratados con denosumab, la suspensión tampoco se recomienda de forma sistemática debido al riesgo de efecto rebote, caracterizado por la rápida pérdida ósea y la aparición de fracturas vertebrales múltiples. La alternativa más segura es programar el procedimiento entre los 3 y 4 meses después de la última dosis, con reintroducción del fármaco entre las 6 y 8 semanas posteriores a la cirugía, siempre tras confirmar una adecuada cicatrización de la mucosa y con vigilancia clínica de un posible "efecto rebote" si la suspensión del denosumab se prolonga más de 4 semanas de la siguiente dosis programada (1).

PACIENTES QUE HAN FINALIZADO EL TRATAMIENTO ANTIRRESORTIVO

El momento óptimo para realizar un procedimiento dental invasivo depende del tipo de fármaco y de la situación clínica. En general, se considera más seguro intervenir tras al menos 12 meses desde la última administración, siempre que exista cicatrización adecuada y ausencia de lesiones activas. Este intervalo es especialmente importante en pacientes tratados con bisfosfonatos intravenosos, como el ácido zoledrónico, debido a su prolongada acción ósea. En los pacientes tratados con denosumab, este periodo podría acortarse ligeramente, aunque siempre bajo una evaluación clínica individualizada.

La figura 1 muestra el abordaje recomendado en pacientes tratados con fármacos antirresortivos sin ONMRM.

PACIENTES CON OSTEONECROSIS DE LOS MAXILARES RELACIONADA CON MEDICACIÓN

Las decisiones terapéuticas deben individualizarse en función del estadio clínico, el tipo de fármaco implicado, la indicación terapéutica, el estado general del paciente y, en el contexto oncológico, el pronóstico de la enfermedad de base. En este sentido, resulta deseable la creación de unidades de referencia multidisciplinarias que concentren profesionales con experiencia clínica específica en esta entidad, y garanticen una atención homogénea y coordinada.

Los objetivos terapéuticos se centran en el control del dolor, la resolución del proceso infeccioso y la prevención de la progresión o aparición de nuevas complicaciones. Según la gravedad del cuadro, el tratamiento puede ser médico o quirúrgico. El manejo conservador, indicado en estadios iniciales, se basa en medidas antisépticas locales, antibioterapia sistémica y control sintomático (22). Sin embargo, la evidencia reciente sugiere que, incluso en estadios tempranos (1 y 2), puede ser beneficiosa una intervención quirúrgica precoz cuando persiste la falta de cicatrización tras varios meses de tratamiento conservador. En estos casos, el uso de plasma rico en plaquetas como coadyuvante tras el legrado ha mostrado resultados favorables (38).

Por otra parte, el tratamiento quirúrgico, que abarca desde el desbridamiento de las áreas necróticas hasta la resección ósea con cierre primario, debe adaptarse a la evolución clínica y a la respuesta individual del paciente. La figura 2 resume la estrategia terapéutica en los pacientes con ONMRM establecida.

En el estadio 1 de la ONMRM, el tratamiento se orienta a controlar los síntomas locales, prevenir la progresión de la lesión y mantener una adecuada salud bucodental. En esta fase se recomienda mantener el tratamiento antirresortivo, ya que su suspensión no ha demostrado beneficio clínico.

En los estadios avanzados de ONMRM (estadios 3 y 4), la suspensión temporal de la terapia antirresortiva puede favorecer una resolución más rápida de las lesiones. No obstante, la reintroducción del tratamiento antirresortivo debe considerarse solo tras la completa cicatrización de la mucosa, la ausencia de signos inflamatorios o infecciosos y una valoración multidisciplinaria del riesgo-beneficio (1). En los casos en que el beneficio terapéutico supere el riesgo de recurrencia, la reanudación deberá realizarse de forma consensuada con el paciente y bajo un seguimiento odontológico y maxilofacial.

Cuando la reintroducción del tratamiento antirresortivo no sea recomendable, las alternativas terapéuticas deben individualizarse según el fármaco previamente empleado. En pacientes tratados con bisfosfonatos,

puede contemplarse el uso de análogos de la hormona paratiroidea (PTH), como la teriparatida, que constituyen una opción anabólica eficaz para el manejo de la osteoporosis y la recuperación de la masa ósea (22). Por el contrario, en pacientes previamente tratados con denosumab, no existen alternativas equivalentes que compensen su potente efecto antirresortivo. En estos casos, se recomienda una vigilancia clínica exhaustiva ante la posibilidad de un "efecto rebote". Si este fenómeno se manifiesta, puede valorarse la reintroducción controlada de denosumab con el objetivo de prevenir complicaciones esqueléticas y mantener la estabilidad ósea.

IMPACTO EN LA ADHERENCIA TERAPÉUTICA

El temor a desarrollar ONMRM influye en la adherencia al tratamiento antirresortivo. Esta preocupación, frecuentemente asociada a una percepción exagerada del riesgo, puede conducir a interrupciones prematuras del tratamiento, omisión de dosis o abandono terapéutico, con el consiguiente aumento del riesgo de fracturas osteoporóticas o de progresión de la enfermedad ósea metastásica (39).

En ausencia de protocolos universales de manejo, la valoración individualizada y el juicio clínico compartido entre especialistas resultan esenciales para equilibrar los riesgos y beneficios del tratamiento. A partir de la evidencia científica disponible y la experiencia clínica del grupo de expertos, se propone un conjunto de recomendaciones prácticas, resumidas en la figura 3, orientadas a mejorar la continuidad terapéutica y minimizar las complicaciones asociadas.

DISCUSIÓN

El presente documento propone una estrategia estructurada para la prevención y manejo de la ONMRM, basada en la coordinación multidisciplinaria entre odontólogos, cirujanos orales y maxilofaciales, así como médicos prescriptores.

En línea con los consensos más recientes, se desaconseja la suspensión sistemática del tratamiento antirresortivo en pacientes con osteoporosis, incluso ante procedimientos dentales o implantológicos de bajo riesgo, priorizando la individualización del manejo según el tipo de fármaco, la duración del tratamiento y los factores de riesgo locales y sistémicos (1,22,23).

Desde el punto de vista diagnóstico, la inclusión del estadio 0 en la clasificación de la AAOMS (1), ha supuesto un avance relevante, al permitir el reconocimiento temprano de formas incipientes basadas en hallazgos radiográficos o síntomas inespecíficos.

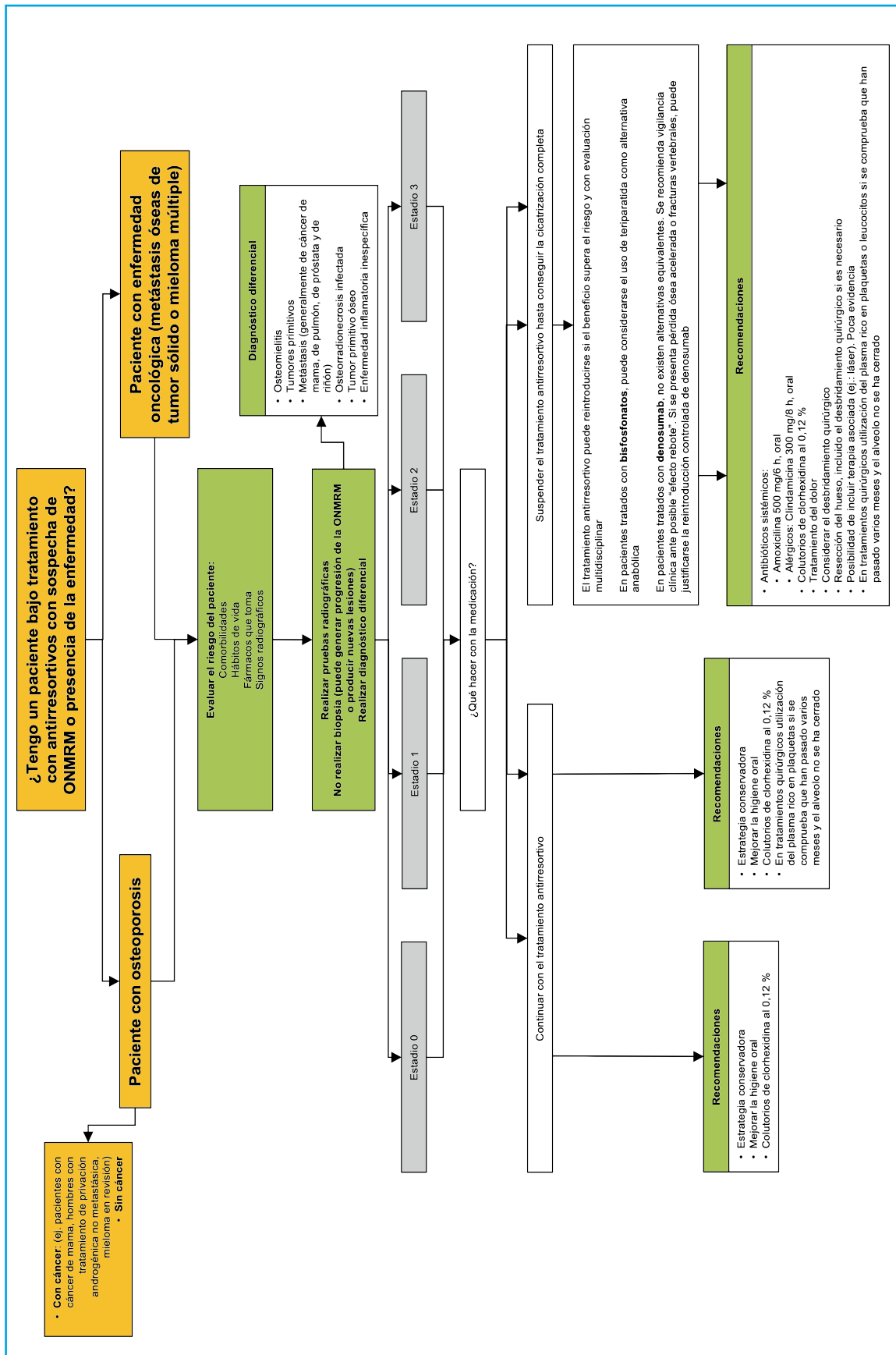


Figura 2. Algoritmo para el manejo de pacientes tratados con fármacos antirresortivos óseos que presentan ONMRM. El diagrama orienta el abordaje diagnóstico y terapéutico según el estadio clínico (0 a 3) de la ONMRM en pacientes con osteoporosis o patología oncológica. Incluye la evaluación del riesgo, la exclusión de diagnósticos diferenciales, y la toma de decisiones respecto a la continuidad o suspensión del tratamiento antirresortivo óseo. Se detallan intervenciones recomendadas según la gravedad del cuadro, con énfasis en el manejo conservador, la higiene oral, el uso de colutorios, antibióticos, control del dolor y desbridamiento quirúrgico.

Decálogo para la prevención de la osteonecrosis en los maxilares en pacientes en tratamiento con antirresortivos

- 01 REALIZA VISITAS REGULARES A TU ODONTÓLOGO**
 En el caso de pacientes con osteoporosis las revisiones recomendadas se realizan cada 6-12 meses. En caso de pacientes con metástasis ósea o mieloma múltiple cada 3-6 meses. Es una de las medidas más eficaces de la prevención.
- 02 MANTÉN UNA BUENA SALUD BUCAL DIARIAMENTE**
 Cepilla tus dientes al menos 3 veces al día, utiliza hilo dental o cepillos interproximales con precaución y sigue las indicaciones de tu odontólogo para mantener las encías sanas.
- 03 INFORMA A TU ODONTÓLOGO Y MÉDICO DE ATENCIÓN PRIMARIA**
 Si estás tomando bisfosfonatos, denosumab o fármacos antiangiogénicos, es fundamental que tu odontólogo y médico de atención primaria lo sepan antes de cualquier procedimiento dental. Esto permitirá que los tratamientos se planifiquen de forma segura y coordinada.
- 04 NO SUSPENDAS EL TRATAMIENTO POR TU CUENTA**
 La decisión de interrumpir la medicación debe ser tomada por el especialista. No tengas miedo porque en muchos casos podrán realizarse procedimientos dentales sin necesidad de suspender la medicación. Dejar el tratamiento sin supervisión médica puede aumentar el riesgo de fracturas graves.
- 05 REALIZA PROCEDIMIENTOS DENTALES ANTES DE INICIAR EL TRATAMIENTO CON ANTIRRESORTIVOS**
 Si necesitas una extracción dental o una cirugía oral, lo ideal es completarlas antes de comenzar el tratamiento con antirresortivos. Si ya has iniciado el tratamiento, consulta siempre con tu odontólogo o cirujano maxilofacial para valorar el mejor momento para realizar la intervención dental.
- 06 EVITA EL TABACO Y EL CONSUMO EXCESIVO DE ALCOHOL**
 Estos hábitos aumentan el riesgo de osteonecrosis en los maxilares y pueden afectar a tu recuperación.
- 07 SIGUE LAS RECOMENDACIONES DE HIGIENE RECOMENDADAS POR TU ODONTÓLOGO**
 Realiza enjuagues con clorhexidina al 0,12% para mantener una buena desinfección oral. Cumple las pautas de higiene y profilaxis recomendadas para tu situación clínica particular.
- 08 RECONOCE LOS SIGNOS DE ALERTA**
 Acude al odontólogo si presentas dolor persistente en la mandíbula, hinchazón en las encías, hueso de la boca que se queda descubierto, cambios en la mordida o infecciones recurrentes.
- 09 CONFÍA EN TU EQUIPO MÉDICO Y ODONTOLÓGICO**
 Tu tratamiento con antirresortivos ha sido cuidadosamente valorado, equilibrando el riesgo de osteonecrosis en los maxilares frente al beneficio en la prevención de fracturas o metástasis.
- 10 RECUERDA QUE LA OSTEONECROSIS EN LOS MAXILARES ES RARA Y PREVENIBLE**
 Aunque existe un riesgo mayor en pacientes oncológicos con metástasis óseas o con mieloma múltiple, el seguimiento odontológico adecuado y las medidas preventivas reducen significativamente este riesgo. No dejes que el miedo interfiera en tu tratamiento.

Figura 3. Decálogo de recomendaciones a pacientes basadas en la evidencia científica y experiencia clínica de los expertos. Este documento forma parte de una estrategia educativa orientada a la prevención de la ONMRM en pacientes tratados con antirresortivos. Las recomendaciones han sido consensuadas por especialistas en Cirugía Oral y Maxilofacial, Odontología, Reumatología, Endocrinología, Hematología y Oncología Médica, y están dirigidas a reforzar la adherencia terapéutica y la salud bucodental mediante intervenciones basadas en la mejor evidencia disponible.

Estudios recientes (12,19,20,40) respaldan el uso de la tomografía computarizada de haz cónico (CBCT) como herramienta complementaria para el diagnóstico precoz, aunque persiste la necesidad de evitar el sobrediagnóstico, especialmente en presencia de síntomas orofaciales inespecíficos atribuibles a patologías odontológicas comunes.

La prevención sigue siendo la herramienta más eficaz (33-35). Así mismo, el temor a desarrollar la ONMRM puede comprometer la adherencia terapéutica. Por ello, la comunicación clara con los profesionales sanitarios, la coordinación multidisciplinar y la educación al paciente son esenciales.

Como aportación diferencial, este consenso organiza las recomendaciones internacionales en un algoritmo práctico, adaptado a distintos perfiles clínicos: pacientes con osteoporosis y pacientes con enfermedad oncológica (metástasis ósea o mieloma múltiple), integrando evidencia científica actual, experiencia clínica y criterios de aplicabilidad real, con el objetivo de ofrecer pautas claras y fácilmente implementables en la práctica asistencial. Otros documentos recientes han abordado este problema clínico. Entre ellos, destacan las recomendaciones elaboradas por Anastasilakis y cols. (22), en representación de la European Calcified Tissue Society (ECTS), basadas en una revisión crítica de la literatura, y no sistemática debido a la limitada calidad de la evi-

dencia disponible. Al igual que el presente consenso, sus resultados concluyen que las recomendaciones para prevenir la ONMRM deben adaptarse al proceso óseo de base, los factores de riesgo individuales y el tipo de tratamiento antirresortivo recibido. No obstante, nuestro trabajo amplía este enfoque al integrar recomendaciones dentales específicas, pautas de manejo farmacológico diferenciadas por perfil clínico (osteoporótico u oncológico) y tipo de antirresortivo, proporcionando una visión más práctica y completa del abordaje multidisciplinar que se debe seguir en estos pacientes.

Por otra parte, el grupo de trabajo liderado por de Ali y cols. (23) ha realizado una revisión sistemática y metaanálisis para determinar si el uso de antirresortivos en pacientes con osteoporosis aumenta el riesgo de ONMRM en pacientes sometidos a un implante dental, así como su posible impacto en la tasa de supervivencia de los implantes. Concluyen que el efecto del tratamiento antirresortivo en el fracaso del implante sigue siendo incierto, y que la evidencia disponible –de muy baja calidad– no respalda la suspensión sistemática de los tratamientos antirresortivos previos al procedimiento. Sin embargo, este trabajo no proporciona recomendaciones específicas de manejo en distintos escenarios clínicos, aspecto que sí aborda de manera detallada el presente documento multidisciplinar.

CONCLUSIÓN

La ONMRM es una complicación grave con importantes implicaciones clínicas y una elevada heterogeneidad en su diagnóstico, prevención y tratamiento. Este documento de posicionamiento propone unificar criterios basados en la evidencia científica y en la opinión de expertos para optimizar estrategias de prevención y tratamiento. La evaluación odontológica previa, el control de factores de riesgo y la educación del paciente son fundamentales para minimizar su incidencia. El manejo, tanto en pacientes oncológicos como no oncológicos, debe ser individualizado, priorizando las estrategias conservadoras y favoreciendo la continuidad terapéutica. La falta de estudios prospectivos limita la evidencia actual, resaltando la necesidad de nuevas investigaciones para estandarizar los protocolos clínicos.

INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Los autores declaran no haber usado inteligencia artificial (IA) ni ninguna herramienta que use IA para la redacción del artículo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Rosa Rojo (ScarletMed) su ayuda en la redacción médica, a Inspira Network su apoyo durante todo el proceso.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

La conceptualización del estudio fue realizada por Marta Zafra Poves, María Pilar Aguado Acín, Luis Miguel Redondo González y Guillermo Martínez Díaz-Guerra. La adquisición de fondos, metodología, administración del proyecto, supervisión, validación y visualización estuvieron a cargo de Guillermo Martínez Díaz-Guerra. La redacción del borrador original fue elaborada por Marta Zafra Poves, Carmen García Insausti, María Casanova Espinosa, María Pilar Aguado Acín, José Nart y Pedro Infante-Cossio. La revisión y edición del manuscrito fueron realizadas por Marta Zafra Poves, Guillermo Martínez Díaz-Guerra, Carmen García Insausti, José Bagán, María Casanova Espinosa, Luis Miguel Redondo González, María Pilar Aguado Acín, José Nart, José Luis Cebrián Carretero y Pedro Infante-Cossio.

FINANCIACIÓN

Estudio financiado por FEIOMM con el patrocinio de las casas comerciales AMGEN-UCB, SANDOZ, STADA Y THERAMEX.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Marta Zafra Poves, Carmen García Insausti, María Casanova Espinosa, José Bagán, Luis Miguel Redondo González, Pedro Infante-Cossio, José Luis Cebrián Carretero y José Nart declaran no tener conflictos de interés relacionados con el contenido de este manuscrito. Guillermo Martínez Díaz-Guerra declara haber participado en congresos y reuniones científicas organizadas por Amgen, UCB, Kyowa Kirin, Theramex y Gedeon Richter, haber actuado como ponente para Kyowa Kirin, Italfármaco, FAES y Gedeon Richter, y haber formado parte de advisory boards de Alexion, Takeda, Italfármaco, Ascendis, Amgen, UCB y Kyowa Kirin. María Pilar Aguado Acín declara haber participado en ponencias de actividades formativas patrocinadas por Alexion, Amgen, FAES, Gedeon Richter Ibérica, GP Pharm, Kyowa Kirin, Lilly, MSD, Rubió, Stada y Theramex; y ha participado en asesorías puntuales para Alexion, Amgen, AstraZeneca, Kyowa Kirin y Theramex.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ruggiero SL, Dodson TB, Aghaloo T, Carlson ER, Ward BB, Kademani D. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws-2022 Update. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg* 2022;80:920-43. DOI: 10.1016/j.joms.2022.02.008

2. Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg* 2003;61:1115-7. DOI: 10.1016/s0278-2391(03)00720-1
3. Bagan J V, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol* 2005;34:120-3. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2004.00269.x
4. Yarom N, Shapiro CL, Peterson DE, Van Poznak CH, Bohlke K, Ruggiero SL, et al. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: MASCC/ISOO/ASCO Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2019;37:2270-90. DOI: 10.1200/JCO.19.01186
5. Gau Y-C, Yeh T-J, Hsu C-M, Hsiao SY, Hsiao H-H. Pathogenesis and Treatment of Myeloma-Related Bone Disease. *Int J Mol Sci* 2022;23:3112. DOI: 10.3390/ijms23063112
6. Fehm T, Felsenberg D, Krimmel M, Solomayer E, Wallwiener D, Hadji P. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in breast cancer patients: recommendations for prevention and treatment. *Breast* 2009;18:213-7. DOI: 10.1016/j.breast.2009.07.001
7. Kuroshima S, Sasaki M, Sawase T. Medication-related osteonecrosis of the jaw: A literature review. *J oral Biosci* 2019;61:99-104. DOI: 10.1016/j.job.2019.03.005
8. Everts-Graber J, Wenger M, Oser S, Studer U, Steiner C, Ziswiler H-R, et al. The effect of romosozumab on bone mineral density depending on prior treatment: a prospective, multicentre cohort study in Switzerland. *Osteoporos Int a J Establ as result Coop between Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA* 2024;35:1605-13. DOI: 10.1007/s00198-024-07155-9
9. Grávalos C, Rodríguez C, Sabino A, Seguí MÁ, Virizuela JA, Carmona A, et al. SEOM Clinical Guideline for bone metastases from solid tumours (2016). *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Spanish Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex* 2016;18:1243-53. DOI: 10.1007/s12094-016-1590-1
10. Lopes-Coelho F, Martins F, Pereira SA, Serpa J. Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci* 2021;22:3765. DOI: 10.3390/ijms22073765
11. Zhong Y, Dai W, Yin L, Wu G, Wang X. Real-world study of medication-related osteonecrosis of the jaw from 2010 to 2023 based on Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *JBMR plus* 2025;9:z1af003. DOI: 10.1093/jbmrpl/z1af003
12. Kim KM, Rhee Y, Kwon Y-D, Kwon T-G, Lee JK, Kim D-Y. Medication Related Osteonecrosis of the Jaw: 2015 Position Statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research and the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. *J Bone Metab* 2015;22:151-65. DOI: 10.11005/jbm.2015.22.4.151
13. Chalem M, Medina A, Sarmiento AK, Gonzalez D, Olarte C, Pinnilla E, et al. Therapeutic approach and management algorithms in medication-related osteonecrosis of the jaw (MONJ): recommendations of a multidisciplinary group of experts. *Arch Osteoporos* 2020;15:101. DOI: 10.1007/s11657-020-00761-0
14. Oh J-H, Kim S-G. Unveiling Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Rapid Review of Etiology, Drug Holidays, and Treatment Strategies. *Appl Sci* 2024;14:3314. DOI: 10.3390/app14083314
15. Aboalela AA, Farook FF, Alqahtani AS, Almousa MA, Alanazi RT, Almohammadi DS. The Effect of Antiresorptive Drug Holidays on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus* 2022;14:e30485. DOI: 10.7759/cureus.30485
16. Silverman SL, Adachi JD, Dennison E. Bisphosphonate drug holidays: we reap what we sow. *Osteoporos Int a J Establ as result Coop between Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA* 2016;27:849-52. DOI: 10.1007/s00198-015-3453-y
17. Infante Cossío P, Cabezas Macián A, Pérez Ceballos JL, Palomino Nicas J, Gutiérrez Pérez JL. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008;13:E52-7.
18. 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 Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol* 2021;27:379-80. DOI: 10.1016/j.eprac.2021.02.001
19. Romero-Ruiz M-M, Romero-Serrano M, Serrano-González A, Serrera-Figallo M-Á, Gutiérrez-Pérez J-L, Torres-Lagares D. Proposal for a preventive protocol for medication-related osteonecrosis of the jaw. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2021;26:e314-e326. DOI: 10.4317/medoral.24197
20. Campisi G, Mauzeri R, Bertoldo F, Bettini G, Biasotto M, Colella G, et al. Medication-Related Osteonecrosis of Jaws (MRONJ) Prevention and Diagnosis: Italian Consensus Update 2020. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17: 5998. DOI: 10.3390/ijerph17165998
21. Khan A, Khan A, Morrison A, Morrison A, Hanley DA, Hanley DA, et al. Diagnosis and Management of Osteonecrosis of the Jaw: A Systematic Review and International Consensus. *J Bone Miner Res* 2015;30(1):3-23. DOI: 10.1002/jbmr.2405
22. Anastasilakis AD, Pepe J, Napoli N, Palermo A, Magopoulos C, Khan AA, et al. Osteonecrosis of the Jaw and Antiresorptive Agents in Benign and Malignant Diseases: A Critical Review Organized by the ECTS. *J Clin Endocrinol Metab* 2022;107:1441-60. DOI: 10.1210/clinem/dgab888
23. Ali DS, Khan AA, Morrison A, Tetradis S, Mirza RD, El Rabbany M, et al. Antiresorptive Therapy to Reduce Fracture Risk and Effects on Dental Implant Outcomes in Patients With Osteoporosis: A Systematic Review and Osteonecrosis of the Jaw Taskforce Consensus Statement. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol* 2025;31:686-98. DOI: 10.1016/j.eprac.2025.02.016
24. Fleisher KE, Janal MN, Albstein N, Young J, Bikhazi V, Schwalb S, et al. Comorbid conditions are a risk for osteonecrosis of the jaw unrelated to antiresorptive therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2019;127:140-50. DOI: 10.1016/j.oooo.2018.09.012
25. Barrette L-X, Suresh N, Salmon MK, De Ravin E, Harris J, Kamdar R, et al. Assessment of clinical guidelines for medication-related osteonecrosis of the jaw: current status and future directions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2022;134:717-24. DOI: 10.1016/j.oooo.2022.06.014
26. Rivastava A, Noguera Gonzalez GM, Geng Y, Won AM, Cabanillas ME, Naing A, et al. Prevalence of medication related osteonecrosis of the jaw in patients treated with sequential antiresorptive drugs: systematic review and meta-analysis. *Support care cancer Off J Multinatl Assoc Support Care Cancer* 2021;29:2305-17. DOI: 10.1007/s00520-020-05882-3

27. Infante-Cossio P, Lopez-Martin J-C, Gonzalez-Cardero E, Martinez-de-Fuentes R, Casas-Fernandez-Tejerina A. Osteonecrosis of the maxilla associated with cancer chemotherapy in patients wearing dentures. *J oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg* 2012;70:1587-92. DOI: 10.1016/j.joms.2011.08.011
28. Khan AA, Morrison A, Kendler DL, Rizzoli R, Hanley DA, Felsenberg D, et al. Case-Based Review of Osteonecrosis of the Jaw (ONJ) and Application of the International Recommendations for Management From the International Task Force on ONJ. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom* 2017;20:8-24. DOI: 10.1016/j.jocd.2016.09.005
29. Ruggiero SL. Management of Medication-related Osteonecrosis of the Jaw, An Issue of Oral and Maxillofacial Clinics of North America 27-4: Management of Medication-related Osteonecrosis of the Jaw, An Issue of Oral and Maxillofacial Clinics of North America 27-4. Elsevier Health Sciences; 2016. Available from: <https://books.google.es/books?id=GdyZCwAAQBAJ>
30. Schiodt M, Otto S, Fedele S, Bedogni A, Nicolatou-Galitis O, Guggenberger R, et al. Workshop of European task force on medication-related osteonecrosis of the jaw-Current challenges. *Oral Dis* 2019;25:1815-21. DOI: 10.1111/odi.13160
31. Ramaglia L, Guida A, Iorio-Siciliano V, Cuzzo A, Blasi A, Sculean A. Stage-specific therapeutic strategies of medication-related osteonecrosis of the jaws: a systematic review and meta-analysis of the drug suspension protocol. *Clin Oral Investig* 2018;22:597-615. DOI: 10.1007/s00784-017-2325-6
32. Moghaddassi M, Pazoki M, Salimzadeh A, Ramim T, Alipour Z, Karadağ F, et al. Lung VITamin D and Omega-3 TriaL (Lung VITAL). *Eur Respir J* 2020;10:242-6. DOI: 10.1007/s10654-018-0393-9
33. Ciardo A, Simon MM, Awounvo S, Kim T-S. Oral health conditions in patients under antiresorptive therapy are comparable to unexposed during supportive periodontal care. *Clin Oral Investig* 2023;27:6523-36. DOI: 10.1007/s00784-023-05257-y
34. Takeda D, Kurita H, Kashima Y, Hasegawa T, Miyakoshi M, Yamada S, et al. Is withdrawal of antiresorptive agents necessary before and after tooth extraction? A systematic review. *Clin Oral Investig* 2023;281:38. DOI: 10.1007/s00784-023-05462-9
35. Hadaya D, Soundia A, Gkouveris I, Bezouglia O, Dry SM, Pirih FQ, et al. Antiresorptive-Type and Discontinuation-Timing Affect ONJ Burden. *J Dent Res* 2021;100:746-53. DOI: 10.1177/0022034520986804
36. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg* 2014;72:1938-56. DOI: 10.1016/j.joms.2014.04.031
37. Coropciuc R, Moreno-Rabié C, DeVos W, deCastele E V, Marks L, Lenaerts V, et al. Navigating the complexities and controversies of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): a critical update and consensus statement. *Acta Chir Belg* 2023;124:1-11. DOI: 10.1080/00015458.2023.2291295
38. Medeiros-Monzón A, Blanco-Carrión A, Gándara-Vila P, Camolesi G-C, Pérez-Jardón A, Lorenzo-Pouso A-I, et al. Efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin in the treatment and prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw: a prospective study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2025;27249. DOI: 10.4317/medoral.27249
39. Ruan H-J, Chen H, Hou J-S, An J-G, Guo Y-X, Liu B, et al. Chinese expert consensus on the diagnosis and clinical management of medication-related osteonecrosis of the jaw. *J Bone Oncol* 2024;49:100650. DOI: 10.1016/j.jbo.2024.100650
40. Mirza R, El Rabbany M, Ali DS, Tetradis S, Morrison A, Ruggiero S, et al. Dental Implant Failure and Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw Related to Dental Implants in Patients Taking Antiresorptive Therapy for Osteoporosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol* 2025;31:1189-96. DOI: 10.1016/j.eprac.2025.06.003 w