

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.



Ricardo Carpani
"Hombre con caballo", 1976.
Acrílico sobre tela, 114x146 cm
Agradecimiento: Doris Halpin de Carpani

VOL. 12, Nº 1

enero /abril 2016

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

www.osteologia.org.ar

Rosario (Santa Fe), Argentina

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



ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 12, Nº 1
enero / abril 2016
ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)
www.osteologia.org.ar
Rosario (Santa Fe), Argentina

Aparición: cuatrimestral

Editores responsables:

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

Lucas R. M. Brun: Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe 3100 (2000). Rosario, Argentina.

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

PROPIETARIO: Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

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

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

Perfil de la revista

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

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

Esta es una revista de Acceso Abierto (Open Access). Todo el contenido es de acceso libre y gratuito. Los usuarios pueden leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor con excepción del uso comercial. Sin embargo, los derechos de propiedad intelectual deben ser reconocidos, y para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciado, indicando la autoría y la fuente bibliográfica.

El contenido y las opiniones expresadas en los manuscritos son de entera responsabilidad del(los) autor(es).

Scope

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

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

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

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

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

EDITORES RESPONSABLES

Luisa Carmen Plantalech

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

Lucas R. M. Brun

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.
editor-responsable@osteologia.org.ar

EDITORES ASOCIADOS

Lilian I. Plotkin

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

María Josefina Pozzo

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

EDITOR ASOCIADO SENIOR

Julio Ariel Sánchez

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

SECRETARIAS DE REDACCIÓN

María Lorena Brance

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

Mirena Buttazzoni

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

ASISTENTES COMITÉ EDITORIAL

Manuel Rebón

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

Prof. María Isabel Siracusa

Correctora de textos.

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

Ricardo A. Battaglini

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

Teresita Bellido

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

David Burr

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

Marilia Buzalaf

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

Jorge B. Cannata Andía

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

Haraldo Claus Hermberg

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

Gustavo Duque

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

Adriana Dusso

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

Pedro Esbrit

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

José Luis Ferretti

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

Ana María Galich

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

Diana González

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

María Luisa Gonzalez Casaus

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

Arancha R. Gortázar

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



Nuria Guañabens

Servicio de Reumatología del Hospital Clinic de Barcelona. España.

Suzanne Jan de Beur

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

Patricia Jaurez Camacho

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

Virginia Massheimer

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

Carlos Mautalen

MAUTALEN, Salud e Investigación. Argentina.

Michael McClung

Oregon Osteoporosis Center, Portland, OR, USA.

José Luis Millán

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

Armando Negri

Instituto de Investigaciones Metabólicas. Buenos Aires, Argentina.

Beatriz Oliveri

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

Hans L Porias Cuéllar

Nuevo Sanatorio Durango. México.

Rodolfo Puche

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

Alfredo Rigalli

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

Emilio Roldán

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

Ana Russo de Boland

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

Nori Tolosa de Talamoni

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

Helena Salerni

División Endocrinología del Hospital Durand. Buenos Aires, Argentina.

Eduardo Slatopolsky

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

José R. Zanchetta

Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Argentina.



AUTORIDADES DE AAOMM COMISIÓN DIRECTIVA 2016-2017

Presidente

Dra. Cristina Tau

Vicepresidente

Dra. Susana Zeni

Secretaria

Dra. Patricia Mandalunis

Tesorera

Dra. María Diehl

Vocales

Dra. María Lorena Brance

Dra. Mirena Buttazzoni

Dra. Virginia Lezcano

Dra. María Pía Lozano

Dra. Ana María Marchionatti

Dra. Marcela Moran

Dra. Paula Rey

Dra. María Belén Zanchetta

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 12, Nº 1, enero / abril 2016

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

El estroncio en el tratamiento de la osteoporosis

Strontium in the treatment of osteoporosis

Ariel Sánchez

7

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

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

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

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

11

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

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

Alexsey Korenkov

21

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

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

Marcelo Sarli, Paula Gabriela Rey

27

ACTUALIZACIONES / Reviews

Biomecánica de las fracturas por stress

Biomechanical features of stress fractures

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

35



Aspectos clínicos de las fracturas por stress

Clinical features of stress fractures

Haraldo Claus Hermberg, María Josefina Pozzo

47

CASUÍSTICAS / Case Reports

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

Polyostotic fibrous dysplasia: literature review and case report

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

57

INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Information for Authors

64

EDITORIAL / Editorial

EL ESTRONCIO EN EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS

Ariel Sánchez*

Centro de Endocrinología, Rosario.

En la actualidad, siendo la osteoporosis una enfermedad crónica, su tratamiento acompaña al paciente durante décadas. El médico frecuentemente elige como primera opción un bifosfonato para un paciente de reciente diagnóstico. Hoy en día se sabe que, además de por sus efectos adversos (por ejemplo intolerancia gastrointestinal), los bifosfonatos deben ser suspendidos luego de algunos años de uso debido al riesgo de fracturas atípicas y osteonecrosis de mandíbula.^{1,2} Es así como el profesional necesita otra opción para continuar el tratamiento de estos pacientes. El ranelato de estroncio (RSr) es una alternativa terapéutica para la osteoporosis ya que tiene un mecanismo único de acción dual que no conlleva los riesgos de los bifosfonatos.³

Se ha demostrado que, a los pocos meses de iniciado el tratamiento con RSr, los marcadores bioquímicos de formación ósea aumentan y los de resorción disminuyen,⁴ lo que permite evaluar el impacto sobre el recambio óseo y predecir la respuesta densitométrica al cabo de un año o más.⁵

Su efecto antifracturario ha sido bien documentado, tanto en vértebras como en cadera,⁵ y hay una fuerte asociación entre la respuesta densitométrica y la protección antifractura.⁶ Recientemente hemos publicado la experiencia acumulada por 10 centros argentinos especializados, que corrobora el aumento de la DMO con el uso de RSr en 350 pacientes con osteoporosis posmenopáusica tratadas previamente con bifosfonatos.⁷

Después del tratamiento con RSr se registra mayor tasa de aposición mineral en el hueso esponjoso, según estudios de histomorfometría. Usando μ CT de biopsias óseas tomadas de seres humanos tratados con RSr por más de 5 años se ha documentado aumento en el grosor cortical y trabecular y en el número de trabéculas, sin ningún cambio en la porosidad cortical.⁸ También, luego de 2 años de tratamiento se ha observado mayor espesor cortical y trabecular en la tibia distal con RSr que con alendronato utilizando HR-pQCT.⁹

Después de un tratamiento de 36 meses con RSr en mujeres con osteoporosis posmenopáusica, los iones Sr reemplazan parcialmente al calcio en los cristales de hidroxapatita, y solo en hueso recién formado.^{10,11} Además, el estroncio contenido en el hueso alcanza una meseta a 3 años, representando el 1,5-2,0% del peso del tejido en este último estudio de biopsia.¹¹ Sin embargo, en el estudio de una sola voluntaria osteoporótica que tomaba suplementos orales

* Correo electrónico: asanchez@circulomedicorosario.org



de citrato de estroncio, el Sr óseo se determinó *in vivo* por fluorescencia de rayos X; en ese caso se encontraron aumentos continuos en dedo y tobillo, con valores después de 800 días que representaban 7 y 15 veces, respectivamente, los niveles basales.¹² En cuanto a la “sobreestimación” de la DMO, el factor de corrección molar de Sr es 10% por cada 1% de contenido relativo de Sr en hidroxiapatita, independientemente del dispositivo DXA utilizado.¹³

En los estudios SOTI y TROPOS, un número apreciable de pacientes osteopénicos normalizaron su DMO luego de 3 años de tratamiento con RSr. En un estudio *post hoc*, las tasas fueron 58% en columna y 19,6% en cadera total *versus* 11,9% y 1,6% en el grupo testigo, respectivamente.¹⁴

Hemos confirmado que la respuesta densitométrica a RSr en pacientes tratados previamente con bifosfonatos es menor que en los pacientes no expuestos previamente a dichos fármacos.^{7,15} Pero aun en pacientes pretratados con bifosfonatos, el incremento de la DMO puede ser de importante magnitud y llegar a valores normales.¹⁶

En nuestra limitada experiencia, el estroncio (como ranelato u otra sal más simple) puede aumentar la DMO en sujetos jóvenes osteopénicos.^{17,18}

El RSr no debe administrarse durante el embarazo, aunque ha sido usado luego del parto para tratar la osteoporosis inducida por el embarazo, con buen resultado.¹⁹

El RSr es un recurso farmacológico para promover la formación del callo en fracturas con retardo de consolidación.²⁰

No todos los pacientes que reciben estroncio responden con incremento de la mineralización ósea, quizá debido a distintas variantes alélicas del sensor-receptor de calcio en las células blanco. En mujeres posmenopáusicas no tratadas previamente con bifosfonatos, la tasa de respondedoras a RSr con aumento significativo de la DMO a nivel de la columna lumbar es de 60%, y a nivel de la cadera total, de 58%.²¹

Los efectos adversos del RSr son los siguientes:

a) Al inicio del tratamiento, el compuesto puede tener un efecto laxante, por lo que conviene comenzar indicando la mitad de la dosis diaria (es decir, 1 g) para, según la tolerancia, aumentar a 2 g/día después de unas semanas; otros efectos gastrointestinales son infrecuentes, leves en magnitud, y solo raramente obligan a interrumpir el tratamiento.

b) Puede haber una reacción de hipersensibilidad en las primeras 4-8 semanas de la administración, que clínicamente se manifiesta con erupción cutánea y que se acompaña con eosinofilia en sangre periférica. Si este síntoma se minimiza o se enmascara con medicación sintomática y el ranelato de estroncio sigue administrándose, pueden sobrevenir severas complicaciones parenquimatosas (hepatopatía, nefropatía). El síndrome es conocido por su sigla en inglés como *DRESS* (*drug reactions with eosinophilia and systemic symptoms*). Es extremadamente infrecuente y, en los registros del laboratorio de origen (Servier, Francia), se estima su ocurrencia en 1 caso cada 70 000 usuarios. En mi práctica siempre advierto que cualquier manifestación cutánea inusual (prurito o erupción) durante el primer trimestre de tratamiento debe comunicarse al médico tratante o al clínico, y el medicamento se debe interrumpir. En los pocos casos en que he debido aconsejar la discontinuación del RSr (generalmente por prurito localizado o generalizado), he indicado su sustitución por carbonato de estroncio en preparación magistral, ya que se trata de un compuesto inorgánico, no alergénico.

c) Ya en los primeros estudios clínicos publicados se vio un leve aumento en la incidencia de flebotrombosis en usuarias de RSr con respecto al grupo testigo. En las extensiones de esos estudios y en los registros de seguridad se ha visto un incremento del riesgo de tromboembo-

lismo venoso y pulmonar, y también de infarto de miocardio, en este último caso sobre la base del autorreporte del problema por parte de pacientes, Bolland y Grey han analizado en detalle los efectos cardiovasculares adversos del RSr.²²

Los órganos sanitarios regulatorios de la Unión Europea recomiendan –a partir de 2014– una cuidadosa selección de los pacientes en los que resulta seguro el uso del RSr. Este no debería indicarse en sujetos con antecedentes de insuficiencia arterial coronaria o periférica, o de insuficiencia cardíaca, o de accidente cerebrovascular, o con hipertensión arterial mal controlada.²³ Estas recomendaciones han sido respaldadas por la ANMAT. En la experiencia colaborativa argentina no hubo efectos adversos serios en 350 pacientes seguidos por un año.⁷

En conclusión, vemos que el RSr es ampliamente utilizado para el tratamiento de la osteoporosis. Es un fármaco eficaz y seguro, a condición de que los pacientes por tratar sean adecuadamente seleccionados.^{4,23}

Referencias

1. Sánchez A. ¿Qué son las fracturas atípicas de fémur? (Editorial). *Actual Osteol* 2012; 8:145-9.
2. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw - 2014 Update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72:1938-56.
3. Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F, Jurdic P. Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone* 2008; 42:129-38.
4. Galich A. Ranelato de estroncio: tratamiento para la osteoporosis (revisión). *Actual Osteol* 2011; 7:19-34.
5. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004; 350:459-68.
6. Bruyère O, Roux C, Detilleux J, et al. Relationship between bone mineral density changes and fracture risk reduction in patients treated with strontium ranelate. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3076-81.
7. Brun L, Galich AM, Vega E, et al. Strontium ranelate effect on bone mineral density is modified by previous bisphosphonate treatment. *SpringerPlus* 2014; 3:676.
8. Arlot ME, Jiang Y, Genant HK, et al. Histomorphometric and microCT analysis of bone biopsies from postmenopausal osteoporotic women treated with strontium ranelate. *J Bone Miner Res* 2008; 23:215-22.
9. Rizzoli R, Laroche M, Krieg MA, et al. Strontium ranelate and alendronate have differing effects on distal tibia bone microstructure in women with osteoporosis. *Rheumatol Int* 2010; 30:1341-8.
10. Li CH, Paris O, Siegel S, et al. Strontium is incorporated into mineral crystals only in newly formed bone during strontium ranelate treatment. *J Bone Miner Res* 2010; 25:968-75.
11. Boivin G, Farlay D, Khebbab MT, Jaurand X, Delmas PD, Meunier PJ. In osteoporotic women treated with strontium ranelate, strontium is located in bone formed during treatment with a maintained degree of mineralization. *Osteoporos Int* 2010; 21:667-77.
12. Moise H, Adachi JD, Chettle DR, Pejović-Milić A. Monitoring bone strontium levels of an osteoporotic subject due to self-administration of strontium citrate with a novel diagnostic tool, in vivo XRF: a case study. *Bone* 2012; 51:93-7.
13. Pors Nielsen S, Slosman D, Sorensen OH, et al. Influence of strontium on bone mineral density and bone mineral content measurements by



- dual-X-ray absorptiometry. *J Clin Densit* 1999; 2:371-9.
14. Malaise O, Bruyère O, Reginster JY. Strontium ranelate normalizes bone mineral density in osteopenic patients. *Aging Clin Exp Res* 2007; 19:330-3.
 15. Middleton ET, Steel SA, Aye M, Doherty SM. The effect of prior bisphosphonate therapy on the subsequent therapeutic effects of strontium ranelate over 2 years. *Osteoporos Int* 2012; 23:295-303.
 16. Sánchez JA. Normalization of bone mineral density after five years of treatment with strontium ranelate. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2015; 12:251-2.
 17. Chiarpello J, Sánchez A. Ranelato de estroncio para tratar la osteoporosis: ¿a partir de qué edad? Dos casos clínicos. *Rev Med Rosario* 2009; 75:60-4.
 18. Sánchez A. Adolescente osteopénico tratado con carbonato de estroncio. *Actual Osteol* 2012; 8:183-4.
 19. Tanriover MD, Gul Oz S, Sozen T, Kilicarslan A, Guven GS. Pregnancy- and lactation-associated osteoporosis with severe vertebral deformities: Can strontium ranelate be a new alternative for the treatment? *Spine J* 2009; 9:e20-4.
 20. Sánchez A, Salerni H. Retardo de consolidación de fracturas. *Actual Osteol* 2015; 11:47-56.
 21. Sánchez A, Brun LR, Salerni H, et al. Evaluación de la respuesta densitométrica en pacientes con osteoporosis posmenopáusica tratadas con ranelato de estroncio o denosumab (resumen). *Actual Osteol* 2015; 11(Supl 1):64-5.
 22. Bolland MJ, Grey A. A comparison of adverse event and fracture efficacy data for strontium ranelate in regulatory documents and the publication record. *BMJ Open* 2014; 4:e005787.
 23. Reginster JY, Brandi ML, Cannata-Andía J, et al. The position of strontium ranelate in today's management of osteoporosis. *Osteoporos Int* 2015; 26:1667-71.

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

β-ARRESTIN/CONNEXIN 43 (Cx43) COMPLEX ANCHORS ERKS OUTSIDE THE NUCLEUS: A PRE-REQUISITE FOR BISPHOSPHONATE ANTI-APOPTOTIC EFFECT MEDIATED BY Cx43/ERK IN OSTEOCYTES

Lilian I. Plotkin,^{1,3*} Arancha R. Gortazar,^{1#} Teresita Bellido^{1,2,3}

1. Department of Anatomy and Cell Biology, 2. Department of Medicine, Division of Endocrinology, Indiana University School of Medicine, and 3. Roudebush Veterans Administration Medical Center, Indianapolis, IN.

Abstract

Bisphosphonates (BPs) anti-fracture efficacy may be due in part to inhibition of osteocyte apoptosis. This effect requires opening of connexin (Cx) 43 hemichannels and phosphorylation of the extracellular signal regulated kinases (ERKs). However, unlike ERK activation by other stimuli, the Cx43/ERK pathway activated by BPs does not result in nuclear ERK accumulation. Instead, the anti-apoptotic effect of BPs depends on phosphorylation of cytoplasmic ERK targets and is abolished by forced nuclear retention of ERKs. We now report that ERKs and the scaffolding protein β-arrestin co-immuno-precipitate with Cx43 in MLO-Y4 osteocytic cells and that the BP alendronate increases this association. Moreover, ERK2 fused to red fluorescent protein (ERK2-RFP) co-localizes with Cx43 fused to green fluorescent protein outside the nucleus in cells untreated or treated with alendronate. Alendronate does not induce ERK nuclear accumulation in cells transfected with wild type β-arrestin (wtARR) or vector control, whereas it does in cells expressing a dominant negative β-arrestin mutant (dnARR) consisting of the β-arrestin-clathrin binding domain that competes with endogenous β-arrestin for binding to

clathrin. Alendronate activates ERKs in dnARR-transfected cells as effectively as in cells transfected with wtARR, demonstrating that dnARR only interferes with subcellular localization but not with activation of ERKs by BPs. Further, whereas alendronate inhibits apoptosis in cells expressing wtARR or vector control, it is ineffective in cells expressing dnARR. Thus, BPs induce the formation of a complex comprising Cx43, β-arrestin, and clathrin, which directs ERKs outside the nucleus and is indispensable for osteocyte survival induced by BPs.

Key words: osteocyte, bisphosphonate, beta-arrestin, apoptosis

Resumen

EL COMPLEJO β-ARRESTINA/CONEXINA 43 (Cx43) RETIENE ERKS FUERA DEL NÚCLEO: UN PASO NECESARIO PARA EL EFECTO ANTI-APOPTÓTICO DE LOS BISFOSFONATOS MEDIADO POR Cx43/ERK EN OSTEOCITOS

La efectividad de los bisfosfonatos (BPs) en la prevención de fracturas puede deberse en parte a la inhibición de la apoptosis de osteocitos. Este efecto depende de la apertura de hemicanales de conexina (Cx) 43 y la fosforilación

* Correo electrónico: lplotkin@iupui.edu # Current address: IMMA Facultad de Medicina, Universidad San Pablo CEU, 28868 Boadilla del Monte, Madrid, Spain



de quinasas reguladas por señales extracelulares (ERKs). Sin embargo, a diferencia de la activación de ERKs debida a otros estímulos, la vía de señalización Cx43/ERK activada por BPs no conlleva la acumulación de ERKs en el núcleo. El efecto anti-apoptótico de los BPs depende de la fosforilación de blancos citoplasmáticos de ERKs y es inhibido cuando las quinasas son retenidas en el núcleo. En este estudio hemos demostrado que ERKs y la proteína “scaffolding” β -arrestina co-inmunoprecipitan con Cx43 en células osteocíticas MLO-Y4 y que alendronato aumenta esta asociación. Más aún, ERK2 fusionada a la proteína roja fluorescente (ERK2-RFP) co-localiza con Cx43 fusionada con la proteína verde fluorescente fuera del núcleo en células tratadas con vehículo o alendronato. Alendronato no indujo la acumulación nuclear de ERK en células transfectadas con β -arrestina nativa (wtARR) o con un vector control, pero si lo hizo en células que expresan una forma dominante negativa de β -arrestina (dnARR), consistente en el dominio de interacción entre β -arrestina y clatrina, y que compete con β -arrestina endógena por la unión a clatrina. Alendronato activa ERKs con la misma eficiencia en células transfectadas con dnARR o wtARR, demostrando que dnARR sólo interfiere con la localización subcelular de ERKs, pero no con su activación inducida por los BPs. Más aún, mientras alendronato inhibe apoptosis en células que expresan wtARR o vector control, es inefectivo en células que expresan dnARR. En conclusión, los BPs inducen la formación de un complejo que incluye Cx43, β -arrestina y clatrina, el cual retiene ERKs fuera del núcleo y es indispensable para la supervivencia de los osteocitos inducida por estas drogas.

Palabras clave: osteocito, bifosfonatos, β -arrestina, apoptosis

Introduction

Bisphosphonates (BPs) are drugs used to preserve bone mass due to their inhibitory effects on osteoclast function, and therefore, act as anti-resorptive agents.¹ Reduced

osteoclast viability induced by BPs occurs as a consequence of the inhibition of the mevalonate pathway, or to formation of toxic intracellular metabolites. However, the efficacy of BPs on the prevention of bone fractures cannot be explained completely by their effect on bone resorption. We and others have shown that bisphosphonates prevent osteoblast and osteocyte apoptosis induced by the glucocorticoid dexamethasone, the topoisomerase inhibitor etoposide, and the cytokine tumor necrosis alpha *in vitro*, and induced by glucocorticoid excess and by lack or excessive mechanical forces *in vivo*,^{2,3} raising the possibility that preservation of the osteocyte network might contribute to the beneficial effects of BPs on the skeleton.⁴ The mechanism for the survival effect of these agents on osteoblastic cells differs from the one by which BPs inhibit the function of osteoclasts. Thus, the concentration required for the effect of BPs on osteoblastic cells is several orders of magnitude lower than the one required to induce osteoclast apoptosis. Further, the anti-apoptotic effect of BPs on osteoblastic cells can be dissociated from the effect of the drugs on osteoclast using BP analogs. In particular, IG9402, a BP that does not inhibit the mevalonate pathway or affect osteoclast viability *in vitro*,^{5,6} does not affect bone remodeling but was as effective as alendronate in activating ERKs and preventing osteoblast and osteocyte apoptosis and the decrease in bone mass and strength induced by glucocorticoids.⁶ Furthermore, IG9402 is able to prevent osteocyte apoptosis and partially preserve bone strength, without affecting bone resorption in mice unloaded by tail suspension.³

The role of connexin channels in bone cells, and in particular in osteoblasts and osteocytes, have been extensively studied, both *in vitro* and *in vivo*.⁷⁻¹² Cx43 is required for osteoblast and osteoclast differentiation, and for the viability of osteocytes.¹³⁻¹⁵ Further, Cx43 can regulate the expression of genes

required for osteoblast differentiation directly in osteoblast altering the levels of Runx2 and osteocalcin,^{13,14,16} or through the regulation of genes that control osteoblast differentiation in osteocytes, such as Sost/sclerostin.^{17,18} In addition, Cx43 regulates the expression of cytokines required for osteoclast differentiation in osteoblastic cells, and Cx43 deletion results in increased expression of the pro-osteoclastogenic cytokine receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) and in decreased expression of the anti-osteoclastogenic cytokine osteoprotegerin (OPG), resulting in a cytokine ratio that favors osteoclast differentiation.¹⁷⁻¹⁹ Furthermore, Cx43 channels are required for osteoclast differentiation,^{20,21} and deletion of Cx43 from osteoclast progenitors inhibit their differentiation *in vivo*.²²

Previous evidence demonstrated that inhibition of osteocyte apoptosis by BPs is mediated via a novel paradigm of signal transduction involving connexin (Cx) 43 hemichannels and the subsequent activation of ERKs.²³ In addition, we found that unlike other ERK activators such as estradiol, BPs do not cause nuclear accumulation of ERKs.²⁴ And, moreover, forced nuclear retention of the kinases abolishes the survival effect of BPs. However, the mechanism of the extra-nuclear retention of ERKs remained heretofore unknown.

β -arrestins are scaffolding proteins that bind to seven-transmembrane G protein-coupled receptors and to clathrin.²⁵ This interaction results in receptor internalization leading to recycling of the receptor to the cell surface or to its degradation, and the desensitization of the cell to the action of the receptor ligand. This mechanism modulates the actions of hormones, cytokines, and pharmacological agents, including parathyroid hormone, calcitonin, hepatocyte growth factor, and agonists of the β 2-adrenergic receptors. More recent evidence indicate that β -arrestins also act as scaffolds for intracellular

signaling kinases, interacting with Src and ERKs, resulting in extra-nuclear retention the kinases. Furthermore, we have shown that the interaction of Cx43 with β -arrestin is required for cAMP-mediated gene transcription and the anti-apoptotic effect of parathyroid hormone in osteoblastic cells.²⁶

Based on the absolute requirement of Cx43 for the anti-apoptotic effect of BPs,^{23,27} we hypothesized that ERKs activated by BPs are retained outside the nucleus by forming a complex with Cx43 and associated scaffolding proteins. In this study we examined whether β -arrestins associate with Cx43 and whether this complex is involved in the anti-apoptotic effect of BPs mediated by ERKs.

Materials and Methods

Cell culture

MLO-Y4 osteocytic cells derived from murine long bones were cultured as previously described.^{4,28} Cells were maintained in α -MEM medium containing L-glutamine and 1 % v/v penicillin/streptomycin (Gibco), 10 % heat inactivated fetal bovine serum (Hyclone).

DNA constructs and transient transfection

The constructs encoding the nuclear green fluorescent protein (nGFP) or the nuclear red fluorescent protein (nRFP) were previously described.^{4,29} Cx43-GFP was provided by D. Laird (University of Western Ontario, London, Ontario, Canada).³⁰ Wild-type mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (MEK) was provided by N. G. Ahn (University of Colorado, Boulder, CO).³¹ ERK-RFP was provided by L. Luttrell (Medical University of South Carolina, Charleston, SC).³² Wild type β -arrestin and β -arrestin³¹⁹⁻⁴¹⁸ (dnARR) constructs were provided by K. DeFea (University of California, Riverside, CA).³³ These constructs have been shown to be normally expressed at the protein and mRNA levels. Cells were transiently transfected using Lipofectamine Plus (Invitrogen) as previously described.²³



The efficiency of transfection was ~70%, as determined by quantifying cells expressing or not the fluorescent proteins under a fluorescence microscope.

Quantification of apoptotic cells

Apoptosis was induced in semi-confluent cultures (less than 75% confluence). Cells were treated with vehicle or 10^{-7} M alendronate for 1 h, followed by treatment with 50 μ M etoposide for 6 h, as previously reported.²³ The concentration of alendronate and etoposide were chosen based on previous studies showing a maximum effect for both agents in MLO-Y4 osteocytic cells. Apoptosis was assessed by enumerating MLO-Y4 cells expressing nRFP exhibiting chromatin condensation and nuclear fragmentation under a fluorescence microscope. At least 250 cells from fields selected by systematic random sampling for each experimental condition were examined. The percentage of apoptosis was calculated using the formula $(\% DC_{e+s} - \% DC_v) / (\% DC_e - \% DC_v) \times 100$, where DC = dead cells, e = etoposide-treated cultures, s = alendronate- or 17β estradiol-treated cultures and v = vehicle-treated cultures, as previously published.^{23,29}

Sub-cellular localization of ERK

MLO-Y4 cells were transiently transfected with ERK2-RFP to allow the visualization of ERK and wild type MEK to anchor inactive ERK2 in the cytoplasm. Following transfection, cells were cultured in growth medium for 40 h, followed by incubation with α -MEM containing 10^{-7} M alendronate or 10^{-7} M 17β -estradiol for 30 min. The percentage of cells showing nuclear accumulation of ERK2-RFP was quantified by enumerating cells exhibiting increased RFP in the nucleus compared to the cytoplasm, using a fluorescence microscope. At least 250 cells from fields selected by systematic random sampling were examined for each experimental condition.

Western Blot analysis and immunoprecipitation

Western blots were performed using a rabbit anti-Cx43 antibody (Sigma, St. Louis, MO), rabbit anti-ERK, goat anti- β -arrestin1, and mouse anti-GFP antibodies (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA), following published protocols.^{23,26} The intensity of the bands was quantified using the Fotodyne system (Hartland, WI). Each plate was lysed with 0.1 ml of RIPA buffer (150 mM NaCl, 1.0% IGEPAL® CA-630, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 50 mM Tris, pH 8.0, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) supplemented with phosphatase inhibitors (sodium fluoride, sodium orthovanadate) and protease inhibitors (leupeptin, aprotinin). Immunoprecipitation was performed using 600 μ g of extracts and 2 μ g of anti-Cx43 (Sigma), overnight at 4°C. Complexes were collected with 50 μ l of 25% slurry of protein-G agarose beads (Santa Cruz Biotechnology).

Statistical analysis

Data were analyzed by one-way ANOVA, and the Student-Newman-Keuls method was used to estimate the level of significance of differences between means.

Results

First, we examined whether ERKs and Cx43 exhibit the same sub-cellular localization. For this, MLO-Y4 osteocytic cells were transfected with Cx43 fused to GFP together with ERK2 fused to RFP (Figure 1A). The localization of the molecules was visualized under a fluorescence microscope. Cx43 was found in discrete areas outside the nucleus in un-stimulated cells. This distribution did not change upon treatment with alendronate or 17β -estradiol. ERK2-RFP localized outside the nucleus in vehicle as well as alendronate-treated cells. Therefore, the merge images show that ERK2-RFP co-localizes with Cx43-GFP outside the nucleus in both untreated and alendronate-treated cells. On the other hand, ERK2-RFP localized

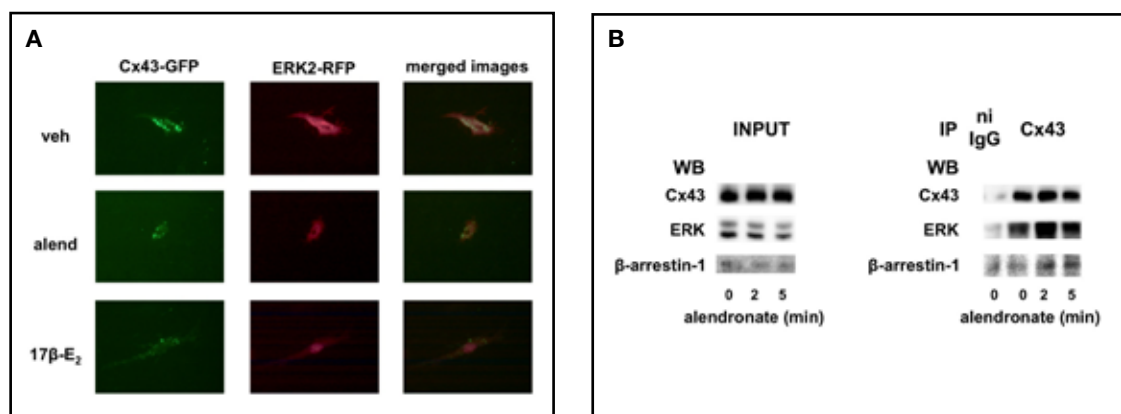


Figure 1. Cx43 interacts with β -arrestin and ERKs in the cytoplasm of MLO-Y4 osteocytic cells, an interaction that is rapidly enhanced by alendronate treatment. (A) MLO-Y4 cells were transiently transfected with the indicated constructs and treated with 10^{-7} M alendronate or 17β -estradiol for 2 minutes. Cells were fixed and observed under a fluorescence microscope. (B) Cells were treated with alendronate for the indicated times, and Cx43 was immuno-precipitated as indicated in the methods section. Western blot analysis was performed with the whole lysates (input) or with protein extracts after immunoprecipitation with non-immune (ni) IgG as control or with anti-Cx43 antibodies. Western blot (WB) analysis was performed using the indicated antibodies.

in the nucleus in 17β -estradiol-treated cells. These results raised the possibility that ERKs interact with Cx43 in the presence of BPs. Western blot analysis showed that alendronate treatment for 2 or 5 min did not affect the total amount of ERK, β -arrestin-1 or Cx43 present in MLO-Y4 cell lysates (Figure 1B). In addition, we found that ERKs and β -arrestin-1 co-immunoprecipitated with Cx43 in the absence of BP and the association among these proteins was increased in the presence of alendronate.

We then determine the participation of β -arrestin in the anti-apoptotic effect of BPs. For this experiments, we used etoposide as pro-apoptotic agents since we have extensively used it and consistently increase apoptosis of MLO-Y4 osteocytic cells.^{4,5,23,24} We transiently transfected MLO-Y4 osteocytic cells with 2 different constructs, wild type or dominant negative β -arrestin, both tagged with GFP (Figure 2). In addition, cells were transfected with GFP as vector control. The

wild type β -arrestin construct renders a protein of 75 kD, which localizes in the cytoplasm, with no detectable localization at the plasma membrane (Figure 2A). GFP-tagged dnARR consists of aminoacids 319-418 and renders a protein of 40 kD, with a punctuate distribution throughout the cell which resembles the distribution of clathrin. This mutant comprises only the clathrin binding domain of β -arrestin and act as a dominant negative by competing with endogenous β -arrestin for binding to clathrin. Both wild type and dominant negative β -arrestin were expressed at similar levels, as determined by Western blotting using anti-green fluorescent protein antibodies.

Overexpression of β -arrestin-1 constructs did not interfere with alendronate-induced ERK activation. Thus, 2-min treatment with alendronate induced similar increases in ERK phosphorylation in un-transfected cells than in cells expressing wild type or dominant negative β -arrestin (Figure 2B). As shown before,²⁴

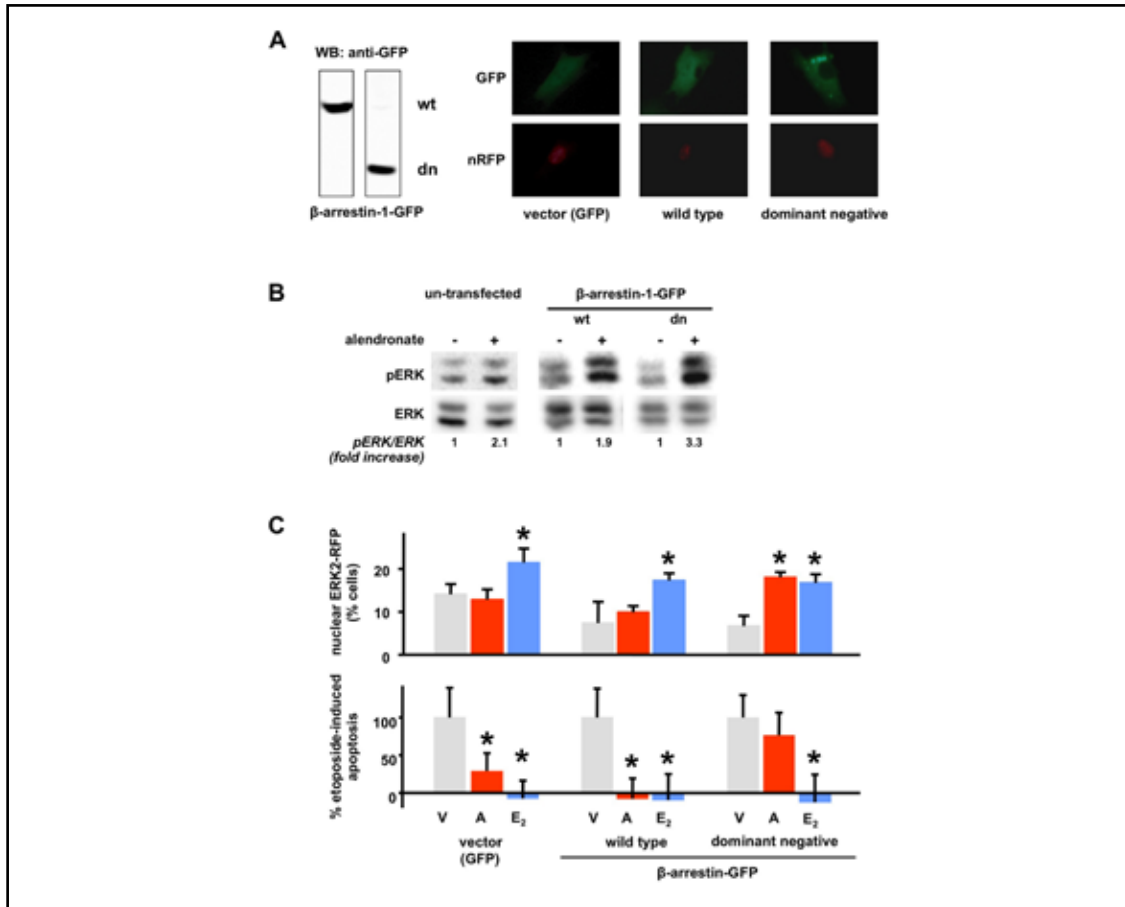


Figure 2. Blockade of endogenous β -arrestin interaction with clathrin using a dominant negative β -arrestin abolishes ERK extra-nuclear retention and anti-apoptosis induced by BPs. (A) MLO-Y4 osteocytic cells were transiently transfected with GFP (vector control), or GFP-tagged wild type β -arrestin (wt) or the dominant negative truncated molecule (dn) together with RFP targeted to the nucleus (nRFP). Forty-eight hours after transfection cells were either treated to obtain proteins lysates or fixed. Protein lysates were analyzed by Western blotting using an anti-GFP antibody. Fixed cells were observed under fluorescence microscope. (B) MLO-Y4 osteocytic cells were left un-transfected or transfected with wt or dn β -arrestin-1-GFP. Forty eight hours after transfection, cells were treated with vehicle or 10^{-7} M alendronate for 2 minutes and protein lysates were prepared. The levels of phosphorylate ERKs (pERKs) were analyzed by Western blotting using specific antibodies and corrected by the level of total ERKs. (C) MLO-Y4 osteocytic cells were transiently transfected with the indicated constructs together with nRFP. Forty eight hours later, cells were treated with vehicle, 10^{-7} M alendronate or 17β -estradiol for 2 minutes, or treated with the reagents for 30 min, followed by a 6-h treatment with the pro-apoptotic agent etoposide ($50 \mu\text{M}$). Subsequently, cells were fixed and scored under a fluorescence microscope.

alendronate did not induce ERK nuclear accumulation in cells transfected with GFP, whereas 17β -estradiol increase the percentage of cells exhibiting nuclear accumulation of the

kinase (Figure 2C). Similarly, alendronate did not induce nuclear accumulation of ERKs in cells expressing wild type β -arrestin, whereas it did increase nuclear accumulation

of ERKs in cells expressing the dominant negative construct. In contrast, neither wild type nor dominant negative β -arrestin altered 17β -estradiol-induced nuclear ERK accumulation. Consistent with the requirement of extra-nuclear localization of ERKs for the survival effect of BPs, alendronate did not inhibit apoptosis induced by etoposide in cells expressing the dnARR mutant, whereas it prevented apoptosis in cells expressing GFP or wild type β -arrestin. The anti-apoptotic effect of 17β -estradiol was not affected by either dominant negative or wild type β -arrestin. Taken together, these results indicate the specificity of the cross-talk between β -arrestin and the Cx43/ERK pathway.

Discussion

The studies reported herein demonstrate that Cx43 co-localizes with ERKs outside the nucleus in untreated cells or in cells treated with alendronate; and that alendronate induces the association of Cx43 with β -arrestin-1 and ERKs (Figure 3). Furthermore, inhibition of the association of β -arrestin with clathrin prevents alendronate-induced extra-nuclear localization of ERKs and anti-apoptosis. On the other hand, wild type or dominant negative β -arrestin-1 did not affect ERK sub-cellular localization or anti-apoptosis induced by 17β -estradiol, adding further evidence for the distinct mechanism of action of the two types of anti-resorptive drugs in osteocytic cells.

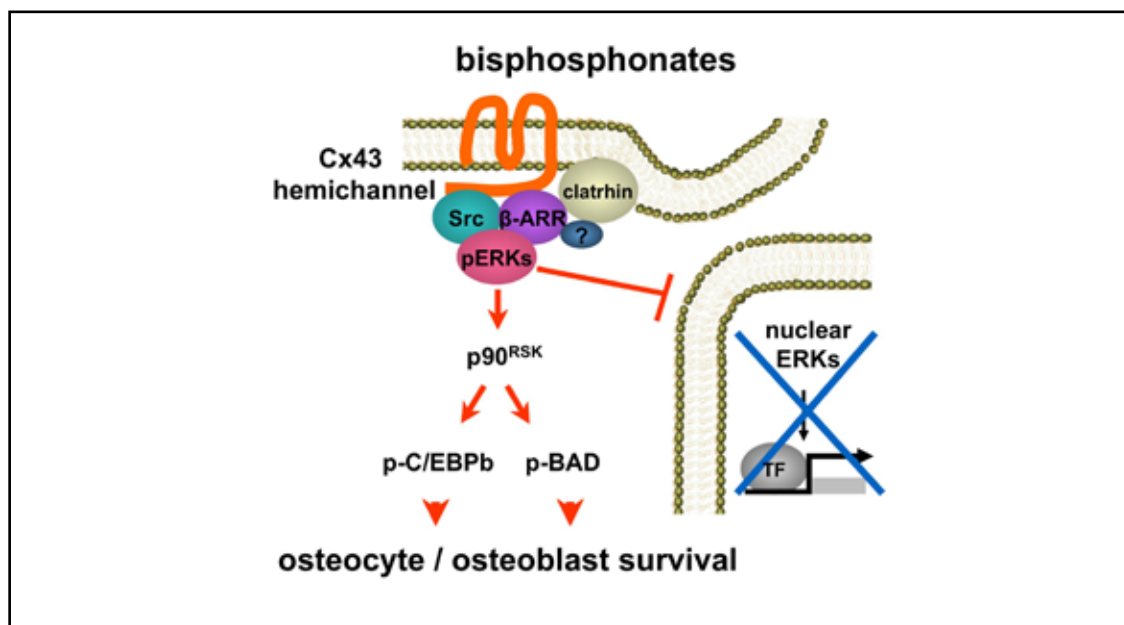


Figure 3. Working model. β -arrestin forms a complex with Cx43 and clathrin that also encompass Src, which retains ERKs activated by BPs outside the nucleus. This complex favors the activation of the cytoplasmic target of ERKs p90^{RSK}, and the phosphorylation of C/EBP β and BAD, resulting in osteocyte (and osteoblast) survival.

BPs are widely used for the treatment of conditions associated with low bone mass.¹ Their beneficial effects are a consequence of the reduction in bone resorption due to

inhibition of osteoclast function. In addition, BPs prevent osteocyte and osteoblast apoptosis, an effect that can contribute to the anti-fracture efficacy of these drugs.² Indeed,



administration of a BP analog that does affect osteoclasts but prevents osteocyte and osteoblast apoptosis is able to prevent the decrease in bone mass and strength induced by glucocorticoid excess in mice.^{5,6,34} As the classical BPs, this novel analog requires the expression of Cx43 to prevent osteocyte and osteoblast apoptosis.⁵ Even though receptors for BPs have not been described, these agents bind to the cell surface in a specific and saturable manner.³⁵ However, the binding is independent of the expression of Cx43, indicating that another molecule binds to BPs, leading to opening of Cx43 hemichannels, and the activation the Src/MEK/ERK signaling pathway, followed by the phosphorylation of cytoplasmic targets of the kinases and cell survival. This survival signaling pathway mediated by kinases does not required new gene transcription.²⁴ This contrasts with the anti-apoptotic effect of sex steroids, which also requires Src/MEK/ERK activation, but is abolished when ERKs are retained in the cytoplasm or when new gene transcription is inhibited.^{24,36} We now show that retention of ERKs in the cytoplasm and osteocyte survival induced by BPs requires the association among Cx43, β -arrestin and clathrin.

We have previously reported that the association between Cx43 and β -arrestin is required for the survival effect of PTH in osteoblastic cells.²⁶ However, the anti-apoptotic effect of PTH does not require ERK activation and, instead, it is mediated by new gene transcription downstream of cAMP activation.³⁷ In this context, Cx43 sequesters β -arrestin, preventing its binding to the PTH receptor and, therefore, the inhibition of PTH-induced, cAMP-mediate gene transcription.²⁶ Thus, β -arrestin contributes to osteocyte and osteoblast survival by at least two different means: by allowing the activation of the cAMP/PKA pathway in the presence of PTH, and by retaining ERK activated by BPs in the cytoplasm, without affecting the activation of the kinase. These actions of β -arrestins

in osteoblastic cells add to the discoveries on the novel actions of β -arrestins, not only as molecules involved in desensitization of G protein-coupled receptors and their internalization, but also as scaffolds for intracellular kinases and targets of novel agonists.²⁵ These agonists that can activate arrestin-selective signaling downstream of the seven-transmembrane receptors, without activating G-protein-mediated signaling are named "biased agonists". Taken together, these pieces of evidence suggest that BPs can be considered a new class of biased β -arrestin agonist, although the identity of the receptor activated by these agents remains to be determined.

In conclusion, our study adds to the functions of Cx43 as a scaffolding molecule that binds intracellular structural and signaling molecules. Based on the evidence presented here and our previous studies,^{23,24} we proposed that, through its C-terminus domain, Cx43 binds to β -arrestin and forms a complex with clathrin, Src and MEK, leading to activation of ERKs and their retention in the cytoplasm (Figure 3). This signaling cascade leads to the activation of p90^{RSK} and the phosphorylation of C/EBP β and Bad. Phosphorylated C/EBP β binds and blocks active caspase3, whereas phosphorylated Bad is inactive, resulting in anti-apoptotic signaling and osteoblast/osteocyte survival.

Acknowledgements

This research was supported by grants from the National Institutes of Health R01-AR053643 and R01-AR067210 to LIP and R01-AR059357, R01-DK076007, and S10-RR023710 to TB; and from the Veteran's Administration Merit Review 1 I01 BX002104-01 to TB.

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

Recibido: noviembre 2015.

Aceptado: febrero 2016.

References

1. Russell RG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int* 2008; 19:733-59.
2. Bellido T, Plotkin LI. Novel actions of bisphosphonates in bone: Preservation of osteoblast and osteocyte viability. *Bone* 2011; 49:50-5.
3. Plotkin LI, de Gortazar AR, Davis HM, et al. Inhibition of osteocyte apoptosis prevents the increase in osteocytic RANKL but it does not stop bone resorption or the loss of bone induced by unloading. *J Biol Chem* 2015; 290:18934-42.
4. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest* 1999; 104:1363-74.
5. Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Dissociation of the pro-apoptotic effects of bisphosphonates on osteoclasts from their anti-apoptotic effects on osteoblasts/osteocytes with novel analogs. *Bone* 2006; 39:443-52.
6. Plotkin LI, Bivi N, Bellido T. A bisphosphonate that does not affect osteoclasts prevents osteoblast and osteocyte apoptosis and the loss of bone strength induced by glucocorticoids in mice. *Bone* 2011; 49:122-7.
7. Plotkin LI, Speacht TL, Donahue HJ. Cx43 and mechanotransduction in bone. *Curr Osteoporos Rep* 2015; 13:67-72.
8. Plotkin LI, Bellido T. Beyond gap junctions: Connexin43 and bone cell signaling. *Bone* 2013; 52:157-66.
9. Buo AM, Stains JP. Gap junctional regulation of signal transduction in bone cells. *FEBS Lett* 2014.
10. Stains JP, Watkins MP, Grimston SK, Hebert C, Civitelli R. Molecular mechanisms of osteoblast/osteocyte regulation by connexin43. *Calcif Tissue Int* 2014; 94:55-67.
11. Civitelli R. Cell-cell communication in the osteoblast/osteocyte lineage. *Arch Biochem Biophys* 2008; 473:188-92.
12. Lloyd SA, Loiselle AE, Zhang Y, Donahue HJ. Shifting paradigms on the role of connexin43 in the skeletal response to mechanical load. *J Bone Miner Res* 2014; 29:275-86.
13. Lecanda F, Towler DA, Ziambaras K, et al. Gap junctional communication modulates gene expression in osteoblastic cells. *Mol Biol Cell* 1998; 9:2249-58.
14. Lecanda F, Warlow PM, Sheikh S, Furlan F, Steinberg TH, Civitelli R. Connexin43 deficiency causes delayed ossification, craniofacial abnormalities, and osteoblast dysfunction. *J Cell Biol* 2000; 151:931-44.
15. Chung D, Castro CH, Watkins M, et al. Low peak bone mass and attenuated anabolic response to parathyroid hormone in mice with an osteoblast-specific deletion of connexin43. *J Cell Sci* 2006; 119:4187-98.
16. Stains JP, Lecanda F, Screen J, Towler DA, Civitelli R. Gap junctional communication modulates gene transcription by altering the recruitment of Sp1 and Sp3 to connexin - response elements in osteoblast promoters. *J Biol Chem* 2003; 278:24377-87.
17. Bivi N, Condon KW, Allen MR, et al. Cell autonomous requirement of connexin 43 for osteocyte survival: consequences for endocortical resorption and periosteal bone formation. *J Bone Min Res* 2012; 27:374-89.
18. Watkins M, Grimston SK, Norris JY, et al. Osteoblast Connexin43 modulates skeletal architecture by regulating both arms of bone remodeling. *Mol Biol Cell* 2011; 22:1240-51.
19. Zhang Y, Paul EM, Sathyendra V, et al. Enhanced osteoclastic resorption and responsiveness to mechanical load in gap junction deficient bone. *PLoS ONE* 2011; 6:e23516.
20. Ilvesaro J, Tavi P, Tuukkanen J. Connexin-mimetic peptide Gap 27 decreases osteoclastic activity. *BMC Musculoskelet Disord* 2001; 2:10.
21. Schilling AF, Filke S, Lange T, et al. Gap junctional communication in human osteoclasts in vitro and in vivo. *J Cell Mol Med* 2008; 12:2497-504.
22. Sternlieb M, Paul E, Donahue HJ, Zhang Y. Ablation of connexin 43 in osteoclasts leads



- to decreased in vivo osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res* 2012; 27(Suppl 1):S53.
23. Plotkin LI, Manolagas SC, Bellido T. Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels. *J Biol Chem* 2002; 277:8648-57.
 24. Plotkin LI, Aguirre JI, Kousteni S, Manolagas SC, Bellido T. Bisphosphonates and estrogens inhibit osteocyte apoptosis via distinct molecular mechanisms downstream of ERK activation. *J Biol Chem* 2005; 280:7317-25.
 25. Luttrell LM, Gesty-Palmer D. Beyond desensitization: physiological relevance of arrestin-dependent signaling. *Pharmacol Rev* 2010; 62:305-30.
 26. Bivi N, Lezcano V, Romanello M, Bellido T, Plotkin LI. Connexin43 interacts with barrestin: a pre-requisite for osteoblast survival induced by parathyroid hormone. *J Cell Biochem* 2011; 112:2920-30.
 27. Plotkin LI, Lezcano V, Thostenson J, Weinstein RS, Manolagas SC, Bellido T. Connexin 43 is required for the anti-apoptotic effect of bisphosphonates on osteocytes and osteoblasts in vivo. *J Bone Miner Res* 2008; 23:1712-21.
 28. Kato Y, Boskey A, Spevak L, Dallas M, Hori M, Bonewald LF. Establishment of an osteoid preosteocyte-like cell MLO-A5 that spontaneously mineralizes in culture. *J Bone Miner Res* 2001; 16:1622-33.
 29. Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, et al. Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell* 2001; 104:719-30.
 30. Roscoe W, Veitch GI, Gong XQ, et al. Oculodentodigital dysplasia-causing connexin43 mutants are non-functional and exhibit dominant effects on wild-type connexin43. *J Biol Chem* 2005; 280:11458-66.
 31. Mansour SJ, Matten WT, Hermann AS, et al. Transformation of mammalian cells by constitutively active MAP kinase kinase. *Science* 1994; 265:966-70.
 32. Luttrell LM, Roudabush FL, Choy EW, et al. Activation and targeting of extracellular signal-regulated kinases by beta-arrestin scaffolds. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:2449-54.
 33. DeFea KA, Zalevsky J, Thoma MS, Dery O, Mullins RD, Bunnett NW. Beta-arrestin-dependent endocytosis of proteinase-activated receptor 2 is required for intracellular targeting of activated ERK1/2. *J Cell Biol* 2000; 148:1267-81.
 34. Brown RJ, Van Beek E, Watts DJ, Lowik CW, Papapoulos SE. Differential effects of amino-substituted analogs of hydroxy bisphosphonates on the growth of *Dictyostelium discoideum*. *J Bone Min Res* 1998; 13:253-8.
 35. Lezcano V, Bellido T, Plotkin LI, Boland R, Morelli S. Osteoblastic protein tyrosine phosphatases inhibition and connexin 43 phosphorylation by alendronate. *Exp Cell Res* 2014; 324:30-9.
 36. Chen JR, Plotkin LI, Aguirre JI, et al. Transient versus sustained phosphorylation and nuclear accumulation of ERKs underlie anti- versus pro-apoptotic effects of estrogens. *J Biol Chem* 2005; 280:4632-8.
 37. Bellido T, Ali AA, Plotkin LI, et al. Proteasomal degradation of Runx2 shortens parathyroid hormone-induced anti-apoptotic signaling in osteoblasts. A putative explanation for why intermittent administration is needed for bone anabolism. *J Biol Chem* 2003; 278:50259-72.

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

MORPHOLOGICAL FEATURES OF HEALING OF EXPERIMENTAL DEFECT OF LONG BONES DIAPHYSIS UNDER THE CONDITIONS OF IMPLANTATION OF BIPHASIC OSTEOPLASTIC MATERIAL

Alexsey Korenkov

Sumy State University, Department of Human Anatomy 2, Rymskogo-Korsakova st., Sumy, 40007, Ukraine.

Abstrat

Purpose: to study the healing process of a defect of the compact bone tissue after the implantation of osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL». Methods: the experiment was conducted on 24 Wistar rats. In the middle third of the diaphysis of the femur we created a perforated defect of 2.5 mm diameter in the medullary canal, which was filled with osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL». Fragments of the injured bones were studied on the 60th and 120th days by light microscopy with morphometry and scanning electron microscopy. Results: it was found that in the area of the defect of the compact bone tissue «easy-graft CRYSTAL» shows high biocompatibility, osteoconductive properties and provides stability to the volume of the defect due to good integration with the bone tissue of regenerate and absence of signs of resorption of osteoplastic material throughout the period of experiment.

Key words: rats, bone, hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate, reparative osteogenesis.

Resumen

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PROCESO DE REPARACIÓN DE UN DEFECTO EXPERIMENTAL EN DIÁFISIS DE HUESOS LARGOS POSTIMPLANTACIÓN DE MATERIAL BIFÁSICO OSTEOPLÁSTICO

Objetivo: estudiar el proceso de reparación de un defecto del tejido óseo compacto después de la implantación de material osteoplástico (easy-graft CRYSTAL). Métodos: el experimento se realizó en 24 ratas Wistar. Se realizó en el tercio medio de la diáfisis del fémur un defecto de 2,5 mm de diámetro en el canal medular que se rellenó de material de osteoplástico (easy-graft CRYSTAL). Los huesos lesionados fueron estudiados en los días 60^a y 120^a mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido. Resultados: se encontró que en la zona del defecto del tejido óseo compacto el injerto mostró alta biocompatibilidad y propiedades osteoconductoras y proporcionó estabilidad al volumen del defecto debido a la buena integración con

* e-mail address: korenkov-alexsey@mail.ru



el tejido óseo y ausencia de signos de resorción de material osteoplástico durante todo el período experimental.

Palabras clave: ratas, hueso, hidroxipatita, fosfato tricálcico, reparación.

Introduction

One of the most important problems that orthopaedic physicians face in their practice is bone defects regeneration. The high frequency of occurrence of bone defects dictate the need to find tools that would ensure their full recovery. Transplantation of bone tissue, which is used to treat this condition has a long history and has achieved a considerable success. However, despite this, the used auto- and xenografts still have serious drawbacks. Thus, xenogeneic material has strong antigenic activity, and the restructuring process is much slower compared to other osteoplastic materials. In addition, when bone tissue of animal origins are used, there is a risk of transmission of infectious diseases. In turn, the use of bone autografts is greatly limited in the medical practice because of the additional injuries, failure to use them in case of large bone defects, prolongation of operation time, the possibility of complications (fractures in the donor site, nerve damage, cosmetic defects, and prolapse of bone defects), the rejection of the implant and preservation of the autogenous plastic material. As a result, in recent years there has been a growing interest in calcium phosphate osteoplastic materials to replace bone tissue in the clinical practice. The similarity of their chemical structure with that of bone tissue and inertness to biological tissues makes possible to widely use them to replace the lost bone tissue.¹ In addition, synthetic nature of calcium phosphate material guarantees safety, preventing the risk of infection, and clinical trials consistently demonstrate the exceptional biocompatibility of the materials.²

It is known that tricalcium phosphate and hydroxyapatite, which have different resorption

in the area of implantation, are most commonly used to replace bone defects.³ Physicians take into consideration this ability when using implants in each clinical situation. Thanks to the fact that tricalcium phosphate undergoes resorption faster than hydroxyapatite, it is possible to combine them in a biphasic osteoplastic medication in order to regulate the process of resorption in the area of implantation through the changes of the ratio of its components.⁴ Today it is believed that the optimal ratio of hydroxyapatite and tricalcium phosphate as part of biphasic osteoplastic material is 60% to 40%.⁵ One of these relatively new substances is «easy-graft CRYSTAL», which was developed in Switzerland by the company Degradable Solutions AG. With the help of the study of β -tricalcium phosphate phase of the «easy-graft» products, it was found that after its implantation into the bone defect it undergoes resorption and replacement by the bone tissue within 6-7 months.⁶ At the same time advertising information and scientific and clinical studies indicate that biphasic osteoplastic «easy-graft CRYSTAL» preparation undergoes a partial resorption and mainly due to β -tricalcium phosphate and hydroxyapatite, thus remaining in the area of the defect for a longer period, ensuring prevention of atrophy and preservation of bone tissue volume.⁷ However, these conclusions were made from histological studies on the jaws, flat and spongy bones, but there is no information on the impact of «easy-graft CRYSTAL» on healing of compact bone tissue defect.⁸ Thus, the purpose of our work was to study the healing process of the experimental defect of the compact bone tissue after the implantation of osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL».

Materials and methods

The experiment was performed on 24 white Wistar rats eight months of age with an average weight of 250 ± 10 g. All procedures were according to the Commission on

Biomedical Ethics of Sumy State University (Minutes N° 4/13 of 05.18.2015). The study protocol was according to the provisions “European Community Directive of 24 November 1986 on the maintenance and use of laboratory animals for research purposes”. Before surgery, animals were injected with 0.6 mg of acepromazine (2.5 mg per 1 kg body weight of rat), and in 5 minutes 18 mg of ketamine (75 mg per 1 kg of rat weight). After the introduction of anesthesia under aseptic conditions we produced a defect to the medullary canal of 2.5 mm diameter, without rigid fixation, in the middle third of the femoral shaft using a portable drill with a spherical cutter at low speed with cooling. The defect was filled with the osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL» (Degradable Solutions AG, Switzerland registration No 2008/03310). The preparation was made in a syringe with granules and a vial with an organic solvent BioLinker®. The granules consist of 40% β -tricalcium phosphate and 60% hydroxyapatite, and BioLinker® – water and N-methyl-2-pyrrolidone (NMP). Each granule of the material (Figure 1) was covered with thin (10 μ m) polymer of polylactic and polyglycolic acid (PLGA), which is capable of resorption.^{3,5}

Before the injection of the material into

the defect the granules were soaked in the BioLinker® solution, which temporarily softened the outer shell of granules and provided their bonding. In this case the material gained a lamellar mass consistency, which was easy to model in the shape of the defect. After injecting the material into the bone defect, it was soaked with blood, which ensured the removal of BioLinker®, and the material began to harden within minutes. Thus, a stable porous mass with microcells inside the granules the size from 1 to 10 μ m and macrocells between separate granules was formed.

After entering into the bone defect of osteoplastic material the wound was tightly stitched with silk thread through all layers of soft cover, the seam was treated with 3% alcohol solution of iodine for prevention of septic complications. Ketorolac was injected intramuscularly at a dose of 0.6 mg two times a day for analgesia for 3 days after operation.

Sixty and 120 days after surgery, the animals were taken out of the experiment by decapitation under deep ether anesthesia with further analysis of the injured bones by light (with morphometry) and scanning electron microscopy, which was performed on the electron microscope “REM 106-I”. Histological cuts stained with hematoxylin and eosin, were analyzed in light microscope Olympus, and photographed with a digital camera. Morphometric analysis was performed using image processing program “Video-Test” and “Video-Size”: we determined in the area of the defect the relative percentage of bone tissue and remnants of osteoplastic material as the ratio of the area of these components (%) to the total area of the site of the defect (100%). In addition, we investigated the structure of the tissue adjacent to the site of implantation in order to establish or refute postoperative complications due to the presence or absence of signs of necrobiosis and necrosis of osteocytes. The resulting digital values were processed statistically calculating the mean value (M) and standard error (m). The significance of differences

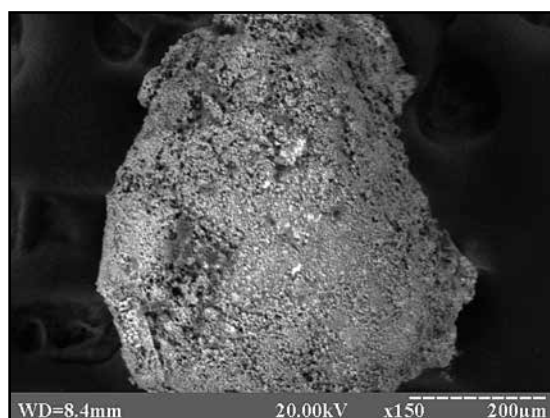


Figure. 1. Granule of osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL». Electronic scanning image. 150X.



between the indicators of the 60th and the 120th days was evaluated using Student t-test with the use of statistical computer program MS Excel XP. The differences were considered significant if $p < 0.05$.

Results

On the 60th day of the experiment, the cavity of the defect was filled with bone tissue of the regenerate, which occupied $66.81 \pm 1.84\%$ of the whole area of the defect. The latter had lamellar structure and contained a significant number of osteocytes and osteoblasts. The rest of the area of the defect ($33.19 \pm 1.84\%$) was occupied by large and small fragments of osteoplastic material, which were fully integrated into the bone tissue of the regenerate. Inside of the remnants of osteoplastic material there were found osteogenic cells with small foci of osteogenesis. The original bone adjacent to the implantation site was characterized by the presence of typical osteocytes.

On the 120th day of the experiment the area

of the defect was filled with the bone tissue of the regenerate with remnants of osteoplastic material integrated in its structure. However, compared with the 60th day, the area of the osteoplastic material decreased on 14.52% ($p > 0.05$), and the area of the bone tissue of the regenerate on the contrary increased on 7.19% ($p > 0.05$) and was $28.37 \pm 1.61\%$ in the first and $71.62 \pm 1.61\%$ in the second case, the differences did not reach significance. The bone tissue of the regenerate had mature lamellar structure and was characterized by the presence of the formed osteons, osteoblasts and osteocytes. That is, during this period of observation the bone tissue of the regenerate in its structure was approaching to the original bone. In the structure of the latter there were typical osteocytes with the long appendages. Osteoplastic material was represented in the vast majority by large granules of round shape, and there was also found a small amount of small fragments. Inside the granules of osteoplastic material we found osteogenic cells, foci of osteogenesis, and the elements of bone marrow.

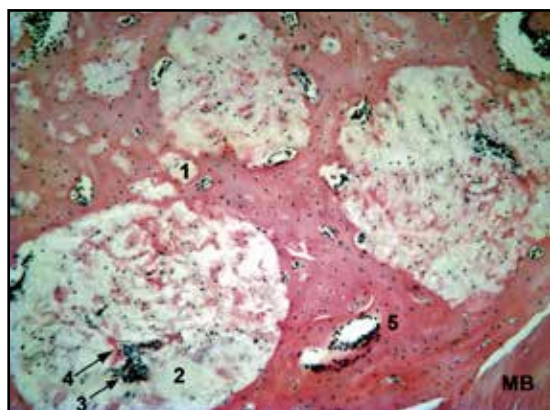


Figure 2. The area of the defect of femur of a rat on the 60th day after the implantation of «easy-graft CRYSTAL». Small fragments (1) and large granules (2) of «easy-graft CRYSTAL» with osteogenic cells (3) and foci of osteogenesis (4), which are integrated into the lamellar bone tissue of the regenerate (5). Adjacent to the site of implantation maternal bone (MB). Haematoxylin & Eosin staining 100X.

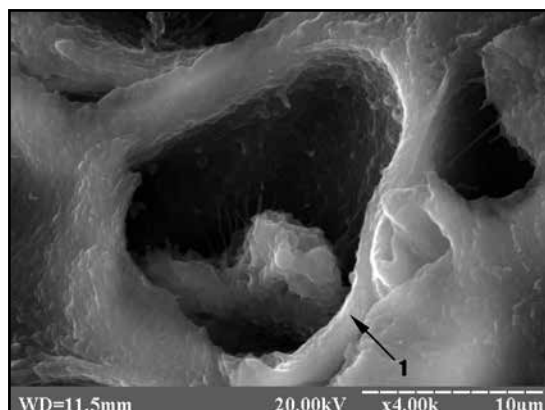


Figure 3. The area of the defect of femur of a rat on the 60th day after the implantation of «easy-graft CRYSTAL». Osteocytes (1) in the lacunae of bone tissue of the regenerate, which is formed directly on the surface of osteoplastic material. Electronic scanning image 4000X.

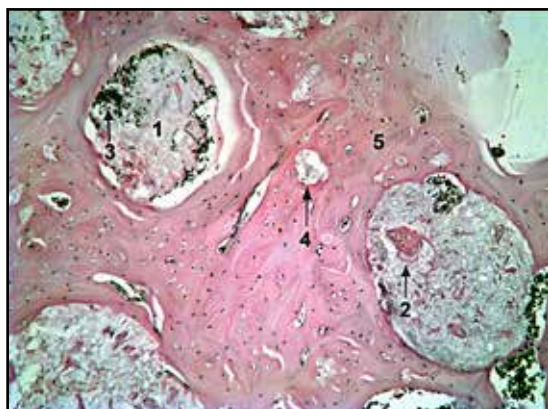


Figure 4. The area of the defect of femur of a rat on the 120th day after the implantation of «easy-graft CRYSTAL». Large granules of osteoplastic material (1) with foci of osteogenesis (2), bone marrow elements (3) and its small fragments (4), which are integrated into lamellar bone tissue of the regenerate (5). Haematoxylin & eosin 100X.

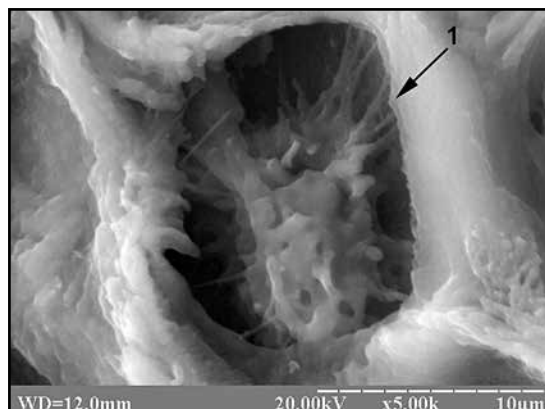


Figure 5. The area of the defect of femur of a rat on the 120th day after the implantation of «easy-graft CRYSTAL». Osteocyte (1) in a lacunae of a newly formed lamellar bone tissue, which surrounds the remnants of osteoplastic material. Electronic scanning image 5000X.

Discussion

Using microscopic techniques the study has found that the osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL» is characterized by high biocompatibility, as evidenced by the absence through the entire duration of the experiment of an inflammatory process in the area of the defect, necrosis, or necrobiosis of osteocytes in the area adjacent to the implantation site of the original bone. These results are consistent with the data of most researchers.^{5,6,9} Osteogenic cells showed high tropism for osteoplastic material, as evidenced by their location and formation of small foci of osteogenesis inside the granules of «easy-graft CRYSTAL». The formation and maturation of bone tissue of the regenerate happened directly on the surface of «easy-graft CRYSTAL», indicating the osteoconductive properties of osteoplastic material and its good integration with bone tissue of the regenerate. Schmidlin et al. in their study also observed in the defect of the frontal and

parietal bones of rabbits neoplasm of bone tissue of regenerate directly on the surface of the granules of «easy-graft CRYSTAL». However, the percentage of the bone tissue on the 60th and 120th day after the implantation of «easy-graft CRYSTAL» was relatively small ($20.16 \pm 5.27\%$ and $22.40 \pm 5.54\%$) and most importantly, there was no significant difference between them.⁹ According to the authors, one of the factors that could affect this is the low rate of resorption of osteoplastic material. The latter, according to Lindgren et al, may be due to the fact that the biphasic osteoplastic material undergoes resorption through the β -tricalcium phosphate phase of the drug, whereas hydroxyapatite for a long time does not resolve and keeps its occupied area.¹⁰ In the defect of the compact bone tissue we also observed a slow process of resorption of «easy-graft CRYSTAL» that was evidenced by non significant difference of their areas of osteoplastic material and bone tissue of the regenerate between the 60th ($33.19 \pm 1.84\%$



to $66.81 \pm 1.84\%$) and 120th ($28.37 \pm 1.61\%$ to $71.62 \pm 1.61\%$) day of the experiment. Nevertheless, the bone tissue of the regenerate, which replaced the osteoplastic material, was mature, had lamellar structure, and differed from the maternal bone only by the presence of integrated in its structure remnants of osteoplastic material.

Conclusion

The osteoplastic material «easy-graft CRYSTAL» in the area of the defect of the compact bone tissue shows high biocompa-

tibility and osteoconductive properties and provides stability to the volume of the defect due to good integration with the bone tissue of the regenerate and absence of reliable signs of resorption throughout the period of the experiment.

Conflict of interests The author declare no conflicts interest.

Recibido: febrero 2016.

Aceptado: marzo 2016.

References

1. Germanov VG, Kovalersky GM, Cherkashena ZA, Semenov VA. Osteoplastic surgery: from bone transplant to the modern biocomposite materials. *Medical Assistance Available* 2006; 4:16-9 [in Russian].
2. Becker S. Osteopromotion by a β -TCP. Bone marrow hybrid implant for use in spine surgery. *Spine* 2006; 31:11-7.
3. Köhli M. Evaluation of moldable in situ hardening bone graft substitute in an animal model. *Implants extra international magazine of oral implantology. Bone regeneration. Special Edition Degradable Solutions AG* 2012; 1:5-34.
4. Jensen SS, Bornstein MM, Dard M, Bosshardt DD, Buser D. Comparative study of biphasic calcium phosphates with different ha/tcp ratios in mandibular bone defects. A longterm histomorphometric study in minipigs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 90:171-81.
5. Ruffieux K, Kohli M. Build-up of bone tissue. Materials research and clinical application instructions easy-graft® materials and easy-graft®CRYSTAL. Kiev: Company "Stam", 2011, p. 20-42.
6. Pavlenko A V, Iluk RR, Tokarsky VF, Shterenberg A. Clinical evaluation of a new osteoconductive material «easy-graft®» with sinus lift and its effect on the regeneration of bone tissue. *Modern dentistry* 2012; 2:112-8 [in Russian].
7. Lan Levengood SK, Polak SJ, Wheeler MB et al. Multiscale osteointegration as a new paradigm for the design of calcium phosphate scaffolds for bone regeneration. *Biomaterials* 2010; 31:3552-63.
8. Cordaro L, Bosshardt DD, Palattella P, Rao W, Serino G, Chiapasco M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. *Clin Oral Impl Re.* 2008; 19:796-803.
9. Schmidlin PR, Nicholls F, Kruse A, Zwahlen RA, Weber FE. Evaluation of moldable, in situ hardening calcium phosphate bone graft substitutes. *Clin Oral Impl Res.* 2013; 24:149-57.
10. Lindgren C, Hallman M, Sennerby L, Sammons R. Back-scattered electron imaging and elemental analysis of retrieved bone tissue following sinus augmentation with deproteinized bovine bone or biphasic calcium phosphate. *Clin Oral Imp. Res.* 2010; 21:924-30.

ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

UTILIDAD DEL TRATAMIENTO SECUENCIAL CON TERIPARATIDE Y DENOSUMAB EN LA OSTEOPOROSIS DE ALTO RIESGO: NUESTRA EXPERIENCIA ASISTENCIAL

Marcelo Sarli, Paula Gabriela Rey

Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas, Dr. Zanchetta (IDIM). Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Resumen

El tratamiento de las formas graves de osteoporosis representa un desafío en la práctica asistencial. Reportamos tres pacientes con formas graves de osteoporosis tratadas en el Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas con un esquema secuencial de teriparatide 20 µg/día durante 18 meses, seguidos de 12 meses de denosumab 60 mg semestral. Luego de 18 meses de tratamiento con teriparatide la densidad mineral ósea en columna aumentó $5,86 \pm 1,01\%$ y en cuello femoral $1,92 \pm 3,10\%$; al finalizar los doce meses de tratamiento con denosumab se constató un aumento total en columna de $10,45 \pm 1,70\%$ y en cuello femoral $9,28 \pm 3,86\%$. El tratamiento con teriparatide se acompañó de un aumento en los niveles plasmáticos de telopeptidos del colágeno óseo (CTX) y en el período de tratamiento con denosumab dichos valores disminuyeron de manera significativa, mostrando el impacto de estos fármacos sobre el remodelado óseo. Concluimos que el tratamiento secuencial con teriparatide y denosumab en dosis convencionales resultó beneficioso en las tres pacientes tratadas. Sería de utilidad ampliar esta experiencia en un trabajo prospectivo.

Palabras clave: osteoporosis, tratamiento, denosumab, teriparatide.

Abstract

BENEFITS OF SEQUENTIAL TREATMENT OF HIGH RISK OSTEOPOROSIS WITH TERIPARTIDE AND DENOSUMAB: OUR EXPERIENCE.

High risk osteoporosis treatment is a challenge in daily medical practice. We report three patients that attended our institution with severe osteoporosis who received sequentially teriparatide (20 ug daily) for eighteen months followed by denosumab (60 mg every six months) for twelve months. After teriparatide treatment bone mineral density increased $5.86 \pm 1.01\%$ at lumbar spine and $1.92 \pm 3.10\%$ at femoral neck, while after denosumab it continued increasing to reach a total of $10.45 \pm 1.70\%$ at lumbar spine and $9.28 \pm 3.86\%$ at femoral neck. Teriparatide treatment increased bone resorption evidenced by high serum CTX while after denosumab it fell abruptly, showing the impact of these two drugs on bone turnover. We conclude that sequential treatment with teriparatide and denosumab in approved doses was beneficial for these three patients. Prospective studies are needed.

Key words: osteoporosis, treatment, denosumab, teriparatide.

* Correo electrónico: msarli@yahoo.com



Introducción

La teriparatide (TPTD) primero¹ y el denosumab (Dmab)² después demostraron ser potentes fármacos osteoactivos y están especialmente indicados en el tratamiento de la osteoporosis grave con alto riesgo de fracturas.

El uso de TPTD se limita de dieciocho a veinticuatro meses por cuestiones de bioseguridad y la ganancia que se obtiene en la masa ósea se pierde luego de la suspensión del tratamiento. Para mejorar los resultados obtenidos con este tratamiento se intentó asociarla con bifosfonatos³⁻⁷ y raloxifeno⁸ sin resultados alentadores. De todas maneras, se ha demostrado que la administración sucesiva de teriparatide y bifosfonatos permite mantener y aun aumentar la ganancia de la densidad mineral ósea (DMO) lograda por el efecto anabólico óseo de la teriparatide.

Con el advenimiento del Dmab, un potente inhibidor de la resorción ósea, nos planteamos la hipótesis de que la administración de este fármaco luego de completar un tratamiento con teriparatide podría ser beneficiosa para nuestros pacientes. Recientemente, algunos ensayos clínicos prospectivos, diseñados especialmente con el fin de evaluar los resultados obtenidos con el tratamiento secuencial y combinado de estas drogas, han demostrado la validez de nuestra hipótesis.⁹⁻¹¹

El objetivo de este trabajo es mostrar nuestra experiencia asistencial en tres pacientes tratadas con TPTD por 18 meses y luego por un año con Dmab.

Pacientes y métodos

Este es un trabajo retrospectivo abierto, en el que se incluyeron mujeres con osteoporosis posmenopáusica grave, que concurren para ser atendidas por los consultorios externos de un centro especializado en metabolismo óseo.

En todos los casos se realizó una evaluación clínica detallada, poniendo especial atención en los antecedentes de fracturas osteoporóticas y en los factores de riesgo

para sufrirlas. Las pacientes dieron su consentimiento y el estudio fue aprobado por el comité de ética de nuestro centro IDIM.

Se realizó densitometría ósea, DXA de columna lumbar anteroposterior (AP) y de cadera (fémur total y cuello femoral) con un densitómetro Lunar DPX (GE Healthcare), que fue calibrado diariamente. Según los estudios de precisión llevados a cabo, los cambios mínimos significativos fueron 1,53% para columna lumbar AP y fémur total, 1,68% para cuello femoral, 1,34% para radio 33%, y 1,14% para cuerpo entero. Se calculó el porcentaje de variación de la DMO al final del tratamiento con cada fármaco, TPTD y Dmab, y el porcentaje de cambio al final de ambas drogas.

Se realizó una rutina bioquímica clínica general y una evaluación del metabolismo mineral; los parámetros bioquímicos estudiados se describen en la Tabla 1.

Se consideraron las fluctuaciones del CTX entre tres y seis meses de iniciado cada fármaco, TPTD y Dmab, y se analizaron estadísticamente las variaciones con respecto al período previo de tratamiento.

Se realizaron radiografías de columna dorsal y lumbar perfil para evaluar la existencia de deformaciones vertebrales compatibles con fracturas prevalentes.

Los resultados de las variables analizadas se expresan como media $\pm$ DS. Las variaciones en la densitometría y en los parámetros bioquímicos se evaluaron estadísticamente con test de Student para muestras apareadas y se consideró significativa una $p < 0,05$ debido a lo pequeño de la muestra.

Resultados

Las características demográficas y densitométricas basales de las tres pacientes estudiadas se muestran en la Tabla 2. Los datos no tienen dispersiones significativas. Las pacientes no presentaron menopausia precoz ni temprana, tampoco bajo peso. El puntaje T de la densitometría ósea de columna lumbar inicial fue menor de -3,0.

Tabla 1. Variables bioquímicas estudiadas.

Variable	Método	VN
Calcemia	Electrodo de ion selectivo	8,5-10,5 mg/%
Calciuria	Electrodo de ion selectivo	mujeres 160- 220 mg/24 h
Fosfatemia	Cinético UV	2,7-4,5 mg/%
25 (OH) Vitamina D	Radioinmunoensayo	20-60 ng/ml
Fosfatasa alcalina total (FAL)	Colorimétrico	90-280 UI/l
Fosfatasa alcalina ósea (FAO)	Quimioluminiscencia	11-22 UI/l
Osteocalcina (BGP)	Electro-quimioluminiscencia	mujeres: 11-43 ng/ml
β crosslaps (CTX)	Electro-quimioluminiscencia	mujeres posmenopáusicas: 556 $\pm$ 226 pg/ml
Parathormona intacta (PTHi)	Radioinmunoensayo	20-65 pg/ml

Las variables bioquímicas al inicio del tratamiento se muestran en la Tabla 3. Solo una paciente tiene el estudio de la PTH basal. En realidad, las pacientes no presentaron alteraciones de ningún parámetro del metabolismo fosfocálcico que lo justificaran. La rutina y la función tiroidea fueron normales.

Dos de las pacientes presentaban fracturas vertebrales que constatamos en las radiografías: una de ellas, dos fracturas vertebrales (una antigua y otra reciente); la otra, una fractura vertebral reciente. Solo una paciente no tenía historia de fracturas previas. Cabe destacar que en ambos casos consideramos

Tabla 2. Valores promedio basales de las tres pacientes: datos clínicos y de densitometría ósea.

Edad (años)	67 $\pm$ 3,61
Peso (kg)	63,83 $\pm$ 4,96
Talla (cm)	154,77 $\pm$ 4,96
Edad de menopausia (años)	49,0 $\pm$ 2,6
DMO columna basal (g/cm ²)	0,792 $\pm$ 0,05
T-score columna basal	-3,43 $\pm$ 0,40
DMO cuello de fémur basal (g/cm ²)	0,781 $\pm$ 0,03
T-score cuello de fémur basal	-1,53 $\pm$ 0,4

Tabla 3. Valores promedios basales: datos bioquímicos de las pacientes.

Variable	X $\pm$ SD	n
Calcemia (mg/ml)	9,56 $\pm$ 0,35	3
Fosfatemia (mg/ml)	3,83 $\pm$ 0,4	3
Calciuria (mg/24 h)	154 $\pm$ 21,92	2
25 (OH) Vitamina D (ng/ml)	24,13 $\pm$ 6,75	3
FAL (UI/l)	189 $\pm$ 50	3
FAo (UI/l)	12,6 $\pm$ 4,8	2
BGP (ng/ml)	34	1
CTX (pg/ml)	312 $\pm$ 99,68	3
PTH intacta (pg/ml)	40	1



fractura vertebral reciente por haberse producido dentro de los dos meses anteriores a la consulta. Esa fractura vertebral aguda motivó el cambio de tratamiento de bifosfonatos a TPTD en el caso de las pacientes fracturadas, mientras que la muy baja densidad ósea con factores de riesgo para fracturas de la paciente sin fracturas motivó la indicación del cambio de su terapéutica.

Todas habían recibido fármacos osteoactivos antes de iniciar el tratamiento con TPTD, dos con alendronato, durante seis y diez años, respectivamente; la tercera, con raloxifeno por un año.

Ambas drogas fueron bien toleradas por las pacientes y no se registraron efectos adversos.

Las variaciones densitométricas promedio a lo largo del tratamiento se muestran en la Tabla 4. En columna lumbar, la densidad mineral ósea se incrementó significativamente al terminar el tratamiento con TPTD, y continuó aumentando en el período con Dmab hasta alcanzar, a los 30 meses, un incremento promedio de $10,45 \pm 1,70\%$. La respuesta al tratamiento en cadera fue distinta: en dos de las pacientes solo se registraron cambios significativos durante el tratamiento con Dmab. En la otra paciente, la mejoría se produjo en el primer período de tratamiento con TPTD, manteniendo lo logrado en la segunda etapa con Dmab; la ganancia total obtenida en las tres pacientes fue de $9,28 \pm 3,86\%$ (Figura 1 y 2).

Los cambios del CTX a lo largo del tratamiento se muestran en la Figura 3. En los restantes parámetros bioquímicos del metabolismo fosfocálcico no se produjeron modificaciones significativas. La fosfatasa alcalina iso-

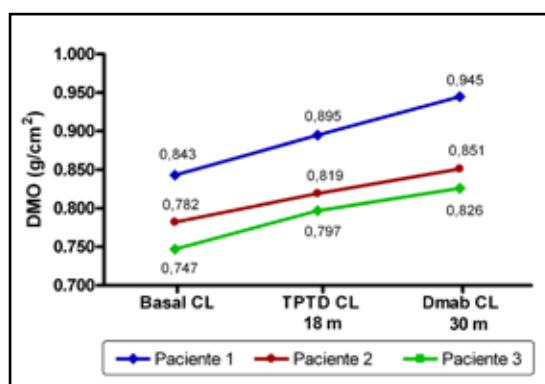


Figura 1. Ganancia densitométrica en columna lumbar desglosada por paciente.

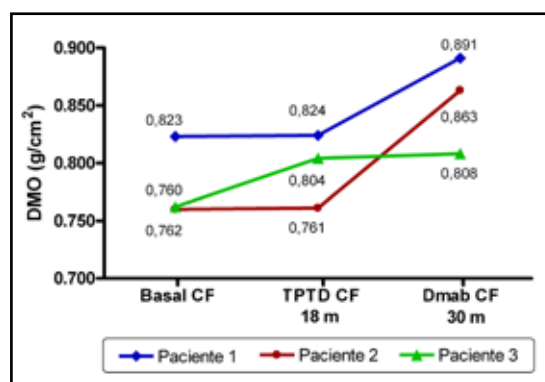


Figura 2. Ganancia densitométrica en cuello femoral desglosada por paciente.

Tabla 4. Variaciones promedio de la densidad mineral ósea pos-TPTD (18 meses) y al año pos-Dmab (30 meses) de las tres pacientes.

	DMO 18 m	T-score	Δ DMO %	p	DMO 30 m	T-score	Δ DMO %	p
Columna lumbar	0,837±0,05	-2,73±0,41	5,86±1,01	0,01	0,873±0,06	-2,36±0,60	10,45±1,70	0,03
Cuello fémur	0,796±0,03	-1,53±0,46	1,92±3,10	0,39	0,855±0,03	-1,20±1,30	9,28±3,86	0,04

zima ósea registró la misma curva que el CTX. Su valor basal promedio fue de $12,6 \pm 4,8$ UI/l, se elevó durante el tratamiento de estimulación osteoblástica a $18,86 \pm 5,14$ UI/l y descendió luego del tratamiento antirresortivo a $7,3 \pm 0,6$ UI/l; esta última etapa registra cambio en el límite significativo, $p=0,05$. No tenemos datos suficientes de los niveles de parathormona.

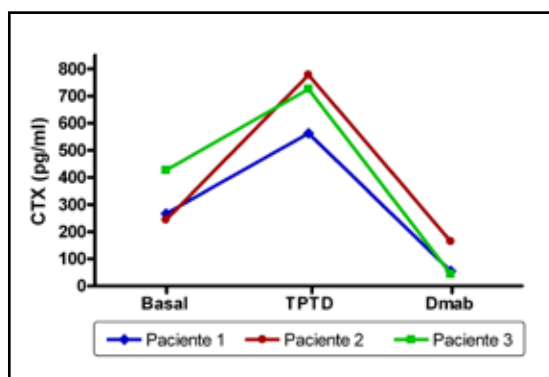


Figura 3. Variaciones del CTX. Nótese el aumento significativo durante el tratamiento con TPTD y su descenso bajo el tratamiento con Dmab.

Discusión

El tratamiento de los pacientes con formas graves de osteoporosis y alto riesgo de fractura representa un desafío en la práctica del consultorio. La presencia de fracturas vertebrales o la densidad mineral ósea en columna muy deteriorada asociada a factores de riesgo para fracturas sugiere, como primera indicación, la TPTD como anabólico óseo. Luego de cumplir el tratamiento de 18 a 24 meses, para evitar perder la acción lograda se debería continuar con una medicación antirresortiva. Son complejos los efectos sobre el hueso del tratamiento con bifosfonatos y TPTD: por un lado, el tratamiento previo con bifosfonatos, algo habitual en la práctica clínica, disminuiría los efectos anabólicos de la TPTD.¹² Al respecto, los resultados del EUROFORS demostraron solo un

moderado retraso en la respuesta del hueso al tratamiento con TPTD.¹³

Por otro lado, el uso concomitante de bifosfonatos y TPTD en pacientes osteoporóticos tendría efectos diferentes dependiendo del tipo de bifosfonato y la vía de administración. Black y cols. hallaron que la administración conjunta de alendronato y TPTD no tuvo efectos sinérgicos sino, contrariamente, la ganancia de la densidad mineral ósea volumétrica en columna fue mayor entre los tratados solamente con TPTD.⁴ Cosman investigó el efecto de combinar 5 mg de ácido zoledrónico intravenoso con TPTD 20 µg/día subcutáneo durante 52 semanas en un grupo de 412 mujeres con osteoporosis posmenopáusica y halló una ganancia densitométrica superior en columna lumbar y cuello de fémur entre las tratadas con ambos fármacos.⁵

La literatura en general concluye que la administración de bifosfonatos luego de terminados los 18 meses de tratamiento con TPTD tiene un efecto beneficioso, ya que permite mantener la ganancia en la densidad mineral ósea lograda y aun obtener una ganancia superior.¹⁴

Tanto TPTD como Dmab son drogas útiles en pacientes con osteoporosis grave y han demostrado su eficacia en la reducción del riesgo relativo de nuevas fracturas vertebrales. La primera tiene un efecto anabólico puro y permite obtener cambios rápidos en el hueso trabecular; solo en forma tardía mejora el hueso cortical al aumentar la porosidad endocortical y fomentar la aposición subperióstica logrando con ello el aumento del radio del hueso tubular que cambia su geometría mejorando su resistencia. El Dmab, en cambio, ejerce su efecto antirresortivo potente en el intersticio celular permitiendo modificar significativa y rápidamente tanto el tejido cortical como el trabecular mejorando la densidad mineral ósea de la cadera como también la de la columna.



Cuando el Dmab estuvo disponible como tratamiento antirresortivo nos planteamos la posibilidad de utilizarlo en reemplazo de los bifosfonatos, para mantener y mejorar los cambios logrados con TPTD. Comparado con los bifosfonatos, el Dmab tiene una vía de aplicación más práctica, no presenta cuadro similar al gripal como efecto adverso y, en general, sus efectos secundarios a corto plazo son despreciables; su acción antiosteoclástica es reversible y corta (6-8 meses), por lo que carece de efecto residual a largo plazo; por esto último, la ganancia densitométrica se pierde si no se continúa su aplicación.

En este trabajo presentamos a tres pacientes con alto riesgo de fractura: una por densidad ósea baja y dos por presencia de fracturas vertebrales previas, en tratamiento secuencial primero con TPTD (18 meses) y luego Dmab (por un año). Con posterioridad a la decisión de tratar a nuestras pacientes se conocieron los resultados de los estudios DATA a 12 meses,⁹ su extensión a 24 meses¹⁰ y el DATA-Switch a 48 meses¹¹; en esos trabajos se evaluaron casi 100 mujeres posmenopáusicas en tratamientos simples o combinados. En el estudio DATA, la combinación TPTD-Dmab produjo a los doce meses mejores cambios densitométricos tanto en columna como en cadera que cada fármaco administrado en forma única durante ese tiempo; la extensión a 24 meses demostró también superioridad en el grupo tratado con ambas drogas combinadas pero a expensas de la respuesta durante el primer año, ya que la densidad ósea mejoró en el segundo año en todos los grupos sin diferencias significativas entre sí. En el DATA-Switch, estas mismas mujeres fueron seguidas durante dos años más: el grupo que había recibido por dos años TPTD pasó a Dmab (n=27), el que había recibido Dmab, a TPTD (n=27) y el grupo combinado es decir que por dos años recibió TPTD y Dmab pasó a Dmab solamente (n=23). La mayor

ganancia porcentual densitométrica en columna lumbar la obtuvo el grupo que pasó de TPTD a Dmab, luego el grupo combinado que pasó a Dmab y en tercer lugar el grupo de Dmab que luego recibió TPTD. No hubo diferencias significativas en la comparación entre los grupos. En cadera o fémur total, la mejor respuesta estuvo en el grupo combinado que pasó a Dmab, mientras que en el cuello femoral las respuestas fueron mejores y sin diferencias significativas entre sí en los grupos combinado a Dmab y TPTD a Dmab que Dmab a TPTD. Los mayores beneficios se obtienen cuando TPTD se usa previamente sola o combinada y luego es seguida por Dmab.

Recientemente, en el congreso de la Asociación Americana de Investigación Ósea y Mineral (ASBMR), se presentaron los resultados obtenidos en la microarquitectura ósea, evaluados por HR-pQCT, de los pacientes que participaron del *DATA-Switch trial*.¹⁵ En este trabajo se vio que los mejores resultados en los parámetros de arquitectura del hueso cortical y trabecular en radio y tibia se lograron en los pacientes que recibieron tratamiento combinado con TPTD y Dmab. De todas maneras, al analizar las figuras, se ve que los resultados en el grupo que recibió tratamiento secuencial, primero con TPTD y luego Dmab, son similares.

El tratamiento con TPTD de nuestras tres pacientes nos permitió mejorar significativamente la densidad mineral ósea en columna lumbar y al pasar a Dmab siguió aumentando significativamente. La densidad mineral ósea en cadera solo superó el cambio mínimo significativo en una paciente durante el período de dieciocho meses de tratamiento con TPTD, pero al rotar a Dmab todos los cambios registrados superaron ese valor. Los cambios en los niveles de CTX mostraron el impacto de la TPTD sobre el aumento del recambio óseo y del Dmab sobre la inhibición de la actividad osteoclástica.

Concluimos que el tratamiento inicial con TPTD, seguido del tratamiento con Dmab, permite obtener una mejoría significativa del hueso trabecular y cortical evaluado por densitometría ósea, en los pacientes con formas graves de osteoporosis y alto riesgo de fractura. Pero es necesario realizar trabajos con mayor número de pacientes

para establecer la reducción de riesgo de fracturas.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: noviembre 2015.

Aceptado: febrero 2016.

Referencias

1. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001; 344:1434- 41.
2. Cummings SR, San Martin J, McClung M, et al. FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361:756-65.
3. Compston J. The use of combination therapy in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocrine* 2012; 41:11-8.
4. Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, et al. The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2003; 349:1207-15.
5. Cosman F, Eriksen EF, Recknor C, et al. Effects of intravenous zoledronic acid plus subcutaneous teriparatide [rhPTH(1-34)] in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2011; 26:503-11.
6. Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, Wyland JJ, Lee H, NeerRM. The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med* 2003; 349:1216-26.
7. Finkelstein JS, Wyland JJ, Lee H, Neer RM. Effects of teriparatide, alendronate, or both in women with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:1838-45.
8. Deal C, Omizo M, Schwartz EN, et al. Combination teriparatide and raloxifene therapy for postmenopausal osteoporosis: results from a 6-month double-blind placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res* 2005; 20:1905-11.
9. Tsai JN, Uihlein AV, Lee H, et al. Teriparatide and denosumab, alone or combined, in women with postmenopausal osteoporosis: the DATA study randomised trial. *Lancet* 2013; 382:50-6.
10. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, et al. Two Years of Denosumab and teriparatide administration in postmenopausal women with osteoporosis (The DATA extension study): A randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99:1694-700.
11. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, et al. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (the DATA-Switch study): extension of a randomised controlled trial. *Lancet* 2015; 386:1147-55.
12. Cosman F, Wermers RA, Recknor C, et al. Effects of teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis on prior alendronate



- or raloxifene: differences between stopping and continuing the antiresorptive agent. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:3772-80.
13. Boonen S, Marin F, Obermayer-Pietsch B, et al. EUROFORS Investigators. Effects of previous antiresorptive therapy on the bone mineral density response to 2 years of teriparatide treatment in postmenopausal women with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:852-60.
14. Black DM, Bilezikian JP, Ensrud KE, et al. One year of alendronate after one year of parathyroid hormone (1-84) for osteoporosis. *N Engl J Med* 2005; 353:555-65.
15. Tsai JN, Uihlein AV, Burnet-Bowie S, Neer R, et al. Effects of denosumab and teriparatide transitions in peripheral bone mineral density and microarchitecture. The DATA-Switch HR-pQCT study. Abstract 1055 ASBMR meeting 2015. S18.

ACTUALIZACIONES / Reviews

BIOMECÁNICA DE LAS FRACTURAS POR *STRESS*

José L. Ferretti,^{1*} Laura M. Nocciolino,¹ Gustavo R. Cointry,¹ Sergio H. Lüscher,² Ricardo F. Capozza.¹

1) Centro de Estudios de Metabolismo Fosfocálcico (CEMFoC), Universidad Nacional de Rosario - CONICET. 2) Instituto Dr. Jaime Slullitel, Rosario.

Resumen

Se define como *estrés* (*stress*) tanto la fuerza que una carga externa ejerce sobre un cuerpo sólido como la fuerza reactiva que acompaña a la primera (Ley de Newton), por unidad de área imaginaria transversal a su dirección. Las cargas internas reactivas inducen *deformaciones* proporcionales del cuerpo. La resistencia del cuerpo a deformarse se llama *rigidez*. La deformación puede resquebrajar el cuerpo y, eventualmente, producir una fractura por confluencia de trazos. La resistencia del cuerpo a separarse en fragmentos por esa causa se llama *tenacidad*. La *resistencia* del cuerpo a la fractura es proporcional al *stress* que puede soportar sin separarse en fragmentos por deformación (no hay fractura sin deformación y sin *stress* previo). El *stress* máximo que un cuerpo puede soportar sin fracturarse resulta de una combinación de *ambas* propiedades: rigidez y tenacidad, cada una con distintos determinantes biológicos. Una o varias deformaciones del cuerpo pueden provocarle resquebrajaduras sin fracturarlo. La acumulación de resquebrajaduras determina la “fatiga” del material constitutivo del cuerpo, que reduce su rigidez, tenacidad y resistencia a la fractura para la próxima ocasión (“fragilidad por fatiga”). En el caso de los huesos,

en general, los términos *stress* y *fatiga* tienen las connotaciones amplias referidas, respecto de todas las fracturas posibles. La fatiga predispone a fracturas a cargas bajas, que se denominan (correctamente) “fracturas por fatiga” y también (incorrectamente) “fracturas por *stress*”, para distinguirlas de las que ocurren corrientemente, sin resquebrajaduras previas al trauma, que se denominan (incorrectamente) “fracturas por fragilidad, o por insuficiencia”. En realidad, *todas* las fracturas se producen por *stress* y por fragilidad o insuficiencia (en conjunto); pero la distinción grosera entre fracturas “por fatiga, o por *stress*”, por un lado, y “por fragilidad” o “por insuficiencia”, por otro, aceptando las amplias connotaciones referidas antes, tiene valor en la práctica clínica. Este artículo intenta explicar esas particularidades biomecánicas y describir las distintas condiciones que predisponen a las fracturas “por fatiga o por *stress*” en la clínica, distinguiéndolas de las fracturas “por fragilidad o por insuficiencia” (manteniendo estas denominaciones) y detallando las características de interés directo para su diagnóstico y tratamiento.

Palabras clave: biomecánica ósea, resistencia ósea, fragilidad ósea, *stress*, rigidez ósea, tenacidad ósea, fatiga, fracturas por *stress*, fracturas por fatiga.

* Correo electrónico: jlferretti@arnet.com.ar



Abstract

BIOMECHANICAL FEATURES OF STRESS FRACTURES

The term "stress" expresses the force exerted by an external load on a solid body and the accompanying, opposed force (Newton's Law), expressed per unit of an imaginary area perpendicular to the loading direction. The internal loads generated this way deform (strain) proportionally the body's structure. The resistance of the body to strain expresses its stiffness. Critical strain magnitudes may induce micro-fractures (microdamage), the confluence of which may fracture the body. The body's resistance to separation into fragments determines its toughness. Hence, the body's resistance to fracture is proportional to the stress the body can support (or give back) while it is not fractured by the load-induced strain (no stress, no strain -> no fracture). Therefore, the maximal stress the body can stand prior to fracture is determined by a combination of both, its stiffness and its toughness; and each of those properties is differently determined biologically. One or more deformations of the body may induce some microdamage but not a fracture. Microdamage accumulation determines the fatigue of the material constitutive of the body and reduces body's toughness, leading to a "fatigue-induced fragility". In case of bones, in general, both stress and fatigue have the referred, wide connotations, regarding any kind of fractures. In particular, bone fatigue predisposes to low-stress fractures, which are named (correctly) "fatigue fractures" and also misnamed "stress fractures", to distinguish them from the current fractures that occur without any excess of microdamage, that are named (wrongly) "fragility" or "insufficiency" fractures. In fact, all fractures result from all stress and fragility or insufficiency as a whole; however, the gross distinction between "fatigue or stress fractures", on one side, and "fragility or insufficiency fractures", on the

other, accepting the wide connotations of the corresponding terminology, is relevant to clinical practice. This article aims to explain the above biomechanical features and describe the different instances that predispose to "fatigue or stress fractures" in clinical practice, as a different entity from "insufficiency or fragility fractures" (maintaining this nomenclature), and describe their relevant features to their diagnosis and therapy.

Key words: bone biomechanics, bone strength, bone fragility, stress, bone stiffness, bone toughness, fatigue, stress fractures, fatigue fractures.

Aspectos biológicos y correlatos biomecánicos

Los huesos solo se rompen cuando son deformados lo suficiente como para que, luego de 'empezar a romperse' por aparición de las primeras resquebrajaduras, 'terminen de romperse'. Si un hueso *no* se deforma, *no* se rompe. La resistencia de un hueso a la fractura (*strength*) está determinada, entonces, por dos propiedades diferentes, que entran a jugar sucesivamente en el mecanismo de fractura:¹ 1) su "resistencia a deformarse", a secas, que constituye su *rigidez* (*stiffness*) y 2) su "resistencia a la formación o al progreso de las resquebrajaduras" o a ambos, que constituye su *tenacidad* (*toughness*).² En pocas palabras: *resistencia = rigidez x tenacidad*. La Figura 1 esquematiza la determinación biológica y la interacción de estas propiedades, en forma general, pero especialmente aplicable al caso particular de los huesos largos. Las características especiales de la rigidez y de la tenacidad ósea pueden sintetizarse como sigue.

- La rigidez (direccional) de la estructura de un hueso está dada 1) por la rigidez (direccional) del tejido óseo, determinada por la calidad y la direccionalidad del colágeno, su grado de mineralización y la madurez cristalina ('empaquetamiento', 'cristalinidad') y 2) por la eficacia (direccional) del diseño del hueso, en

relación con la acción (direccional) de la carga deformante.³ La pQCT puede estimar algunas de estas propiedades:⁴ **a)** la rigidez del tejido óseo, que puede asimilarse (en forma no direccional) a su grado de mineralización y estimarse como la DMO volumétrica cortical y **b)** la calidad arquitectónica del diseño óseo cortical en huesos tubulares, que puede estimarse determinando sus diámetros, su espesor, su área seccional, su *buckling ratio* (relación entre el diámetro diafisario y el espesor cortical) y sus momentos de inercia seccionales. La microestructura del colágeno y la cristalinidad *no* son analizables en forma no invasiva.

- La tenacidad (direccional) de la estructura de un hueso está dada 1) por la tenacidad (direccional) del tejido óseo, determinada también por la calidad (direccional) del colágeno y la presencia de enlaces intermoleculares de proteínas no colágenas (*sacrificial bonds*)⁵ que actúan como aglutinantes de las fibras oponiéndose a su deslizamiento (*anti-creep factors*), y está *inversamente relacionada con la rigidez* del mismo tejido, especialmente si esta es excesiva,⁶ como ocurre en la osteosclerosis y en la enfermedad de Paget condensante, situación asimilable al caso del mármol, o del vidrio; 2) por los “concentradores de stress” (*stress raisers*), constituidos por soluciones de continuidad de la matriz mineralizada que facilitan el progreso de los trazos, como microporos, lagunas, canalículos, sistemas haversianos, y resquebrajaduras producidas por el uso a nivel molecular y/o tisular de complejidad,⁷ y 3) también por la eficacia (direccional) del diseño del hueso, en relación con la acción de la carga deformante. En cualquier caso, la tenacidad de cualquier hueso depende de la capacidad de su tejido mineralizado para *absorber energía* al deformarse, antes de separarse en fragmentos (“trabajo de fractura”).

Las soluciones de continuidad producidas por el uso a nivel molecular consisten en disrupciones microfibrilares o de los *sacrificial bonds*, de extensión inferior a 3 µm, que en

adelante referiremos como “microdaño difuso”.⁸⁻¹³ Las resquebrajaduras producidas a nivel tisular consisten en *microcracks* lineales, de extensión superior a 10 µm (usualmente, de 30 a 100 µm), cuyos extremos son concentradores de stress, que resultan visibles al microscopio común mediante tinciones específicas y que, en adelante, referiremos como “microdaño lineal” (Figura 1).^{14,15}

El microdaño difuso predomina en regiones corticales sometidas a tracción y en personas jóvenes, y es particularmente eficaz para absorber energía mientras el hueso se deforma. Esta injuria microestructural fue originalmente observada en experimentos de fatiga *in vivo* y *ex vivo* a bajas cargas, aplicando tinción con fucsina básica, a la cual el material normalmente mineralizado es insensible.¹⁶ Por microscopia confocal se pudo relacionar las regiones teñidas positivamente con la presencia de múltiples soluciones de continuidad del material óseo, menores de 1 µm de extensión, a nivel sublamelar.^{13,16} Desde el punto de vista biomecánico, la producción de este tipo de microdaño podría ofrecer aspectos beneficiosos:⁷ por un lado, su generación en el seno del material óseo disiparía la energía necesaria para producir fallas mayores de este, y mejoraría la resistencia tisular a la fatiga;^{17,18} por otro, su reparación daría lugar a un material de mayor tenacidad (mayor trabajo necesario para completar la fractura).¹⁹ En la reparación de esas lesiones no interviene la “remodelación orientada”, porque las soluciones de continuidad producidas en el material no disrumpen el sistema canalicular de los osteocitos y, por tanto, no inducen su apoptosis.¹⁹ Más bien se trataría de un mecanismo de autorreparación por deposición de mineral dentro de los *ultra-cracks*, regulada por proteínas no colágenas de la matriz ósea (DMP1, osteopontina, osteocalcina) segregadas por los osteocitos, y/o por restitución de los “*sacrificial bonds*”.^{5,7,20-23} Independientemente del mecanismo implicado, el proceso reparatorio opera en pocas semanas.



El microdaño lineal, proceso mejor conocido, predomina en regiones corticales sometidas a compresión y en personas de edad, es relativamente menos eficaz que el microdaño difuso para absorber energía y demora unos 3 meses para autorrepararse.²⁴⁻²⁶

En cualquiera de los dos casos, la tenacidad ósea depende de la eficacia de los correspondientes mecanismos reparadores. Para el

microdaño lineal, ese mecanismo es la clásica remodelación mediada por BMU, orientada por la reacción de los osteocitos vivos vecinos a la apoptosis de los osteocitos cuyas prolongaciones fueron seccionadas por la resquebrajadura^{7, 27} (“targeted remodeling” de Parfitt), con participación del sistema RANKL/OPG.²⁸ El microdaño difuso, que no llega a afectar ese nivel de complejidad, solo puede repararse



Figura 1. Representación esquemática de la adquisición de la “calidad ósea” (resistencia a la fractura) como resultado de la combinación de distintas propiedades (materiales y geométricas) en diferentes niveles de complejidad biológica, de la interacción del entorno mecánico (reducido por simplicidad a las contracciones musculares que afectan el hueso, que constituyen su componente principal). La resistencia a la fractura del hueso (abajo) está determinada en forma excluyente por una combinación de la *rigidez* y la *tenacidad* de su estructura (a nivel de órgano), y estas dos propiedades están a su vez determinadas por la calidad mecánica del tejido mineralizado (izquierda) y por la distribución espacial de su masa (derecha), orientada por el *mecanostato* óseo (circuito de flechas gruesas destacado a la derecha). A los efectos de esta revisión, se señala la participación del microdaño (difuso o lineal, según se refiere en el texto) y su reparación biológica en la determinación de la tenacidad del tejido (representada a la izquierda). A su vez, la tenacidad del tejido (a la izquierda extrema), asociada a la calidad del diseño óseo resultante de la distribución de ese material (a la derecha), contribuirá a determinar la tenacidad del hueso-órgano (abajo, al centro) que es un componente esencial de la resistencia final del hueso que va a fracturarse.

fisicoquímicamente, por procesos inversos a los que determinaron su producción, que pueden involucrar la reconstitución de los *sacrificial bonds* y otros tipos de enlaces, con participación de componentes de la matriz orgánica y/o por el relleno del espacio dañado con mineral nuevo, con participación de proteínas como la DMP1 producida por los osteocitos.^{19, 29 -32}

Cierta evidencia reciente sugiere un desarrollo independiente de ambos tipos de microdaño, si bien no se descarta que ambos procesos pudieran confluir y complementarse respecto de la generación de trazos de extensión creciente.^{7,16,33-35}

La interpretación clínica de todo este conocimiento requiere su extrapolación al nivel orgánico (hueso) de complejidad estructural, según sigue.

En las circunstancias normales de trabajo cotidiano del esqueleto, la estructura de cualquier hueso es sometida a la acción de fuerzas externas (fuerzas *aplicadas*, o *de carga*, F_c). Imaginariamente, se conciben también fuerzas internas, que llevan las cargas desde sus puntos de aplicación hasta los puntos de apoyo del hueso, que ofrecen, a su vez, las conocidas fuerzas de reacción (F_r), iguales y contrarias a las F_c (Ley de Newton). Las fuerzas interiores determinan, en la estructura resistiva del hueso, estados llamados de “solicitud”, que consisten en la manifestación de tracciones, compresiones, esfuerzos de corte, flexiones y torsiones, de presentación única o combinada. El análisis de estos estados es complejo, pero puede simplificarse de diversas maneras. Una de ellas es tomar los distintos tipos de sollicitaciones por separado. Otra es la expresión de la fuerza actuante en cada caso en términos de unidades de una determinada área sobre la cual se supone que esa fuerza actúa. Esto genera el concepto de *stress* = fuerza / área ($\sigma = F/A$), una magnitud imaginaria que se aplica para estandarizar la descripción de la acción de cualquier fuerza sobre cualquier cuerpo, y que se expresa

en newtons/m², también llamados pascuales; o bien, con ciertas licencias, en kg/m². En el problema que nos ocupa, recurriremos a otra forma de simplificación, que es la de suponer que, en cada caso que consideremos, las dos fuerzas referidas, $F_c = F_r$, son de dirección coincidente, de forma que se cancelan mutuamente.

En las condiciones normales de trabajo, los huesos soportan cargas apoyados sobre otros huesos, o sobre determinadas superficies de soporte. Entonces, cuando se ejerce una fuerza externa sobre un hueso de longitud L , es normal que se produzcan alargamientos o estiramientos específicos, es decir, diferencias de longitud ΔL que implican cambios de posición relativa de dos puntos determinados de la estructura del hueso, que, si se las refiere a la longitud inicial L considerada, configuran *deformaciones* (*strains*, $\epsilon = \Delta L/L$). Las deformaciones son magnitudes adimensionales, porque resultan de dividir longitudes entre sí. El problema de asignarles unidades que permitan efectuar descripciones y comparaciones se resuelve expresándolas en forma proporcional, en “tanto por uno” (p. ej., 0,3), en porcentajes (%), o en partes por millón (p.p.m). En la práctica biomecánica se ha ideado la expresión cuantitativa “microstrain” ($\mu\epsilon$), que equivale a 1 p.p.m de deformación, y que utilizaremos aquí.

La resistencia de un hueso a ser deformado por las cargas se denomina *rigidez* y está dada por la proporción entre la carga que un hueso soporta y la deformación que por esa razón manifiesta. Cuando se analizan huesos enteros, esta relación suele expresarse biomecánicamente como “rigidez estructural ósea” (a nivel de complejidad de órgano) = $F / \Delta L$, en unidades de newtons/m. Cuando lo que se analiza son muestras óseas especialmente maquinadas (probetas) de hueso “sólido”, la rigidez determinada estima la relación “stress/strain” propia del material óseo mineralizado (a nivel de complejidad de tejido), que se denomina “rigidez específica”, o “módulo de elasticidad,



o de Young” ($E = \sigma / \epsilon$), en unidades de *stress* (N/m^2) debido a la adimensionalidad del *strain*.

En ausencia de resquebrajaduras del hueso estudiado, tanto la relación “carga/deformación” del hueso como la “rigidez específica” del tejido mineralizado son lineales para un amplio rango de cargas crecientes (Figura 2), y el hue-

so o el material deformado puede devolver la misma energía que absorbió al deformarse si se lo descarga, recuperando totalmente su forma previa. Este comportamiento se denomina “elástico”,¹ como el de una pelota de goma rebotando en el piso.

El comportamiento elástico de un hueso

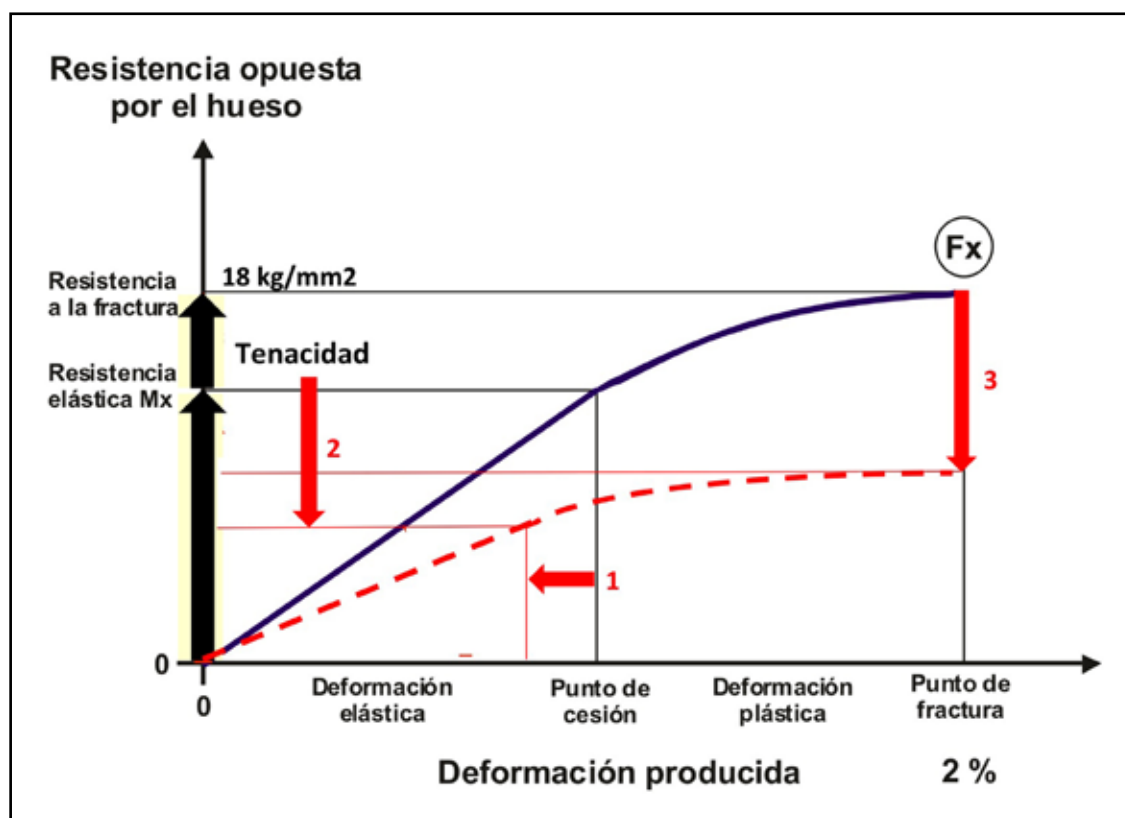


Figura 2. Representación gráfica didáctica de la relación natural (línea llena negra) entre la deformación (*strain*, $\epsilon = \Delta L/L$) producida por una compresión longitudinal imaginaria inducida a una tasa de deformación constante (fuerza externa F_c , no representada), de un segmento de hueso tubular de geometría supuestamente regular, cargado en forma paralela a su eje, en *microstrains* (x) y la F_r “devuelta” por el hueso en forma de *stress* (kg/mm^2 , y), con sus períodos elástico (rectilíneo) y plástico pre-fractura (no lineal), separados por el *yield point*. Se indican los valores máximos correlativos posibles de deformación (2%, ó 20.000 *microstrains*, x) y de *stress* (18 kg/mm^2 , y) que el hueso puede soportar sin romperse (umbrales de fractura en términos de *stress* y de deformación, respectivamente). En línea de puntos se representa el mismo comportamiento, supuestamente correspondiente al mismo hueso, sometido previamente a deformaciones excesivas y reiteradas que le provocaron un alto grado de *stress* y resquebrajamiento (fatiga). Nótese el acortamiento del período elástico por anticipo del *yield point* (1), la caída importante de la tenacidad (2) y la consiguiente reducción del *stress* de fractura (3), que representa la resistencia final del hueso a la carga, en un nivel de deformación máxima normal.

está limitado por la aparición de la primera resquebrajadura. A partir de ese momento, llamado “punto de cesión” (*yield point*), la estructura del hueso ya no es capaz de reaccionar linealmente a la deformación inducida por una carga creciente: la deformación crecerá proporcionalmente más que la fuerza devuelta (Figura 2). En otras palabras: la fuerza necesaria para producir la misma deformación que antes será menor, aunque *siempre* se seguirá cumpliendo: $F_c = F_r$ (Newton). Al empezar a resquebrajarse, el hueso se habrá vuelto *menos rígido*, con una menor relación $F_c / (\Delta L/L)$, o $F_r / (\Delta L/L)$. Estas condiciones se acentuarán con el aumento y el progreso de las resquebrajaduras, porque tanto el microdaño difuso como el lineal, aunque generalmente proceden de forma independiente, tienden a confluir y a complementarse a deformaciones crecientes,⁷ hasta producir soluciones de continuidad importantes del material mineralizado “sólido” que facilitan, e incluso pueden llegar a determinar, la constitución del trazo completo de fractura. Además, los extremos de las resquebrajaduras constituyen puntos “concentradores de *stress*” que favorecen la extensión de los trazos. Estos procesos determinan que un hueso sometido a una carga creciente presentará, luego del *yield point*, una proporción también creciente de deformación irreversible, y la invariable relación $F_c = F_r$ se expresará cada vez a menores valores de ambas fuerzas, igual que como ocurriría con un arco para flechas resquebrajado. Este nuevo comportamiento se denomina “inelástico” o “plástico”, como el de un trozo de masa arrojado al piso.

El límite de este comportamiento plástico, a deformación creciente, es inevitablemente la fractura, que se produce siempre que $\Delta L/L$ resulte mayor que 0,02 (límite también expresable como “20.000 millonésimos”, o 20.000 *microstrains*); o sea, siempre que se sobrepase el *límite de deformación del 2% de la longitud inicial* del hueso (Figura 2).³⁶

En situaciones normales (uso mecánico

habitual del esqueleto), la estructura ósea solo llega a comportarse *elásticamente*, sobrellevando deformaciones usuales máximas de $\Delta L/L = 0,002$; es decir, del 0,2% (o 2.000 *microstrains*), sin manifestar resquebrajaduras por el uso (Figura 3). En estas condiciones, la producción de microdaño de cualquier tipo resulta un fenómeno más bien ocasional, aleatorio. Sin embargo, si el nivel de deformación alcanza valores de 3.000 a 3.500 *microstrains* (valor “umbral de deformación para el microdaño”), la producción de microdaño es obligada. Según el *Paradigma de Utah*,³⁷ la resistencia del hueso a la producción de microdaño y de fracturas resulta del control retroalimentado de la rigidez estructural por el *mecanostato*. Este servomecanismo adecua direccionalmente el diseño seccional de los huesos (Figura 1) para que soporte esas cargas sin sobrepasar el 10% (2.000) del límite crítico de 20.000 *microstrains* que determinaría la fractura (Figuras 2 y 3). Biomecánicamente hablando, esto determina un “Factor de seguridad” (*Safety Factor, SF*) de $2.000/20.000 = 10$ (en términos de deformación), que es una condición propia de los huesos móviles de los esqueletos de *todos* los vertebrados, aparentemente seleccionada gracias a la heredabilidad del *mecanostato*.^{36,37} Esta concepción particular de un “Factor de seguridad (SF) óseo” es un concepto biológico estrictamente aplicado a la Biomecánica Ósea a partir de los postulados del *Paradigma de Utah* y no tiene relación con otras acepciones del mismo término utilizadas con fines técnicos.

Estas mismas condiciones de trabajo pueden expresarse en términos de *stress*. En Biomecánica Ósea, recurriendo a un exceso de simplificación, puede decirse que una fuerza de carga inducida sobre un hueso le genera un determinado *stress* a su estructura en cada punto, y que el hueso “devuelve” un *stress* equivalente también en cada punto de ella. En términos prácticos: un hueso “soporta” determinado *stress* en tales o cuales condiciones, como una expresión de su re-



sistencia. Y también cabe decir que el *stress máximo soportado* por un hueso corresponde a su “*stress de fractura*”, o a su “*carga de fractura*”, aunque no se trate de unidades de carga. La regulación de esa resistencia por el *mecanostato*, resultante del control de su ri-

gidez, puede también expresarse en términos de *stress*: recurriendo por simplificación a los valores usuales para test de compresión de segmentos de huesos largos de geometría su- puestamente regular, cargados en compresión longitudinal a una tasa de deformación cons-

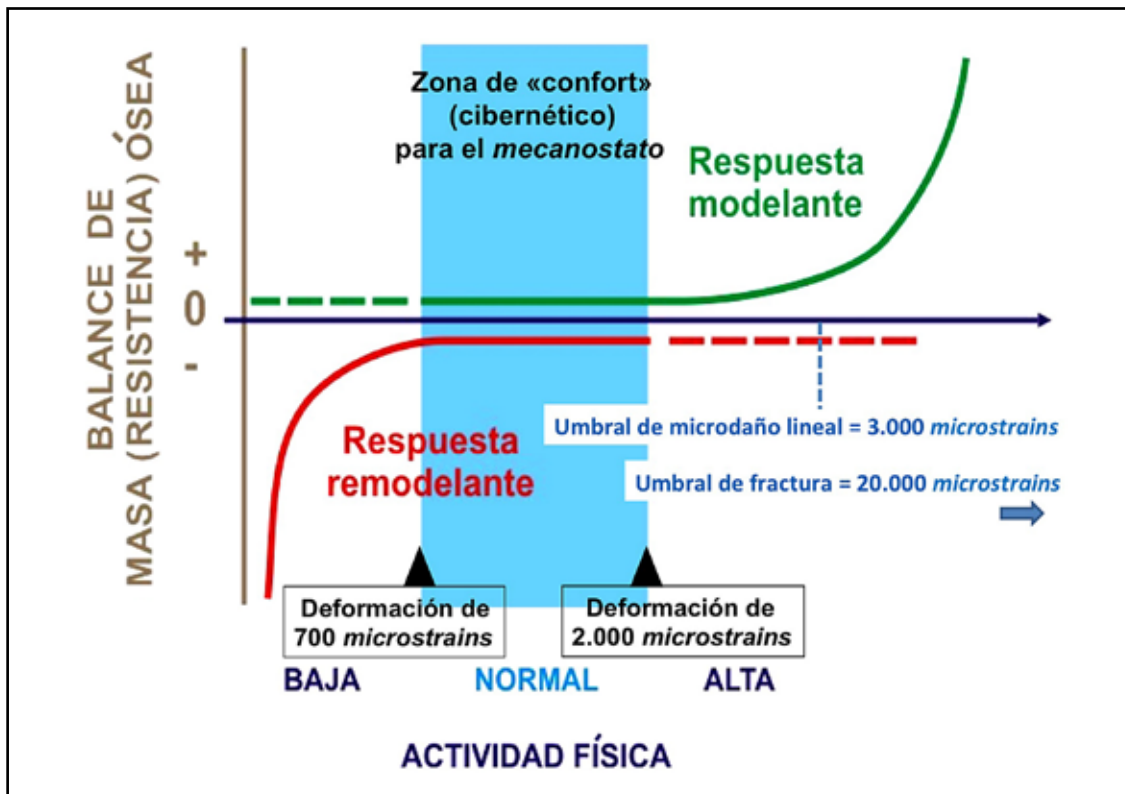


Figura 3. Esquema grosero de las respuestas remodelante y modelante que un hueso manifiesta normalmente (eje y), según la magnitud de los picos de deformación a los que lo somete históricamente el uso mecánico habitual del esqueleto gracias al control ejercido por el *mecanostato* (Figura 2), expresada en *microstrains* (eje x, véase el texto). Se destaca una zona de “actividad normal” (en el centro), que no supone una estimulación del *mecanostato* (zona de “confort” del sistema), ubicada entre los niveles de deformación usual de 700 y 2.000 *microstrains*, y un valor de deformación de aproximadamente 3.000 *microstrains* (inusual) que determina obligadamente la inducción de microdaño lineal. Este valor (umbral de microdaño lineal) se encuentra bastante alejado de la deformación crítica de 20.000 *microstrains* que determinaría obligadamente la fractura de cualquier hueso (umbral de fractura en términos de deformación). La constitución de un “factor de seguridad biológico” de alrededor de 10, entre el umbral de fractura (20.000 *microstrains*) y el de las deformaciones usuales máximas del hueso (2.000 *microstrains*), típico de los huesos móviles de todos los vertebrados, se atribuye al control biomecánico de la rigidez estructural del hueso a cargo del *mecanostato* (“Paradigma de Utah”). El mantenimiento del umbral de microdaño lineal depende críticamente de la relación entre la tasa de producción de microdaños de cualquier tipo y de la capacidad del hueso para autorrepararlos.

tantemente creciente (Figura 2), podemos decir que el sistema controla la capacidad del hueso para soportar, típicamente, unos 3 kg/mm² en calidad de *stress máximo fisiológico* (es decir, el que tiene lugar al efectuar esfuerzos habituales de máxima intensidad), bastante antes del *yield point*, y unos 18 kg/mm² como *stress máximo prefractura* para ensayos de compresión uniaxial. Ningún hueso soporta más que ese valor de *stress*, en esas ni en otras condiciones. En consecuencia, en términos de *stress*, los huesos disfrutaban de un SF de $18 \text{ kg/mm}^2 / 3 \text{ kg/mm}^2 = 6$, más bajo que el de 10 que ostentan en términos de deformación. Esta situación puede extrapolarse, con sus debidas adaptaciones metodológicas, a determinaciones mecánicas efectuadas en diferentes condiciones de ensayo.

En condiciones normales, los valores de deformación o de *stress* “de fractura” son imposibles de alcanzar efectuando esfuerzos musculares fisiológicos máximos. Sin embargo, la situación cambia radicalmente si esos esfuerzos se reiteran demasiado sobre la estructura. Toda deformación implica algún grado de *tracción* sobre la estructura, en un sitio dado. Las tracciones reiteradas, iterativas, de la estructura resistiva por encima de ciertas magnitudes, no son gratuitas para el hueso: de cuando en cuando, alguna de ellas induce una solución de continuidad (preferentemente, microdaño difuso) por elongación excesiva del material mineralizado: al principio, en forma más bien aleatoria, accidental; pero luego, ya como un fenómeno cotidiano. La reiteración de este fenómeno no solo puede incrementar el microdaño difuso, sino también inducir una proporción creciente de microdaño lineal. Si la tasa de producción de resquebrajaduras por microdaño lineal excede la tasa de reparación por remodelación orientada (*targeted remodeling*)³⁸ (Figura 1), la concentración de estas soluciones de continuidad tenderá a crecer, y la rigidez y la tenacidad estructurales se reducirán progresivamente (Figuras 1 y 2).

³⁹ Si se reiteran las cargas relativamente altas,

la estructura del hueso puede resquebrajarse tanto como para permitir la confluencia de los microtrazos (*fatiga* del material mineralizado por *stress* excesivo), facilitando la fractura al permitir que la deformación crítica del 2% se alcance a niveles de *F_c*, *F_r* y/o *stress* menores que los referidos antes (Figura 2). Es decir, que el hueso se *deforme fácilmente hasta la fractura a cargas bajas, oponiendo una resistencia (stress) mucho menor que la normal*, aunque cumpliéndose siempre *F_c* = *F_r* (Newton). Es difícil fijarle límites a la resistencia ósea en general ante este tipo de desafío mecánico que varía mucho según las diferentes condiciones de determinación mecánica; pero está establecida su dependencia de la intensidad y de la frecuencia de los ciclos de deformación inducidos. Análogamente: cuando debemos cortar un trozo de alambre sin alicate, lo doblamos sucesivamente hasta resquebrajarlo tanto como para poder deformarlo hasta la fractura efectuando un esfuerzo mínimo. ¡Gracias a Newton (y a la fatiga de los materiales) podemos cortar un trozo de alambre sin utilizar herramientas!

En síntesis: la deformación reiteradamente intensa de un hueso puede resquebrajarlo a una velocidad mayor que la de la tasa de reparación tisular, reduciéndole la capacidad de soportar *stress* por inducirle *fatiga* al tejido mineralizado, facilitando su deformación y fractura por cargas más bajas que las que la producirían normalmente. A esta clase de “fracturas facilitadas” se las denomina “fracturas por *stress*”. Esta terminología parece ambigua, porque, en realidad, *todas* las fracturas ocurren por *stress* óseo excesivo, pero cobra sentido si se tiene en cuenta que, en estos casos, la predisposición se adquiere por una *historia reiterada de stress* excesivo, y que la fractura no ocurre a valores bajos de *deformación*, como en otros casos, sino de *stress* (Figura 2). Una denominación más clara y completa sería la de “fracturas de *stress* por *fatiga*”, distintiva de las fracturas clásicas, “por insuficiencia”, o “por fragili-



dad”, que deberían denominarse “fracturas de stress por fragilidad, o por insuficiencia, ajena a la fatiga”.

Para salvar estas complicaciones semánticas utilizaremos las denominaciones corrientes. Ejemplos de las usualmente llamadas “fracturas de stress” (por fatiga) son las que se presentan en individuos en los que las deformaciones reiteradas se manifiestan a menudo, como los reclutas y los deportistas, especialmente en los dedicados a disciplinas cíclicas (son típicas las “fracturas de marcha”), como se detallará luego.

Obviamente, ambos tipos de microdaño pueden afectar tanto el tejido óseo cortical (objeto de tratamiento primordial en este artículo) como el trabecular.^{8,40,41} Los correspondientes impactos mecánicos sobre las estructuras óseas con predominio cortical o trabecular, que son los que interesan al clínico, son correlativos de sus respectivas funciones mecánicas, hasta ahora reconocidas a nivel de órgano. Para las *cortezas*, el microdaño reduce la resistencia a la fractura de la diáfisis del hueso en cuestión, reduciendo la resistencia a la deformación plástica prefractura (comportamiento “quebradizo” del hueso). Para las *tramas trabeculares*, el microdaño afecta la transmisión de las cargas desde las superficies articulares hacia las paredes corticales, poniendo en riesgo la integridad del cartílago metafisario y reduciendo la resistencia a la compresión en el caso especial de los cuerpos vertebrales, en proporción inversa a la fortaleza de sus cortezas.

La Figura 2 muestra, en términos relativos, la mayor importancia que tiene la reducción de la resistencia *plástica* que la de la resistencia *elástica* en las fracturas por *stress*, y cómo

la propiedad ósea que sufre en esos casos, más que la rigidez, es la *tenacidad*.

Lamentablemente, la tenacidad ósea solo está “controlada”, a nivel tisular, por la tasa de *targeted remodeling*³⁹ inducida por el microdaño lineal (Figura 1), y a nivel molecular, por procesos fisicoquímicos de naturaleza todavía incierta, tal vez promovidos por mediadores proteicos osteocíticos, pero independientes de la remodelación. No está definido si estos mecanismos constituyen o no un verdadero “*mecanostato* de la tenacidad”, pero las apariencias inducen a aceptarlo.

De todos modos, no se conocen recursos para evaluar la tenacidad ósea tisular ni estructural en forma no invasiva, como lo requeriría un diagnóstico de “reducción de la resistencia ósea a la fatiga”. La pQCT puede analizar el diseño óseo, pero no la tenacidad del tejido mineralizado.⁴⁴ La *microindentación*⁴² puede estimar mini-invasivamente la capacidad del tejido óseo para resistir la penetración, que es correlativa de su rigidez intrínseca dentro del marco del comportamiento elástico, y también puede evaluar su aptitud para recuperar la forma inicial, condición que puede estimar su tenacidad en forma indirecta,⁴² pero su empleo clínico requiere aún una amplia validación.

Esta incapacidad para evaluar la tenacidad ósea (o la resistencia a la fatiga) dificulta la investigación de los efectos de tratamientos destinados a mejorarla.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: octubre 2015.

Aceptado: febrero 2016.

Referencias

1. Ferretti JL. Biomechanical properties of bone. In: Genant HK, Guglielmi G, Jergas M (eds). *Bone Densitometry and Osteoporosis*. Springer: Berlín, 1998, p. 143-61.
2. Fratzl P. When the cracks begin to show. *Nature Mater* 2008; 7:810-2.
3. Currey JD. How well are bones designed to resist fracture? *J Bone Miner Res* 2003; 18:591-8.
4. Cointry RG, Capozza RF, Negri AL, Roldán EJA, Ferretti JL. Biomechanical background for a noninvasive assessment of bone strength and muscle-bone interactions. *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; 4:1-11.
5. Fantner G, Hassenkam T, Kindt JH, et al. Sacrificial bonds and hidden length dissipate energy as mineralized fibrils separate during bone fracture. *Nature Mater* 2005; 4:612-5.
6. Currey JD. The many adaptations of bone. *J Biomech* 2003; 36:1487-95.
7. Burr DB. Repair mechanisms for microdamage in bone. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2537-44.
8. Fazzalari NL, Forwood MR, Mathey BA, Smith K, Kolesik P. Three-dimensional confocal images of microdamage in cancellous bone. *Bone* 1998; 23:373-8.
9. Reilly GC, Currey JD. The development of microcracking and failure in bone depends of the loading mode to which it is adapted. *J Exper Biol* 1999; 202:543-52.
10. Boyce TM, Fyhrie DP, Glotkowski MC, Radin EL, Schaffler MB. Damage type and strain mode associations in human compact bone bending fatigue. *J Orthop Res* 1998; 16:322-9.
11. Vashishth D, Koontz J, Qiu SJ, et al. In vivo diffuse damage in human vertebral trabecular bone. *Bone* 2000; 26:147-52.
12. Diab T, Condon KW, Burr DB, Vashishth D. Age-related change in the damage morphology of human cortical bone and its role in bone fragility. *Bone* 2006; 38:427-31.
13. Braidotti P, Branca SP, Stagni L. Scanning electron microscopy of human cortical bone failure surfaces. *J Biomech* 1997; 30:155-62.
14. Zioupos P, Currey JD, Sedman AJ. An examination of the micromechanics of failure of bone and antler by acoustic emission tests and Laser Scanning Confocal Microscopy. *Med Eng Phys* 1994; 16:203-12.
15. Burr DB, Turner CH, Naick P, et al. Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone? *J Biomech* 1998; 31:337-45.
16. Martin RB, Burr DB, Sharkey NA. *Skeletal Tissue Mechanics*. Springer: New York 1998.
17. Diab T, Sit S, Kim D, Rho J, Vashishth D. Age dependent fatigue behaviour of human cortical bone. *Eur J Morphol* 2005; 42:53-9.
18. Green JO, Wang J, Diab T, Vidakovic B, Guldborg RE. Age related differences in the morphology of microdamage propagation in trabecular bone. *J Biomech* 2011; 44:2659-66.
19. Seref-Ferlengez Z, Basta-Pijakic J, Kennedy OD, Philemon CJ, Schaffler MB. Structural and mechanical repair of diffuse damage in cortical bone in vivo. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2537-44.
20. Boyde A. The real response of bone to exercise. *J Anat* 2003; 203:173-89.
21. Thompson JB, Kindt JH, Drake B, Hansma HG, Morse DE, Hansma PK. Bone indentation recovery time correlates with bond reforming time. *Nature* 2001; 414:773-6.
22. Currey J. Sacrificial bonds heal bone. *Nature* 2001; 414:699.
23. Yeni YN, Fyhrie DP. Collagen bridged microcrack model for cortical bone tensile strength. *ASME Boeing Conf* 2001; 50:293-4.
24. Diab T, Vashishth D. Morphology, localization and accumulation of in vivo microdamage in human cortical bone. *Bone* 2007; 40:612-8.
25. Diab T, Sit S, Kim D, Rho J, Vashishth D. Age-dependent fatigue behavior of human cortical bone. *Eur J Morphol* 2005; 42:53-9.
26. Green JO, Wang J, Diab T, Vidakovic B, Guldborg RE. Age-related differences in the morphology of microdamage propagation in trabecular bone. *J Biomech* 2011; 44:2659-66.
27. Burr DB, Forwood MR, Fyhrie DP, Martin RB, et al. Bone microdamage and skeletal fragility



- in osteoporotic and stress fractures. *J Bone Miner Res* 1997; 12:6-15.
28. Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res* 2000; 15:60-7
29. Nicoletta DP, Moravits DE, Siller-Jackson AJ. Ultrastructural characterization of damaged cortical bone using atomic force microscopy. *ASME-BED* 1999; 42:1.
30. Currey JD. Sacrificial bonds heal bone. *Nature* 2001; 414:699.
31. Boyde A. The real response of bone to exercise. *J Anat* 2003; 203:173-89.
32. Fantner GE, Oroudjev E, Shitter G, et al. Sacrificial bonds and hidden length: Unraveling molecular mesostructures in tough materials. *Biophys J* 2006; 90:1411-8.
33. Seref-Ferlengez Z, Basta-Plajakic J, Kennedy OD, Philemon CJ, Schaffler MB. Structural and mechanical repair of diffuse damage in cortical bone in vivo. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2537-44.
34. Herman BC, Cardoso L, Majeska RJ, Jepsen KJ, Schaffler MB. Activation of bone remodeling after fatigue: differential response to linear microcracks and diffuse damage. *Bone* 2010; 47:766-72.
35. Vashishth D, Koontz J, Qiu SJ, et al. In vivo diffuse damage in human vertebral trabecular bone. *Bone* 2000; 26:147-52.
36. Ferretti JL, Frost HM. Osteopenias and osteoporoses. Muscle-bone interactions, absorptiometry, safety factors, and fracture risk. In: An YH (ed). *Orthopedics issues in osteoporosis*. Boca Raton (FL): CRC Press, 2003, p. 203-17.
37. Frost HM (ed). *The Utah Paradigm of Skeletal Physiology*, Vols I & II. Athens: ISMNI, 2002.
38. Burr DB. Targeted and nontargeted remodeling. *Bone* 2002; 30:2-4.
39. Cardoso L, Herman BC, Verborgt O, Laudier D, Majeska RJ, Schaffler MB. Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *J Bone Miner Res* 2009; 24:597-605.
40. Nagaraja S, Couse TL, Guldberg RE. Trabecular bone microdamage and microstructural stresses under uniaxial compression. *J Biomech* 2005; 38:707-16.
41. Arlot ME, Burt-Pichat B, Roux JP, Vashishth D, Bouxsein ML, Delmas PD. Microarchitecture influences microdamage accumulation in human vertebral trabecular bone. *J Bone Miner Res* 2008; 23:1613-8.
42. Díez-Pérez A, Güerri R, Nogués X, et al. Microindentation for in vivo measurement of bone tissue mechanical properties in humans. *J Bone Miner Res* 2010; 25:1877-85.

ACTUALIZACIONES / Reviews

ASPECTOS CLÍNICOS DE LAS FRACTURAS POR *STRESS*

Haraldo Claus Hermberg,* María Josefina Pozzo

Servicio de Endocrinología. Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina

Resumen

Las fracturas de *stress* son el resultado de la reiteración de cargas mecánicas en ciclos de intensidad, duración y frecuencia variables que, aplicadas como estímulos únicos, no serían suficientes para provocarlas. En líneas generales, el mecanismo propuesto para la generación de las fracturas de *stress* por fatiga es un desborde de la capacidad reparatoria de las microfracturas provocadas por las cargas de un exigente entorno mecánico, que corre a cargo de la remodelación ósea. Inicialmente fueron reportadas en el personal militar (en especial reclutas durante el período de instrucción) y luego en deportistas de diversas disciplinas que implican correr y/o saltar. Siendo esta la población primariamente en riesgo, se identificaron numerosos factores adicionales. En esta revisión se expondrán solamente aquellos de naturaleza endocrinometabólica y biomecánica. El síntoma inicial más frecuente de las fracturas por fatiga es el dolor focal, y su frecuencia es alta en los miembros inferiores. Se presenta al final de la actividad física, para luego extenderse a todo su curso y, finalmente, afectar también la deambulación diaria. El examen físico típicamente denota hipersensibilidad o dolor localizado sobre el área del hueso afectado, que a veces puede estar tumefacto. El diagnóstico se basa en las imágenes; la resonancia magnética nuclear es

la de mayor sensibilidad y especificidad y la que permite un diagnóstico temprano, lo que es importante para prevenir un potencial progreso de la lesión a una fractura completa, osteosíntesis retardada o no unión, y necrosis ósea.

Palabras clave: fracturas por *stress*, cargas mecánicas reiteradas, deporte, atletas, resonancia magnética nuclear, edema óseo.

Abstract

CLINICAL FEATURES OF STRESS FRACTURES

Stress fractures are the result of repeated cyclical loading whose intensity, duration and frequency are variable. These loads, applied as single stimuli, would not be enough to produce them. Overall, the proposed mechanism that generates fatigue fractures is an overflow in repair capacity, which is normally run by bone remodeling. They were first reported in military population (especially recruits during the training period) and later in athletes of various disciplines that involve running and / or jumping. This is primarily the population at risk. Other factors have been identified, only endocrine, metabolic and biomechanical will be discussed. The most common initial symptom of fatigue fractures is focal pain and frequency is high in the lower limbs. They appear at the end of physical activity, then spread throughout

* Correo electrónico: hclaus@fibertel.com.ar



their course, and ultimately affect the daily ambulation. Physical examination typically shows hypersensitivity or localized pain on the area of the affected bone, which can sometimes be swollen. Diagnosis is based on images. Nuclear magnetic resonance has the highest sensitivity and specificity and allows early diagnosis, what is essential to prevent a potential progression of injury to a complete fracture, delayed healing or nonunion and bone necrosis.

Key words: stress fractures, repeated cyclical loading, sports, athletes, nuclear magnetic resonance, osseous edema.

Introducción y definición conceptual de las fracturas “de stress por fatiga”

Las fracturas de *stress* son el resultado de la reiteración de cargas mecánicas en ciclos de intensidad, duración y frecuencia variables que, aplicadas como estímulos únicos, no serían suficientes para provocarlas. Estas fracturas no resultan de un evento, como las fracturas traumáticas o por fragilidad, sino del desarrollo temporal de un proceso.^{1,2}

El mecanismo de las fracturas de *stress* es asimilable, en un sentido general, a las fallas “por fatiga” que sufren los materiales y las estructuras expuestas a cargas repetidas, fenómeno de interés para los ingenieros. Experimentalmente es posible producir fracturas de *stress*, *in vivo* y *ex vivo*.^{3,4}

La deformación repetida del hueso puede provocar una fractura por fatiga sin necesidad de una enfermedad ósea subyacente, que podría configurar una fractura por insuficiencia o “por fragilidad”.

Las fracturas de *stress* por fatiga fueron inicialmente reportadas en reclutas militares durante el período de instrucción, que incluye entrenamiento y marchas prolongadas -“fracturas de marcha”-, y luego en atletas profesionales o recreacionales, en especial los que practican disciplinas muy difundidas, que implican correr y/o saltar.⁵⁻⁸ Las fracturas de *stress* por insuficiencia, en cambio, ocurren en el marco de las exigencias mecánicas de la vida cotidiana

en pacientes de osteopatías genéticas o adquiridas, menos frecuentes, cuya descripción excede el propósito de esta revisión. Serán consideradas, sin embargo, a título ilustrativo y para abordar su diagnóstico diferencial.

En líneas generales, el mecanismo propuesto para la generación de una propensión a las fracturas de *stress* por fatiga es un desborde de la capacidad reparatoria de las microfracturas provocadas por las cargas de un exigente entorno mecánico, que corre a cargo de la remodelación ósea.^{9,10}

Si bien la carga o el impacto repetitivos son factores etiológicos necesarios para las fracturas de fatiga, no todos los individuos expuestos las sufren. Por lo tanto, evaluaremos las características demográficas y otros potenciales factores, más o menos relevantes, que contribuirían a identificar a la población con mayor riesgo.

En esta revisión se enfatizan los factores de naturaleza endocrinometabólica y biomecánica, por su significado biológico para la clínica en general y para las osteopatías médicas en particular, antes que aspectos de competencia de la deportología, la medicina física y la traumatología, como las características estructurales y funcionales del pie, la rigidez de la rodilla, la fuerza de los abductores de la cadera, la desigual longitud de los miembros inferiores, el lado dominante (derecho, zurdo), o las características del calzado y del terreno.¹¹⁻¹⁷

Diagnóstico

A. Clínica

El síntoma inicial más frecuente de las fracturas por fatiga es el dolor focal, y su frecuencia es alta en los miembros inferiores. En atletas y militares se presenta al final de la actividad física, para luego extenderse a todo su curso y, finalmente, afectar también la deambulación diaria.¹⁸ El dolor puede ser poco característico, en una población expuesta a muchas otras lesiones de las estructuras anatómicas relativas a la locomoción, que también se encuentran funcionalmente exigidas, y puede irradiarse a zonas vecinas y aun alejadas.

El examen físico típicamente denota hipersensibilidad o dolor localizado sobre el área del hueso afectado, que a veces puede estar tumefacta.^{19,20} Existen pruebas y maniobras semiológicas específicas para fracturas de stress de determinadas regiones anatómicas.²¹

Es importante un diagnóstico temprano, pues su retraso incrementa la morbilidad.

Estas fracturas pueden representar del 2 al 20% de las lesiones deportivas.⁷ En los atletas de pista (velocistas), las fracturas más comunes son de escafoides, tibia y metatarso; en los corredores de larga distancia, de tibia y de peroné, y en los reclutas, de calcáneo y de metatarso.²² Las fracturas del metatarso involucran principalmente los huesos 2° y 3°, y en las del 5° suele haber un antecedente traumático. Las fracturas de stress por fatiga también pueden ubicarse en la diáfisis, la región intertrocanterica, el cuello y la cabeza del fémur.²³ Las ramas y sínfisis pubianas y el sacro son las estructuras pélvicas más afectadas.

Los antecedentes y características más importantes son una fractura de stress previa, el sexo femenino, un aumento brusco en la intensidad de entrenamiento, el nivel de competencia en las semanas previas a los síntomas y los componentes del “síndrome de la tríada de la atleta femenina”: déficit energético (insuficiente ingesta calórica para compensar el gasto), oligomenorrea como signo de hipoestrogenismo en el contexto del síndrome de amenorrea funcional hipotalámica y osteoporosis.²³⁻²⁷ Una complicación de este síndrome es, precisamente, la fractura de stress. Si bien su frecuencia es variable, ésta llamó la atención del *American College of Sports Medicine* (ACSM) al punto de proponer oficialmente guías para su diagnóstico precoz y tratamiento.²⁷

La edad no está vinculada al riesgo de fractura de stress en todos los estudios; pero, cuando lo está, la relación es contradictoria y depende de las características de la cohorte estudiada.²⁸ En mujeres adolescentes que participan de competencias colegiales, las fracturas son más frecuentes en las de menor edad, y la relación se

invierte en atletas adultas y en personal militar.^{28,29} La influencia de la edad de la menarca es contradictoria.

Varios trabajos de caso-control y longitudinales encontraron que bajos niveles de 25(OH)D₃ constituyen un mayor riesgo de fractura. En un estudio longitudinal, su incidencia en el grupo correspondiente al quintil inferior (1,5 a 19,7 ng/ml) fue el doble que en el grupo del quintil superior (39,9 a 112 ng/ml).³⁰⁻³² En otro estudio longitudinal, con soldados, se evaluaron los marcadores óseos de formación (fosfatasa alcalina ósea, péptido aminoterminal del procolágeno tipo I) y de resorción (fosfatasa ácida tartrato-resistente, *cross-laps*) antes y durante un período de 18 semanas de instrucción; al final del estudio, se observó que solo se redujeron, leve pero significativamente, los marcadores de formación, sin diferencias entre soldados que experimentaron o no fractura de stress.³³

B. Imágenes

Las imágenes constituyen la base para el diagnóstico no invasivo de las fracturas de stress. Como los procesos determinantes de estas fracturas varían de un caso a otro, las distintas modalidades de imágenes difieren en sensibilidad y especificidad diagnóstica en distintas etapas de su evolución.

Como la evaluación de la importancia y dignidad de una fractura de stress requiere un examen clínico completo, la información aportada por las imágenes (altamente dependiente de la experiencia y el entrenamiento del especialista) puede contribuir a su diagnóstico diferencial.

Las fracturas por fatiga se observan en huesos portantes, en especial las ramas del pubis, la cadera, la diáfisis tibial, el tarso y los metatarsianos.²³ La línea de fractura es delgada, habitualmente transversa, y frecuentemente se localiza en la superficie cóncava -expuesta a fuerzas compresivas- de los huesos largos y del cuello femoral, pudiendo comprometer solo una o ambas cortezas y exhibiendo una reacción perióstica -el callo- de magnitud variable, proporcional al tiempo de su evolución.



Las fracturas de insuficiencia observadas en la osteomalacia, conocidas como zonas de Looser y mal llamadas pseudofracturas (puesto que son verdaderas fracturas de *stress*), son habitualmente múltiples, muchas veces simétricas y más ubicuas que las demás, y ocurren, además en los sitios propios de las fracturas por fatiga, en huesos que no cumplen funciones antigravitacionales, como las costillas y los bordes laterales de la escápula. La *banda de lucencia* es ancha, con márgenes paralelos flanqueados por una escasa esclerosis y un callo poco abundante, que aumenta su volumen si el tratamiento es exitoso.²³ Estas lesiones por osteomalacia se observan en deficiencias graves y prolongadas de vitamina D, y en cuadros de malabsorción intestinal e hipofosfatemia de causa secundaria o inducida por tumores.^{24,34,35}

Las fracturas femorales atípicas, últimamente en la mira de los especialistas en osteoporosis por su relación con el uso prolongado de bifosfonatos, son fracturas completas ocasionadas por cargas mínimas, menores que las involucradas en las fracturas por osteoporosis de la posmenopáusicas y a veces hasta ocurren espontáneamente, por lo que, en la jerga traumatológica, se las denomina “de baja energía”. Están precedidas por una fractura de *stress*, que fragiliza la zona y se caracteriza por localizarse inicialmente en la superficie externa cortical -sometida a fuerzas de tensión-, que muestra un engrosamiento perióstico y endocortical y un engrosamiento bilateral de la corteza externa, manifestando, además, un retardo curativo.^{32,36} Pueden también observarse, esporádicamente, fracturas con características y pródromos similares, en pacientes con osteoporosis, hipofosfatemia, picnodisostosis y osteosclerosis. En estos casos también pueden afectarse los metatarsianos.^{37,39}

La radiología convencional (muchas veces la primera imagen que se solicita cuando se sospecha una lesión ósea) permite constatar una fractura ya instalada, reconociéndose un trazo radiolúcido de orientación transversa al eje del hueso, flanqueado por una línea de hueso escleroso más o menos definido y una reacción

perióstica o callo de desarrollo variable, ausente en las fracturas intracapsulares, por carencia de periostio.^{34,40,41}

La tomografía computarizada de alta resolución, gracias a su capacidad de reconstruir los cortes en 3D, permite observar soluciones de continuidad de estructuras óseas más pequeñas. Es una técnica para tener en cuenta cuando se presume una fractura de sacro que puede no ser detectada por la resonancia magnética nuclear.^{42,43}

La centellografía evidencia tempranamente la lesión ósea, al poner de manifiesto el proceso de reparación de la lesión, que implica a nivel del material óseo y tisular, su recambio a cargo de los osteoclastos, y un nuevo depósito de matriz y su mineralización por parte de los osteoblastos. Su sensibilidad es muy alta pero, como ocurre para todas las lesiones óseas con alto recambio óseo focal, su especificidad es baja.^{43,44}

La resonancia nuclear magnética (RNM) es la tecnología de imágenes con mayor sensibilidad y especificidad, cercanas ambas al 100%, para diagnosticar las fracturas de *stress* en todas sus etapas, incluso las más tempranas, expresadas por edema de la medula ósea.^{40,42,45} Es el método de referencia, el más redituable y el que mejor permite un diagnóstico precoz (Figura 1 y 2).^{40,42}

De acuerdo con las características de las imágenes y las regiones de los huesos afectados, puede establecerse un riesgo alto o bajo de fracturas. Las fracturas de *stress* por fatiga producidas en sujetos considerados con alto riesgo incluyen una tendencia a progresar a una fractura completa, y a presentar osteosíntesis retardada o no unión y necrosis ósea.^{46,47} Por lo tanto, requieren tratamiento quirúrgico y equipamiento para descargar el peso corporal. Afectan las regiones sometidas a deformaciones de tensión del eje biomecánico natural del hueso, e incluyen el 5º metatarsiano, la superficie anterior de la tibia, el escafoide, la superficie supero-externa del cuello femoral, la rótula, el maléolo medial, el cuello del astrágalo y el sesamoideo del primer metatarsiano.^{47,48} Las fracturas con evolución natural

favorable, que habitualmente no requieren tratamiento quirúrgico ni equipamiento para evitar la carga del peso, afectan el lado del hueso donde la deformación es compresiva: los metatarsianos 2º a 4º, el calcáneo, la tibia posteromedial, el peroné y el cuello femoral inferomedial.^{47,48}

Recursos diagnósticos y terapéuticos relacionados con la fisiopatología

La recomendación de regímenes adecuados de actividad física a lo largo de la vida, en especial desde la adolescencia temprana, está ampliamente consensuada, tanto en beneficio



Figura 1. Paciente varón de 45 años. Trota 1 hora por día. Antecedente de edema óseo de varios huesos del pie dos años antes. Presentó dolor en extremo distal de pierna derecha y radiografía simple normal. **A.** RMN secuencia T1. Se observa trazo lineal en extremo distal de la tibia y maléolo tibial compatible con fractura. **B.** RMM secuencia T2 con supresión grasa: se observa imagen hiperintensa compatible con edema óseo con trazo de fractura menos evidente que en T1.

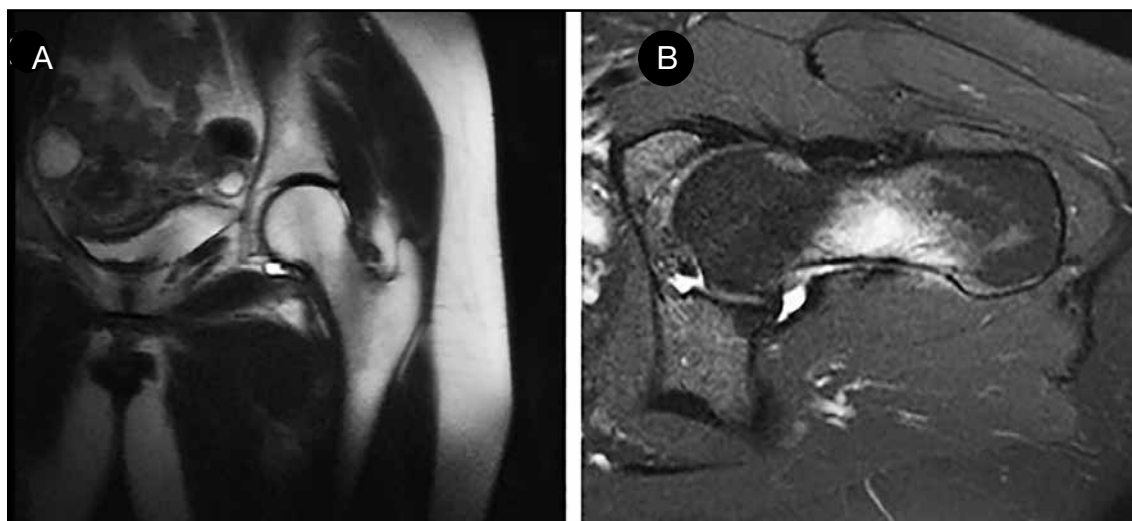


Figura 2. Paciente mujer 41 años, maratonista, índice de masa corporal: 21. Presentó dolor en región inguinal exacerbado con la deambulación. **A.** RMN en secuencia T1 se observa imagen hipointensa en cuello femoral. **B.** RMN en secuencia T2 con supresión grasa; se observa edema óseo en corte que pasa por el eje del cuello femoral.



de la salud en general como para optimizar las funciones de los sistemas cardiometabólico y musculoesquelético.^{49,50} La ocurrencia predominante de las fracturas de *stress* por fatiga en la población que cumple con esa recomendación con mayor apego indica la necesidad de una medida (dosis) y un contexto. Analizaremos las alteraciones de estos dos requisitos en función de los referidos factores de riesgo, aportados por la epidemiología y por estudios de caso-control y longitudinales.

Una actividad física intensa, asociada a una insuficiente disponibilidad calórica (con trastornos de la alimentación o sin ellos), amenorrea y osteoporosis, registrados tanto aisladamente como combinados en lo que se conoce como “la tríada de la mujer atleta”, constituyen un significativo riesgo para la salud en niñas, adolescentes y mujeres.^{27,51} Cada una de ellas representa una situación patológica propia dentro de un espectro de condiciones subclínicas interrelacionadas. El déficit calórico se cuantifica calculando la energía disponible (ED) de acuerdo con la siguiente ecuación: $ED = (\text{energía ingerida} - \text{demanda energética del ejercicio}) / \text{masa magra (MM)}$. Se considera que hay un déficit de ED cuando el resultado es menor de 30 kcal/kg MM/día. Los casos más graves se observan en situaciones patológicas como la anorexia nerviosa, pero las formas habituales pueden presentarse inadvertidamente, en personas que persiguen un objetivo corporal estético, sin constituir una verdadera alteración de la conducta alimentaria.²⁷ De hecho, el índice de masa corporal, $IMC = \text{peso (kg)} / \text{estatura}^2 (\text{m}^2)$, es solo 1 o 2 puntos menor que el de las atletas controles. Esta condición subclínica muchas veces va de la mano del síndrome de amenorrea funcional hipotalámica, con el consiguiente hipogonadismo, aunque su causalidad es más compleja y comprende factores psicológicos.²⁷

No está aún dilucidado cómo impactan estos factores en la capacidad del hueso para evitar su degradación estructural reponiéndose a ella con igual velocidad. Se han reportado algunos efectos negativos. En un estudio clínico

aleatorizado, la tasa de remoción ósea aumentó, asociada a una declinación de la formación, luego de 5 días de una reducción de ED a menos de 30 kcal/kg MM/día.⁵² Estos efectos podrían estar mediados por el hipo-estrogenismo de la amenorrea funcional hipotalámica y por otras alteraciones hormonales asociadas, como un descenso del IGF-1 y la leptina y un aumento del cortisol.^{53,54}

El tercer componente de la tríada, la osteoporosis, no debe extrapolarse a la categoría de osteoporosis posmenopáusica por densitometría, definida sobre la base del *T-score* de DMO por la OMS. La ISCD propuso, en cambio, que la DMO de mujeres premenopáusicas se exprese en *Z-scores* referidos a controles de igual edad y que valores menores de -2 sean reportados como “DMO inferior a lo esperado para la edad”.⁵⁵ En la mayoría de los estudios caso-control, las mujeres que sufrieron fracturas por fatiga tuvieron, en promedio, DMO y CMO más bajos que los controles, pero con *Z-scores* de alrededor de -1.^{28,56,57} Estas mujeres no presentan valores menores de DMO cuando se los compara con los de mujeres que no practican deportes, pero en esa instancia debe tenerse presente que, en general, las atletas tienen una DMO un 15% mayor que la población de referencia.^{57,58} En algunos estudios solo se constata una mayor prevalencia de valores bajos de DMO asociados a fracturas de regiones con predominio de hueso trabecular, como la pelvis y el calcáneo, mientras que otros presentan tibias más esbeltas y con menor módulo seccional, y suelen sufrir fracturas de huesos tubulares con predominio de hueso cortical.^{46,59} No está estrictamente recomendado medir sistemáticamente la DMO en mujeres deportistas, excepto que presenten una inadecuada ingesta calórica o alteraciones del ritmo menstrual.⁶⁹ Tampoco sería útil evaluar estas alteraciones, pues no se han propuesto valores umbrales mínimos para recomendar el comienzo o la continuación de la actividad física, ni gradientes de riesgo en función de DS de descenso de la DMO; ni se conocen medidas preventivas eficaces, excepto co-

rregir las conductas dietéticas cuando estuviera indicado.²⁷ En este último caso, si la condición se asocia a un cuadro de amenorrea funcional hipotalámico, la mejor prevención consiste en la corrección de los hábitos y del estilo de vida, por sobre el tratamiento hormonal con anticonceptivos, cuya indicación puede considerarse si lo anterior no se lograra.^{16,27,49,60}

Si bien la fractura por fragilidad es la manifestación más sobresaliente de la osteoporosis, excepcionalmente pueden también observarse fracturas de *stress* en mujeres osteoporóticas posmenopáusicas, que son consideradas por algunos como de insuficiencia más que por fatiga. Estas fracturas se diferenciarían clínicamente de las otras fracturas por insuficiencia propias de las entidades nosológicas ya señaladas, por asociarse a una baja masa ósea, con alteración de la estructura de los huesos o sin ella, y no a una calidad anormal del material óseo –aún con densitometría elevada en algunos casos–, y a una disrupción de todos los procesos homeostáticos óseos.

Un aspecto cualitativo, no explicado por la fisiopatología, es la relación de las fracturas por fatiga en deportistas con el antecedente de un incremento brusco en la rutina de entrenamiento o de competencia. Se aconseja que estos cambios se efectúen gradualmente, en semanas, para optimizar la “adaptación” pretendida, cuya naturaleza se desconoce, pero que no tiene relación con los efectos beneficiosos del ejercicio a largo plazo.²²

Desde el punto de vista de la deportología, esta adaptación está conceptualmente asociada a un contexto más amplio: la adaptación musculoesquelética, que se orienta a lograr un mejor estado aeróbico, mejorar habilidades, fortalecer los músculos y lograr una mayor resistencia de estos a la fatiga. Cualquier aficionado al fútbol –en nuestro país abundan– sabe que una buena pre-temporada evita lesiones durante la competencia, entre ellas las fracturas de *stress* por fatiga.⁶¹ Con respecto a esto último hay evidencias que muestran que una óptima función muscular contribuye a disipar la energía

de los impactos propios de la carrera, del frenado y de las caídas. Una merma de esta función por fatiga muscular expondría a las reales estructuras portantes del cuerpo (huesos, cartílagos, ligamentos) a los efectos nocivos de esa energía de impacto.^{30,62,63}

La consecuencia sobre los huesos de la repetida exigencia mecánica en rangos fisiológicos y por lo tanto por debajo del umbral de carga que provocaría su fractura instantánea, provoca –como ya lo mencionaron Ferretti y cols. en este mismo número de *Actualizaciones en Osteología*– básicamente dos tipos de efecto: *microcracks* (grietas) mayores de 100 μm y microdaño representado por soluciones de continuidad menores de 10 μm en el seno del material óseo. Las primeras se reparan por el clásico proceso de remodelación ósea que tarda semanas a meses.^{64,65} El microdaño, en cambio, se repara en forma espontánea sin intervención de actividad celular alguna –es una propiedad intrínseca del material óseo– en un lapso de días a semanas. El hueso así modificado es al inicio mecánicamente menos competente, propiedad que sin embargo es mejorada por encima de su nivel inicial luego de completada su reparación, ya que soporta una mayor energía antes de fracturarse.⁶⁵ Los tiempos con los que se proyecta el progreso de la intensidad de actividad en los planes de adaptación (pre-temporada en los casos competitivos) es también de semanas, coincidente con el ciclo de inicio y reparación del microdaño óseo.⁶⁶ Este dato podría sugerir, aunque por el momento solo en forma especulativa, que el proceso del microdaño óseo es un elemento para considerar a fin de explicar el efecto preventivo de fracturas de *stress* de los planes de entrenamiento.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: octubre 2015.

Aceptado: febrero 2016.



Referencias

1. Olvera D, Zimmermann EA, Ritchie RO. Mixed-mode toughness of human cortical bone containing a longitudinal crack in far-field compression. *Bone* 2012; 50:331-6.
2. Voide R, Schneider P, Stauber M, van Lenthe GH, Stambanoni M, Müller R. The importance of murine cortical bone microstructure for microcrack initiation and propagation. *Bone* 2011; 49:1186-93.
3. Frost HM. Presence of microscopic cracks in vivo in bone. *Henry Ford Hosp Med Bull.* 1960; 8:25-35.
4. Boyce TM, Fyhrie DP, Glotkowski MC, Radin EL, Schaffler MB. Damage type and strain mode associations in human compact bone bending fatigue. *J Orthop Res.* 1998; 16:322-9.
5. Branch H. March fractures of the femur. *J Bone Joint Surg Am* 1944; 26:387-91.
6. Peterson L. March fracture of the femur—report of a case. *J Bone Joint Surg Am* 1942; 24:185-8.
7. Lassus J, Tulikoura I, Kontinen YT, et al. Bone stress injuries of the lower extremity: a review. *Acta Orthop Scand* 2002; 73: 359-68.
8. Fredericson M, Jennings F, Beaulieu C, Matheson GO. Stress fractures in athletes. *Topics in magnetic resonance imaging. TMRI* 2006; 17:309-25.
9. Schaffler MB. Bone fatigue and remodeling in the development of stress fractures. In: Burr DB, Milgrom C (eds). *Musculoskeletal Fatigue and Stress Fractures*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2001, p. 161-82.
10. Martin RB. The role of bone remodeling in preventing or promoting stress fractures. In: Burr DB, Milgrom C (eds). *Musculoskeletal Fatigue and Stress Fractures*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2001, p. 183-201.
11. Kaufman KR, Brodine SK, Shaffer RA, et al. The effect of foot structure and range of motion on musculoskeletal overuse injuries. *Am J Sports Med* 1999; 27:585-93.
12. Cowan DN, Jones BH, Frykman PN, et al. Lower limb morphology and risk of overuse injury among male infantry trainees. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28:945-52.
13. Friberg O. Leg length asymmetry in stress fractures: clinical and radiological study. *J Sports Med Phys Fitness* 1982; 22:485-8.
14. Milner CE, Hamill J, Davis I. Are knee mechanics during early stance related to tibial stress fracture in runners? *Clinical Biomechanics* 2007; 22:697-703.
15. Monteleone GP Jr. Stress fractures in the athlete. *Orthop Clin North Am* 1995; 26: 423-32.
16. Gardner LI Jr, Dziados JE, Jones BH, et al. Prevention of lower extremity stress fractures: a controlled trial of a shock absorbent insole. *Am J Public Health* 1988; 78:1563-7.
17. Milgrom C, Finestone A, Segev S, Olin C, Arndt T, Ekenman I. Are overground or treadmill runners more likely to sustain tibial stress fracture? *Br J Sports Med* 2003; 37:160-3.
18. Berger FH, de Jonge MC, Maas M. Stress fractures in the lower extremity: the importance of increasing awareness amongst radiologists. *Eur J Radiol* 2007; 62:16-26.
19. Matheson GO, Clement DB, McKenzie DC, Taunton JE, Lloyd-Smith DR, MacIntyre JG. Stress fractures in athletes: a study of 320 cases. *Am J sports Med* 1987; 15:46-58.
20. Boden BP, Osbahr DC. High-risk stress fractures: evaluation and treatment. *J Am Acad Orthop Sur* 2000; 8:344-53.
21. Johnson AW, Weiss CB Jr, Wheeler DL. Stress fractures of the femoral shaft in athletes: more common than expected. A new clinical test. *Am J Sports Med* 1994; 22:248-56.
22. Goldberg B, Pecora P. Stress fractures: a risk of increased training in freshmen. *Phys Sportsmed* 1994; 22:68-78.
23. Kahanov L, Eberman LE, Games KE, Wasik M. Diagnosis, treatment and rehabilitation of stress fractures in the lower extremity in runners. *Journal of Sports Medicine* 2015; 6:87-95.
24. Giladi M, Milgrom C, Kashtan H, et al. Recurrent stress fractures in military recruits: one-year follow-up of 66 recruits. *J Bone Joint Surg* 1986; 68B:439-41.

25. Brunet ME, Cook SD, Brinker MR, et al. A survey of running injuries in 1505 competitive and recreational runners. *J Sports Med Phys Fitness* 1990; 30:307-15.
26. Proztman RR, Griffis CC. Comparative stress fracture incidence in males and females in an equal training environment. *Athletic Train* 1971; 121:126-31.
27. Nattiv A, Loucks AB, Manore MM, Sanborn CF, Sundgot-Borgen J, Warren MP. College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. The female athlete triad. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39:1867-82.
28. Kelsey JL, Bachrach LK, Procter-Gray E, et al. Risk factors for stress fracture among young female cross-country runners. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39:1457-63.
29. Brudvig TJ, Gudger TD, Obermeyer L. Stress fractures in 295 trainees: a one-year study of incidence as related to age, sex, and race. *Mil Med* 1983; 148:666-7.
30. Ruohola J-P, Laaksi I, Ylikomi T, et al. Association Between Serum 25(OH)D Concentrations and Bone Stress Fractures in Finnish Young Men. *J Bone Miner Res* 2006; 21:1483-8.
31. Lappe J, Cullen D, Haynatzki G, et al. Calcium and Vitamin D Supplementation Decreases Incidence of Stress Fractures in Female Navy Recruits. *J Bone Miner Res* 2008; 23:741-9.
32. Burgi AA, Gorham ED, Garland CF, et al. High Serum 25-Hydroxyvitamin D is associated with a low incidence of stress fractures. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2371-7.
33. Yanovich R, Evans RK, Friedman E, Moran DS. Bone turnover markers do not predict stress fracture in elite combat recruits. *Clin Orthop Relat Res* 2013; 471:1365-72.
34. McKenna MJ, Heffernan E, Hurson C, McKiernan FE. Clinician approach to diagnosis of stress fractures including bisphosphonate-associated fractures. *Q J Med* 2014; 107:99-105.
35. McKenna MJ, Kleerekoper M, Ellis BI, Rao DS, Parfitt AM, Frame B. Atypical insufficiency fractures confused with Looser zones of osteomalacia. *Bone* 1987; 8:71-8.
36. Odvina CV, Zerwekh JE, Rao DS, Maalouf N, Gottschalk FA, Pak CY. Severely suppressed bone turnover: a potential complication of alendronate therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1294-301.
37. Shane E, Burr D, Abrahamsen B, Adler RA, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2014; 29:1-23.
38. Sutton RA, Mumm S, Coburn SP, Ericson KL, Whyte MP. "Atypical femoral fractures" during bisphosphonate exposure in adult hypophosphatasia. *J Bone Miner Res* 2012; 27:987-94.
39. Yates CJ, Bartlett MJ, Ebeling PR. An atypical subtrochanteric femoral fracture from pycnodysostosis: a lesson from nature. *J Bone Miner Res* 2011; 26:1377-9.
40. Sofka CM. Imaging of stress fractures. *Clin Sports Med* 2006; 25:53-62.
41. Fredericson M, Jennings F, Beaulieu C, Matheson GO. Stress fractures in athletes. *Top Magn Reson Imaging* 2006; 17:309-25.
42. Berger FH, de Jonge MC, Maas M. Stress fractures in the lower extremity: the importance of increasing awareness amongst radiologists. *Eur J Radiol* 2007; 62:16-26.
43. Gaeta M, Minutoli F, Scribano E, et al. CT and MR imaging findings in athletes with early tibial stress injuries: comparison with bone scintigraphy findings and emphasis on cortical abnormalities. *Radiology* 2005; 235:553-61.
44. Batt ME, Ugalde V, Anderson MW, Shelton DK. A prospective controlled study of diagnostic imaging for acute shin splints. *Med Sci Sports Exerc* . 1998; 30:1564-71.
45. Arendt EA, Griffiths HJ. The use of MR imaging in the assessment and clinical management of stress reactions of bone in high-performance athletes. *Clin Sports Med* 1997; 16:291-306.
46. Boden BP, Osbahr DC. High-risk stress fractures: evaluation and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 2000; 8:344-53.
47. Kaeding CC, Najarian RG. Stress fractures: classification and management. *Phys Sportsmed* 2010; 38:45-54.
48. Miller T, Kaeding CC, Flanigan D. The classifi-



- cation systems of stress fractures: a systematic review. *Phys Sportsmed* 2011; 39:93-100.
49. Tenforde AS, Fredericson M. Influence of sports participation on bone health in the young athlete: a review of the literature. *PM&R* 2011; 3:861-7.
50. Milgrom C, Simkin A, Eldad A, Nyska M, Finestone A. Using bone's adaptation ability to lower the incidence of stress fractures. *Am J Sports Med* 2000; 28:245-51.
51. Rauh MJ, Nichols JF, Barrack MT. Relationships among injury and disordered eating, menstrual dysfunction, and low bone mineral density in high school athletes: a prospective study. *J Athl Train* 2010; 45: 243-52.
52. Ihle R, Loucks AB. Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1231-40.
53. Loucks AB, Mortola JF, Girton L, Yen SSC. Alterations in the hypothalamic-pituitary-ovarian and the hypothalamic-pituitary-adrenal axes in athletic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68:402-11.
54. Laughlin GA, Yen SSC. Nutritional and endocrine metabolic aberrations in amenorrheic athletes. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:4301-09.
55. Leib ES, Leeiecki EM, Binkley N, Hamdy RC. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Densitom* 2004; 7:1-6.
56. Marx RG, Saint-Phar D, Callahan LR, Chu J, Hannafin JA. Stress Fracture Sites Related to Underlying Bone Health in Athletic Females. *Clin J Sports N Med* 2001; 11:73-6.
57. Risser WL, Lee EJ, Leblanc A, Poindexter HB, Risser JM, Schnieder V. Bone density in eumenorrheic female college athletes. *Med Sci Sports Exerc* 1990; 22:570-4.
58. Lauder TD, Dixit S, Pezzin LE, Williams MU, Campbell CS, Davis. The relation between stress fractures and bone mineral density: evidence from active-duty army women. *Arch Phys Rehabil* 2000; 81:73-9.
59. Giladi M, Milgrom C, Simkin A, et al. Stress fractures: identifiable risk factors. *Am J Sports Med* 1991; 19:647-52.
60. Joy E. Is the pill the answer for patients with the female athlete triad? *Curr Sports Med Rep* 2012; 11:54-5.
61. Ekstrand J, Torstveit MK. Stress fractures in elite male football players. *Scand J Med Sci Sports* 2012; 22:341-6.
62. Beck TJ, Ruff CB, Shaffer RA, Betsinger K, Trone DW, Brodine SK. Stress fracture in military recruits: gender differences in muscle and bone susceptibility factors. *Bone* 2000; 27:437-44.
63. Voloshin AS, Mizrahi J, Verbitsky O, Isakov E. Dynamic loading on the human musculoskeletal system-effect of fatigue). *Clin Biomech* 1998; 13:515-20.
64. Burr DB. Repair mechanisms for microdamage in bone. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2534-6.
65. Seref-Ferlengez Z, Basta-Pijakic J, Kennedy OD, Philemon CJ, Schaffler MB. Structural and mechanical repair of diffuse damage in cortical bone in vivo. *J Bone Miner Res* 2014; 29:2537-44.
66. Swissa A, Milgrom C, Giladi M, et al. The effect of pretraining sports activity on the incidence of stress fracture among military recruits. *Clin Orthop* 1989; 245:256-60.

CASUÍSTICAS / Case Reports

DISPLASIA FIBROSA POLIOSTÓTICA: REVISIÓN DE LA LITERATURA Y REPORTE DE CASO

Mayra L Rivera-Paico,^{1,2} Virgilio E. Failoc-Rojas,^{1,2*} Juan A. Leguía-Cerna.^{1,3}

1. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. 2. Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina Humana SOCIEM-UNPRG. 3. Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo, Chiclayo, Perú.

Resumen

La displasia fibrosa (DF) es una enfermedad rara causada por una mutación genética esporádica y congénita donde existe un trastorno en la maduración del mesénquima óseo. Se presenta un paciente de sexo masculino de 27 años, con antecedentes de fractura de tabique nasal y dolor en la región frontal asociada a náuseas e imposibilidad para caminar desde hace ocho años. Al examen físico se encuentra asimetría craneofacial, disminución de la agudeza visual e hipoacusia bilateral. La resonancia magnética cerebral revela hiperostosis y disminución de volumen del cerebro, cerebelo y senos paranasales. La exploración radiológica revela aumento difuso del volumen del componente medular óseo con compromiso poliostótico. Se diagnostica displasia fibrosa ósea poliostótica sobre la base de los datos clínicos y de imágenes. El diagnóstico de este paciente fue tardío. Se ha reportado que, en pacientes jóvenes, el diagnóstico de displasia fibrosa es radiológico y que, en raras ocasiones se requiere biopsia ósea.

Palabras clave: displasia fibrosa poliostótica, hiperostosis.

Abstract

POLYOSTOTIC FIBROUS DYSPLASIA: LITERATURE REVIEW AND CASE REPORT

Fibrous dysplasia (FD) is a rare disease caused by a sporadic genetic mutation that generates a disruption in the maturation of bone mesenchyme. We report a 27 year old male patient, with a history of nasal septum fracture and frontal region pain associated with nausea, and walking disability for eight years. At the physical examination we found craniofacial asymmetry, decreased visual acuity, and bilateral deafness. Brain magnetic resonance imaging revealed hyperostosis and decreased volume of brain volume, cerebellum, and sinuses. Skeletal survey revealed diffuse enlargement of the bone marrow component and polyostotic involvement. Diagnosis of polyostotic fibrous dysplasia bone was based on clinical and imaging data. The diagnosis of this patient was late. It has been reported that in young patients FD is diagnosed by radiological methods, rarely requiring bone biopsy.

Key words: polyostotic fibrous dysplasia, hyperostosis.

* Dirección postal: Virgilio E Failoc-Rojas. Av. Manuel Seoane #1343. La Victoria, Chiclayo. Perú. Correo electrónico: virgiliofr@gmail.com



Introducción

La displasia fibrosa (DF) es una enfermedad rara causada por una mutación genética, mutaciones activadoras en el gen *GNAS1* y la sobreexpresión del protooncogén *c-fos*.^{1,2} Esto conduce a la proliferación anormal de fibroblastos, la diferenciación defectuosa de los osteoblastos y el aumento de la resorción ósea.

La maduración del mesénquima óseo (tejido lamelar de la cavidad medular de uno o varios huesos) es reemplazado por tejido fibroso anómalo; en consecuencia, el hueso normal queda sustituido por una mezcla de tejido fibroso y fragmentos pequeños de hueso trabecular inmaduro.³⁻⁵ La etiología no se conoce; al parecer es una anomalía del tejido embrionario en el hueso durante el desarrollo: el tejido fibroso prolifera dentro de la medula ósea.⁶⁻⁸ Estas mutaciones no son hereditarias y se producen tras la fase cigótica del desarrollo originando un mosaicismo somático, en el cual coexisten líneas celulares con la alteración genética y poblaciones celulares normales.^{3,8}

Existen tres formas de afectación: de un solo hueso (monostótica) en el 70% de los casos; de varios huesos (polioestótica) en un 30% de los casos (esto ocurre en todo el esqueleto con predilección por los huesos largos, costillas y región craneofacial, esta última involucrada en el 90% de los casos, y en la base craneal anterior en más del 95% de los casos) y la forma polioestótica asociada a anomalías endócrinas como pubertad temprana, maduración esquelética prematura o hipertiroidismo, conjunto conocido como síndrome de McCune-Albright (MAS).^{9,10} Los pacientes con MAS también pueden tener manchas “café con leche”, que constituyen lesiones cutáneas planas e hiperpigmentadas de bordes poco definidos a diferencia de las típicas de la neurofibromatosis, que tienen bordes lisos.^{3,11} La displasia fibrosa ocurre con la misma frecuencia en ambos sexos pero, a diferencia del MAS, es más común en niñas (a razón de 10:1) y se manifiesta con pubertad temprana.¹¹

La forma monostótica suele diagnosticarse entre los 20 y 30 años de edad sin lesiones cutáneas concomitantes. La forma polioestótica típicamente se manifiesta en menores de 10 años y puede avanzar con la edad; la enfermedad de inicio temprano suele ser más grave. Las lesiones expansivas producen dolor, deformidad, fracturas y compresión de nervios¹¹.

Caso clínico

Se reporta el caso de un paciente varón de 27 años procedente de Jaén (norte de Perú). El paciente presentó antecedente de traumatismo con diagnóstico de fractura de tabique nasal al caer del andador a los 8 meses de edad y problemas para respirar hasta los 3 años. Alrededor de los 10 años, manifestaba dolor en región frontal y náuseas sin causa conocida que cedían al descanso. Desde los 19 años presentó alteración del equilibrio y caídas frecuentes, por lo que fue evaluado por neurología y otorrinolaringología sin recibir diagnóstico etiológico. Seis meses después presentó disminución de fuerza muscular en las extremidades inferiores que lo mantiene imposibilitado de desplazarse hasta la actualidad (Figura 1).

Dos meses antes del ingreso evidenció disfagia a alimentos sólidos y líquidos. Un mes antes del ingreso presentó tos productiva y malestar general, síntomas que se mantuvieron durante las semanas siguientes. Horas antes del ingreso presentó dificultad respiratoria al reposo, fiebre (40 °C) y pérdida de fuerza muscular generalizada, por lo que es llevado a un hospital de su ciudad de procedencia, donde se le indica oxigenoterapia, entre otras medidas de soporte y se le administra imipenem y vancomicina. Se interna con el diagnóstico de neumonía adquirida en la comunidad, para ser luego remitido a un hospital del Seguro Social en Chiclayo (Perú) cuatro días después, con marcada hipoxemia, cianosis, y saturación de oxígeno del 62%. Al ingreso se le realizó intubación endotraqueal, por lo cual mejoró la saturación de oxígeno



Figura 1. Marcada asimetría craneofacial, en varón de 27 años.

(86%); la presión arterial era 120/70 mmHg, la frecuencia respiratoria de 18 resp/min y la temperatura 37 °C.

En el examen físico se evidencian un peso de 70 kg, talla de 172 cm, asimetría craneofacial, hipertelorismo, disminución de la agudeza visual e hipoacusia bilateral. No se observaron alteraciones en la pigmentación de la piel.

La bioquímica general y el hemograma fueron normales (Tabla 1).

La resonancia magnética cerebral evidenció engrosamiento difuso de los huesos de la calota y la cara (hiperostosis) y disminución de volumen del cerebro, cerebelo y senos paranasales (Figura 2). Lo mismo se aprecia en la ventana ósea de la tomografía computarizada (TC) (Figura 3).

En la exploración radiológica se halló aumento difuso del volumen del componente medular óseo con compromiso poliostótico; no se evidenciaron fracturas, ni lesiones líticas o blásticas.

Tabla 1. Exámenes de laboratorio al ingreso.

	Valor obtenido	Valor normal
PTH (pg/ml)	36	10-55
Ac. úrico (mg/dl)	3,9	0-7
pH	7,4	7,35-7,45
Ca (mMol/l)	0,98	2,2-2,6
B2 microglobulina (ng/l)	1,5	0,8-2,2
TSH (μIU/ml)	2,29	0,27-4,2
T4 libre (ng/dl)	1,49	0,8-1,9
Creatinina (mg/dl)	0,62	0,5-1,2
PCR (mg/dl)	1,4	0-0,79
VSG (mm/h)	35	4 -13
Fosfatasa alcalina (U/l)	97	60-170
Testosterona (ng/ml)	3,33	2,84-8
LH (mUI/ml)	3,24	1-15
Cortisol (μg/dl)	13,3	6,2-19,4
Prolactina (ng/dl)	12,65	4,04-15,2
ACTH (mUI/dl)	33,8	20- 100

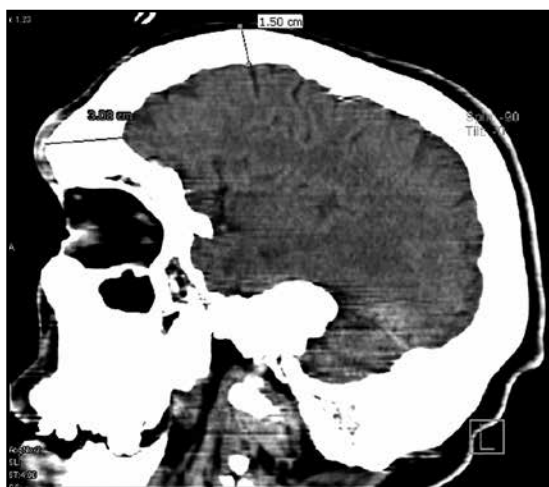


Figura 2. Resonancia magnética: se observa el grosor de 1,5 cm. de la calota. Se observa esclerosis de los hueso de la base del cráneo y del macizo facial.

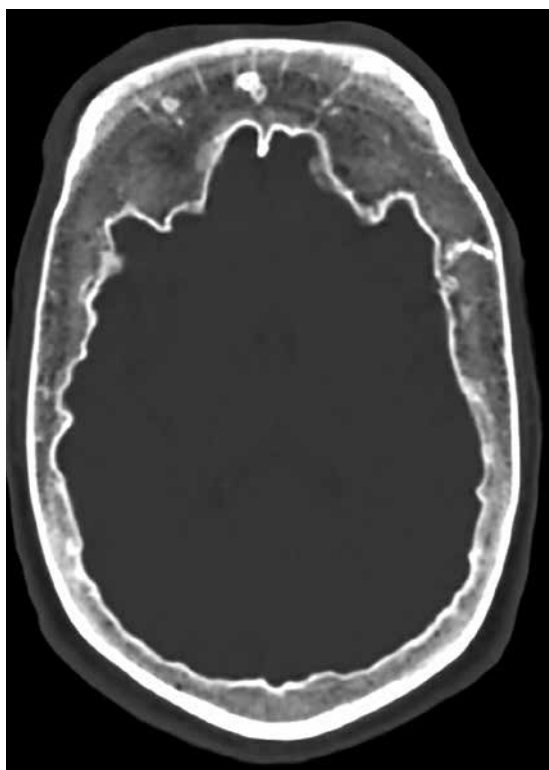


Figura 3. Tomografía computarizada de ventana ósea craneal, donde se observa hiperostosis.

El paciente evolucionó favorablemente; por eso, cuatro semanas después, fue dado de alta con el diagnóstico de displasia fibrosa ósea poliostrótica, sobre la base de los datos clínicos e imagenológicos expuestos.

Se cuenta con el consentimiento del paciente y familiar para la publicación del caso

Discusión

La displasia fibrosa poliostrótica es un producto de la mutación que produce una anormal activación de la adenilciclase asociada a la proteína G, lo que deriva en un exceso de adenosín monofosfato cíclico (AMPc, segundo mensajero intracelular) que media los efectos patológicos en las células afectadas. Estas mutaciones del receptor acoplado a la proteína G pueden ocasionar un funcionamiento autónomo del hueso (receptor de hormona paratiroidea), la piel (receptor de hormona melanocito estimulante) y diversas glándulas endócrinas.^{3,11,12} Los signos y síntomas varían dependiendo del tipo y la ubicación de la displasia fibrosa, aunque algunas veces es asintomático.⁹ Esta afección no es hereditaria. En el presente caso, el paciente no tenía antecedentes familiares similares a su diagnóstico.

La literatura reporta que, en el tejido óseo, esta anomalía induce una expansión de las células osteoprogenitoras con acumulación progresiva en los espacios medulares produciendo una pérdida localizada de tejido hematopoyético y fibrosis medular.³ La extensión de este tejido fibrótico genera deformidad de los huesos, dolor óseo, e invasión de los senos paranasales, las fosas nasales, la órbita o los canales neurovasculares, que pueden conducir a la obstrucción nasal, cefalea y alteraciones visuales.^{6,10} El presente caso nos muestra asimetría craneofacial con desplazamiento de dientes, y se puede apreciar mediante TC la disminución de los senos paranasales (Figura 2). Además presenta disminución de la agudeza visual, hipertelorismo, dificultad en la respiración y antecedente de

sinomatología de dolor (antecedente de cefalea), aunque este último no se manifiesta en la actualidad. En otros reportes se han descrito adicionalmente nistagmo horizontal, reflejos disminuidos, pérdida y debilidad de ambos miembros superiores, signos piramidales en extremidades inferiores y pérdida sensorial, resultados que son muy similares al reporte de nuestro caso.^{3,8,12}

La lesión suele ocurrir en el esqueleto en crecimiento; el hueso afectado se engrosa y la cortical se adelgaza produciendo fracturas espontáneas como complicación cuando compromete a los huesos largos. Las fracturas pueden aparecer en cualquier hueso afectado, en forma espontánea, y comprometen con frecuencia los huesos de la base del cráneo y la metáfisis proximal del fémur.^{1,6} En el estudio, la exploración radiológica no evidenció presencia de fracturas, ni infiltración hacia el hueso.

El tejido displásico es altamente vascularizado; por este motivo es propenso a sangrados espontáneos o por traumatismos leves, con formación de quistes poshemorrágicos. En nuestro caso, el paciente no evidenció hemorragias. En raras ocasiones, se ha descrito malignización de las lesiones de displasia fibrosa (menos del 1%) y el sarcoma osteogénico es la variante más frecuente en estos casos.^{13,14}

La fosfatasa alcalina en suero a veces se encuentra alta, pero las concentraciones de calcio, hormona paratiroidea y 25-hidroxivitamina D son normales. Las lesiones poliostóticas extensas pueden manifestar hipofosfatemia, hiperfosfaturia y osteomalacia.¹¹ El hallazgo de lesiones cutáneas hiperpigmentadas de tipo “café con leche” o disfunciones endocrinas concomitantes debe orientar al diagnóstico de síndrome de McCune-Albright.¹ En el presente caso, no se aprecian cambios significativos en los niveles séricos hormonales, ni alteraciones en la pigmentación de la piel.

El diagnóstico diferencial se realizó con hiperparatiroidismo primario, enfermedad de van Buchen, osteoesclerosis, osteopatía

striata con esclerosis craneal, osteopetrosis (enfermedad de Albert Schönberg);¹⁵ para la exclusión de los posibles diagnósticos se realizó un análisis clínico y de laboratorio. Se descartó hiperparatiroidismo primario, pues el nivel de calcemia era menor de 3 mmol/l, y por ausencia de nefrolitiasis.^{16,17} El diagnóstico de enfermedades esclerosantes señaladas con afectación craneal se descartaron por: la etnia del paciente, en las dos primeras (Van Buchen y osteoesclerosis) pues se observan en holandeses o afro-holandeses; no se advierte en otras radiografías las estriaciones características de la osteopatía striata, y finalmente la osteopetrosis generalmente afecta la base del cráneo y es generalizada, no advirtiéndose en otros sitios del esqueleto del paciente imágenes de hueso tipo “mármol”.

Es necesario mencionar que el diagnóstico y el tratamiento de las lesiones faciales se realizan de acuerdo con la edad y la etapa de la madurez esquelética, es decir, edad pediátrica contra edad adulta (con esqueleto maduro). En la población pediátrica, más de la mitad de las afecciones (tumorações) con edema facial y asimetría encontradas son del linaje de células mesenquimales (casi el 50% lesiones fibro-óseas). El manejo de DF en pacientes jóvenes y de mayor edad es dictado por el comportamiento clínico y biológico de la lesión, puesto que la histología no proporciona información pronóstica fiable.^{9,18}

En diversos reportes de caso se ha confirmado el diagnóstico mediante biopsia,^{19,20} si el sitio es susceptible de biopsia, aunque la histología no predice el comportamiento biológico de estas lesiones y no induce específicamente el crecimiento de la lesión.⁹ Varios estudios plantean que, en personas jóvenes, el diagnóstico de DF es radiológico y que en raras ocasiones se requiere biopsia ósea.^{3,21} Los autores del presente artículo pretenden exponer la importancia del diagnóstico sobre la base de la anamnesis, el examen físico y de laboratorio y las pruebas de imagen, sin recurrir a biopsia.



Las decisiones de tratamiento para pacientes adultos dependen de la presencia de los síntomas.²² Para el tratamiento del dolor se usan medicamentos como los AINE, y se ha reportado que el uso de bifosfonatos puede aliviar dicho síntoma en casi el 75% de los casos, aunque todavía es motivo de controversia.²³ El tratamiento quirúrgico, de ser necesario, está dirigido principalmente a la consolidación de fracturas, la corrección de deformidades óseas y la descompresión de los nervios craneales afectados.^{3,22} Las intervenciones quirúrgicas craneofaciales solo estarían indicadas en casos de compresión de nervios craneales con pérdida visual o au-

ditiva.²⁴ El riesgo de transformación maligna aumenta con la radiación, lo que no se considera una opción de tratamiento adecuada.¹¹ Debido a que el diagnóstico fue tardío, en el presente caso existe una limitación para el adecuado control de la afección.

Agradecimiento: al Dr. Gustavo Hernández-Córdova, por la revisión del manuscrito.

Conflicto de intereses: los autores no presentan conflicto de intereses.

(Recibido: febrero 2015.

Aceptado: octubre 2015)

Referencias

1. Chapurlat RD, Orcel P. Fibrous dysplasia of bone and McCune-Albright syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008; 22:55-69.
2. Feller L, Wood N, Khammissa R, Lemmer J, Raubenheimer E. The nature of fibrous dysplasia. *Head Face Med* 2009; 5:22.
3. Alonso G, Muñoz-Torres M. Displasia ósea fibrosa en un varón joven. *Endocrinol Nutr* 2009; 56:195-200.
4. Chinchilla SA, Ramos FC, Tello MM, et al. Fibrous dysplasia of the bone. Contribution of nuclear medicine in the diagnosis of suspicion of sarcomatous degeneration. *Rev Esp Med Nucl* 2010; 29:172-6.
5. Li G, Zhang W, Su Q. Clonal status of fibrous dysplasia. *Pathology* 2008; 40:392-5.
6. Staheli LT. Ortopedia pediátrica. Madrid: Marbán, 2007, p. 348-65.
7. Russell LW, Chandler FA. Fibrous dysplasia of bone. *J Bone Joint Surg Am* 1950; 32:323-37.
8. Anitha N, Sankari SL, Malathi L, Karthick R. Fibrous dysplasia-recent concepts. *J Pharm Bioallied Sci* 2015; 7:171-2.
9. Lee JS, FitzGibbon EJ, Chen YR, et al. Clinical guidelines for the management of craniofacial fibrous dysplasia. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7:S2.
10. Sandhu SV, Sandhu JS, Sabharwal A. Clinicoradiologic perspective of a severe case of polyostotic fibrous dysplasia. *J Oral Maxillofac Pathol* 2012; 16:301-5.
11. Favus MJ, Vokes TJ. Enfermedad de Paget y otras displasias del hueso. En: Longo DL, Kasper DL, Jameson JL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J (editores). Harrison. Principios de Medicina Interna. 18.^a ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana, 2013, p. 3142.
12. Pervin I, Husnu E, Ali D, Sezer K. Fibrous dysplasia of the cranial bones: a case report and review of the literature. *Yale Journal of Biology and Medicine* 2005; 78:139-43.
13. Steiner GC, Forest M, Vacher-Lavenu MC. Ultrastructure of low-grade intraosseous osteosarcoma of bone: a comparative study with fibrous dysplasia and parosteal osteosarcoma. *Ultrastruct Pathol* 2006; 30:293-9.
14. Reis C, Genden EM, Bederson JB, Som PM. A rare spontaneous osteosarcoma of the cal-

- varium in a patient with long-standing fibrous dysplasia: CT and MR findings. *Br J Radiol* 2008; 81:31-4.
15. White M. Sclerosing Bone Disorders. In: Clifford Rosen and American Society of Bone and Mineral Research (ed) . Primer of Metabolic and Bone Disease and Disorders of Bone Metabolism. 8° edition. Iowa: John Wiley&Son, 2013, p 769-785.
 16. Garfias VC, Villanueva TS, Ugarte F. Hiperparatiroidismo primario: presentación de un caso y revisión de la literatura. *Rev Chil Pediatr* 2011; 82:336-43.
 17. Fernández CG. Clínica y diagnóstico diferencial de los hiperparatiroidismos. *REEMO* 2009; 18:70-6.
 18. Papadaki ME, Troulis MJ, Kaban LB. Avances en el diagnóstico y tratamiento de las lesiones fibro-óseas. *Oral Maxillo fac Surg Clin North Am* 2005; 17:415-34.
 19. López JM, Colmenero C, Reyes A, Prieto J, Ruiz B, Ortega R. Displasia fibrosa maxilar poliostótica en paciente tratada con pamidronato: a propósito de un caso. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac* 2011; 33:84-7.
 20. Mrabet D, Rekik S, Sahli H, Ben Amor B, Meddeb N, Sellami S. An extensive hemimelic polyostotic fibrous dysplasia: a case report. *Rheumatol Int* 2012; 32:1075-8.
 21. Meneses CF, Egüesa A, Uriarte M, Belzunegui J. Displasia fibrosa poliostótica: presentación de un caso. *Reumatol Clin* 2014; 10:413-5.
 22. Stanton RP, Ippolito E, Springfield D, Lindaman L, Wientroub S, Leet A. The surgical management of fibrous dysplasia of bone. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7:S1.
 23. Kelly MH, Brillante B, Collins MT. Pain in fibrous dysplasia of bone: age-related changes and the anatomical distribution of skeletal lesions. *Osteoporos Int* 2008; 19:57-63.
 24. Ippolito E, Bray EW, Corsi A, et al. European Pediatric Orthopaedic Society. Natural history and treatment of fibrous dysplasia of bone: a multicenter clinicopathologic study promoted by the European Pediatric Orthopaedic Society. *J Pediatr Orthop B* 2003; 12:155-77.



INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

Las secciones de la revista son: **artículos originales, revisiones, comunicaciones breves, reporte de casos, editoriales, cartas al editor.**

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

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

AUTHOR GUIDELINES

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

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

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

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

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

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

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

llar la solicitud de consentimiento informado. Además se solicita se indiquen las normas y directrices éticas y los métodos estadísticos utilizados (Originales).

Para las **Cartas al editor** y **Editoriales** se sugiere un máximo recomendado de 1.000 palabras y se admitirán para las Cartas al Editor hasta 2 figuras o tablas. Se sugiere no incluir más de 10 referencias. **Agradecimientos:** la ayuda técnica, el apoyo financiero y las contribuciones que no justifican la autoría se pueden enumerar en este ítem.

Conflicto de intereses: los autores deben revelar cualquier relación financiera que podría conducir a un conflicto de intereses en relación con el artículo publicado.

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

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

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

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

keywords in this language, can submit the manuscript without them.

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

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

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

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

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

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

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



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

POLÍTICAS EDITORIALES

Actualizaciones en Osteología es una revista de Acceso Abierto.

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

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

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

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

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

EDITORIAL POLICIES

Actualizaciones en Osteología is an Open Access Journal.

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

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

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

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