

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

## Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 16, Nº 2 - mayo / agosto 2020

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



**A.A.O.M.M.**

(Asociación Argentina de Osteología  
y Metabolismo Mineral)

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

# Proteja los huesos de sus pacientes *con* Prolia®



Prolia® está indicado para:

Tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y en hombres con riesgo elevado de fracturas <sup>1</sup>

Tratamiento de la pérdida ósea asociada con la supresión hormonal en hombres con cáncer de próstata con riesgo elevado de fracturas <sup>1</sup>

Tratamiento de la pérdida ósea asociada con el tratamiento sistémico a largo plazo con glucocorticoides en pacientes adultos con riesgo elevado de fracturas <sup>1</sup>



**Material dirigido exclusivamente a profesionales de la Salud, está prohibida su reproducción y/o distribución**

Amgen Biotecnología de Argentina S.R.L. Italia 415, 2º Piso  
B1638 BMC, Vicente López, Buenos Aires, Argentina | [www.amgen.com.ar](http://www.amgen.com.ar)

La información de prescribir aprobada se encuentra disponible en vademécum ANMAT o en el siguiente código QR:

Referencia: 1. Disposición ANMAT N° DI-2020-3282-APN-ANMAT#MS



**Osteofortil**<sup>®</sup>  
Teriparatida

Reconstruimos mucho más  
*que los huesos.*

**PRIMER AGENTE OSTEOFORMADOR APROBADO PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS EN PACIENTES CON ALTO RIESGO DE FRACTURA.**

**TERIPARATIDA,  
ÚNICO AGENTE  
OSTEOANABÓLICO**



**Osteofortil**<sup>®</sup>  
Teriparatida

Osteofortil<sup>®</sup> estimula preferentemente la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica generando la formación nueva de hueso.

Gran eficacia en la reducción de fracturas osteoporóticas vertebrales y no vertebrales.

Osteofortil<sup>®</sup> reduce significativamente el riesgo de fracturas.<sup>1</sup>

**84%**

Reducción del riesgo de nuevas fracturas vertebrales.<sup>2</sup>

**53%**

Reducción de riesgo de fractura no vertebral.<sup>2</sup>

**94%**

Reducción del riesgo de múltiples fracturas vertebrales.<sup>2</sup>

**62%**

Reducción del riesgo de fracturas no vertebrales en las principales localizaciones.<sup>2</sup>

**PRESENTACIÓN:** Envases conteniendo 30 jeringas prellenadas con 20 mcg de teriparatida cada una. **INDICACIONES:** Mujeres posmenopáusicas con una fractura osteoporótica previa. Mujeres posmenopáusicas y varones con osteoporosis severa. Pacientes que reciben terapia con corticoides en forma crónica. Mujeres mayores de 65 años con Tscore <-2.5 y fractura vertebral previa.

**Bio**  
es **Vida**<sup>®</sup>

Programa de Servicio al Paciente

☎ 0800-666-2527

📞 (011) 3893-3040

www.bioesvida.com.ar

# TRIP D3

VITAMINA D3  
(COLECALCIFEROL) 100.000 UI

Todos los  
beneficios de  
la Vitamina D3  
en LIQUIDCAP

ÚNICA PRESENTACIÓN  
**3**  
CÁPSULAS



PRIMERO Y ÚNICO EN SU TIPO EN EL PAÍS

## NUEVA LIQUIDCAP

TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN EN VITAMINA D3

### PRÁCTICA

Fácil administración.

### PRECISA

Dosis exacta,  
no quedan remanentes.

### CUMPLIMIENTO DEL TRATAMIENTO

Fácil de ingerir, se evita el gusto.

### ESTABILIDAD MEJORADA

Menor permeabilidad al oxígeno,  
mayor protección de la Vitamina D3.

### ALTA PUREZA

Por la no utilización de agua ni  
calor en el proceso productivo.

### ABSORCIÓN OPTIMIZADA

En sólo 10 minutos promedio  
se disuelve el 80% de la dosis.

ENVASES CONTENIENDO 1 Y 3 CÁPSULAS DURAS





# LUNAR<sup>®</sup>

## enCORE

Nueva Versión 18



### 3D-SHAPER

**TBS** <sup>3 en 1</sup> **iNsight<sup>®</sup>**  
Easy access to bone microarchitecture



0810-333-6978

WhatsApp: +54 9 11-4164-4482

Web: [www.osteomedical.com.ar](http://www.osteomedical.com.ar)

Mail: [ventas@osteomedical.com.ar](mailto:ventas@osteomedical.com.ar)

 **osteomedical**  
Densitometría Ósea



# Oravil®

VITAMINA D3



LÍNEA ORAVIL: LA MÁS AMPLIA VARIEDAD ACORDE A SU NECESIDAD

## Oravil®

VITAMINA D3



**Presentación:**  
Envases  
conteniendo  
1 frasco ampolla  
bebible por 2 ml.

## Oravil® CB

VITAMINA D3 • CÁPSULAS BLANDAS  
100.000 UI



**Presentación:**  
Envases  
conteniendo  
1 y 2 cápsulas  
blandas.

## Oravil®

GOTAS  
VITAMINA D3

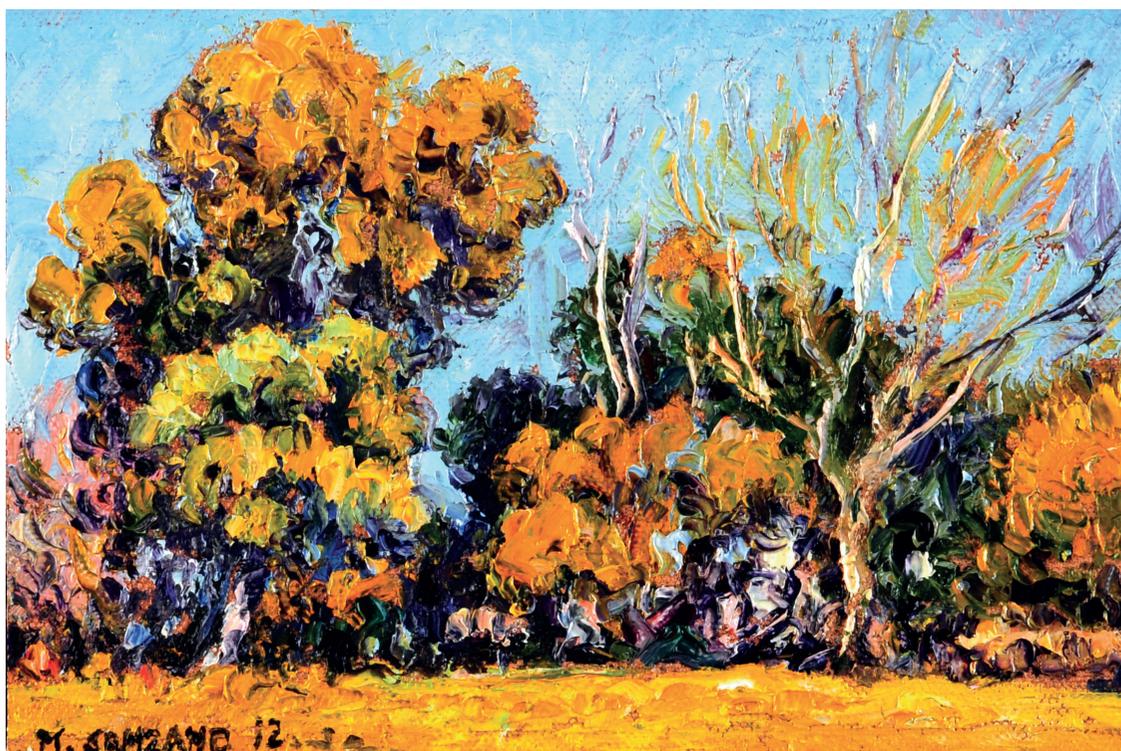


**Presentación:**  
Envases  
conteniendo  
1 frasco gotero  
por 6 ml.

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

---



Mario Sanzano  
"Amarillos", 2012.  
Óleo sobre lienzo, 14 x 20 cm.  
Galería Zurbarán.

VOL. 16, Nº 2

mayo /agosto 2020

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

[www.osteologia.org.ar](http://www.osteologia.org.ar)

Rosario, Santa Fe, Argentina

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



# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 16, Nº 2

mayo / agosto 2020

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

[www.osteologia.org.ar](http://www.osteologia.org.ar)

Rosario, Santa Fe, Argentina

Aparición: cuatrimestral

## Editores responsables:

**Virginia Massheimer:** Cátedra Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, Bahía Blanca (B8000ICN), Argentina. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

**Fernando Saravi:** Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. 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](http://www.aaomm.org.ar) / [info@aaomm.org.ar](mailto: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 demanuscritos y estar comprendidos en algunas de las secciones de la revista (Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Editoriales, Cartas al Editor). Los artículos son revisados por pares, expertos nacionales e internacionales.

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

Actualizaciones en Osteología 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, siempre que no se pretenda su utilización para uso comercial. Para el correcto ejercicio de este derecho por parte de los usuarios, es condición necesaria que los derechos de propiedad intelectual sean reconocidos. Para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciada, indicando la autoría y la fuente bibliográfica. Por otra parte, para la reproducción escrita del material de la revista se deberá solicitar la autorización pertinente. El contenido y las opiniones expresadas en los trabajos publicados en la revista 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, 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), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) and SIIC data Bases (Iberoamerican Society Scientific Information).*

*Actualizaciones en Osteología is an Open Access journal. All its content is available free of charge. Users can read, download, copy, distribute, print, search or link the complete article texts from this journal without requiring permission from the editor or author, as long as it is not for commercial use. Users should recognize the intellectual property rights. For this, any reproduction of the contents of any article published in the journal should be properly referenced, indicating the authors and bibliographic source.*

*On the other hand, authorization should be requested for written reproduction of the journal material. The content and opinions expressed in the manuscripts published by the journal are the sole responsibility of the author(s).*

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

## EDITORES RESPONSABLES

### 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). Bahía Blanca. Argentina.

### Fernando Saravi

Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Argentina.

## EDITORAS ASOCIADAS

### Silvina Mastaglia

Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEN). CONICET-UBA, Buenos Aires. Argentina.

### Gabriela Picotto

Bioquímica y Biología Molecular, INICSA (CONICET-UNC), Córdoba. Argentina.

### 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.

## SECRETARIA DE REDACCIÓN

### Patricia Mandalunis

Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA. Buenos Aires. Argentina.

## COORDINACIÓN EDITORIAL

### Mariana Rapoport

asistente-editorial@osteologia.org.ar

## CORRECCIÓN DE TEXTOS

### Prof. María Isabel Siracusa

## CUERPO EDITORIAL

### Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires. 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.

### Lucas R. M. Brun

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

### 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 (CEM-FoC). Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.



**Ana María Galich**

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

**Diana González**

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, 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.

**Carlos Mautalen**

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, 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). Buenos Aires, Argentina.

**Luisa Carmen Plantalech**

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

**Hans L Porias Cuéllar**

Nuevo Sanatorio Durango. México.

**Rodolfo Puche**

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

**Emilio Roldán**

Departamento de Investigaciones Musculo esqueléticas, Instituto de Neurobiología (IDNEU). Dirección Científica, Gador SA. Buenos Aires, Argentina.

**Ana Russo de Boland**

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

**Nori Tolosa de Talamoni**

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

**José R. Zanchetta**

Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Buenos Aires, Argentina.

**Susana Zeni**

Investigadora principal del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

---

**AUTORIDADES DE AAOMM  
COMISIÓN DIRECTIVA 2019-2020**

**Presidente**

Dr. Lucas Brun

**Vicepresidente**

Dra. Gabriela Picotto

**Secretaria**

Dra. Lorena Brance

**Tesorera**

Dra. Paula Rey

**Vocales**

Dra. María Belen Zanchetta

Dra. Graciela Mabel Brito

Dra. Diana González

Dra. María Diehl

Dra. Elisa Cambiazzo

Dr. Adrián Campelo

Dra. María Cielo Maher

Dr. Jorge Jacobo

# ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 16, Nº 2, mayo / agosto 2020

## ÍNDICE

### EDITORIAL / Editorial

---

**¿Son iguales todos los osteocitos? Diferencia en la función de los osteocitos dependiendo del sexo de los animales**

*Are all osteocytes the same? Different function of osteocytes depending on the sex of the experimental animals.*

Lilian I. Plotkin

93

### ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

---

**Vertebral fractures in adult women with type 2 diabetes mellitus**

*Fracturas vertebrales en mujeres adultas con diabetes mellitus tipo 2*

Luis Agustín Ramírez Stieben, Raquel Dobry, Adrián González, Lilian Anca, Salvador Bayo, María Isabel López, Ariel Sánchez, María Lorena Brance

95

**Hipofosfatemia crónica persistente de causa no determinada y su repercusión músculo- esquelética**

*Persistent hypophosphatasemia and its musculoskeletal repercussion*

Ariela Verónica Kitaigrodsky, Sebastián Marciano, Graciela Beatriz Jiménez, María Diehl, Luisa Plantalech

104

### ACTUALIZACIONES / Review

---

**Importancia de la vitamina D en la época de covid-19**

*Importance of vitamin D in the time of covid-19*

Mariana Seijo, Beatriz Oliveri

116

**Acciones óseas de las hormonas de la neurohipófisis**

*Bone actions of neurohypophyseal hormones*

Armando Luis Negri

131



**Rol de los fitoestrógenos en la calcificación vascular  
e interacciones óseo-vasculares**

*Role of phytoestrogens in vascular calcification  
and bone-vascular interactions*

**Marisa Julia Sandoval, Sabrina Belén Cepeda, Virginia Laura Massheimer** **140**

**INSTRUCCIONES PARA AUTORES / Authors guidelines** **154**

---

**EDITORIAL / Editorial**

## **¿SON IGUALES TODOS LOS OSTEOCITOS? DIFERENCIA EN LA FUNCIÓN DE LOS OSTEOCITOS DEPENDIENDO DEL SEXO DE LOS ANIMALES**

**Lilian I. Plotkin**

*Departamento de Anatomía, Biología Celular y Fisiología, Facultad de Medicina de la Universidad de Indiana, Indianapolis, Indiana, USA.*

Es claro que estímulos específicos dictan la diferencia en la estructura ósea entre hombres y mujeres. En particular, la diferencia entre los niveles de estrógenos y andrógenos durante la pubertad determina la forma de los huesos. Además, la pérdida de masa ósea con el envejecimiento, aunque es estrictamente similar en hombres y mujeres, se acelera en las mujeres durante la menopausia. Sobre la base de esta información se ha propuesto que las diferencias en el hueso entre hombres y mujeres (y machos y hembras en el caso de los animales de experimentación) se deben a la respuesta a las correspondientes hormonas sexuales. Sin embargo, en modelos animales, algunos de estos aspectos dimórficos entre machos y hembras ocurren antes de la aparición de las hormonas sexuales, sugiriendo que algunos aspectos diferenciales no dependen de la presencia de estas hormonas.

Una gran cantidad de estudios en años recientes demostraron que, mientras que algunos aspectos fundamentales de la diferenciación y función de las células óseas son similares en hembras y machos, el sexo de los animales estudiados contribuye a las consecuencias de la activación de vías de señalización en la masa ósea y la resistencia a fracturas. Esto, a su vez, determina que no todos los animales, y por extensión, los seres humanos, respondan de la misma manera a los fármacos utilizados para tratar la fragilidad ósea. Por lo tanto, en los últimos años se ha incrementado el interés en estudiar las diferencias dependientes del sexo en el fenotipo óseo de los animales.

Nuestro laboratorio se centra en el estudio de los osteocitos y cómo estas células afectan el comportamiento de osteoblastos y osteoclastos, y por ende la masa ósea y la resistencia a las fracturas. En estudios publicados recientemente demostramos que la remoción del microARN 21 (miR21) de los osteocitos deriva en un fenotipo que difiere en machos y hembras.<sup>1</sup> Observamos que los huesos de las hembras tienen un aumento en la expresión de genes relacionados con la apoptosis y una disminución del número de osteoblastos y osteoclastos, sin cambios en la densidad mineral ósea (DMO) a los 4 meses de edad. En cambio, los machos muestran una disminución en los niveles de expresión de los genes relacionados con la apoptosis, un aumento de osteoblastos y osteoclastos, y un aumento de la DMO a la misma edad. Por otro lado, la resistencia a las fracturas está aumentada en los animales independientemente del sexo. Estos resultados nos llevaron a concluir que miR21 afecta la función de los osteocitos en forma dependiente del sexo de los animales e independiente de este. Sin embargo, debido a que el fenotipo fue estudiado en animales adultos, no pudimos determinar si los efectos observados dependen de las hormonas sexuales, y si así fuera, en qué medida.



Consistente con el rol de estrógenos y andrógenos en el patrón de transcripción de los osteocitos, un estudio recientemente publicado como “preprint” demostró que, aun cuando no hay diferencias en los genes expresados en osteocitos aislados de ratones de 4 y 10 semanas (antes de la maduración sexual), sí hubo diferencias significativas entre hembras y machos de 16 y 26 semanas (4 y 6,5 meses, respectivamente).<sup>2</sup>

Por otro lado, varios estudios realizados con animales deficientes en Panexina1 en osteocitos demostraron que, si bien no hay diferencia en la DMO en hembras adultas (4 meses de edad), la DMO y la masa ósea del hueso cortical están aumentadas en animales de 13 meses de edad<sup>3</sup> (equivalente a un ser humano de alrededor de 45 años).<sup>4</sup> En cambio, la masa magra está aumentada en hembras pero no en machos de 4 meses de edad. La masa magra está constituida mayormente por músculo esquelético y nuestros datos sugieren un efecto positivo de la ausencia de la Panexina en el músculo de las hembras. Sin embargo, las mediciones de la función del músculo esquelético mostraron que, mientras que las hembras no fueron afectadas por la ausencia de Panexina1, los machos tenían reducida la fuerza muscular. En conclusión, la deficiencia de Panexina1 en osteocitos lleva a cambios en el sistema musculoesquelético que dependen del sexo y la edad de los animales.

Un punto importante para considerar es que, normalmente, el sexo de los animales de los que se obtienen las líneas celulares no se tiene en cuenta en estudios *in vitro*. Todas las líneas celulares osteocíticas que se han generado son “hembras”, es decir, derivan de hembras (el motivo por el cual esto es así no resulta claro). Otro factor importante es que la mayoría de los estudios *in vitro* se realizan, en teoría, en ausencia de estrógenos y andrógenos. Sin embargo, el rojo fenol, usado como indicador de pH en los cultivos, tiene actividad estrogénica, y puede haber otros compuestos estrogénicos en el suero utilizado en los cultivos. Todos estos puntos se deben tener en cuenta cuando se trata de hacer correlaciones entre estudios *in vitro* e *in vivo*.

En resumen, no está claro si las diferencias en la respuesta en el esqueleto de los animales (o aun de los seres humanos) a los tratamientos farmacológicos o manipulaciones genéticas se deben a diferencias intrínsecas en el patrón genético de los osteocitos entre hembras y machos, a la presencia de hormonas sexuales diferentes o a una combinación de ambos factores. Independientemente de la causa, es importante considerar el sexo de las células y de los animales cuando se desarrollan protocolos experimentales para estudiar el esqueleto.

**Conflicto de intereses:** la autora declara no tener conflicto de intereses.

## Referencias

1. Davis HM, Deosthale PJ, Pacheco-Costa R, et al. Osteocytic miR21 deficiency improves bone strength independent of sex despite having sex divergent effects on osteocyte viability and bone turnover. *FEBS J* 2019; 287(5):941-63.
2. Youtlen SE, Kemp JP, Logan JG, et al. Osteocyte Transcriptome Mapping Identifies a Molecular Landscape Controlling Skeletal Homeostasis and Susceptibility to Skeletal Disease. *bioRxiv* 2020.
3. Aguilar-Pérez A, Pacheco-Costa R, Atkinson EG, et al. Age- and sex-dependent role of osteocytic pannexin1 on bone and muscle mass and strength. *Sci Rep* 2019; 9(1):13903.
4. JAX® Mice CRS. Aged C57BL/6J mice for research studies: Considerations, applications and best practices. 2017.

ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

## VERTEBRAL FRACTURES IN ADULT WOMEN WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Luis Agustín Ramírez Stieben<sup>1\*</sup>, Raquel Dobry<sup>2</sup>, Adrián González, Lilian Anca<sup>2</sup>, Salvador Bayo<sup>2</sup>, María Isabel López<sup>2</sup>, Ariel Sánchez<sup>3</sup>, María Lorena Brance<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Endocrinología del Grupo Gamma. <sup>2</sup> Servicio de Endocrinología del Hospital Español. <sup>3</sup> Centro de Endocrinología. <sup>4</sup> Reumatología y Enfermedades Óseas. Rosario, Santa Fe. <sup>5</sup> CONICET, Buenos Aires, Argentina.

### Abstract

**Introduction.** Diabetes is a chronic disease associated with important comorbidities. Type 2 diabetes (T2DM) is associated with a three times increased risk of hip fracture but reports describing potential associations with vertebral fractures (VF) are contradictory. Our objective was to evaluate the factors involved in the prevalent VF in women with and without T2DM.

**Materials and methods.** A cross-sectional design was used and the relationship between morphometric VF and T2DM in adult women was evaluated. The cases were adult women with morphometric VF and the controls were adult women without VF. Thoracic and spinal radiographs in lateral and antero-posterior projections were obtained. Bone mineral density (BMD) values of the lumbar spine (L-BMD) were measured by DXA.

**Results.** A greater number of women with T2DM were found in the VF group (61% vs 31.5%). Non-T2DM women with VF were significantly older and with lower L-BMD than non-T2DM without VF. We observed a negative correlation between age and L-BMD ( $r=-0.463$ ) in non-T2DM women, but not in the T2DM with FV group. T2DM was a risk factor for prevalent VF with OR of 3.540 (IC95% 1.750-7.160).

**Conclusion.** Our study showed a higher prevalence of T2DM in the VF group. T2DM women with VF were younger and had higher L-BMD than non-T2DM women, L-BMD did not correlate with age and VF were not distributed according to BMD-L and age.

**Keywords:** diabetes mellitus, osteoporosis, vertebral fractures.

---

\*E-mail: [ramirez.stieben@gmail.com](mailto:ramirez.stieben@gmail.com)



## Resumen

### **FRACTURAS VERTEBRALES EN MUJERES ADULTAS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2**

**Introducción.** La diabetes es una enfermedad crónica asociada con comorbilidades importantes. La diabetes tipo 2 (DM2) se asocia con un riesgo tres veces mayor de fractura de cadera pero la asociación con fracturas vertebrales (FV) es contradictoria. Nuestro objetivo fue evaluar los factores involucrados en las FV prevalentes en mujeres adultas con y sin DM2. **Materiales y métodos.** Se realizó un diseño transversal y se evaluó la relación entre FV morfológica y DM2 en mujeres adultas. Los casos fueron mujeres adultas con FV morfológicas y los controles fueron mujeres adultas sin FV. Se obtuvieron radiografías torácicas y espinales en proyecciones lateral y anteroposterior. Los valores de densidad mineral

ósea (DMO) de la columna lumbar (DMO-L) se midieron por DXA.

**Resultados.** Se observó un mayor número de mujeres con DM2 en el grupo de FV (61% frente a 31.5%). Las mujeres sin DM2 con FV eran significativamente mayores y con una DMO-L más baja que las mujeres sin DM2 sin FV. Observamos una correlación negativa entre la edad y la DMO-L ( $r = -0.463$ ) en mujeres sin DM2 y FV, pero no en DM2 con FV. La DM2 fue un factor de riesgo para FV prevalente con un OR 3.540 (IC95% 1.750-7.160).

**Conclusión.** Nuestro estudio demostró una mayor prevalencia de DM2 en el grupo de FV. Las mujeres con DM2 y FV eran más jóvenes y tenían mayor DMO-L que las mujeres sin DM2, la DMO-L no correlacionó con la edad y las FV no se distribuyeron de acuerdo a la DMO-L y edad.

**Palabras clave:** diabetes mellitus, osteoporosis, fracturas vertebrales.

## Introduction

Vertebral fractures (VF) are associated with back pain, disability, impaired quality of life, morbidity and mortality.<sup>1</sup>

Diabetes is a chronic disease associated with substantial comorbidities. It is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both. The widely recognized complications of this disease include neuropathy, nephropathy, and retinopathy, all of which can result in substantial morbidity, leading to recurrent admissions to hospital and increasing health-care costs.<sup>2</sup> The skeletal system seems to be an additional target of diabetes-mediated damage. It is accepted that type 1 and type 2 diabetes are associated with an increased risk of bone fractures.<sup>3,4</sup>

T1 and T2DM are both associated with

increased fracture risk. However, where as T1DM is associated with reductions in bone mineral density (BMD), patients living with T2DM have higher BMD.<sup>5</sup> Moreover some antidiabetic medications affect bone metabolism, and there is an association between diabetic complications, hypoglycemia, and risk for falls and subsequent fractures.<sup>6</sup>

Metformin, sulfonylureas, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, and glucagon-like peptide-1 receptor agonists should be preferred for the treatment of T2DM in patients with osteoporosis.<sup>7</sup> On the other hand, thiazolidinediones (TZDs), peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonists (PPAR $\gamma$ ) have been shown in randomized studies<sup>8-10</sup> and meta-analyses<sup>11,12</sup> to reduce bone density and increased fracture risk in women. The effects of rosiglitazone and pioglitazone are similar, and fracture risk has

no clear association with duration of TZD exposure. The effects of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors on bone metabolism include increased bone turnover, disrupted bone microarchitecture, and reduced bone mineral density.

The objective of our study was to evaluate the factors involved in the prevalence of vertebral fractures in adult women with and without T2DM.

## Materials and methods

### Subjects

A cross-sectional design was used and the relationship between morphometric vertebral fractures (VF) and T2DM in adult women were analyzed in a case-control design over a previous cohort of patients in which vitamin D levels were evaluated during the period of time from January to December, 2016. The cases were adult women with morphometric VF and the controls were adult women without VF. The cases and controls were not paired.

The patients were recruited in the ambulatory clinics of the two study centers: Hospital Español (Rosario, Argentina) and Centro de Reumatología (Rosario, Argentina). Inclusion criteria were women older than 18 years with and without T2DM. Exclusion criteria were neoplastic, granulomatous, or collagen disease, chronic liver disease and chronic renal failure, diseases that affect the intestinal absorption of vitamin D and others diseases or conditions affecting bone metabolism. Treatment with antiepileptics, glucocorticoids, lithium, bone antiresorptive agents, estrogen vitamin D, and bone anabolic agents was an exclusion criterion.

Patients were interviewed by a medical doctor for diabetes related complications, medication use, and lifestyle factors. Height and weight were measured and body mass index (BMI) was calculated. Diabetes duration at the year of examination was recorded. Microvascular (diabetic nephropathy, neuropathy, and retinopathy)

and macrovascular complications (coronary artery disease, peripheral arterial disease, and stroke) were ascertained by self-reporting.

This study was approved by the ethical review board of Hospital Español and in compliance with the Helsinki declaration. All subjects agreed to participate in the study and provided written informed consent.

### Biochemical measurements

The following laboratory data were analyzed: glycemia (mg/dl), HbA<sub>1c</sub> (%), serum creatinine (mg/dl), serum calcium (mg/dl), serum phosphate (mg/dl), alkaline phosphatase (IU/l) and total 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D, ng/ml].

### BMD measurements

BMD values of the lumbar spine (L-BMD) were measured by DXA. BMD was automatically calculated from the bone area (cm<sup>2</sup>) and BMC (g) and expressed as an absolute value (g/cm<sup>2</sup>).

### Ascertainment of fractures

Conventional thoracic and spinal radiographs in lateral and antero-posterior projections were obtained. We defined VF as grades 1–3 according to the classification by Genant et al.<sup>13</sup> A VF was diagnosed if a reduction of 20% or more was observed by two investigators.

### Statistical analysis

The software R version 3.6.3 was used to perform the statistical analysis. The categorical variables were expressed as number and percentage (%) and the continuous variables as mean±SD or median (percentile 25-75) for each index. Unpaired t-test or Mann Whitney tests were used to compare parameters between subjects with and without VF. Comparisons of categorical variables were performed using the de  $\chi^2$  test. Correlations analyses were performed to evaluate the interdependence of the L-BMD with other continuous variables. A



logistic regression was performed to calculate the likelihood ratios (OR) on the dependent variable. The differences were considered significant if  $p < 0.05$ .

**Results**

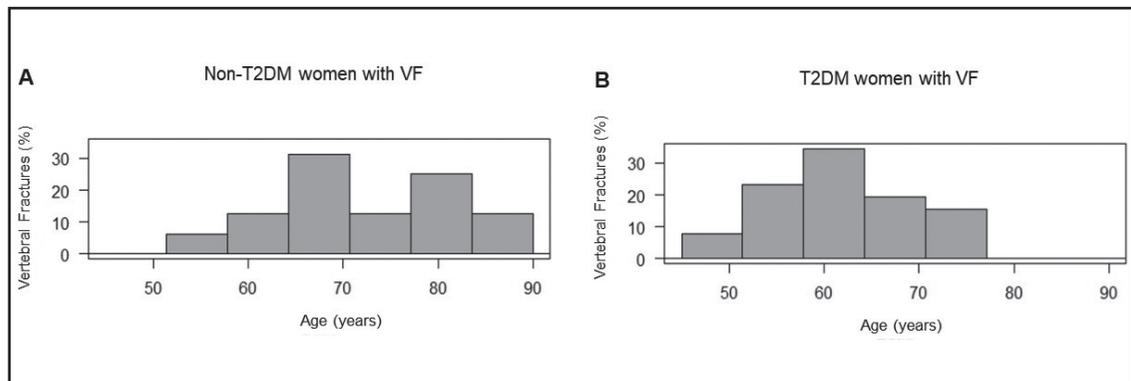
Background data are shown in Table 1. There were more women with T2DM in the VF group (61% vs 40.7%,  $p=0.01$ ).

**Table 1.** Background data of VF and control patients.

	VF (42)	No VF (162)	p
Age (years)	65 (59-72)	62 (52.25-70)	ns
T2D (%)	26 (61)	51 (31.5)	<0.00001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	31.42±6.35	29.08±7.17	ns
Hypertension (%)	18 (42.9)	73 (45.1)	ns
Dyslipidemia (%)	18 (42.9)	63 (38.9)	ns
Macrovascular disease (%)	1 (2.4)	7 (4.3)	ns
Microvascular disease (%)	7 (16.7)	11 (6.8)	0.06
Glucose (mg/dl)	114.5 (86.25-135)	97 (85-115.5)	ns
Creatinine (mg/dl)	0.81±0.28	0.80±0.18	ns
Calcium (mg/dl)	9.53±0.71	9.39±0.53	ns
Phosphate (mg/dl)	3.71±0.57	3.56±0.55	ns
Alkaline phosphatase (IU/l)	135.90±81.30	122.90±69.44	ns
25(OH)D (ng/ml)	18.4 (14.7-24.45)	21 (16.6-27.8)	0.08
L-BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1.063±0.250	1.068±0.201	ns

Non-T2DM women with VF were significantly older and with lower L-BMD than non-T2DM without VF. As can be seen in Figure 1, Non-T2DM women with VF (A) were

distributed, preferably, at an older age while the T2DM women group (B) happened at an earlier age.



**Figure 1.** Histogram. Distribution of VF according to age and DM2 condition.

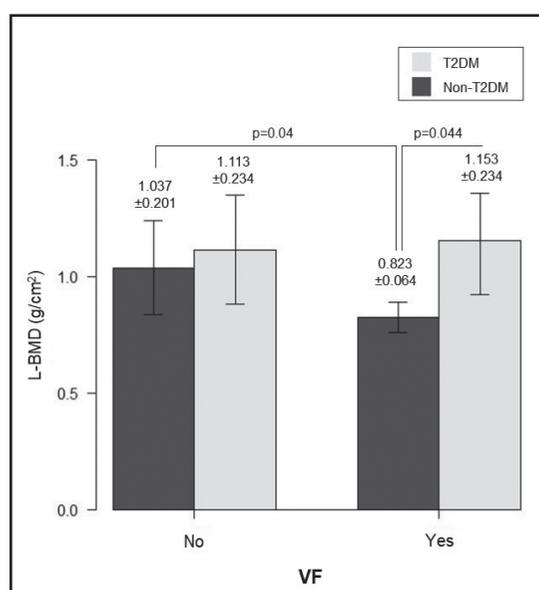
There were no differences in age between women with T2DM with or without VF while non-T2DM women with VF were older. No differences were found in BMI, 25(OH)D and HbA<sub>1c</sub> between the groups according to the presence of VF. When comparing the T2DM women with VF versus non-DM2 with VF, the

former were significantly younger [61 years (56-67) vs 71 years (69-80),  $p = 0.0008$ ] (Table 2). Likewise, there were no differences in the duration of diabetes in the subgroup of women with T2DM regarding the presence of VF [T2DM with VF 6 years (2.5-12.5) versus T2DM without VF 7.5 years (3-15);  $p=0.44$ ].

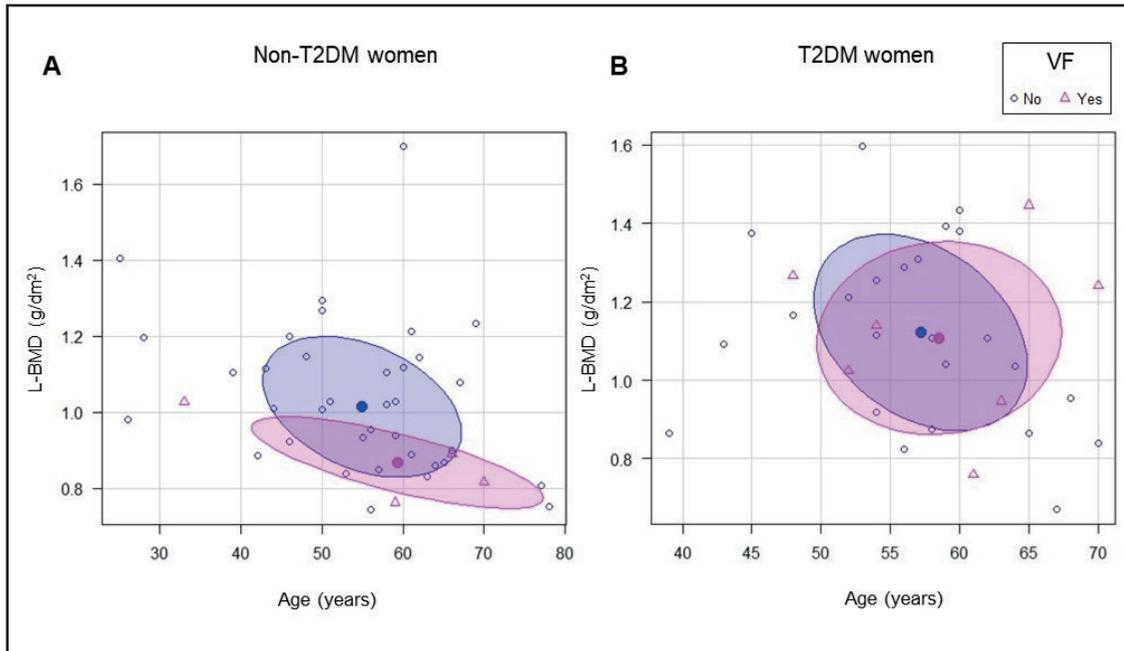
**Tabla 2.** Comparison of various parameters between women with and without T2DM.

	Without T2DM		<i>p</i>	T2DM		<i>p</i>
	Vertebral fractures			Vertebral fractures		
	(+)	(-)		(+)	(-)	
<b>Age (years)</b>	71 (65.75-80)	63 (50.5-71)	0.002	61 (56.25-67.0)	60 (54-67.5)	ns
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.21±5.52	26.47±5.51	ns	32.61±6.54	34.61±7.18	ns
<b>25(OH)D (ng/ml)</b>	20.15 (14.68-23.55)	22 (17.05-29)	ns	16.55 (14.8-25.12)	19.20 (15.5-24.68)	ns
<b>HbA<sub>1c</sub> (%)</b>	-	-		7.33±1.37	7.59±1.43	ns

There was no difference in L-BMD between women with T2DM with or without VF. Non-T2DM without VF had a higher L-BMD than non-T2DM women with VF (non-T2DM without VF 1.037±0.201 g/cm<sup>2</sup> versus with VF 0.823±0.064 g/cm<sup>2</sup>;  $p=0.04$ ). T2DM women with VF also had a higher L-BMD than non-T2DM women with VF (T2DM with VF 1.153 ± 0.234 g/cm<sup>2</sup> versus non-T2DM with VF 0.823±0.064 g/cm<sup>2</sup>;  $p=0.044$ ). (Fig. 2). When correlating age (years) with L-BMD women with VF, we observed a negative correlation ( $r = -0.463$ ,  $p = 0.001$ ) in non-T2DM but not in T2DM women. As expected, fractures occurred at a higher age and lower density (Figure 3A, pink ellipsoids) in women without diabetes. However, they did not show a homogeneous distribution in women with diabetes (Fig. 3B, pink ellipsoids).



**Figure 2.** L-BMD of adult women according to the presence of T2DM and VF.



**Figure 3.** Analysis of correlation of age (years) with L-BMD in women in regards to the presence of VF.

Due to the low frequency of microvascular (diabetic nephropathy, neuropathy, and retinopathy) and macrovascular complications (coronary artery disease, peripheral arterial disease, and stroke), these were evaluated together. We did not find a higher frequency of macrovascular and microvascular complications in women with T2DM with respect to the presence of VF.

Logistic analysis was performed with the presence of VF as a dependent variable and the presence of T2DM as an independent variable. The results showed that the presence of T2DM was a risk factor for prevalent VF with OR of 3.540 (IC95% 1.750-7.160);  $p=0.0004$ .

## Discussion

Reports of the association between T2DM and VF have been contradictory, with some studies reporting a significant increase or a trend towards an increased vertebral fracture risk in T2DM,<sup>14</sup> whereas others reported

no effect.<sup>15-17</sup> Our study showed a higher prevalence of T2DM in the VF group than non-VF group (61% vs 31.5%,  $p<0.0001$ ).

As expected, non-T2DM women with VF were older and with lower L-BMD than those without VF. Furthermore, when comparing the T2DM women with VF versus non-T2DM with VF, the former were significantly younger and had higher L-BMD. Contrary to non-T2DM women, L-BMD did not correlate with age (data not shown) and VF were not distributed homogeneously according to L-BMD and age in T2DM women. This contrasts with previous reports where it was shown that patients with T2DM and VF were older than those without T2DM.<sup>18</sup> Consistent with our findings, Vestergaard et al. provide evidence for normal or even high BMD at both the hip and the spine in T2DM,<sup>19</sup> although there is paradoxically increased fracture risk, and we confirmed this observation. This contrasts with an expected RR 0.7 (30% lower risk) based on the degree of BMD elevation in

T2DM. This highlights the difficulty in relying on BMD alone to assess fracture risk in these patients.<sup>20</sup>

Previous studies examining the association between vitamin D deficiency and osteoporotic fractures have reported conflicting results. Men, but not women, with a serum 25(OH)D concentration of less than 20 ng/mL exhibited an increased risk of vertebral fractures (OR 7.87; 95% CI 1.69-36.71).<sup>21</sup> However, other reports found that vitamin D insufficiency is a risk factor for vertebral fragility fractures in both men and women.<sup>22</sup> We did not find differences in vitamin D levels between women with and without VF (with VF 18.4 ng/dl [14.7-24.45] versus without VF 21 ng/ml [16.6-27.8],  $p=0.08$ ). Neither found differences between in T2DM women with VF versus without VF (data not shown). Thus, the relationship between vitamin D status and risk of VF in diabetic patients is uncertain and requires more studies.

Holmberg et al show that diabetes was the risk factor with the largest impact on VF fractures, increasing the risk more than three times (RR 3.56, 1.75–7.23;  $p=0.001$ ).<sup>14</sup> However, a meta-analysis of observational studies revealed that T2DM was associated with higher risk for hip fractures (OR 1.296, 95 % CI (1.069-1.571), but not vertebral fractures (OR = 1.134, 95 % CI (0.936-1.374)).<sup>23</sup> We show that T2DM significantly increases the risk of VF with an OR of 3.540 (IC95% 1.750-7.160);  $p=0.0004$ ).

A recent meta-analysis across 15 studies showed individuals with T2DM had lower risk of prevalent (OR 0.84 [95% CI 0.74-0.95]) but increased risk of incident VF (OR 1.35 [95% CI 1.27-1.44]).<sup>24</sup> The heterogeneity introduced by the studies is important since the population, the ethnicity, the presence or absence of any skeletal disorders, the type of medical center, and the severity of the T2DM are different in the different studies.

Although BMD is the gold standard for diagnosing osteoporosis, it may be less important in the prediction of fracture risk, at

least in T2DM patients.<sup>25</sup> BMD is increased, but bone quality is reduced in patients with T2DM compared to individuals without T2DM. In the present study, we confirmed the previous results that BMD does not discriminate the T2DM patients with increased risk of VF.<sup>18</sup> Trabecular microarchitecture of vertebrae is an important component of bone quality. Trabecular bone score (TBS), a recently developed parameter, may indirectly capture some aspects of 3-dimensional bone characteristics. Moreover, TBS might provide useful information in secondary osteoporosis such as in T2DM. Choi et al demonstrated that TBS has a better performance to detect VF compared to BMD in postmenopausal Korean women with T2DM.<sup>26</sup> Other studies also showed that TBS had the highest association with VF among all tests based on ROC analysis.<sup>27</sup>

Nevertheless, our study had some limitations. First, the study design was cross-sectional and the sample size was not large enough to draw definite conclusions. Second, we did not include patients with chronic kidney insufficiency in advanced stages. Therefore, the patients enrolled in this study might have had relatively less severe level of T2DM. Third, subjects received several diabetic treatments that affect bone mass and fracture risk. However, we did not analyze the effect of this factor in our findings.

In conclusion, we found that T2DM women in our population had an increased risk for VF independent of L-BMD, age, glycemic control, and vitamin D levels. This suggests that individuals with T2DM might also be good candidates for systematic VF screening beyond DXA BMD.

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

Recibido: abril 2020  
Aceptado: julio 2020



1. Johansson L, Sundh D, Nilsson M, Mellström D, Lorentzon M. Vertebral fractures and their association with health-related quality of life, back pain and physical function in older women. *Osteoporos Int.* 2018; 29(1):89-99.
2. IDF. Diabetes Atlas. 9º edición. 2019.
3. Ramírez Stieben LA, Brance ML. Mechanisms involved in the bone fragility in diabetes mellitus. *Actual Osteol.* 2018; 14(3):206-219.
4. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007; 166:495-505.
5. Murray CE, Coleman CM. Impact of diabetes mellitus on bone health. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(19):4873.
6. Sellmeyer DE, Civitelli R, Hofbauer LC, et al. Skeletal Metabolism, Fracture Risk, and Fracture Outcomes in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2016; 65(7):1757-1766.
7. Paschou SA, Dede AD, Anagnostis PG, et al. Type 2 diabetes and osteoporosis: a guide to optimal management. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017; 102(10):3621-3634.
8. Bilezikian JP, Josse RG, Eastell R, et al. Rosiglitazone decreases bone mineral density and increases bone turnover in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(4):1519-1528.
9. Bone HG, Lindsay R, McClung MR, et al. Effects of pioglitazone on bone in postmenopausal women with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(12):4691-4701.
10. Xiao WH, Wang YR, Hou WF, et al. The effects of pioglitazone on biochemical markers of bone turnover in the patients with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol.* 2013; 2013:290734.
11. Zhu ZN, Jiang YF, Ding T. Risk of fracture with thiazolidinediones: an updated meta-analysis of randomized clinical trials. *Bone.* 2014; 68:115-123.
12. Viscoli CM, Inzucchi SE, Young LH, et al. Pioglitazone and risk for bone fracture: safety data from a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017; 102(3):914-922.
13. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993;8(9):1137-1148.
14. Holmberg AH, Johnell O, Nilsson PM, et al. Risk factors for fragility fracture in middle age. A prospective population-based study of 33,000 men and women. *Osteoporos Int.* 2006; 17: 1065-77.
15. Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, et al. Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86(1):32-38.
16. Hanley DA, Brown JP, Tenenhouse A, et al. Associations among disease conditions, bone mineral density, and prevalent vertebral deformities in men and women 50 years of age and older: cross-sectional results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:784-90.
17. Ensrud KE, Thompson DE, Cauley JA, et al. Prevalent vertebral deformities predict mortality and hospitalization in older women with low bone mass. Fracture Intervention Trial Research Group. *J Am Geriatr Soc.* 2000; 48(3):241-249.
18. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M et al. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J Bone Miner Res.* 2009; 24(4):702-9.
19. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2007; 18:427-44.
20. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, et al. Bone mineral density is not sensitive enough to assess the risk of vertebral fractures in type 2 diabetic women. *Calcif Tissue Int.* 2007; 80:353-358.
21. Kim YJ, Park SO, Kim TH, et al. The association of serum 25-hydroxyvitamin D and vertebral fractures in patients with type 2 diabetes. *Endocr J.* 2013; 60(2):179-84.

22. Maier GS, Seeger JB, Horas K, et al. The prevalence of vitamin D deficiency in patients with vertebral fragility fractures. *Bone Joint J.* 2015; 97-B(1):89-93
  23. Dytfeld J, Michalak M. Type 2 diabetes and risk of low-energy fractures in postmenopausal women: meta-analysis of observational studies. *Aging Clin Exp Res.* 2017; 29(2):301-309.
  24. Koromani F, Oei L, Shevroja E, et al. Vertebral fractures in individuals with type 2 diabetes: more than skeletal complications alone. *Diabet Care.* 2020; 43(1):137-144.
  25. Schwartz AV, Vittinghoff E, Bauer DC, et al. Association of BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes. *JAMA.* 2011; 305:2184-2192.
  26. Choi YJ, Ock SY, Chung YS. Trabecular Bone Score (TBS) and TBS-Adjusted fracture risk assessment tool are potential supplementary tools for the discrimination of morphometric vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Clin Densitom.* 2016; 19(4):507-514.
  27. Lin YC, Wu J, Kuo SF, et al. Vertebral fractures in type 2 diabetes patients: utility of trabecular bone score and relationship with serum bone turnover biomarkers. *J Clin Densitom.* 2020; 23(1):37-43.
-



## ARTÍCULOS ORIGINALES / Originals

# HIPOFOSFATASEMIA CRÓNICA PERSISTENTE DE CAUSA NO DETERMINADA Y SU REPERCUSIÓN MÚSCULO-ESQUELÉTICA

Ariela Verónica Kitairodsky, Sebastián Marciano, Graciela Beatriz Jiménez, María Diehl, Luisa Plantalech  
Servicio de Endocrinología, Metabolismo y Medicina Nuclear. Hospital Italiano de Buenos Aires.  
Argentina.

### Resumen

La fosfatasa alcalina baja o hipofosfatemia, ya sea debida a causas genéticas (hipofosfatemia) o secundarias, presenta correlato clínico. Nuestro objetivo es estimar la prevalencia de hipofosfatemia crónica persistente y describir sus hallazgos osteometabólicos.

Se realizó una búsqueda electrónica de afiliados adultos al Hospital Italiano de Buenos Aires, entre 2013 y 2017, con al menos 2 determinaciones de fosfatasa alcalina igual a 30 UI/l o menor y ninguna mayor de 30 UI/l (rango de referencia 30-100 UI/l). Se excluyeron aquellos con causas secundarias diagnosticadas y se analizaron los correlatos clínico y bioquímico.

Se detectó hipofosfatemia crónica persistente en 78 de 105.925, 0,07% (0,06-0,09) de los afiliados. Solo uno fue excluido por tener causa secundaria. Eran 61,1% mujeres de 44 (34-56) años, fosfatasa alcalina 24 (20-27) UI/L, fosfatemia 4,1 (3,8-4,6) mg/dl. Se obser-

varon osteoartritis, calcificaciones vasculares y fracturas, menos frecuentemente litiasis renal, calcificación del ligamento longitudinal común anterior, pérdida dental y convulsiones. El 63,6% tenían al menos una de las características clínico-radiológicas evaluadas, pero en solo 5,2% fue mencionado el diagnóstico de hipofosfatemia en la historia clínica. La densitometría evidenció algún grado de afección (osteopenia u osteoporosis) en 76,2%. Se constataron 19 fracturas, con predominio en radio.

La prevalencia de hipofosfatemia fue similar a lo previamente reportado. El reconocimiento fue bajo; sin embargo, se observaron variadas manifestaciones músculo-esqueléticas, similares a las descritas en la hipofosfatemia del adulto, por lo cual –ante una hipofosfatemia sin causa secundaria– se sugiere considerar este diagnóstico.

**Palabras clave:** fosfatasa alcalina, hipofosfatemia, hipofosfatemia.

\*E-mail: [ariela.kitairodsky@hospitalitaliano.org.ar](mailto:ariela.kitairodsky@hospitalitaliano.org.ar)

## Abstract

### **PERSISTENT HYPOPHOSPHATEMIA AND ITS MUSCULOSKELETAL REPERCUSSION**

Low alkaline phosphatase (ALP) or hypophosphatemia either due to genetic (hypophosphatasia) or secondary causes, presents a clinical correlate. Our objectives are to estimate the prevalence of persistent hypophosphatemia and to describe the clinical findings.

We performed a search using the electronic medical records of the members of the Hospital Italiano de Buenos Aires health care system, between 2013 and 2017. Adult members with  $\geq 2$  ALP  $\leq 30$  IU/l, no ALP  $>30$  IU/l (normal range 30-100 IU/l) and without diagnosed secondary causes were analyzed.

Persistent hypophosphatemia was detected in 78 of 105.925, 0.07% (0.06-0.09) of members. Only one was excluded due to a secondary cause, 61.1% were women, 44 (34-56) year-old, ALP 24 (20-27)

IU/l and phosphatemia 4.1 (3.8-4.6) mg/dl. Osteoarthritis, vascular calcifications and fractures were detected, and nephrolithiasis, DISH (Diffuse idiopathic skeletal hyperostosis), tooth loss, and seizures were less frequently observed. At least one of the mentioned characteristics were present in 63.6 %, but only 5.2% had hypophosphatemia registered in their clinical record. Densitometry showed osteopenia or osteoporosis in 76.2%. There were 19 fractures, most of them in radius.

The prevalence of hypophosphatemia was similar to what has been previously reported. Hypophosphatemia finding in medical records was low, but far from being asymptomatic, clinical manifestations were observed. In the presence of hypophosphatemia without a secondary cause, adult hypophosphatasia should be suspected.

**Keywords:** Alkaline phosphatase, hypophosphatemia, hypophosphatasia.

## Introducción

El aumento de la fosfatasa alcalina (FAL) en los resultados de laboratorio es un hallazgo habitual y suele ser un motivo de alerta que lleva a la búsqueda de enfermedades hepáticas o esqueléticas. En cambio, la FAL baja o hipofosfatemia no suele ser valorada y su correlato clínico es desestimado. Se ha reportado en adultos una prevalencia de hipofosfatemia crónica persistente de 0,06%.<sup>1</sup>

La hipofosfatemia crónica persistente puede deberse a causas secundarias como la enfermedad celíaca, desnutrición severa, cirugía mayor, hipotiroidismo grave, déficit de

magnesio o de zinc.<sup>2</sup> El patrón temporal del descenso de la FAL puede orientar a su causa: cuando es abrupto, suele ser en contexto de enfermedades críticas y se asocia con mayor mortalidad a corto plazo.<sup>3,4</sup> Excluidas las causas secundarias, la hipofosfatemia crónica persistente podría ser indicador de una posible hipofosfatemia del adulto.

La hipofosfatemia es una enfermedad infrecuente de causa genética; las formas graves de la infancia cursan con defectos en la mineralización, raquitismo y complicaciones sistémicas.<sup>5,6</sup> La hipofosfatemia del adulto, en cambio, es una forma leve pero que puede presentarse con una amplia gama de ma-



nifestaciones clínicas inespecíficas, como dolores crónicos musculoesqueléticos, baja masa ósea, fracturas con falla en la consolidación, condrocalcinosis, artropatía cristalina, periartrosis calcificada, entesopatía y riesgo de fracturas atípicas con el uso de antirresortivos.<sup>7,8</sup> El diagnóstico de la hipofosfatasemia, ante la sospecha clínica y la hipofosfatasemia persistente, se confirma con el aumento de los sustratos de la FAL (fosfato de piridoxal o fosfoetanolamina), o bien con el estudio molecular del gen de la FAL. Es de interés clínico identificar a los pacientes con hipofosfatasemia crónica y determinar su causa: secundaria a una patología subyacente no diagnosticada o primaria por causa genética para evaluar las implicancias clínicas y la posible transmisión hereditaria.

Dado que no contamos con datos en nuestra población, nos propusimos realizar este estudio que tiene como objetivo estimar la prevalencia de hipofosfatasemia crónica persistente en adultos afiliados al Plan de Salud del Hospital Italiano, y describir las características osteometabólicas mediante parámetros clínicos, radiológicos, densitométricos y de laboratorio disponibles de estos pacientes.

### Materiales y métodos

Se diseñó un estudio de corte transversal de pacientes con hipofosfatasemia crónica persistente sin causa determinada sobre la base de la revisión de historias clínicas de afiliados al Plan de Salud del Hospital Italiano de Buenos Aires. El período de inclusión de pacientes fue el comprendido entre 1/1/2013 y 31/12/2017. Se realizó una búsqueda en la historia clínica electrónica de los afiliados mayores de 18 años, con 2 o más determinaciones de FAL igual a 30 UI/l o menor (rango de referencia 30-100 UI/l), con intervalo mayor de 3 meses entre ellas, y ninguna determinación de FAL mayor de 30 UI/l en cualquier momento de su historia.

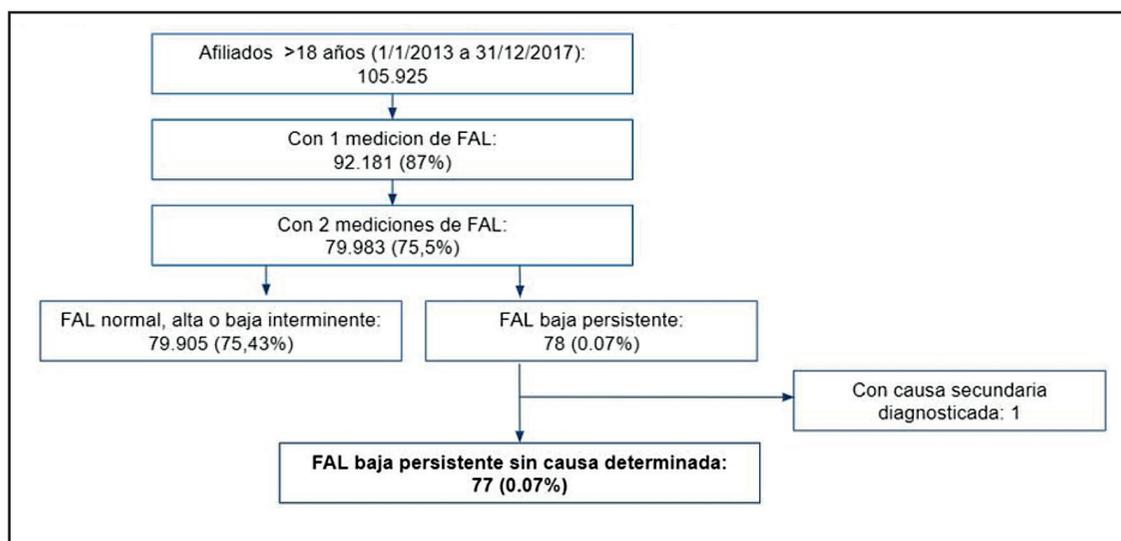
Se buscaron causas secundarias de hipo-

fosfatasemia: hipotiroidismo grave, déficit de magnesio o de zinc, cirugía mayor (cardíaca o pulmonar), desnutrición severa, bajo peso, anorexia o trastorno de alimentación, sepsis severa, anemia, enfermedad renal crónica, enfermedad celíaca, enfermedad de Wilson, síndrome de Cushing o uso de corticoides sistémicos, tratamiento con antirresortivos previo a la medición de FAL baja. Se seleccionaron aquellos en los que no se encontraron causas secundarias diagnosticadas, y se analizaron las evoluciones y estudios complementarios disponibles.

Las variables categóricas se expresaron como número absoluto y porcentaje, las numéricas en mediana y rango intercuartil 25%-75% (RIC). La prevalencia de hipofosfatasemia crónica persistente fue estimada sobre el total de adultos afiliados. Adicionalmente se reporta la prevalencia sobre el total de adultos que tenían en el período de estudio al menos dos determinaciones de FAL. Las prevalencias se reportan con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. El análisis estadístico se realizó con el *software* Stata 13®. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Protocolos en Investigación del Hospital Italiano de Buenos Aires.

### Resultados

Sobre un total de 105.925 afiliados en el período de estudio, 79.983 (75,5%) tenían al menos 2 mediciones de FAL. Se detectó hipofosfatasemia crónica persistente en 78 afiliados, que representaban el 0,07% (IC 95%: 0,06-0,09) del total de los afiliados y 0,097% (IC 95%: 0,08-0,10) de los que tenían al menos 2 mediciones. Ninguno de los 78 pacientes con FAL baja persistente tenía la totalidad de las causas secundarias descartadas, y solo uno tenía un diagnóstico que justificaba su hipofosfatasemia (enfermedad celíaca); por lo tanto fue excluido, quedando incluidos 77 afiliados con hipofosfatasemia crónica persistente sin causa determinada (Figura 1).



**Figura 1.** Disposición de los afiliados evaluados con medición de fosfatasa alcalina (FAL) e incluidos en el estudio por hipofosfataseia persistente. Los porcentajes se estiman sobre el total de los afiliados adultos (105.925).

Los afiliados con FAL baja persistente eran en su mayoría mujeres, de edad mediana 44 años (entre 18 y 77 años). Se observaron las siguientes características clínico-radiológicas: osteoartritis, calcificaciones vasculares y fracturas en 45 (58,4%), 13 (16,9%) y 12 (15,6%) pacien-

tes, respectivamente. Con menos frecuencia se observó litiasis renal, calcificación del ligamento longitudinal común anterior (LLCA) o enfermedad de Forestier, pérdida dental y convulsiones. No se observó ningún caso de raquitismo, osteomalacia o fracturas atípicas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Características demográficas, clínicas y radiológicas de los pacientes con hipofosfataseia crónica persistente.\*

Característica	Resultado (N= 77)
Género femenino, núm. (%)	47 (61,1%)
Edad en la primera medición de FAL**	44 (34-56)
Calcificaciones vasculares, núm. (%)	13 (16,9%)
Fracturas, núm. (%)	12 (15,6%)
Entesopatía, núm. (%)	6 (7,8%)
Condrocalcinosis, núm. (%)	5 (6,5%)
Litiasis renal, núm. (%)	3 (3,9%)
Pérdida dental, núm. (%)	2 (2,6%)
Calcificación del ligamento longitudinal anterior núm. (%)	2 (2,6%)
Convulsiones, núm. (%)	1 (1,3%)

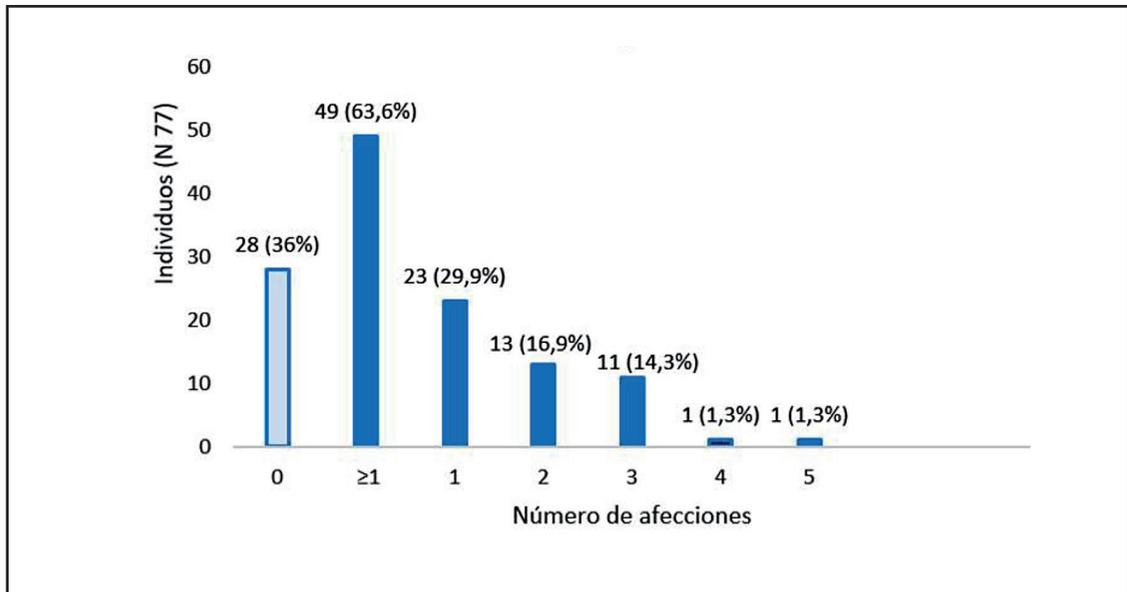
\*Radiografías disponibles en 69 pacientes. \*\*Expresado en Mediana, RIC (rango intercuartil 25%-75%).



Un total de 49 (63,6%) pacientes tenían al menos una de las características clínico-radiológicas detalladas previamente (Figura 2).

Como otro dato de interés, 7 pacientes (9%) habían consultado con el Servicio de

Psiquiatría (5 por depresión y 2 por trastorno de ansiedad). Se mencionó en 4 pacientes (5,2%) el diagnóstico de hipofosfatemia en la historia clínica.



**Figura 2.** Número de individuos con hipofosfatemia crónica persistente según cantidad de afecciones clínico-radiológicas. Se consideró afección clínico-radiológica a cualquiera de las siguientes: osteoartritis, calcificaciones vasculares, fracturas, entesopatía, condrocalcinosis, litiasis renal, pérdida dental, DISH, convulsiones, raquitismo/osteomalacia.

Los estudios bioquímicos revelaron que la mediana de FAL inicial fue 24 UI/L (RIC 20-27), con mínimo de 9 UI/L y máximo de 30 UI/L. Los pacientes sin ninguna afección de las descritas tenían una mediana de FAL de 26,5 UI/L (RIC 24-28) y los que tenían una o más afecciones, de 22 UI/L (RIC 19,0-26,2), diferencia no significativa.

Tanto la calcemia como la creatinina fueron normales. En cuanto a la fosfatemia, si bien fue normal, su mediana (4,1 mg/dl, RIC 3,8-4,6) se encuentra en el rango normal

alto, el valor mínimo fue 3,1 mg/dl y el máximo 5,5 mg/dl; 10 pacientes (12,9%) presentaron hiperfosfatemia pero ninguno hipofosfatemia (Tabla 2).

Se observaron osteoartritis, fracturas e hiperfosfatemia predominantemente en mujeres, y calcificaciones vasculares en hombres. En estos subgrupos de pacientes, el rango etario se encontraba entre los 50 y 65 años; la FAL inicial fue de 22,0 a 24,5 UI/L y la fosfatemia fue de 3,8 a 4,8 mg/dl (Tabla 3).

**Tabla 2.** Parámetros bioquímicos de los pacientes con hipofosfatemia crónica persistente.\*

Laboratorio	Resultados	N	Valor de referencia	Método de laboratorio
FAL inicial	24 (20-27)	77	30-100 UI/l	UV Cinético
Calcemia	9,3 (9,1-9,5)	40	8,5-10,5 mg/dl	Colorimétrico/arsenazo
Fosfatemia	4,1 (3,8-4,6)	32	2,5-4,5 mg/dl	Complejo fosfomolibdato
Creatinina	0,85 (0,75-1,00)	77	0,5-1,2 mg/dl	Cinético de Jaffé
25OH-Vitamina D	27,8 (23-34,4)	27	>30 ng/ml	Quimioluminiscencia
Parathormona (PTH)	72,6 (35,1-88,1)	11	8,7-77,1 pg/ml	Quimioluminiscencia
B- Cross Laps	0,393 (0,245-0,444)	11	<0,573 ng/ml	ECLIA

\* Expresados en Mediana, (RIC).

**Tabla 3.** Descripción de las variables género, edad, fosfatasa alcalina y fosfatemia, en subgrupos de pacientes con osteoartritis, calcificaciones vasculares, fracturas e hiperfosfatemia.

	Osteoartritis	Calcificaciones Vasculares	Fracturas	Hiperfosfatemia
N.º. de pacientes	45	13	12	10
Mujeres, núm. (%)	23 (51%)	4 (30%)	7 (58%)	7 (70%)
Edad 1º medición de FAL <sup>1</sup>	50 (42-62)	65 (61-74)	58 (44-65)	50 (41-56)
FAL <sup>2</sup>	23 (19-26)	23 (20-27)	22 (20-25)	24 (19-25)
Fosfatemia <sup>3</sup>	4,2 (3,8-4,7)	3,8 (3,7-4,0)	4,1 (3,8-4,4)	4,8 (4,7-5,0)

1. Expresada en Mediana (RIC). 2. Fosfatasa alcalina (FAL) VN 30-100 UI/L expresada en Mediana (RIC). 3. Fosfatemia VN 2,5-4,5 mg/dL, expresada en Mediana (RIC).

Se realizó densitometría ósea en 21 de 77 pacientes (27,3%). La mayoría eran mujeres con edad mediana 55 (al momento de la primera determinación de FAL); 16 pacientes (76,2%)

mostraron algún grado de alteración como osteopenia u osteoporosis. Se vieron fracturas en 6 pacientes, 2 con densitometría normal, 2 con osteopenia y 2 con osteoporosis (Tabla 4).

**Tabla 4.** Densitometría ósea de los pacientes con hipofosfatemia crónica persistente\*

Densitometría	Resultado	Edad 1º FAL**	Mujeres (núm. (%))	Fracturas
Normal, núm. (%)	5 (23,8%)	44 (35-55)	5 (100%)	2
Osteopenia, núm. (%)	11 (52,4%)	63 (50-66)	8 (73%)	2
Osteoporosis, núm. (%)	5 (23,8%)	56 (50-62)	5 (100%)	2
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>55 (47-65)</b>	<b>18 (86%)</b>	<b>6</b>

\* Según criterios de la OMS<sup>9</sup>. \*\* Mediana (RIC).



Cuatro pacientes con hipofosfataseia basal recibieron bifosfonatos; las densitometrías mostraban osteoporosis en 3 y osteopenia en una. Una de las pacientes con osteoporosis sin fracturas previas presentó múltiples fracturas postratamiento con bifosfonatos (olécranon, pelvis y muñeca). Las pacientes

restantes no presentaron eventos registrables por esta terapia.

Se observaron 19 fracturas, en 12 pacientes (5 de ellos presentaron 2 o más), mayormente en el radio, sin predominio de género. Las fracturas eran de bajo impacto y dos pacientes presentaron fracturas de estrés (Tabla 5).

**Tabla 5.** Localización y tipos de fracturas en pacientes con hipofosfataseia crónica persistente.

Localización	Fracturas (N 19)	Género	Mecanismo de fractura
Radio	7	4 F*, 3 M**	bajo impacto
Metatarsiano	2	F y M	1 de estrés, 1 bajo impacto con retraso consolidación
Pelvis	2	F	bajo impacto
Codo	2	F	bajo impacto
Costales	2	M	bajo impacto
Escápula	1	M	bajo impacto
Tibia	1	M	de estrés
Vertebral	1	F	bajo impacto
Rótula	1	F	bajo impacto

\*Femenino, \*\*Masculino.

## Discusión

La FAL es una glicoproteína constituida por dos homodímeros simétricos con sitios activos aceptores de zinc, magnesio y calcio. Su actividad enzimática consiste en hidrolizar ésteres de monofosfato y liberar fósforo inorgánico; sus principales sustratos son el pirofosfato, el piridoxal 5' fosfato y la fosfoetanolamina. La FAL no específica de tejido es codificada en el cromosoma 1; por modificaciones postraduccionales se generan sus isoformas hepática, renal y ósea; esta última es sintetizada por el osteoblasto y permite la mineralización. Las isoenzimas específicas de tejido (FAL intestinal, placentaria y de las células germinales) se codifican en el cromosoma 2.<sup>9</sup>

La hipofosfataseia detectada por resul-

tados de laboratorio no se considera habitualmente un dato de gravedad o importancia clínica. Su investigación en profundidad abre una puerta al estudio de posibles causas secundarias o a enfermedades óseas hereditarias como la hipofosfataseia.

La FAL baja puede ser secundaria a múltiples causas como por ejemplo el hipotiroidismo severo, la enfermedad de Cushing, el mieloma múltiple, el tratamiento con bifosfonatos, el hueso adinámico en la enfermedad renal crónica, la desnutrición severa, la restricción calórica aguda, el déficit de zinc, el déficit de magnesio, la enfermedad celíaca y la anemia perniciosa, entre otras. La FAL súbitamente baja puede verse luego de cirugías cardíacas o cardiopulmonares, en pacientes

que reciben quimioterapia o transfusiones, sepsis severa o fallo multiorgánico. El descenso precipitado de la FAL por debajo del rango normal es infrecuente y puede indicar un estrés fisiológico severo y una mayor mortalidad a corto plazo.<sup>2-4</sup>

La hipofosfataseia detectada en este estudio podría responder a causas secundarias tratables y reversibles que no fueron descartadas, o bien ser casos de hipofosfataseia del adulto. En ambos casos, su falta de diagnóstico impide un seguimiento y tratamiento adecuados y el consejo genético cuando corresponda. Se buscaron pacientes con FAL persistentemente baja, excluyendo así a los pacientes con descensos transitorios, y además se excluyeron a aquellos con causas secundarias diagnosticadas; solo se detectó una paciente con un diagnóstico específico (enfermedad celíaca). Ningún paciente tenía estudiadas la totalidad de las potenciales causas secundarias de hipofosfataseia, así como ninguno tenía descartada la hipofosfataseia del adulto.

En este estudio verificamos una prevalencia de hipofosfataseia crónica persistente de 0,07% de los adultos afiliados al Hospital Italiano de Buenos Aires; resultó más frecuente en mujeres (61%) de edad media (44 años al momento de su primera determinación de FAL). Los resultados son similares a lo reportado por McKiernan<sup>1</sup> en una serie de pacientes con hipofosfataseia, cuya prevalencia fue de 0,06%, mayoría femenina (64%) y edad de primera medición de FAL a los 46 años; también coincide con lo observado por Berkseth<sup>7</sup> en una serie de pacientes con diagnóstico confirmado de hipofosfataseia, 68% eran mujeres, edad de 49 años.

Se observó un escaso reconocimiento del dato de laboratorio de hipofosfataseia (5,2%). En el trabajo de Maman et al y col,<sup>10</sup> en pacientes hospitalizados, también se observa un bajo grado de detección (3%). Sobre la base de ambos trabajos nos planteamos que los pacientes con hipofosfataseia serían una

población "oculta", tal vez subdiagnosticada en parte debido a la falta de conocimiento o de difusión de la importancia de estudiar el motivo de este hallazgo de laboratorio.

Se han reportado variadas manifestaciones clínicas, tanto en estudios de hipofosfataseia como de hipofosfataseia del adulto, si bien esta se considera asintomática o una forma leve de presentación comparada con la hipofosfataseia neonatal e infantil. McKiernan en pacientes con hipofosfataseia persistente detectó mayor prevalencia de condrocalcinosis, calcificación periarticular, entesopatía y calcificación del LLCA comparados con controles.<sup>1</sup> En nuestra serie de hipofosfataseia persistente detectamos que el 63,7% presentaba algún hallazgo clínico-radiológico, con predominancia de afecciones articulares, calcificaciones vasculares y fracturas, y, en menor grado, condrocalcinosis y litiasis. En los que tenían al menos una afección se vio una tendencia a tener una FAL ligeramente más baja que los pacientes sin ninguna afección.

El número de pacientes con una o más afecciones se acerca al 68% reportado por Berkseth en hipofosfataseia del adulto,<sup>7</sup> cuyas frecuencias fueron de 41% para dolor musculoesquelético (no analizado en nuestra serie), 18% de fracturas (cerca al 15,6% de nuestra serie), 27% de condrocalcinosis (en nuestra serie fue 6,5%, aunque este dato podría estar infravalorado por la poca disponibilidad de radiografías). En nuestra serie de hipofosfataseia, el hallazgo más frecuente fue la osteoartritis (58,4%). Si bien no es clara la relación con la deficiencia de FAL, en familias con hipofosfataseia se describe la presencia de osteoartritis erosiva.<sup>11,12</sup>

Con respecto a las fracturas, la más frecuente fue la de radio, tanto en hombres como en mujeres, seguida por las de metatarsos, pelvis, codo y costales. McKiernan, en hipofosfataseia, encontró con mayor frecuencia fracturas de radio, tibia, fémur y metatarso.<sup>1</sup> Observamos dos fracturas de estrés, una de



ellas con falta de consolidación, ambas situaciones descritas por otros autores.<sup>1,13</sup>

Se ha reportado predominio de patologías según género. McKiernan, en hipofosfatasemia,<sup>1</sup> reportó diferencias en las manifestaciones clínicas de hombres y mujeres comparados con sus respectivos controles, y Berkseth en hipofosfatasemia<sup>7</sup> observó que las fracturas de pie y la subtrocantérica predominaron en mujeres y las vertebrales en hombres. En nuestro trabajo de hipofosfatasemia observamos osteoartritis y fracturas como patología predominante en mujeres y calcificaciones vasculares en los hombres. A diferencia de Berkseth, la fractura de pie se vio en ambos sexos y la vertebral en una mujer. Estas diferencias podrían ser meras observaciones por el escaso número de casos, o bien podría ser distinta la expresión clínica en hombres y mujeres, aspecto para aclarar en futuras investigaciones.

Berkseth<sup>7</sup> informó que 9% de los adultos con hipofosfatasemia tenían el antecedente de raquitismo en la infancia; en nuestra serie no detectamos ese antecedente pero podría estar subregistrado por tratarse de un estudio retrospectivo de revisión de historias clínicas, donde no se realiza un interrogatorio dirigido.

Los resultados de densitometría evidenciaron alteraciones, lo cual podría traducir algún grado de desmineralización. Sin embargo debemos tener en consideración que la densitometría se solicita a aquellos que tienen algún factor de riesgo para osteoporosis, como la edad, y por otro lado estaba disponible solo en algunos pacientes. A su vez, las fracturas se vieron tanto en pacientes con densitometría normal como disminuida. McKiernan<sup>1</sup> observó resultados variables en la densitometría de pacientes con hipofosfatasemia. Dados los escasos datos de parámetros densitométricos en pacientes con FAL baja, podría ser un área para profundizar en futuros estudios.

Recientemente se ha investigado el rol de la FAL en el envejecimiento del tejido óseo y se comprobó en ratones que la ausencia de

FAL induce un hueso con características de envejecimiento prematuro, como la pérdida de masa ósea y aumento de médula ósea grasa, por expresión aumentada de los factores p16 y p53, senescencia y diferenciación de las células madre en mayor medida a adipocitos en lugar de a osteoblastos.<sup>14</sup> Este es un mecanismo probable que explica las alteraciones observadas, como las fracturas aun con densitometría normal, independientemente de la alteración de la mineralización ósea.

Guañabens<sup>13</sup> sugiere que la baja densidad mineral ósea en los pacientes adultos con hipofosfatasemia, así como las fracturas de estrés, habitualmente llevan a un erróneo diagnóstico de osteoporosis y al tratamiento con bifosfonatos, con lo cual pueden aumentar el riesgo de fracturas atípicas de fémur, como el caso descrito por Sutton.<sup>15</sup> En nuestra serie no detectamos fracturas atípicas, pero sí un caso que, sin fracturas previas, comienza a tenerlas al recibir bifosfonatos por su baja densidad mineral ósea. Es de destacar la importancia de evitar el uso de antirresortivos en pacientes con FAL baja que presentan osteoporosis o fracturas, para no disminuir aún más la remodelación ósea.<sup>15,16</sup> Para el tratamiento de la hipofosfatasemia del adulto con importante afección ósea se han reportado resultados discordantes con teriparatida<sup>17-19</sup> y mejoría de la consolidación de fracturas con asfotasa- $\alpha$  recombinante, que demostró excelentes resultados en hipofosfatasemia de la infancia y en adultos con graves afecciones.<sup>20-22</sup>

En la hipofosfatasemia, debido a la ausencia de FAL, se acumula el pirofosfato, un potente inhibidor de la mineralización. Además, la FAL funciona como ATPasa en las vesículas de la matriz ósea, generando el fosfato inorgánico disponible para que progrese la mineralización.<sup>23</sup> Whyte<sup>24</sup> describió en la hipofosfatasemia que el exceso de pirofosfato, al combinarse con el calcio, precipita como cristales de pirofosfato de calcio y genera condrocalcinosis. El mismo autor ya en 1982 reportó la presencia de calcificaciones periarticulares, condro-

calcinosis y artropatía erosiva en una familia con hipofosfatemia,<sup>25</sup> y Guañabens describió tres hermanas con crisis de pseudogota como única manifestación de hipofosfatemia.<sup>11</sup> Las calcificaciones de ligamentos, tendones, entesopatía y exostosis fueron descritas en casos donde se vieron depósitos de pirofosfato de calcio y verdaderas osificaciones, así como la presencia de calcificación del LLCA en familias con hipofosfatemia leve;<sup>7,12,25,26</sup> en nuestra serie encontramos entesopatía en 7,8% de los pacientes y calcificación del LLCA en 2,6%. Consideramos que estos pacientes podrían tener un amplio espectro de manifestaciones que no son consideradas en la práctica en relación con el dato del laboratorio de la FAL baja, lo cual podría contribuir al subdiagnóstico.

Si bien este estudio es de hipofosfatemia, sin confirmación del diagnóstico etiológico, consideramos que algunos de ellos podrían tener hipofosfatemia del adulto, ya que encontramos manifestaciones esqueléticas y algunas de las manifestaciones sistémicas que se describen en dicha enfermedad. Los pacientes con hipofosfatemia pueden presentar hipercalcemia, y se recomienda la búsqueda de nefrocalcinosis y litiasis renal.<sup>1,13</sup> En este estudio detectamos litiasis renal en 3,9%.

La pérdida dental fue del 2,6% (dato que podría estar subregistrado en las historias clínicas); además de la pérdida temprana de la primera dentición en las formas infantiles de hipofosfatemia,<sup>5,27</sup> se describe la pérdida súbita de dentición en la quinta y sexta década de la vida en la forma adulta.<sup>28</sup>

Observamos un caso con convulsiones, también característico de las formas graves de la infancia; Millán y Whyte<sup>5</sup> explican que en la hipofosfatemia se acumula fosfato de piridoxal (forma circulante mayoritaria de la vitamina B<sub>6</sub>), y que disminuye el piridoxal desfosforilado con capacidad de ingresar en el líquido intracelular para nuevamente fosforilarse y allí actuar como cofactor enzimático en la síntesis de neurotransmisores, como

serotonina, dopamina y GABA. Este mecanismo también se ha relacionado con la posible asociación a patología psiquiátrica en adultos con hipofosfatemia. En nuestra serie, 9% de los pacientes consultaron a psiquiatría, mayoritariamente por depresión. Guañabens y Hoffman en sus respectivas revisiones explican que, si bien la causa de estos trastornos psicológicos no está definida, se ha implicado a la FAL en la síntesis de neurotransmisores como serotonina y dopamina a través de su efecto en el metabolismo de la vitamina B<sub>6</sub>, y se la ha relacionado con manifestaciones de ansiedad y depresión.<sup>1,13,28</sup>

Encontramos que 10 de los pacientes tenían hiperfosfatemia, si bien no todos los pacientes tenían este parámetro de laboratorio medido; se relaciona con una menor actividad de la FAL. La FAL hidroliza y libera el fosfato de sus sustratos, generando fósforo inorgánico disponible para la mineralización.<sup>23</sup> Riancho-Zarrabeitia en una serie de pacientes con hipofosfatemia observó correlación entre un mayor nivel de fosfatemia y mutación positiva para hipofosfatemia.<sup>29</sup>

Nuestro estudio evalúa hipofosfatemia, pero los hallazgos son similares a la hipofosfatemia del adulto, cuyo diagnóstico requiere la evaluación del incremento de sustratos de la FAL como el piridoxal, pirofosfato y fosfoetanolamina, o bien el estudio genético. En ausencia de la posibilidad de realizar el estudio genético se vio que el sustrato de mayor sensibilidad fue el fosfato de piridoxal.<sup>29</sup> En nuestro medio, estos estudios resultan de acceso limitado. Se ha reportado en la Argentina un caso de hipofosfatemia de la infancia con diagnóstico inicial de odontofosfatemia que evolucionó con clínica compatible con hipofosfatemia de la infancia, en el cual se pudo confirmar el nivel aumentado de fosfoetanolamina urinaria.<sup>27</sup>

La principal limitación de este estudio es que es una serie retrospectiva, lo cual implica que no disponemos de datos completos tanto en las historias clínicas como en los estudios



de laboratorio, radiografías y densitometrías revisados, y esto podría acarrear un subregistro en algunos de los parámetros analizados. Por otro lado es muy escaso el estudio de causas secundarias, que podría deberse a la falta de reconocimiento de la FAL baja como una entidad que acarrea problemas osteoarticulares, calcificaciones vasculares, problemas neuropsiquiátricos y odontológicos. Otra limitante es el difícil acceso en nuestro medio a los métodos diagnósticos de la hipofosfataseia, que esperamos en el futuro se pueda facilitar.

Como fortaleza, este es uno de los primeros estudios de FAL baja en nuestro medio, si bien hay reportes de casos clínicos.<sup>27</sup> Encontramos que los datos de prevalencia coinciden con otras series de hipofosfataseia e hipofosfataseia, y que en forma similar a lo visto por otros autores, este cuadro, lejos de ser asintomático, presenta variadas manifestaciones clínicas, radiológicas y afección densitométrica.

En conclusión, planteamos la importancia de estudiar en forma más exhaustiva las posibles causas ante la detección de FAL baja

reiterada, ya sea para descartar condiciones potencialmente tratables como la enfermedad celíaca, el exceso de cobre, la deficiencia de zinc o de magnesio, o realizar el diagnóstico de hipofosfataseia del adulto. Nuestra base de datos clínicos y radiológicos sugiere una clínica semejante a la descrita en hipofosfataseia del adulto que deberemos diagnosticar con los test correspondientes en futuras investigaciones.

Nos proponemos difundir la importancia de jerarquizar la hipofosfataseia como entidad clínica, pues más del 60% de la población presenta alteraciones musculoesqueléticas y de otros órdenes. La FAL baja es una señal de alerta para evitar el tratamiento con bifosfonatos, en pacientes con osteoporosis, y, de ser posible, evaluar la hipofosfataseia del adulto por su implicancia hereditaria.

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

Recibido: julio 2020

Aceptado: septiembre 2020

## Referencias

1. McKiernan FE, Berg RL, Fuehrer J. Clinical and radiographic findings in adults with persistent hypophosphatasemia. *J Bone Miner Res* 2014; 29:1651-60.
2. Lum G. Significance of Low Serum Alkaline Phosphatase Activity in a Predominantly Adult Male Population. *Clin Chem* 1995; 41:515-8.
3. McKiernan FE, Dong J, Berg RL, et al. Mutational and biochemical findings in adults with persistent hypophosphatasemia. *Osteoporos Int* 2017; 28:2343-8.
4. McKiernan FE, Shrestha LK, Berg RL, Fuehrer J. Acute hypophosphatasemia. *Osteoporos Int* 2014; 25:519-23.
5. Millán JL, Whyte MP. Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia. *Calcif Tissue Int* 2016; 98:398-416.
6. Mornet E, Yvard A, Taillandier A, Fauvert D, Simon-Bouy B. A molecular-based estimation of the prevalence of hypophosphatasia in the European population. *Ann Hum Genet* 2011; 75:439-45.
7. Berkseth KE, Tebben PJ, Drake MT, Hefferan TE, Jewison DE, Wermers RA. Clinical spectrum of hypophosphatasia diagnosed in adults. *Bone* 2013; 54:21-7.
8. Whyte MP. Hypophosphatasia — aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and

- treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2016; 12:233-246.
9. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. *Indian J Clin Biochem* 2014; 29: 26978.
  10. Maman E, Borderie D, Roux C, Briot K. Absence of recognition of low alkaline phosphatase level in a tertiary care hospital. *Osteoporos Int* 2015; 27:1251-4.
  11. Guañabens N, Mumm S, Möller I, et al. Calcific periartthritis as the only clinical manifestation of hypophosphatasia in middle-aged sisters. *J Bone Miner Res* 2014; 29:929-34.
  12. Lassere MN, Jones JG. Recurrent calcific periartthritis, erosive osteoarthritis and hypophosphatasia: a family study. *J Rheumatol*. 1990; 17: 1244-1248.
  13. Guañabens N, Blanch J, Martínez-Díaz-Guerra G, Torres MM. Identificación de hipofosfatemia en la práctica clínica: manifestaciones clínicas y recomendaciones diagnósticas en pacientes adultos. *Medicina* 2018; 150:75-9.
  14. Liu W, Zhang L, Xuan K, et al. Alpl prevents bone ageing sensitivity by specifically regulating senescence and differentiation in mesenchymal stem cells. *Bone Research* 2018; 6.
  15. Sutton RAL, 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.
  16. Whyte MP. Atypical Femoral Fractures, Bisphosphonates, and Adult Hypophosphatasia. *J Bone Miner Res* 2009; 24:1132-4.
  17. Laroche M. Failure of teriparatide in treatment of bone complications of adult hypophosphatasia. *Calcif Tissue Int* 2012; 90:250.
  18. Camacho PM, Mazhari AM, Wilczynski C, Kadanoff R, Mumm S, Whyte MP. Adult hypophosphatasia treated with teriparatide: report of 2 patients and review of the literature. *Endocr Pract* 2016; 22:941-50.
  19. Whyte MP, Mumm S, Deal C. Adult hypophosphatasia treated with teriparatide. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1203-8.
  20. Klidas P, Severt J, Aggers D, Payne J, Miller PD, Ing SW. Fracture Healing in Two Adult Patients With Hypophosphatasia After Asfotase Alfa Therapy. *JBMR Plus* 2018; 2:304-7.
  21. Freitas TQ, Franco AS, Pereira RMR. Improvement of bone microarchitecture parameters after 12 months of treatment with asfotase alfa in adult patient with hypophosphatasia. *Medicine* 2018; 97: e13210.
  22. Kishnani PS, Rockman-Greenberg C, Rauch F, et al. Five-year efficacy and safety of asfotase alfa therapy for adults and adolescents with hypophosphatasia. *Bone* 2019; 121:149-62.
  23. Millán JL, Plotkin H. Hypophosphatasia - pathophysiology and treatment. *Actual Osteol* 2012; 8:164-82.
  24. Whyte MP. Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1192:190-200.
  25. Whyte MP, Murphy WA, Fallon MD. Adult hypophosphatasia with chondrocalcinosis and arthropathy. Variable penetrance of hypophosphatasemia in a large Oklahoma kindred. *Am J Med* 1982; 72:631-41.
  26. Iida K-I, Fukushi J-I, Fujiwara T, Oda Y, Iwamoto Y. Adult hypophosphatasia with painful periarticular calcification treated with surgical resection. *J Bone Miner Metab* 2012; 30: 722-5.
  27. Seijo M, Oliveri B. Caso clínico: hipofosfatemia de la niñez. Seguimiento clínico. *Actual Osteol* 2018; 14:36-43.
  28. Hofmann C, Girschick HJ, Mentrup B, et al. Clinical Aspects of Hypophosphatasia: An Update. *Clin Rev Bone Miner Metab* 2013; 11:60-70.
  29. Riancho-Zarrabeitia L, García-Unzueta M, Tenorio JA, et al. Clinical, biochemical and genetic spectrum of low alkaline phosphatase levels in adults. *Eur J Intern Med* 2016; 29:40-5.



## ACTUALIZACIONES / Review

# IMPORTANCIA DE LA VITAMINA D EN LA ÉPOCA DE COVID-19

Mariana Seijo<sup>1,2,3\*</sup>, Beatriz Oliveri<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. INIGEM (CONICET - Universidad de Buenos Aires). Facultad de Farmacia y Bioquímica - Hospital de Clínicas José de San Martín, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Segunda Unidad Académica de Microbiología, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. <sup>3</sup> Becaria doctoral del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) <sup>4</sup> Investigadora independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

### Resumen

“Los coronavirus pertenecen a una gran familia de virus (Coronaviridae) que infectan aves y varios mamíferos. El coronavirus actualmente denominado SARS-CoV-2, fue descubierto en diciembre de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei, China, y es el agente causal de la epidemia de neumonía atípica actual” (COVID-19; *Coronavirus Disease 2019*). Los casos más graves presentan un síndrome de dificultad respiratoria aguda que puede conducir a la muerte. La vitamina D (VD), además del efecto bien conocido y positivo sobre la salud ósea y la homeostasis del calcio, tiene efecto pleiotrópico en varios órganos, con distribución casi universal del receptor de VD y de las enzimas de metabolización de 25 hidroxivitamina D (25OHD) en las células del organismo. Estas acciones extraesqueléticas dependen de la síntesis en dichas células del metabolito activo 1,25 dihidroxivitamina D por regulación paracrina y autocrina, dependien-

te de niveles circulantes óptimos de 25OHD. Por sus acciones inmunomoduladora, anti-inflamatoria, antimicrobiana, reguladora del sistema renina-angiotensina-aldosterona, favorecedora de la indemnidad del epitelio respiratorio y la homeostasis redox celular, la VD podría tener efecto protector en la infección por COVID-19.

Entre los grupos de riesgo para COVID-19 figuran los adultos mayores, obesos, diabéticos, hipertensos, con afecciones cardiovasculares, patologías con mayor incidencia en individuos con hipovitaminosis VD.

La suplementación con VD, para alcanzar niveles óptimos de 25OHD de 40-60 ng/ml, podría reducir la incidencia, severidad y riesgo de muerte en la actual pandemia por COVID-19, como medida complementaria mientras se desarrollan la vacuna y otras medicaciones específicas.

**Palabras clave:** vitamina D, COVID-19, suplementación, inmunología, SRAA. prevención.

\*E-mail: [seijomarianita@gmail.com](mailto:seijomarianita@gmail.com)

**Abstract****IMPORTANCE OF VITAMIN D IN THE TIME OF COVID-19**

Coronaviruses belong to a large family of viruses (Coronaviridae) that infect birds and various mammals. The novel coronavirus currently known as SARS-CoV-2 was discovered in December 2019 in Wuhan, Hubei province, China and is the causal agent of the current atypical pneumonia epidemic (COVID-19: Coronavirus Disease 2019); The most severe cases present with acute respiratory distress syndrome that can lead to death. Vitamin D (VD) has a pleiotropic effect on several organs, in addition to its well-known and positive effect on bone health and calcium homeostasis, with an almost universal distribution of the VD receptor and the metabolites of 25hydroxyvitamin D (25OHD) in all cells of the body. These extra-skeletal actions depend on the synthesis of the active metabolite 1,25dihydroxyvitamin D in the cells depending

on the optimal circulating levels of 25OHD and through paracrine and autocrine regulation. Due to its immunomodulatory, anti-inflammatory, antimicrobial, and regulatory actions on the renin angiotensin aldosterone system, which favors the compensation of the respiratory epithelium and cellular redox homeostasis, the VD could have a protective effect on COVID-19 infection. Among the risk groups for COVID-19 are obese, diabetic, and hypertensive patients, subjects with cardiovascular conditions, and elderly people. All these pathologies show a higher incidence in individuals with VD hypovitaminosis. VD supplementation, to achieve optimal 25OHD levels of 40-60 ng/ml, could reduce the incidence, severity, and risk of death in the current COVID-19 pandemic, as a complementary measure while the vaccine and other specific therapies are being developed.

**Key words:** vitamin D, COVID-19, supplementation, immunology, SRAA, prevention.

**Introducción**

La vitamina D (VD) es fundamental para la salud ósea en todas las etapas de la vida, desde el desarrollo fetal hasta la tercera edad debido al rol que cumple en la homeostasis del calcio (acciones esqueléticas o clásicas).<sup>1</sup> En los últimos años se ha reportado que la VD también participa en la regulación de numerosos tejidos y órganos a través de lo que se conoce como las acciones extraesqueléticas o no clásicas de la VD.<sup>1-3</sup>

La fuente natural de VD en el ser humano es su síntesis en la piel por exposición a la radiación ultravioleta B (UVB) del sol, ya que muy pocos alimentos naturales y algunos enriquecidos con VD la contienen; también puede ingresar en el organismo por suplementación farmacológica.<sup>3</sup>

La VD sintetizada en la piel, ingerida por los alimentos o por suplementos es hidroxilada en el hígado a 25 hidroxivitamina D (25OHD), metabolito que representa el estado nutricional de la VD. Posteriormente, en el riñón es hidroxilada por la 1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) a 1,25 dihidroxivitamina D (1,25(OH)2D) o calcitriol, hormona activa que interviene en la homeostasis del calcio. La 1 $\alpha$  hidroxilasa es altamente regulada por PTH, FGF23 y el calcitriol principalmente.<sup>2</sup> Cuando las necesidades de calcitriol se encuentran cubiertas, tanto este como la 25OHD son metabolizados por la enzima 24 hidroxilasa (CYP24) u otras hidroxilasas que inducen la producción de compuestos inactivos [24,25(OH)2D; 1,24,25(OH)2D; 25,26OH2D, etc.] que se eliminan por el riñón.<sup>2,4</sup>



La 1,25(OH)2D ejerce su función biológica principalmente por el estímulo o inhibición de la transcripción génica a través de su unión al receptor de VD nuclear (VDR).<sup>2</sup>

Se ha comprobado una amplia distribución del VDR y las enzimas CYP27B1 y CYP24A1 en múltiples tejidos y células; aproximadamente el 3% del genoma y más de 900 genes son regulados por la 1,25(OH)2D. La 25OHD circulante puede ser sustrato en numerosas células que poseen VDR y CYP27B1 para sintetizar 1,25(OH)2D, bajo regulación paracrina y autocrina y ejercer las acciones extraesqueléticas o no clásicas de la VD.<sup>1-4</sup>

Existe una controversia continua sobre la clasificación de los niveles de 25OHD. El Instituto de la Salud de Estados Unidos estableció como deficiencia los niveles inferiores a 20 ng/ml, principalmente para sus acciones relacionadas con el metabolismo mineral y óseo, mientras que otras sociedades científicas y expertos coinciden en esa definición de deficiencia, pero consideran insuficientes los niveles entre 20 y 30 ng/ml y deseables los niveles mayores de 30 ng/ml. Incluso se sugieren niveles >40-50 ng/ml como óptimos, para las acciones no clásicas de la VD.<sup>5-8</sup> El riesgo de deficiencia de vitamina D aumenta cuando hay poca o nula exposición a la radiación UVB; altas latitudes, climas rigurosos, en las estaciones de otoño e invierno, baja exposición por razones sociales, religiosas o indicación médica, en las ciudades con contaminación ambiental y elevada edificación, y, por supuesto, por falta de exposición a la luz solar/aire libre por estar recluidos en los hogares, como sucede en esta pandemia y su cuarentena asociada.<sup>1,4-7</sup>

Un grupo especial de riesgo son los adultos mayores, cuya capacidad de síntesis de VD es 60-70% menor que la de una persona joven. Varios trabajos de investigación realizados en la Argentina mostraron que los sujetos mayores de 65 años, ambulatorios, de ambos sexos que no recibían suplementación con VD, al final del invierno tenían de-

ficiencia de VD del 52%, 64% y 87% en el norte, centro o sur del país, respectivamente. Los porcentajes son aún mayores en la población institucionalizada en geriátricos.<sup>6,7</sup> También existen otros grupos de riesgo como pacientes obesos, síndromes de malabsorción, individuos que ingieren medicamentos que pueden afectar la metabolización de VD, etc.<sup>8</sup> La hipovitaminosis D se ha asociado a mayor prevalencia de enfermedades infecciosas (tuberculosis, enfermedades respiratorias, enfermedades virales), cardiovasculares, autoinmunes (artritis reumatoide, esclerosis múltiple), hipertensión, algunos cánceres, diabetes, e incluso al aumento de la mortalidad.<sup>8-14</sup>

El presente trabajo se centró en las acciones extraesqueléticas de la VD, que podrían influir en la respuesta del organismo a la infección por COVID-19.

### Metodología

Para obtener la información actualizada sobre el tema se realizó una revisión de la literatura existente sobre COVID-19, las acciones extraesqueléticas de VD, niveles de 25OHD y suplementación que podrían influir en la respuesta del organismo a dicha infección.

Las principales bases de datos bibliográficas científicas exploradas fueron MEDLINE, Cochrane, EMBASE, LILACS.

Cuando fue necesario, los términos de búsqueda se modificaron para adaptarse a los requisitos de bases de datos particulares. No se aplicaron limitaciones de idioma ni restricciones de fecha de publicación.

### Resultados

#### **A. Niveles de vitamina D: su importancia en enfermedades respiratorias y datos preliminares en la pandemia COVID-19**

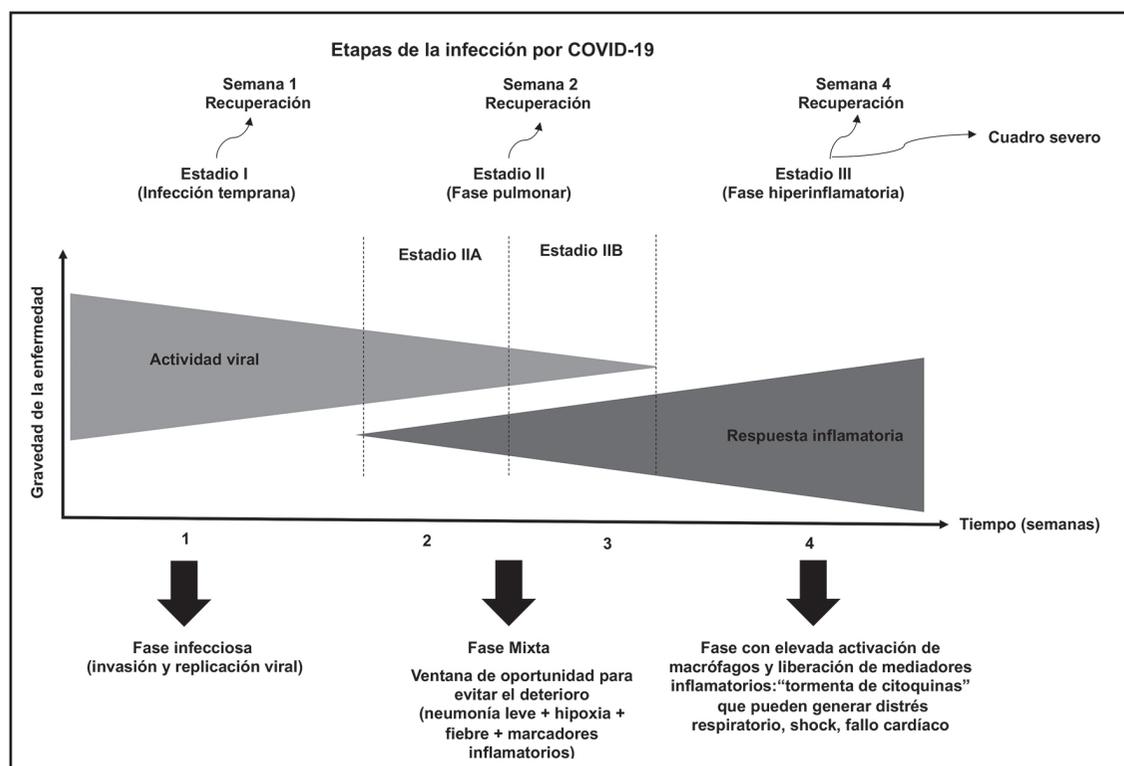
Las pandemias de influenza se relacionan con el surgimiento de virus modificados que presentan rápida propagación, alta morbilidad y producen gran impacto clínico y económico.<sup>15</sup>

Los coronavirus pertenecen a una gran familia de virus (Coronaviridae) que infectan aves y varios mamíferos, incluidos camélidos, murciélagos, ratas, ratones, perros, gatos y seres humanos. Recientemente, un coronavirus antes desconocido, denominado SARS-CoV-2, fue descubierto en diciembre de 2019 en Wuhan, provincia de Hubei, China, y es el agente causal de la epidemia de neumonía atípica actual (COVID-2019; *CoronaVirus Disease 2019*).<sup>15-17</sup>

En relación con las manifestaciones clínicas producidas por este virus, los signos y los síntomas generales pueden incluir fiebre, tos, cansancio, pérdida del sentido del gusto o del olfato. Entre los síntomas leves a moderados se incluyen también la falta de aire o dificultad para respirar, dolores en los múscu-

los, escalofríos, dolor de garganta, goteo de la nariz, dolor de cabeza, dolor en el pecho.<sup>18</sup> Los casos más graves desarrollan neumonía grave, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sepsis y shock séptico, que pueden conducir a la muerte.<sup>19</sup> Las etapas de la infección por COVID-19 se esquematizan en la Figura 1.<sup>20</sup>

La infección por COVID-19 se asocia a mayor número de complicaciones, internación y mortalidad, principalmente en pacientes añosos, sujetos con enfermedades previas cardiorrespiratorias, hipertensos, inmunosuprimidos, pacientes con insuficiencia renal, obesos y diabéticos.<sup>21-23</sup> Es interesante destacar que la mayoría de estas patologías de riesgo presentan mayor prevalencia en sujetos con deficiencia de VD.<sup>10-14</sup>



**Figura 1.** Opción A: Etapas de la progresión de la enfermedad por COVID-19 con sus principales características. Tomado y adaptado de Siddiqi HK y col., 2020.<sup>20</sup>



Actualmente se han diseñado varios protocolos de investigación, algunos de ellos en curso, de posibles tratamientos para COVID-19. Estos incluyen antivirales (remdesivir, lopinavir, oseltamivir, etc.), agentes inmunológicos como interferón, antiinflamatorios como colchicina, hidroxiclороquina, anticuerpos monoclonales como el tocilizumab, sirukumab para frenar la “tormenta de citoquinas”, anticoagulantes como heparina, dociparastat, glucocorticoides, plasmaféresis de plasma de pacientes convalecientes entre otros.<sup>24-26</sup> También se encuentran en desarrollo las vacunas en diferentes centros de investigación, aunque se estima un lapso de entre 6 y 12 meses antes de que puedan utilizarse.<sup>27</sup>

Ha surgido el interés de analizar qué otras medicaciones disponibles podrían implementarse para disminuir su riesgo. Una de ellas es la suplementación con VD para alcanzar niveles óptimos propuestos para las acciones no clásicas.<sup>28-31</sup>

Por sus acciones antivirales, antiinflamatorias y de protección pulmonar, la VD podría ser un complemento preventivo y/o terapéutico para disminuir el daño causado por COVID-19.<sup>23,29-31</sup>

Los niveles adecuados de VD se han asociado con disminución de la incidencia y severidad de varios virus respiratorios,<sup>3,29,30</sup> herpes zóster,<sup>29,32</sup> hepatitis,<sup>29,33</sup> Epstein Barr,<sup>29,34</sup> Ébola,<sup>29</sup> virus de la inmunodeficiencia humana<sup>29,35</sup> y dengue.<sup>29,36</sup>

Se ha demostrado que la deficiencia de VD es un factor asociado de forma independiente al aumento del riesgo de enfermedades virales respiratorias agudas en la mayoría de los estudios observacionales. Los niveles de 25OHD mayores de 38 ng/ml en adultos se asociaron con una disminución estadísticamente significativa del riesgo de desarrollar infecciones respiratorias agudas en otoño e invierno comparados con aquellos con niveles menores de 38 ng/ml.<sup>37</sup>

Se han publicado en los últimos meses algunos datos preliminares de estudios ob-

servacionales sobre los niveles de 25OHD en pacientes con COVID-19. Alipio y col. reportaron, sobre un total de 202 pacientes con diagnóstico de COVID-19, que el 26,4% manifestó un cuadro severo, con distrés respiratorio e hipoxia, y el 22,6%, un cuadro crítico con insuficiencia respiratoria que requirió internación en terapia intensiva. De los pacientes con síntomas severos, el 28,8% tuvo niveles de insuficiencia (20-30 ng/ml) y el 40,3% tuvo niveles de deficiencia de VD (<20 ng/ml). De los pacientes con síntomas críticos, el 26,3% tuvo niveles de insuficiencia y el 32,5% tuvo niveles de deficiencia de VD. En ambos grupos, solo dos pacientes tuvieron valores de 25OHD >30 ng/ml.<sup>38</sup> En este mismo estudio mostraron que las probabilidades de tener un resultado clínico leve por COVID-19 en lugar de una evolución severa o crítica aumentaron aproximadamente 7,94 (OR = 0,126, p<0,001) y 19,61 (OR=0,051; p<0,001) veces, respectivamente, por cada aumento de la desviación estándar en los niveles de 25OHD plasmática.<sup>38</sup>

En un estudio retrospectivo de Raharusun y col. en 780 pacientes infectados con COVID-19, se observó que el 27,3% de los pacientes tuvo niveles de insuficiencia, el 23% tuvo niveles de deficiencia y el 49,7% tuvo niveles normales de VD. La mortalidad en los pacientes con deficiencia e insuficiencia de VD fue del 98,9% y 87,8%, respectivamente, y del 4,1% en aquellos con 25OHD > 30 ng/ml. Al analizar la mortalidad ajustada por edad, sexo y presencia de comorbilidades, aquellos pacientes con insuficiencia y deficiencia de VD tuvieron 7 y 20 veces mayor riesgo de mortalidad, respectivamente.<sup>39</sup> Estos datos son reforzados por otros autores que analizaron la correlación negativa entre los niveles de vitamina D y el número de casos de COVID-19, y comprobaron una mayor tasa de internación y mortalidad en aquellos países en los que se había descrito alta prevalencia de deficiencia VD y observaron mayor número de hisopados COVID positivos en los individuos con niveles de deficiencia VD.<sup>40-42</sup>

## **B. Mecanismos de acción de la VD implicados en la defensa del organismo en relación con COVID-19**

Debido al mecanismo de acción de COVID-19, que puede llevar a una respuesta excesiva de inflamación y a la alteración de la respuesta inmune<sup>43,44</sup> causantes del espectro de manifestaciones clínicas que se citaron previamente,<sup>18,19</sup> se describen aquellos puntos en los cuales la VD actuaría frente a este virus.<sup>45-49</sup>

### *1- Favorece la indemnidad del epitelio respiratorio*

La permeabilidad e integridad de la pared alveolar depende de las uniones entre células epiteliales y células endoteliales capilares; por ende, la gravedad de la lesión pulmonar está directamente relacionada con el nivel de disfunción de la barrera epitelial pulmonar.<sup>50</sup> La VD mantiene las uniones estrechas, *gap* y de adherencia del epitelio respiratorio.<sup>50, 51</sup> Esta propiedad es fundamental, ya que la acción destructiva de los virus sobre ellas puede llevar a la alteración del tejido y, por lo tanto, a la progresión de la infección viral y sobreinfección por otros microorganismos, como las bacterias, siendo un mecanismo fundamental para el progreso, por ejemplo, a un cuadro clínico de neumonía<sup>10,23,52</sup> (Figura 2).

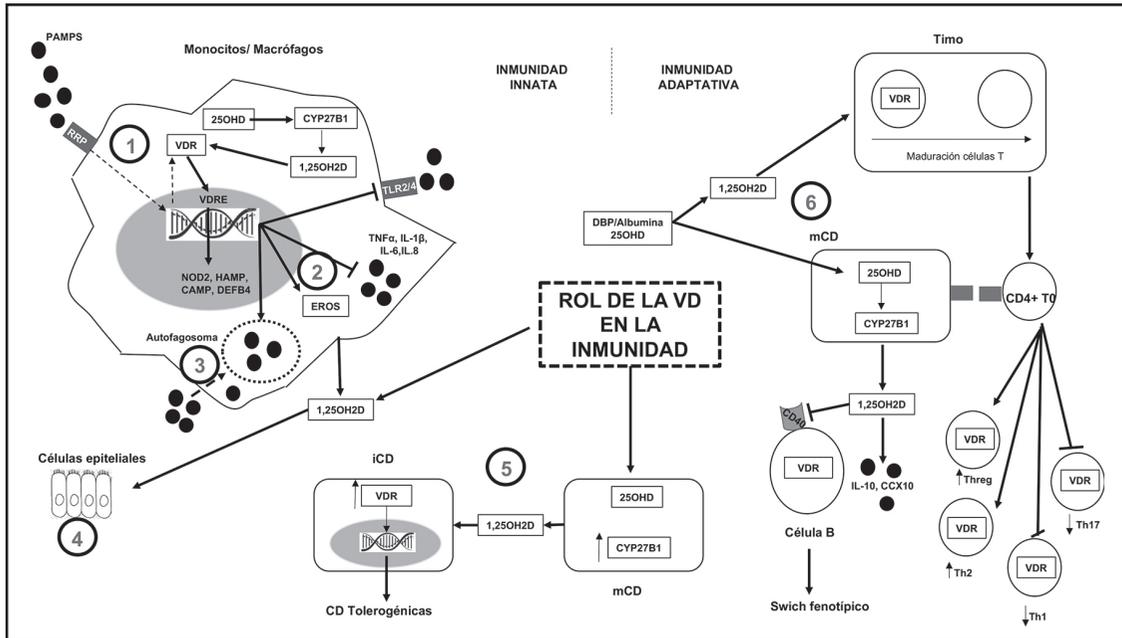
### *2- Estimula la inmunidad innata*

La VD induce la diferenciación de monocitos a macrófagos y mejora su capacidad fagocítica y quimiotáctica.<sup>46</sup> Las células de la estirpe monocito/macrófagos presentan en su superficie receptores de reconocimiento de patrones (RRP) tales como receptores tipo toll (TLR), los que interactúan con secuencias de moléculas que se repiten en grupos de patógenos denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP); prototipo de esto es el lipopolisacárido de las bacterias gramnegativas.<sup>46,53,54</sup> Por la interacción de PAMP-RRP se genera una respuesta que incluye la inducción de transcripción para aumentar la expresión del VDR y CYP27B1. Esto aumen-

ta la capacidad del metabolismo de monocitos/macrófagos de transformar 25OHD a 1,25(OH)2D. Esta será en última instancia la responsable, unida al VDR, de interactuar con elementos de respuesta de vitamina D (VDRE) del ADN celular para regular positivamente la expresión de genes tales como el dominio de oligomerización por unión de nucleótidos que contiene la proteína 2 (NOD2), proteína antimicrobiana de hepcidina (HAMP), catelicidina (CAMP) y  $\beta$ -defensina 4 (DEFB4). Todas estas moléculas son las que participan en la destrucción de los agentes infecciosos, alterando sus cápsidas, bloqueando la invasión viral de las células, previniendo la muerte celular del epitelio respiratorio y neutralizando la actividad de las endotoxinas. De esta forma, la VD regula la producción de péptidos antimicrobianos que permiten modular la respuesta inmune reforzando la función de las células epiteliales pulmonares mejorando su función en infecciones respiratorias como COVID-19.<sup>3,46-52,55,56</sup> En otras células de inmunidad innata como las dendríticas (DC), la VD estimula la diferenciación de estas células desde fenotipos inmaduros (iDC) a fenotipos maduros (mDC) con un perfil tolerogénico y con menor capacidad de presentación de antígenos<sup>46</sup> (véase Figura 2).

### *3- Favorece la homeostasis de la oxidación y reducción celular (redox)*

La VD tiene un rol importante en esta homeostasis celular al mantener la función mitocondrial normal e inhibir las vías de estrés oxidativo modulando así la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS y los productos de la activación iNOS). Estas acciones favorecen la respuesta antiviral y disminuyen los procesos inflamatorios al suprimir las citoquinas inflamatorias tales como TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6, IL-8 y expresión de TLR2 /4.<sup>46, 55</sup> Estas citoquinas junto al INF $\gamma$  son las responsables de la tormenta de citoquinas que desencadena COVID-19 alterando el epitelio pulmonar<sup>46,54-56</sup> (véase Figura 2).



**Figura 2.** Esquema de la acción de la VD en la inmunidad innata y adaptativa. Acción a nivel del monocito/macrófago, las células dendríticas y los linfocitos T y B. **1.** La VD estimula la respuesta inmune innata. Las células de la estirpe monocito/macrófago presentan receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que al interactuar con patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), desencadenan respuestas que incluyen inducción de transcripción para aumentar la expresión del receptor de vitamina D (VDR) y la enzima activadora de la vitamina D, la 1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1). Esto aumenta su capacidad para metabolizar 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25OHD) a 1,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub> (1,25(OH)2D), que estimula la síntesis de sustancias antimicrobianas: catelicidina (CAMP),  $\beta$ -defensina 2 (DEFB4), nucleotide-proteína 2=(NOD2), hepcidina (HAMP) **2.** La VD favorece los mecanismos de oxidación y disminuye producción de citoquinas inflamatorias. **3.** La 1,25(OH)2D mejora la eliminación de patógenos induciendo autofagia. **4.** La VD favorece la integridad del epitelio pulmonar. **5.** La VD promueve la diferenciación de células dendríticas (CD) inmaduras (iCD) a maduras (mCD) y favorece la formación de CD con perfil tolerogénico. **6.** La VD regula la respuesta inmune adaptativa. Cuando las células T se activan, expresan VDR y responden a 1,25(OH)2D induciendo fenotipos Th2 y Treg y supresión de fenotipos inflamatorios Th1 y Th17. La 1,25(OH)2D también puede actuar sobre las células B con disminución de CD40 y modificación fenotípica. Tomado y adaptado de Harrison SR y col., 2020.<sup>46</sup>

**4- Promueve el mecanismo de autofagia**

La autofagia es un proceso homeostático y de degradación celular que remueve proteínas y organelas dañadas, el cual está implicado en la defensa contra las infecciones virales.<sup>56</sup> Se

ha demostrado que 1,25(OH)2D puede inducir autofagia en monocitos<sup>57,58</sup> (véase Figura 2).

COVID-19 bloquea este proceso al inducir la síntesis de la proteína quinasa 2 asociada a la fase S (Skp2), favoreciendo su acelerada

replicación e infectividad. Diversos estudios experimentales mostraron que la VD puede inhibir a la proteína Skp2, lo que permitiría recuperar el mecanismo de autofagia reduciendo la replicación viral y, por lo tanto, la carga viral y sus potentes efectos inflamatorios.<sup>59,60</sup>

#### 5- Modula la actividad de la inmunidad adaptativa

La VD actúa como intermediaria entre la inmunidad innata y la adaptativa a través de su influencia sobre la presentación de antígenos. En relación con la inmunidad adaptativa, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D tiene efecto sobre diferentes poblaciones de linfocitos T de forma directa o indirecta o ambas. Favorece la proliferación de T *helper* 2(Th2) y células regulatorias T(TReg) e inhibe la de T *helper* 1(Th1) y T *helper* 17(Th17) reduciendo la producción de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias y favoreciendo la expresión de citoquinas antiinflamatorias. Estas acciones disminuirían los procesos inflamatorios y el riesgo de la “tormenta de citoquinas”, que contribuyen al empeoramiento y complicaciones de las infecciones virales respiratorias.<sup>45,52,53</sup> La 1,25(OH)<sub>2</sub>D también puede actuar sobre las células B, disminuyendo su proliferación, producción de anticuerpos y diferenciación a células plasmáticas, por modificación de su fenotipo<sup>46</sup> (véase Figura 2).

#### 6- Participa en la regulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)

El SRAA es un complejo sistema enzimático que lleva finalmente a la generación de angiotensina II (Ang II) y otros polipéptidos de gran importancia fisiológica y fisiopatológica en la homeostasis de la presión arterial y del metabolismo del agua y del sodio. En los últimos pasos del SRAA, la angiotensina I, por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), se convierte en Ang II la cual, a través de los receptores AT1, tiene efectos tales como vasoconstricción, retención de sodio y agua, estrés oxidativo, fibrosis, hipertensión arterial y secreción de aldosterona

por la glándula suprarrenal. Por otra parte, un homólogo de la ECA, denominado ECA2, presenta una gran especificidad para generar angiotensina 1, 9 (Ang 1,9) a partir de la Ang I y angiotensina 1, 7 (Ang 1,7) a partir de la Ang II, la cual por medio de los receptores MAS, ejerce efectos opuestos a los antes mencionados<sup>44,60-65</sup> (Figura 3).

La ECA2 se encuentra en tejidos tales como los vasos sanguíneos, riñón, intestino y células pulmonares.<sup>45,61</sup> COVID-19 se une a los receptores ECA2 de la célula pulmonar, se internaliza e induce disminución de los niveles intracelulares de esta enzima, con el consiguiente aumento de Ang II y activación local del SRAA, ambos productores del aumento de los procesos de vasoconstricción, inflamación, estrés oxidativo y fibrosis del tejido pulmonar, causantes finales de los cuadros respiratorios graves por COVID-19<sup>45,61-66</sup> (Figura 3).

La VD aumenta los niveles de ECA2, disminuyendo los niveles de Ang I y Ang II y llevando a mayor síntesis de Ang 1,9 y Ang 1,7, que contrarresta los efectos dañinos a nivel pulmonar.<sup>65,66</sup>

Otro punto es que la VD inhibe el gen de la renina, con lo cual la VD no solo actuaría compensando la acción del virus sino también beneficiaría a la población hipertensa de riesgo<sup>67</sup> (véase Figura 3).

### C. Suplementación con vitamina D

La indicación de suplementación con vitamina D como terapia coadyuvante y/o preventiva en la actual pandemia de COVID-19 se basa en:

- 1- Las acciones de la VD beneficiosas para combatir las infecciones virales descritas en el punto anterior (B).
- 2- El adelanto en investigaciones relacionadas con los mecanismos íntimos de la respuesta inmune de la VD, que podrían interferir con los que utiliza COVID-19 para la replicación viral.
- 3- En estudios observacionales y epide-



miológicos se ha reportado mayor incidencia de enfermedades que son de riesgo para COVID-19: diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, obesidad en pacientes con deficiencia de VD.

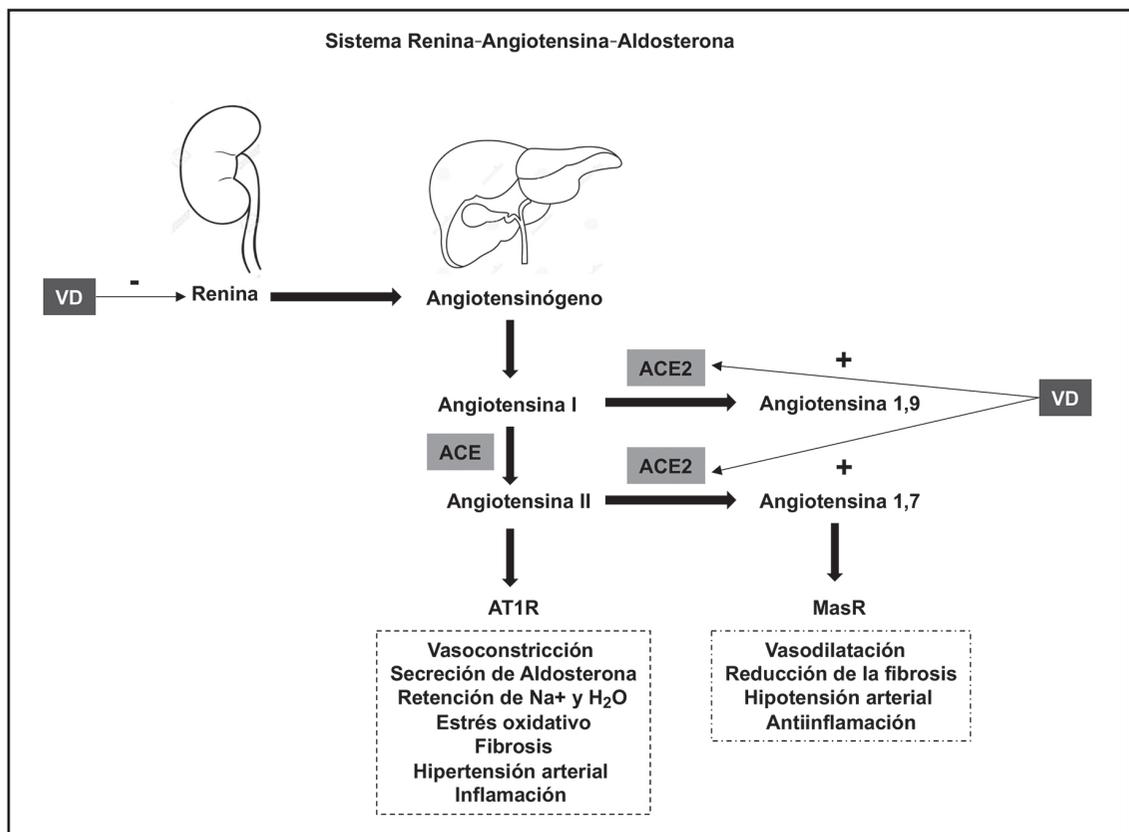
4- La alta incidencia de deficiencia de VD en adultos mayores, grupo de riesgo para formas severas, críticas y de mayor mortalidad por COVID-19.

Los resultados publicados en los diversos protocolos de suplementación con VD sobre prevención de enfermedades respiratorias han sido heterogéneos.<sup>68</sup> Esta discordancia podría deberse a varios factores: inclusión de sujetos con niveles adecuados de VD, di-

versidad en las dosis de VD utilizadas y falta de medición de niveles de 25OHD basales o postsuplementación o de ambos.

Un metaanálisis reciente de 25 protocolos de suplementación de VD aleatorizados, doble ciego y controlados, incluyó 10.993 sujetos de un rango amplio de edades (0-95 años) de 15 países, y concluyó que la suplementación con VD diaria o semanal pudo prevenir enfermedades respiratorias agudas e identificaron mayor beneficio en aquellos sujetos que además tenían basalmente déficit severo de VD.<sup>69</sup>

En otro estudio, que incluyó pacientes con antecedentes de alta frecuencia de infecciones respiratorias, se observó disminución



**Figura 3.** Esquema del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Interrelación con la VD.

del número de las infecciones respiratorias y un aumento significativo del período libre de ellas, en los que recibieron VD (comparados con placebo).<sup>70</sup>

Se ha documentado que la suplementación con VD puede disminuir las infecciones asociadas con hospitalización<sup>69</sup> y que altas dosis de VD pueden disminuir los días de internación en terapia intensiva de pacientes con deficiencia de VD y ventilados mecánicamente.<sup>71</sup>

Se han publicado recientemente trabajos que sugieren ciertas líneas para la suplementación con VD en esta pandemia de COVID-19.

Grant y col. establecen como objetivo alcanzar niveles de 25OHD entre 40-60 ng/ml. Para ello proponen dosis de VD de 2.000-5.000 UI/día. En aquellos pacientes con deficiencia de VD sugieren administrar una dosis de carga quincenal o semanal, totalizando 100.000-200.000 UI/en 8 semanas (equivalente a 1.800-3.600/día) e incluso 10.000 UI/d por un mes y luego 5.000UI/d de mantenimiento, basados en los esquemas de diferentes trabajos.<sup>73</sup>

Wimalawansa sugiere alcanzar niveles de 25OHD >30ng/ml, preferentemente >40ng/ml, y propone que la suplementación con VD sea acompañada de niveles adecuados de otros nutrientes como zinc, selenio y antioxidantes.<sup>74</sup> En el grupo de sujetos que han tenido contacto con enfermos o aquellos que presentan algunos síntomas como fiebre, sugiere utilizar una dosis de carga de 200.000-300.000UI VD acompañada de los micronutrientes nombrados para reforzar el sistema inmunológico. A la semana puede repetirse dicha dosis para llenar los depósitos de VD.<sup>74</sup>

Ebadi y Montano-Loza coinciden en la importancia de alcanzar y mantener niveles de 25OHD entre 40-60 ng/ml en los pacientes con COVID-19. Recomiendan en aquellos individuos con niveles de deficiencia VD comenzar con 100.000UI VD en la primera semana, seguidas de dosis de 50.000UI sema-

nales, idealmente con monitoreo de niveles alcanzados de 25OHD.<sup>75</sup>

Una declaración emitida recientemente en conjunto por la American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR), American Association of Clinical Endocrinologists (AACE), Endocrine Society, European Calcified Tissue Society (ECTS), National Osteoporosis Foundation (NOF), y la International Osteoporosis Foundation (IOF), concluyó que si bien los estudios observacionales (epidemiológicos) publicados sugiere la asociación entre deficiencia de VD y una tasa mayor de COVID-19, pero esto no implica causalidad y puede relacionarse con otros factores como edad, salud general, etnia, etc. Sin embargo reconocen que la VD puede tener un rol en mejorar la respuesta inmune como ha sido demostrado en investigaciones previas y, por lo tanto, se justifica la investigación adicional sobre la suplementación de VD.<sup>76</sup>

En la actualidad ya se encuentran en realización protocolos de suplementación de VD controlados con placebo en pacientes con COVID-19, cuyos resultados no han sido publicados a la fecha.

En resumen, los esquemas terapéuticos deben adecuarse a cada individuo y debe ser indicados y controlados por el médico. Sería ideal medir basalmente los niveles de 25OHD y mínimamente algunos parámetros de metabolismo mineral (calcemia, fosfatemia, fosfatasa alcalina, índice calciuria/creatininuria).

En la población general en época de pandemia por COVID-19, la sugerencia es tener niveles de 25OHD óptimos cercanos a 40 ng/ml. Para ello se puede indicar el esquema sugerido en las Guías de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología sobre Hipovitaminosis D.<sup>72</sup> Si los niveles son inferiores, se indica una dosis de carga de 100.000UI cada 15/30 días, semanal de 50.000UI o diaria de 2000-5000UI durante 2-3 meses. Es importante controlar los niveles de 25OHD alcanzados a los 3-4 meses de comenzar la suplementación. La dosis posterior de mantenimiento oscila entre 800-2000UI/día, 50.000 UI mensual



o 100.000 UI cada 1-3 meses, dependiendo de lo que indiquen los análisis durante el seguimiento (1/3 de los pacientes logran el objetivo con la dosis mensual, 1/3 con la dosis bimestral y 1/3 con la dosis trimestral). Dicha dosis de mantenimiento se indica también para aquellos con niveles adecuados basalmente (véase Figura 4).

Como medida preventiva en pacientes al diagnóstico de COVID-19, en aquellos con síntomas leves y en sus contactos estrechos, se indicaría un esquema de carga de VD lo más temprano posible, para alcanzar rápidamente niveles óptimos con el objetivo de reducir el riesgo y la severidad de COVID-19.

En la población con COVID-19 con criterio de internación, se indicarían dosis mayores. Se hipotetiza que con dicho plan alcanzarían niveles adecuados de 25OHD para una respuesta óptima de su sistema inmunológico

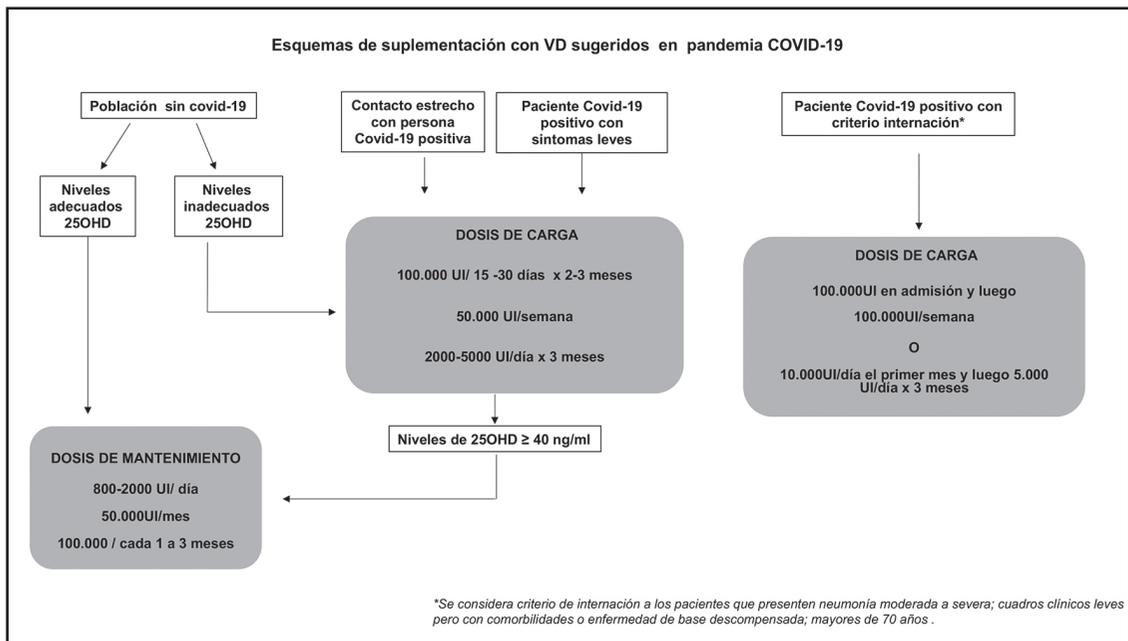
dentro de los 3-5 días<sup>74,77</sup> de la administración, lo que podría contribuir a una evolución con menos complicaciones y una recuperación más rápida (véase Figura 4).

El personal que trabaja en el área de salud debería recibir también la suplementación como una medida para prevenir la infección y su propagación.

### Conclusiones

La VD posee propiedades antivirales, antiinflamatorias y de protección pulmonar, demostrando que podría desempeñar un papel en mejorar la respuesta inmune.

La hipovitaminosis D se asocia con mayor prevalencia de las enfermedades que son de riesgo para COVID-19: diabetes, hipertensión, obesidad, enfermedades cardiovasculares, y presenta alta incidencia en el grupo de riesgo de adultos mayores.



**Figura 4.** Esquema de suplementación con VD propuesto para la pandemia por COVID-19 en los diferentes grupos poblacionales.

Actualmente se encuentran en curso diferentes protocolos de investigación de medicaciones y vacunas para COVID-19. Aunque todavía no existe evidencia publicada de los estudios controlados de suplementación con VD en la pandemia COVID-19, la administración de VD, en dosis adecuadas para alcanzar niveles de 25OHD mayores de 40-50 ng/ml, podría ser una medida coadyuvante y/o preventiva en la actual pandemia. Más aún en la situación actual de cuarentena prolongada y período invernal en la Argentina.

Es fundamental que estas medidas de suplementación de VD incluyan al personal de la Salud, a la población de mayor riesgo, a los infectados y contactos cercanos de COVID-19.

**Conflictos de interés:** las autoras declaran no tener conflicto de intereses.

Recibido: julio 2020

Aceptado: agosto 2020

## Referencias

1. Oliveri B. Lo que hay que saber sobre la Vitamina D. *Osteoporosis y Enfermedades Óseas* 2018; 17:9-12.
2. Bikle DD. Vitamin D. Newer Concepts of Its Metabolism and Function at the Basic and Clinical Level. *J Endocr Soc* 2020; 4(2):bvz038.
3. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, et al. Skeletal and Extraskeletal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocr Rev* 2019; 40(4):1109-51.
4. Bikle DD, Christakos S. New aspects of vitamin D metabolism and action - addressing the skin as source and target. *Nat Rev Endocrinol* 2020; 16(4):234-52.
5. Oliveri B. Alta prevalencia de deficiencia de vitamina D. Importancia de la suplementación con vitamina D para la salud músculo-esquelética y general. *Osteoporosis y Enfermedades óseas* 2016; 15:8-10.
6. Oliveri B, Plantalech L, Bagur A, et al. High prevalence of vitamin D insufficiency in healthy elderly people living at home in Argentina. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58:337-42.
7. Fassi J, Russo Picasso MF, et al. Variaciones estacionales de 25-hidroxivitamina D en jóvenes y ancianos de la ciudad de Buenos Aires. *Medicina (B. Aires)* 2003; 63:215-20.
8. Wang H, Chen W, Li D, et al. Vitamin D and Chronic Diseases. *Aging and Diseases* 2017; 8:346-353.
9. Gaksch M, Jorde R, Grimnes G, et al. Vitamin D and mortality: Individual participant data meta-analysis of standardized 25-hydroxyvitamin D in 26916 individuals from a European consortium. *PLoS One* 2017; 12:e0170791.
10. Pham H, Rahman A, Majidi A, Waterhouse M, Neale RE. Acute Respiratory Tract Infection and 25-Hydroxyvitamin D Concentration: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2019; 16(17):3020.
11. Bellan M, Andreoli L, Mele C, et al. Pathophysiological Role and Therapeutic Implications of Vitamin D in Autoimmunity: Focus on Chronic Autoimmune Diseases. *Nutrients* 2020; 12(3):789.
12. McDonnell SL, Baggerly LL, French CB, et al. Incidence rate of type 2 diabetes is >50% lower in GrassrootsHealth cohort with median serum 25-hydroxyvitamin D of 41 ng/mL than in NHANES cohort with median of 22 ng/mL. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 155:239-44.
13. Qi D, Nie XL, Wu S, Cai J. Vitamin D and hypertension: Prospective study and meta-analysis. *PLoS One* 2017; 12:e0174298.
14. Gholami F, Moradi G, Zareei B, et al.



- The association between circulating 25-hydroxyvitamin D and cardiovascular diseases: A meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Cardiovasc Disord* 2019; 19:248.
15. INFORME SARS-CoV-2. Sociedad Argentina de Virología División de la Asociación Argentina de Microbiología. Sociedad Argentina de Virología, 26.03.2020
  16. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382(8):727-733.
  17. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections-More than Just the Common Cold. *JAMA* 2020;10.1001/jama.2020.0757.
  18. Gandhi RT, Lynch JB, Del Río C. Mild or Moderate Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 10:1056/NEJMcp2009249.
  19. Berlin DA, Gulick RM, Martinez FJ. Severe Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 10:1056/NEJMcp2009575.
  20. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant* 2020; 39(5):405-407.
  21. Fauci AS, Clifford Lane H, Redfield RR. Covid-19 — Navigating the Uncharted. *N Engl J Med* 2020; 382:1268-9.
  22. Martini N, Piccinni C, Pedrini A, Maggioni A. CoViD-19emalattiecroniche:conoscenzeattuali, passi futuri e il progetto MaCroScopio [CoViD-19 and chronic diseases: current knowledge, future steps and the MaCroScopio project.]. *Recenti Prog Med* 2020; 111(4):198-201.
  23. Grant Wm Lahore H, Mc Donnell SL, et al: Evidence that vitamin D supplementation could reduce risk of influenza and COVID-19 infections and Deaths. *Nutrients* 2020; 12:988.
  24. Baden LR, Rubin EJ. Covid-19 - The Search for Effective Therapy. *N Engl J Med* 2020; 382(19):1851-2.
  25. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2020; NEJMoa2007764.
  26. Salazar E, Pérez KK, Ashraf M, et al. Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients with Convalescent Plasma. *Am J Pathol* 2020; S0002-9440(20)30257-1.
  27. Smith TRF, Patel A, Ramos S, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat Commun* 2020; 11:2601.
  28. Greiller CL, Martineau AR. Modulation of the immune response to respiratory viruses by vitamin D. *Nutrients* 2015; 7(6):4240-70.
  29. Lee C. Controversial Effects of Vitamin D and Related Genes on Viral Infections, Pathogenesis, and Treatment Outcomes. *Nutrients* 2020; 12(4):962. Published 2020 Mar 30.
  30. Zdrengeha MT, Makrinioti H, Bagacean C, Bush A, Johnston SL, Stanciu LA. Vitamin D modulation of innate immune responses to respiratory viral infections. *Rev Med Virol* 2017; 27(1):10.1002/rmv.1909.
  31. Ilie PC, Stefanescu S, Smith L. The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Aging Clin Exp Res* 2020; 1-4.
  32. Kumar A, Singh MP, Kumar RS, Ratho RK. 25-Hydroxyvitamin D3 and 1,25 Dihydroxyvitamin D3 as an Antiviral and Immunomodulator Against Herpes Simplex Virus-1 Infection in HeLa Cells. *Viral Immunol* 2018; 31(8):589-93.
  33. Bjelakovic G, Nikolova D, Bjelakovic M, Gluud C. Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 11(11):CD011564. Published 2017 Nov 3. doi:10.1002/14651858.CD011564.pub2
  34. Holmøy T. Vitamin D status modulates the immune response to Epstein Barr virus: Synergistic effect of risk factors in multiple sclerosis. *Med Hypotheses* 2008; 70(1):66-9.
  35. Viard JP, Souberbielle JC, Kirk O, et al. Vitamin D and clinical disease progression in HIV infection: results from the EuroSIDA study. *AIDS* 2011; 25(10):1305-15.
  36. Martínez-Moreno J, Hernández JC, Urcuqui-Inchima S. Effect of high doses of vitamin D supplementation on dengue virus replication, Toll-like receptor expression, and cytokine profiles on dendritic cells. *Mol Cell Biochem* 2020; 464(1-2):169-80.

37. Sabetta JR, DePetrillo P, Cipriani RJ, Smardin J, Burns LA, Landry ML. Serum 25-hydroxyvitamin d and the incidence of acute viral respiratory tract infections in healthy adults. *PLoS One* 2010; 5(6):e11088.
38. Alipio M. Vitamin D Supplementation Could Possibly Improve Clinical Outcomes of Patients Infected with Coronavirus-2019 (COVID-19) (April 9, 2020). Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3571484> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3571484>
39. Raharusun P, Priambada S, Budiarti C, Agung E, Budi C. Patterns of COVID-19 Mortality and Vitamin D: An Indonesian Study (April 26, 2020). Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3585561> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3585561>
40. D'Avolio A, Avataneo V, Manca A, et al. 25-Hydroxyvitamin D Concentrations Are Lower in Patients with Positive PCR for SARS-CoV-2. *Nutrients* 2020; 12(5):1359.
41. Brown RA, Sarkar A. Vitamin D deficiency: a factor in COVID-19, progression, severity and mortality? An urgent call for research. *MitoFit Preprint Arch* 2020;doi: 10.26124/mitofit:200001
42. Ilie PC, Stefanescu S, Smith L. The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Aging Clin Exp Res* 2020; 32:1195-8.
43. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol* 2020; 20(6):363-74.
44. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 2020;10:1001/jama.2020.12839.
45. Vaduganathan M, Vardeny O, Michel T, McMurray JJV, Pfeffer MA, Solomon SD. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 382(17):1653-9.
46. Harrison SR, Li D, Jeffery LE, Raza K, Hewison M. Vitamin D, Autoimmune Disease and Rheumatoid Arthritis. *Calcif Tissue Int* 2020; 106(1):58-75.
47. Gunville CF, Mourani PM, Ginde AA. The role of vitamin D in prevention and treatment of infection. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2013; 12(4):239-45.
48. Greiller CL, Martineau AR. Modulation of the immune response to respiratory viruses by vitamin D. *Nutrients* 2015; 7(6):4240-70.
49. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39(2):365-79.
50. Chen H, Lu R, Zhang YG, Sun J. Vitamin D Receptor Deletion Leads to the Destruction of Tight and Adherens Junctions in Lungs. *Tissue Barriers* 2018; 6(4):1-13.
51. Zhang YG, Wu S, Lu R, et al. Tight junction CLDN2 gene is a direct target of the vitamin D receptor. *Sci Rep* 2015; 5:10642.
52. Zhou YF, Luo BA, Qin LL. The association between vitamin D deficiency and community-acquired pneumonia: A meta-analysis of observational studies. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98(38):e17252.
53. Szymczak I, Pawliczak R. The Active Metabolite of Vitamin D3 as a Potential Immunomodulator. *Scand J Immunol* 2016; 83(2):83-91.
54. Koivisto O, Hanel A, Carlberg C. Key Vitamin D Target Genes with Functions in the Immune System. *Nutrients* 2020; 12(4):1140. doi:10.3390/nu12041140
55. Wimalawansa SJ. Vitamin D Deficiency: Effects on Oxidative Stress, Epigenetics, Gene Regulation, and Aging. *Biology (Basel)* 2019; 8(2):30.
56. Telcian AG, Zdrengea MT, Edwards MR, et al. Vitamin D increases the antiviral activity of bronchial epithelial cells in vitro. *Antiviral Res* 2017; 137:93-101.
57. Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Autophagy* 2018; 14(2):207-15.
58. Hansen M, Nordbrandt S, Jäätelä M. Autophagy as a basis for the health-promoting effects of vitamin D. *Trends Mol Med* 2010; 16:295-302.



59. Liu D, Fang YX, Wu X, et al. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>/vitamin D receptor alleviates systemic lupus erythematosus by downregulating skp2 and upregulating p27. *Cell Commun Signal* 2019; 17:163
60. Gassen NC, Niemeyer D, Muth D et al: Skp2 attenuates autophagy through beclin1-ubiquitination and its inhibition reduces Mers-coronavirus infection. *Nat Commun* 2019; 10:5770.
61. Ingraham NE, Barakat AG, Reilkoff R, et al. Understanding the Renin-Angiotensin-Aldosterone-SARS-CoV-Axis: A Comprehensive Review [published online ahead of print, 2020 Apr 27]. *Eur Respir J* 2020; 2000912.
62. Zhou X, Zhu J, Xu T. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients with hypertension on renin-angiotensin system inhibitors [published online ahead of print, 2020 May 13]. *Clin Exp Hypertens* 2020; 1-5.
63. Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, Penninger JM. Trilogy of ACE2: a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacol Ther* 2010; 128(1):119-28.
64. Xu J, Yang J, Chen J, Luo Q, Zhang Q, Zhang H. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system. *Mol Med Rep* 2017; 16(5):7432-8.
65. Ajabshir S, Asif A, Nayer A. The effects of vitamin D on the renin-angiotensin system. *J Nephropathol* 2014; 3(2):41-43. doi:10.12860/jnp.2014.09
66. Vaidya A, Williams JS. The relationship between vitamin D and the renin-angiotensin system in the pathophysiology of hypertension, kidney disease, and diabetes. *Metabolism* 2012; 61(4):450-8.
67. LiYC, KongJ, WeiM, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110:229-38.
68. Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ* 2017; 356:i6583.
69. Bergman P, Norlin AC, Hansen S, Björkhem-Bergman L. Vitamin D supplementation improves well-being in patients with frequent respiratory tract infections: a post hoc analysis of a randomized, placebo-controlled trial. *BMC Res Notes* 2015; 8:498.
70. Youssef DA, Ranasinghe T, Grant WB, Peiris AN. Vitamin D's potential to reduce the risk of hospital-acquired infections. *Dermatoendocrinol* 2012; 4(2):167-75.
71. Han JE, Jones JL, Tangpricha V, et al. High dose vitamin D administration in ventilated intensive care unit patients: A pilot double blind randomized controlled trial. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology* 2016; 4:59-65.
72. Sánchez A, Oliveri B, Mansur JL, Fradinger E. Guía Práctica de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología. Diagnóstico, Prevención y Tratamiento de la Hipovitaminosis D. *Rev Arg Endocrinol Metab* 2013; 50:140-56.
73. Grant W. Re: Preventing a covid 19 pandemic: Can vitamin D supplementation reduce the spread of COVID 19? Try first with health care workers and first responders. 2020. doi: 10.1136/bmj.m810 <https://www.bmj.com/content/368/bmj.m810/rr4236>
74. Wimalawansa SJ. Global epidemic of Coronavirus-Covid-19: What can we do to minimize risks. *European Journal of biomedical and pharmaceutical sciences* 2020; 7:432-8.
75. Ebadi M, Montano-Loza AJ. Perspective: improving vitamin D status in the management of COVID-19. *Eur J Clin Nutr* 2020; 1-4.
76. American Society for Bone and Mineral Research. Joint guidance on vitamin D in the era of covid-19 from the ASBMR, AACE, endocrine society, ECTS, NOF, and IOF. <https://www.asbmr.org/about/statement-detail/joint-guidance-on-osteoporosis-management-covid-19>. Último ingreso 20 de julio de 2020.
77. Oliveri B, Mastaglia SR, Brito GM, et al. Vitamin D3 seems more appropriate than D2 to sustain adequate levels of 25OHD: a pharmacokinetic approach. *Eur J Clin Nutr* 2015; 69(6):697-702.

**ACTUALIZACIONES / Review**

## **ACCIONES ÓSEAS DE LAS HORMONAS DE LA NEUROHIPÓFISIS**

**Armando Luis Negri**

*Cátedra de Fisiología y Biofísica. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina.*

### **Resumen**

La oxitocina (OXT) como la arginina-vasopresina (AVP) son dos hormonas primitivas secretadas por la hipófisis posterior. Sus receptores están mucho más ampliamente distribuidos en el organismo de lo que se pensaba originalmente, incluido el hueso. En los estudios preclínicos, la OXT ha mostrado ser anabólica para el hueso, promoviendo la osteogénesis sobre la adipogénesis y favoreciendo la actividad osteoblástica sobre la osteoclastica. Tanto los osteoblastos como los osteoclastos tienen receptores para la OXT, y los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea en ratones está mediada por lo menos en parte por la OXT. El mecanismo preciso por el cual la activación de los receptores de

oxitocina (OXTR) se traduce en un incremento de la formación ósea permanece poco claro. La AVP también podría afectar el esqueleto en forma directa. Dos de los receptores de la AVP, V1a y V2 están expresados en osteoblastos y osteoclastos. La inyección de AVP en ratones de tipo salvaje aumenta la formación osteoclastos que producen resorción y reduce los osteoblastos formadores de hueso. En forma opuesta, la exposición de precursores osteoblásticos a antagonistas de los receptores V1a o V2, incrementan la osteoblastogénesis, como también lo hace la delección genética del receptor V1a.

**Palabras clave:** acciones óseas, hormonas neurohipofisarias, oxitocina, arginina-vasopresina; osteoporosis.

### **Abstract**

#### **BONE ACTIONS OF NEUROHYPOPHYSEAL HORMONES**

*Both oxytocin (OXT) and arginine-vasopressin (AVP) are primitive hormones secreted by the posterior pituitary gland. OXT receptors are much more widely distributed*

*in the body than originally thought, including in bone. In preclinical studies, OXT has been shown to be anabolic for bone, promoting osteogenesis over adipogenesis and favoring osteoblastic over osteoclastic activity. Both osteoblasts and osteoclasts have receptors for OXT, and the effects of estrogen on bone mass in mice is mediated at least in part by OXT. The*

---

\*E-mail: [armando.negri@gmail.com](mailto:armando.negri@gmail.com)



*precise mechanism by which the activation of oxytocin receptors (OXTRs) results in an increase in bone formation remains unclear. AVP could also have direct actions on the skeleton. The two AVP receptors, V1a and V2, are expressed in osteoblasts and osteoclasts. Injection of AVP in wild-type mice increases the formation of osteoclasts increasing bone resorption, and reduces bone-forming*

*osteoblasts. On the contrary, the exposure of osteoblastic precursors to V1a and V2 antagonists increase osteoblastogenesis, the same as the genetic deletion of the V1a receptor.*

**Keywords:** bone actions, neuro hypophyseal hormones, oxtocyn, arginin-vasopresin; osteoporosis.

## Introducción

La oxitocina (OXT) como la arginina-vasopresina (AVP) son dos hormonas primitivas secretadas por la hipófisis posterior. Ambas se originan en neuronas magno-celulares del hipotálamo y ambas tienen nueve aminoácidos, difiriendo en solo dos de ellos. Ambas hormonas poseen receptores de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), receptores también primitivos desde el punto de vista evolutivo. La arginina-vasotocina (AVT), hormona precursora de la OXT y la AVP, es utilizada por todos los vertebrados no mamíferos como la lamprea marina (*Petromyzon marinus*).<sup>1</sup> La AVT posee receptores que son ortólogos predecesores de la familia de receptores de la oxitocina (OXT) y de la vasopresina (AVP) que se encuentran en los mamíferos, los receptores OXTR de la OXT y los receptores V1a, V1b y V2 de la AVP. Los receptores que están más estructuralmente relacionados entre sí son el receptor de la oxitocina (OXTR) y el receptor V1a de la vasopresina (AVPR1a).

## Ubicuidad de los receptores de la oxitocina y la vasopresina

Los receptores de la oxitocina (OXTR) y los receptores de la arginina-vasopresina (AVPR), están mucho más ampliamente distribuidos en el organismo de lo que se pensaba originalmente.

La OXT –como ya mencionamos– se sintetiza en el hipotálamo, así como en muchos tejidos periféricos como útero, placenta, tejido amniótico, cuerpo lúteo y testículo.<sup>2</sup> Las acciones clásicas de la OXT están relacionadas con el embarazo, como la regulación de las contracciones uterinas durante el parto y la eyección de la leche por la glándula mamaria durante la lactación.

En años recientes, varios estudios han mostrado que la distribución, el significado biológico y la regulación de la OXT y su receptor (OXTR) son mucho más amplios de lo que se había establecido previamente.<sup>3</sup> Los OXTR están expresados en la pituitaria, riñón, ovario, testículo, timo, corazón, endotelio vascular, osteoclastos, osteoblastos, mioblastos, células de los islotes pancreáticos, adipocitos y varios tipos de células cancerosas.<sup>4-7</sup> Estos receptores son todos funcionales, ya que inducen varias vías de señalización intracelular en respuesta a la aplicación de OXT. Los resultados de estudios *in vitro* y en animales sugieren roles para la OXT en la función pituitaria, así como en la fertilidad masculina y femenina, la conducta maternal, la receptividad sexual, la función de linfocitos T, el control cardiovascular, la formación muscular, incluso en el control del crecimiento de ciertas células cancerosas.<sup>3,8,9</sup>

Por otro lado, la vasopresina es una hormona que regula un amplio rango de funcio-

nes fisiológicas que incluyen la reabsorción de agua, la homeostasis cardiovascular y la secreción hormonal de ACTH. Estas y otras acciones de la AVP son mediadas por lo menos por tres subtipos de receptores: V1a, V1b y V2. El receptor V2 está localizado primariamente en los riñones, donde controla la permeabilidad selectiva al agua del túbulo distal. El receptor V1a fue originalmente encontrado en el músculo liso vascular, mientras que al V1b se lo encontró en la pituitaria anterior. La delección de los genes de los receptores V1a y V1b en ratones reveló que las acciones de estos receptores se extendían mucho más allá de la función cardiovascular o la función de secreción hormonal de la ACTH. Los receptores V1a de la vasopresina están expresados en el sistema nervioso y determinan la conducta sexual y reproductiva, la interacción y comunicación social.<sup>10</sup> En los mamíferos, el AVPR1b está también comprometido en la agresión, la memoria social y la respuesta al estrés.<sup>10</sup>

### **Acciones de la oxitocina sobre el hueso**

En los estudios preclínicos, la oxitocina ha mostrado ser anabólica para el hueso, promoviendo la osteogénesis sobre la adipogénesis y favoreciendo la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica.<sup>11,12</sup> Tanto los osteoblastos como los osteoclastos tienen receptores para la OXT, y los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea en ratones están mediados por lo menos en parte por la OXT.<sup>13-16</sup> El desarrollo de ratones nulos para la OXT o para su receptor ha permitido obtener información sobre los efectos de la OXT sobre la remodelación ósea.<sup>12</sup>

La OXT tiene un efecto directo y dominante sobre el esqueleto, que es mediado principalmente a través de la estimulación de la formación osteoblástica pero también a través de una modulación de la formación osteoclástica y de su función. Es así como los ratones nulos para OXT y OTXR desarrollan osteoporosis con reducción de la formación ósea que empeora con la edad en ambos se-

xos.<sup>12</sup> Los estudios de histomorfometría y de microtomografía han mostrado una pronunciada disminución del volumen trabecular a nivel vertebral y femoral, evidente ya en los ratones heterocigóticos, acompañada por una significativa reducción en la tasa de formación ósea.<sup>12</sup>

En vista de las conocidas acciones centrales de la OXT se intentó determinar si las acciones sobre el hueso de esta neurohormona eran centrales o periféricas. Se encontró que las inyecciones intra-cerebro-ventriculares de la OXT no afectaban la remodelación ósea, indicando que el efecto era resultado de una acción periférica de la OXT.<sup>12</sup>

Para estudiar los efectos periféricos de la OXT sobre la remodelación ósea se utilizaron 2 regímenes de administración de OXT a ratas:<sup>13</sup> un grupo fue tratado con 40 microIU/kg de peso corporal por 6 semanas (dosis alta) y otro grupo fue tratado con dosis de 8 microIU/kg de peso corporal de OXT pero por un período más largo de tratamiento (12 semanas). El estudio mostró que la inyección intramuscular de OTX en ambas concentraciones y duraciones de tiempo causaba una significativa disminución del calcio sérico y de los niveles de sRANKL y presentaban un incremento significativo de los niveles de OPG (asociado a una disminución de la relación sRANKL/OPG). Las observaciones morfológicas mostraron que ambos tratamientos con OTX inducían un ligero efecto sobre la remodelación ósea a favor de la formación ósea. Las dosis más altas de OTX por una duración más corta eran más efectivas que las más bajas por tiempo más prolongado.

### **Vías de señalización de la oxitocina en las células óseas**

El mecanismo preciso a través del cual la activación de los OXTR se traduce en un incremento de la formación ósea permanece poco claro. Es conocido que la unión de la OXT a sus receptores activa tanto a la proteína  $G_{\alpha i}$  como a la  $G_{\alpha q/11}$  estimulando las vías de señalización mediadas por fosfolipasa C -PLC.<sup>17</sup>



La activación de la enzima fosfolipasa C (PLC) causa un incremento en inositol trifosfato ( $IP_3$ ) y diacilglicerol (DAG).  $IP_3$  activa receptores específicos en el retículo endoplásmico que liberan  $Ca^{2+}$  en el citosol para formar complejos con calmodulina. La liberación de  $Ca^{2+}$  desde los sitios de almacenamiento intracelular gatilla otras vías de señalización.<sup>12</sup> Sin embargo, los incrementos en las concentraciones intracelulares de calcio desencadenadas por la OXT tienen patrones diferentes en los tipos principales de células óseas: un aumento inicial que retorna inmediatamente a los niveles basales en los osteoblastos, y un incremento más lento y sostenido en los osteoclastos.<sup>12</sup>

El incremento en el  $Ca^{2+}$  intracelular en los osteoblastos induce otras cascadas de señalización intracelular como JNK, P38 y PI3K,<sup>18</sup> incrementando la síntesis de prostaglandina E2 que lleva a un balance óseo positivo. También se encontró que la OXT estimulaba la diferenciación osteoblástica hacia el fenotipo mineralizante a través de un aumento de la expresión de BMP 2.<sup>12</sup> En cultivos *ex vivo* de osteoblastos de ratones nulos para OXT se observó una disminución de la mineralización y, a nivel de su ARN, una disminución en todos los genes principales que participan en osteoblástica.

Como es común a otras vías de transducción de señales activadas por receptores acoplados a proteínas G (GPCR), la estimulación prolongada o repetitiva por la OXT deriva en una internalización de los OXTR a través de  $\beta$ -arrestina. La internalización de los GPCR puede activar vías de señalización bastante distintas de las activadas por los mismos receptores residentes en la superficie celular. Así, la desensibilización de la señalización primaria dependiente de proteína G puede ser seguida de una segunda ola de señalización mediada por  $\beta$ -arrestinas.<sup>19</sup> Estas proteínas pueden también reclutar proteínas de señalización que conectan a las GPCR a varios efectores citoplasmáticos, como la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y la

proteína quinasa B/fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-quinasa (Akt/PI3K).<sup>20,21</sup> Tales mecanismos pueden provocar respuestas genómicas retardadas.

Recientemente se ha reportado que el OXTR se transloca al núcleo de los osteoblastos cuando es estimulado por su ligando la OXT.<sup>22</sup> La traslocación del OXTR dentro del núcleo es facilitada por sucesivas interacciones con  $\beta$ -arrestinas, la pequeña GTPasa Rab5, importina B y transportina 1. La anulación de las  $\beta$ -arrestinas o de la transportina 1 a través de siRNA inhibe no solo la localización nuclear de los OXTR sino también de la acción proosteoblástica de la OXT. Estos hallazgos representan una vía no conocida previamente para la acción de la OXT.

La OXT tiene un efecto dual sobre los osteoclastos: incrementa la formación osteoclástica tanto en forma directa al activar al factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- $\kappa$ B) y la señalización por MAPK, como indirectamente, a través del aumento en la formación de RANK-L. Este incremento en la osteoclastogénesis se acopla a una disminución de la resorción ósea en un 40% a las 48 horas luego de la estimulación con OXT de osteoclastos maduros al promover la liberación de  $Ca^{2+}$  citosólico y estimular la síntesis de óxido nítrico.<sup>12</sup> Esto puede explicar la significativa disminución de los niveles de fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), un marcador de resorción ósea, observado luego de la administración de OXT.<sup>23</sup> Esta aparente paradoja de incremento en la osteoclastogénesis acoplada a una temporaria disminución de la resorción ósea puede ser explicada al considerar la actividad cíclica de la hormona.

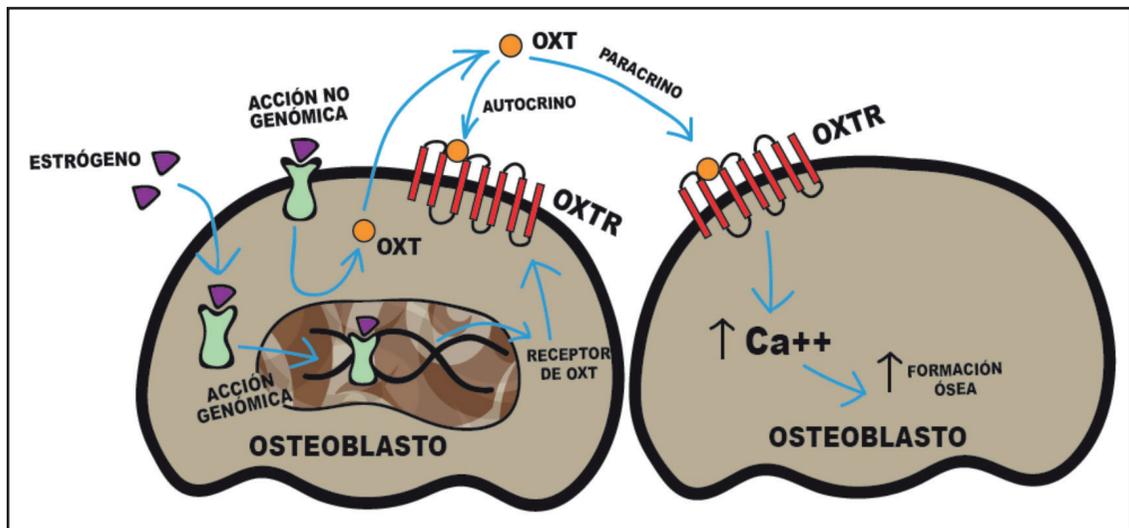
### **Regulación de la OXT y su receptor por los esteroides sexuales**

Considerando que la OXT es producida localmente en varios órganos,<sup>2-4</sup> se investigó si los estrógenos podían estimular la producción autocrina de OXT por las células óseas. Usando varias aproximaciones experimenta-

les se demostró que la OXT es producida en abundancia por los osteoblastos de la médula ósea en respuesta a los estrógenos. También se encontró que los osteoblastos son capaces de sintetizar y secretar OXT tan pronto como 2 horas luego del tratamiento con estradiol, y que el estradiol regula la actividad de las células óseas a través de la OXT.<sup>15,24</sup> En vista de la rápida inducción del ARNm para la OXT se evaluó si la acción del estrógeno se ejercía a través de una vía no genómica, mediada por una acción sobre la superficie celular. La demostración de que la señal comprometida en el circuito estrogénico es no genómica proviene de la observación de que el estradiol conjugado con albumina bovina, que no puede atravesar la membrana plasmática, incrementa el ARNm de la OXT a niveles comparables con aquellos que resultan del tratamiento con 17beta-estradiol libre de albúmina.<sup>24</sup> Por otro lado, la expresión de OXT

requiere una vía de señalización intacta de la MAPK ya que la inhibición de la MAPK impide la síntesis de OXT.<sup>24</sup>

La inducción de los OXTR en los osteoblastos por el 17beta-estradiol sigue un curso de tiempo más lento que la inducción de la OXT. Para diferenciar un mecanismo genómico de uno no genómico estimulado por los estrógenos en la inducción de los OXTR se utilizó el 17beta-estradiol conjugado con albúmina. En contraste con la OXT, donde tanto el 17beta-estradiol libre como el conjugado con albúmina aumentaban la expresión de OXT de manera similar, la expresión de los OXTR era inducida solo por el 17beta-estradiol libre pero no por el conjugado<sup>24</sup> (Figura 1). Esto implica que la inducción de los OXTR por los estrógenos ocurre a través de un mecanismo tradicional genómico. En coincidencia con esto, se encontró que la expresión de OXTR era menos sensible a la inhibición de la MAPK.<sup>24</sup>



**Figura 1.** Representación esquemática de la producción autocrina de oxitocina (OXT) y su receptor (OXTR) por el estrógeno. Los estrógenos estimulan la producción de OXTR por vía genómica, mientras que estimulan la liberación de OXT por vía no genómica a través de un receptor de membrana. La OXT liberada de la célula actúa sobre los OXTR del propio osteoblasto (acción autocrina) y de osteoblastos próximos (acción paracrina) El mecanismo de acción de la OXT actuando sobre el OXTR del osteoblasto es aumentar el calcio intracelular que por distintas vías incrementa la formación ósea.



### Oxitocina, estrógenos y osteoporosis

Se han efectuado distintos estudios para demostrar que el estradiol regula la actividad de los osteoblastos a través de la OTX y su receptor. En un estudio se utilizó una línea celular osteoblástica (M3T3) con OXTR-silenciados o células primarias obtenidas de ratones nulos para OXTR. En las células control con OXTR, luego del tratamiento con estrógeno, se observaba un aumento en la expresión de muchos genes de diferenciación osteoblástica como osteopontina, sialoproteína ósea y osteocalcina, así como factores de transcripción RUNX2 y OSTERIX y ATF4.<sup>24</sup> Estas respuestas faltaban en los osteoblastos M3T3 con OXTR-silenciados y en las células primarias obtenidas de ratones nulos para OXTR.<sup>24</sup> Varios estudios de histomorfometría mostraron que ratones nulos para OXTR que se inyectaban por 1 mes con 17beta-estradiol no mostraban ningún cambio en los parámetros de formación ósea comparados con los no tratados, mientras que el mismo tratamiento incrementaba significativamente los parámetros óseos trabeculares y corticales en los ratones de tipo salvaje (con OXTR) comparados con los controles.<sup>24</sup> Esto demostraba la habilidad del estrógeno para incrementar la masa ósea en los ratones de tipo salvaje *in vivo* de una manera dependiente de la OXTR.

Se obtuvieron resultados similares en ratones nulos para OXTR osteoblasto-específico (Col2.3-Cre/Oxtrfl/fl mice). Estos ratones no mostraron incrementos en la masa ósea en respuesta al 17beta-estradiol, sugiriendo que los OXTR son necesarios para la acción del estrógeno.<sup>24</sup> Por lo tanto, la osteopenia producida por la deficiencia global OXTR se parece en forma completa a aquellos con deficiencia selectiva de OTXR en osteoblastos, lo que definitivamente excluye cualquier mediación de los efectos de la OTX sobre el esqueleto a través del sistema nervioso central y sugiere que los OXTR de los osteoblastos son necesarios para la acción anabólica de los estrógenos so-

bre el hueso.<sup>24</sup> Al evaluar si la señalización de la OTX también mediaba los efectos del estrógeno sobre la masa ósea en los ratones hipogonádicos, se encontró que las mediciones de densidad mineral ósea disminuían luego de la ovariectomía en los ratones de tipo salvaje y en los ratones nulos para OXTR a nivel de la columna lumbar y fémur. Es más, cuando se compararon los ratones inyectados con vehículo, los ratones con operación simulada y los ratones de tipo salvaje (todos ellos con OXTR) tratados con 17beta-estradiol, todos mostraban incremento en la densidad mineral ósea, mientras que los ratones nulos para OXTR no.<sup>24</sup>

Por otro lado, Elabd y col.<sup>11</sup> han demostrado que la vía OXTR es un potencial regulador del balance osteoblasto/adipocito en células humanas madre multipotentes derivadas de adipocitos (hMADS). Tanto la OXT como la carbetocina (un análogo estable de OXT) modulan en forma negativa la adipogénesis al mismo tiempo que aumenta la osteogénesis tanto en células hMADS como en células humanas del estroma mesenquimático de la médula ósea. Consistentemente con estas observaciones, ratas y ratones ovariectomizados, que se vuelven osteoporóticos y presentan un desequilibrio de este balance osteoblasto/adipocito, tienen niveles de OXT significativamente disminuidos comparados con los animales controles con operación de ovariectomía simulada. La administración subcutánea de OXT revirtió la pérdida ósea en ratones ovariectomizados y redujo la adiposidad de la médula ósea.

Si bien el modelo de osteoporosis hipogonádica en rata es el más utilizado, el sistema esquelético de la rata es diferente del humano ya que carece de sistema haversiano y realiza una limitada remodelación ósea. En este sentido, el modelo de osteoporosis por ovariectomía en el conejo es más parecido al humano. La administración subcutánea de OXT a conejos ovariectomizados previno la disminución de la relación BV/TV ósea y la expansión del espaciamiento trabecular.<sup>25</sup>

### **Niveles séricos de oxitocina y masa ósea en los seres humanos**

Debido a la falta de fiabilidad en los métodos corrientemente usados para medir niveles periféricos de OXT, es necesario el desarrollo de técnicas más precisas para su determinación.<sup>26</sup> Los niveles plasmáticos de OTX se han encontrado significativamente más bajos en mujeres posmenopáusicas que desarrollaban osteoporosis que en mujeres normales sanas.<sup>27</sup> Breuil y col.<sup>28</sup> también han demostrado que los niveles séricos altos de OXT se asocian con elevada densidad mineral ósea especialmente en cadera total y con los marcadores de remodelación ósea en mujeres posmenopáusicas, aunque la relación de la OXT con la DMO era independiente de los marcadores de remodelación. Esto no parece observarse en hombres, donde los niveles séricos de OXT no se asociaban a BMD, tasa de recambio óseo o fracturas prevalentes.<sup>29</sup>

La OXT ha sido recientemente implicada como un regulador clave en el balance energético a través de efectos sobre la ingesta, el gasto energético y sobre el metabolismo de grasa y músculo. Lawson y col. han demostrado que, en dos estados de déficit energético, la anorexia nerviosa<sup>30</sup> y la amenorrea hipotalámica en atletas,<sup>31</sup> los valores promediados de OXT nocturna (8 p.m. a 8 a.m.) eran más bajos que en controles normales. La baja secreción de OTX nocturna se asociaba a una disminución de la DMO y la grasa corporal y podría contribuir a la pérdida ósea observada en la anorexia nerviosa. La baja secreción nocturna de OXT en atletas amenorreicas se asociaba a alteraciones en la microarquitectura ósea. Esta relación comprometía tanto los parámetros de hueso trabecular como cortical y era más pronunciado en los sitios donde hay falta de efecto de carga de peso como el radio. En modelos de regresión gradual que incluyeron factores conocidos que contribuyen a la microarquitectura ósea en mujeres jóvenes,<sup>31</sup> incluidos edad ósea, edad de la menarca y masa corporal magra, la OXT daba cuenta de una sustancial porción de la variabilidad en la microarquitectura

ósea y en los parámetros de resistencia. Estos datos sugieren que, en la situación de deficiencia estrogénica, una baja secreción de oxitocina puede contribuir a la severidad de la pérdida ósea y disminución de la integridad estructural del hueso en los atletas.

### **Efectos óseos de la vasopresina**

A pesar de que es conocido que la hiponatremia está asociada con osteoporosis y el aumento del riesgo de fracturas, el mecanismo a través del cual se produce la pérdida ósea permanece sin aclarar. Como los pacientes hiponatremicos tienen niveles circulantes elevados de arginina-vasopresina (AVP), Tamma y col.<sup>32</sup> examinaron si la AVP podía afectar el esqueleto en forma directa como otro componente del postulado eje hueso-pituitaria. Estos autores encontraron que dos receptores de la AVP, V1a y V2, acoplados a la activación de la quinasa ERK, estaban expresados en osteoblastos y osteoclastos. La inyección de AVP en ratones de tipo salvaje aumenta la formación de osteoclastos que producen resorción y reduce el número de osteoblastos formadores de hueso. En forma opuesta, la exposición de precursores osteoblásticos a antagonistas de los receptores V1a o V2, el SR49059 (relcovaptan) y el ADAM, respectivamente, incrementaban la osteoblastogénesis, como también lo hacía la delección genética del receptor V1a. En contraste, la formación osteoclástica y la resorción ósea estaban ambas reducidas en cultivos de células V1a-/- (nulas para el receptor V1a). Este proceso de incremento de la formación ósea y reducción de la resorción derivaba en un profundo aumento de la masa ósea en los ratones V1a-/- y en los ratones de tipo salvaje inyectados con un inhibidor del V1a SR49059. Colectivamente, estos datos no solo establecen un rol primario de la señalización a través de AVP en la regulación de la masa ósea, sino también sugieren la necesidad de estudios sobre las acciones esqueléticas de los inhibidores de receptores de AVP o vaptanos usados para el tratamiento de pacientes que padecen hiponatremia.



## Colofón

En resumen, la oxitocina, a través de su receptor OXTR, favorece la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica, mientras que la vasopresina, a través de su receptor V1a, reduce la actividad osteoblástica e incrementa la osteoclástica. Los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea podrían estar mediados, por lo menos en parte, por la OXT y su receptor. La osteoporosis asociada a hiponatremia podría deberse, entre otras causas, a una acción directa del aumento de AVP observado en estos pacientes.

Sin embargo, la OXT presenta varios problemas aún para ser usada como tratamiento de la osteoporosis debido a que: 1) tiene una muy pobre absorción oral porque su alto peso molecular limita su absorción digestiva; 2) su vida media plasmática en circulación es extremadamente corta (estimada en 5 minutos) y 3) su falta de especificidad sobre receptores de OXT, ya que también actúa sobre el receptor

V1a de la vasopresina y el TRVP1 de la capsaicina. Recientemente se ha desarrollado el primer agonista completo no peptídico de la OXT (LIT-001) que resuelve varios de estos problemas de la hormona peptídica: tiene un bajo peso molecular y tiene una alta afinidad y eficacia sobre el receptor de ratón y ser humano de la OXT. Su administración periférica en un modelo murino de autismo ha mejorado la interacción social,<sup>33</sup> así como su administración intraperitoneal ha inducido una reducción persistente de dolor inducido por inflamación.<sup>34</sup> Todavía no hay estudios de este agonista no peptídico de la oxitocina sobre el hueso.

**Conflicto de intereses:** el autor declara no tener conflicto de intereses.

Recibido: junio 2020

Aceptado: septiembre 2020

## Referencias

1. Mayasich SA, Clarke BL. The emergence of the vasopressin and oxytocin hormone receptor gene family lineage: Clues from the characterization of vasotocin receptors in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Gen Comp Endocrinol*. 2016; 226:88-101.
2. Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. *Physiol Rev*. 2001; 81:629-83.
3. Viero C, Shibuya I, Kitamura N, et al. Review: Oxytocin: crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. *CNS Neurosci Ther*. 2010; 16: e138-e156.
4. Gutkowska J, Jankowski M, et al. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94:11704-9.
5. Thibonnier M, Conarty DM, et al. Human vascular endothelial cells express oxytocin receptors. *Endocrinology*. 1999; 140:1301-9.
6. Jankowski M, Danalache B, Wang D, et al. Oxytocin in cardiac ontogeny. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:13074-9.
7. Zingg HH, Laporte SA. The oxytocin receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14:222-7.
8. Elands J, de Kloet ER, de Weid D. Neurohypophyseal hormone receptors: relation to behavior. *Prog Brain Res*. 1992; 91:459-64.
9. Young LJ. Being Human: Love neuroscience reveals all. *Nature* 2009;457:148.
10. Koshimizu TA, Nakamura K, et al. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev*. 2012; 92(4):1813-64.
11. Elabd C, Basillais A, Beaupied H, et al. Oxytocin controls differentiation of human mesenchymal stem cells and reverses osteoporosis. *Stem Cells*. 2008; 26(9):2399-407.
12. Tamma R, Colaianni G, Zhu LL, et al. Oxytocin is an anabolic bone hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:7149-54.
13. Elabd SK, Sabry I, et al. Possible neuroendocrine

- role for Oxytocin in bone remodeling. *Endocr Regul.* 2007; 41(14):13141.
14. Colucci S, Colaianni G, et al. Human osteoclasts express oxytocin receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 297(3):442-5.
  15. Copland JA, Ives KL, et al. Functional oxytocin receptors discovered in human osteoblasts. *Endocrinology.* 1999; 140(9):4371-4.
  16. Colaianni G, Sun L, Di Benedetto A, et al. Bone marrow oxytocin mediates the anabolic action of estrogen on the skeleton. *J Biol Chem.* 2012; 287(34):29159-67.
  17. Ku CY, Quian A, et al. Oxytocin stimulates myometrial guanosine triphosphatase and phospholipase-C activities via coupling to G alpha q/11. *Endocrinology.* 1995;136(4):1509-15.
  18. Danciu TE, Adam RM, et al. Calcium regulates the PI3K-Akt pathway in stretched osteoblasts. *FEBS Lett.* 2003; 536(1-3):193-7.
  19. Shenoy SK, Lefkowitz RJ.  $\beta$ -Arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends Pharmacol Sci.* 2011; 32(9):521-33.
  20. Lefkowitz RJ, Rajagopal K, Whalen EJ. New roles for beta-arrestins in cell signaling: Not just for seven-transmembrane receptors. *Mol Cell.* 2016; 24(5):643-52.
  21. Kovacs JJ, Hara MR, et al. Arrestin development: Emerging roles for beta-arrestins in developmental signaling pathways. *Dev Cell.* 2009; 17(4):443-58.
  22. Di Benedetto A, Sun L, Zamboni CG, et al. Osteoblast regulation via ligand-activated nuclear trafficking of the oxytocin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(46):16502-7.
  23. Elabd SK, Sabry I, et al. Oxytocin as a novel therapeutic option for type I diabetes and diabetic osteopathy. *Endocr Regul.* 2014; 48(2):87-102.
  24. Colaianni G, Di Benedetto A, Zhu LL, et al. Regulated production of the pituitary hormone oxytocin from human and murine osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011; 411:512-5.
  25. Qiu Y, Tang C, Serrano-Sosa M. Bone microarchitectural parameters can detect oxytocin induced changes prior to bone density on mitigating bone deterioration in rabbit osteoporosis model using micro-CT. *BMC Musculoskelet Disord.* 2019; 20(1):560-9.
  26. McCullough ME, Churchland PS, Menendez AJ. Problems with measuring peripheral oxytocin: can the data on oxytocin and human behavior be trusted? *Neurosci Biobehav Rev.* 2013; 37(8):1485-92.
  27. Breuil V, Amri EZ, Panaia-Ferrari P, et al. Oxytocin and bone remodelling: relationships with neurohypothalamic hormones, bone status and body composition. *Joint Bone Spine.* 2011; 78(6):611-5.
  28. Breuil V, Panaia-Ferrari P, Fontas E, et al. Oxytocin, a new determinant of bone mineral density in post-menopausal women: analysis of the OPUS cohort. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(4):E634-641.
  29. Breuil V, Fontas E, Chapurlat R, et al. Oxytocin and bone status in men: analysis of the MINOS cohort. *Osteoporos Int.* 2015; 26(12):2877-82.
  30. Lawson EA, Donoho DA, Blum JL, et al. Decreased nocturnal oxytocin levels in anorexia nervosa are associated with low bone mineral density and fat mass. *J Clin Psychiatry.* 2011; 72(11):1546-51.
  31. Lawson EA, Ackerman KE, Blum JL, et al. Nocturnal oxytocin secretion is lower in amenorrheic athletes than nonathletes and associated with bone microarchitecture and finite element analysis parameters. *Eur J Endocrinol.* 2013; 168(3):457-64.
  32. Tamma R, Sun L, Cuscito C, et al. Regulation of bone remodeling by vasopressin explains the bone loss in hyponatremia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(46):18644-9.
  33. Frantz MC, Pellissier LP, Pflimlin E, et al. LIT-001, the First Nonpeptide Oxytocin Receptor Agonist that Improves Social Interaction in a Mouse Model of Autism. *J Med Chem.* 2018; 61(19):8670-92.
  34. Hilofinger L, Zhao Q, Kerspern D, et al. A nonpeptide Oxytocin receptor agonist for a durable relief of inflammatory Pain. *Sci Rep.* 2020; 10:3017.



ACTUALIZACIONES / Review

## ROL DE LOS FITOESTRÓGENOS EN LA CALCIFICACIÓN VASCULAR E INTERACCIONES ÓSEO-VASCULARES

Marisa Julia Sandoval\*, Sabrina Belén Cepeda, Virginia Laura Massheimer

*Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Universidad Nacional del Sur (UNS), Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Bahía Blanca. Argentina.*

### Resumen

La osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares son patologías prevalentes en mujeres posmenopáusicas. La calcificación vascular es un proceso en el que se produce una distorsión de la arquitectura natural del tejido arterial con una transformación símil osteogénica. La fisiología vascular y la osteogénesis (formación y remodelación ósea) comparten una complejidad metabólica y funcional crítica, que ha sido poco explorada en forma conjunta, lo que ha impulsado la concepción del Eje Óseo-Vascular como nueva área de investigación, con una visión de estudio integradora con la finalidad de identificar vínculos entre ambos sistemas. En virtud de la controversia planteada sobre los riesgos/beneficios de la terapia de reemplazo hormonal para prevenir enfermedades asociadas a la menopausia, se ha incentivado la búsqueda de nuevas opciones de tratamiento. Los fitoestrógenos, como compuestos nutraceuticos, surgen como una potencial alternativa

terapéutica. En particular, las isoflavonas presentan gran analogía estructural con el estrógeno humano  $17\beta$ -estradiol, lo que les permite unirse al receptor de estrógenos e inducir acciones estrogénicas tanto en células animales como humanas. Basado en la experiencia propia como en lo reportado en la bibliografía, este artículo analiza la información disponible sobre las acciones vasculares y óseas de los fitoestrógenos (específicamente la isoflavona genisteína), con una visión de ciencia traslacional. Es de esperar que los avances en el conocimiento derivado de la ciencia básica, en un futuro cercano, pueda contribuir a decisiones clínicas a favor de promover terapias naturales de potencial acción dual, para la prevención de enfermedades de alta prevalencia y significativo costo social y económico para la población.

**Palabras clave:** fitoestrógenos, genisteína, calcificación vascular, osteoblastos, eje óseo-vascular.

\*E-mail: [msandova@criba.edu.ar](mailto:msandova@criba.edu.ar)

## Abstract

### ROLE OF PHYTOESTROGENS IN VASCULAR CALCIFICATION AND BONE-VASCULAR INTERACTIONS

Osteoporosis and cardiovascular diseases are prevalent diseases in postmenopausal women. Vascular calcification is a cell-mediated process that leads to the loss of the natural architecture of the arterial vessels due to osteogenic transdifferentiation of smooth muscle cells, and matrix mineralization. Vascular physiology and osteogenesis (bone formation and remodeling) share a critical metabolic and functional complexity. Given the emerging integrative nature of the bone-vascular axis, links between both systems are a matter of ongoing interest. In view of the controversy stated about the risks/

benefits of hormone replacement therapy to prevent diseases associated with menopause, phytoestrogens arise as a potential natural therapeutic alternative. In particular, isoflavones have a strong structural analogy with the human estrogen  $17\beta$ -estradiol, that allows them to bind to the estrogen receptor and induce estrogenic actions in animal and human cells. Based in on our own experience and the information available in the literature, in this paper we provide an overview of the role of phytoestrogens on vascular and bone tissues, with focus on Genistein actions. We wish that the basic knowledge acquired may contribute to guide clinical decisions for the promotion of natural therapies for the treatment of diseases that conspire against human health.

**Keywords:** phytoestrogen, genistein, vascular calcification, osteoblasts, bone-vascular axis

## Los fitoestrógenos

Los fitoestrógenos (FE) son compuestos no esteroides de origen vegetal, biológicamente activos, con diversas funciones en las plantas<sup>1</sup> como bactericidas, quelantes de metales, protectores de la radiación ultravioleta y moduladores del crecimiento y la diferenciación. Su nombre deriva de la capacidad de ejercer actividad similar estrogénica en los animales y seres humanos.<sup>2</sup> Se encuentran presentes en las leguminosas, principalmente la soja.<sup>3</sup> El contenido de FE en los vegetales depende de la ubicación geográfica, las condiciones del cultivo y la época de la cosecha.<sup>4</sup> Se los considera nutraceuticos debido a su valor nutritivo como suplementos dietarios y a su potencial terapéutico. Según su estructura química se los clasifica en flavonoides (isoflavonas y cumestanos), lignanos y derivados del resorcinol. Las isoflavonas genisteína (Gen) y daidzeína (Daid) son los FE con mayor bioactividad (Figura 1). Las isoflavonas se ingieren principalmente en forma de glucósidos y en

el tracto intestinal se hidrolizan por acción de la enzima UDP glucuronosiltransferasa secretada por bacterias intestinales, dando lugar a las formas activas o agliconas (Gen y Daid), por lo que la microflora intestinal resulta clave para su biodisponibilidad.<sup>5</sup> Una vez ingeridas, las agliconas sufren una rápida absorción, conjugación en el hígado, distribución sistémica y excreción, principalmente por orina y en menor proporción por heces.

La gran analogía estructural de las isoflavonas con el estrógeno humano  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) les permite unirse al receptor de estrógenos (RE) e inducir acciones estrogénicas. Los mecanismos de acción propuestos comprenden su unión al RE y la activación de vías genómicas y no genómicas.<sup>6</sup> La evidencia en la literatura muestra que los tres tipos de RE,<sup>7,8</sup> los citosólicos nucleares ( $RE\alpha$  y  $RE\beta$ ) y los acoplados a proteína G (GPR30), participan en la acción biológica de los FE. A partir de su unión a ellos, los FE actúan como moduladores selectivos del

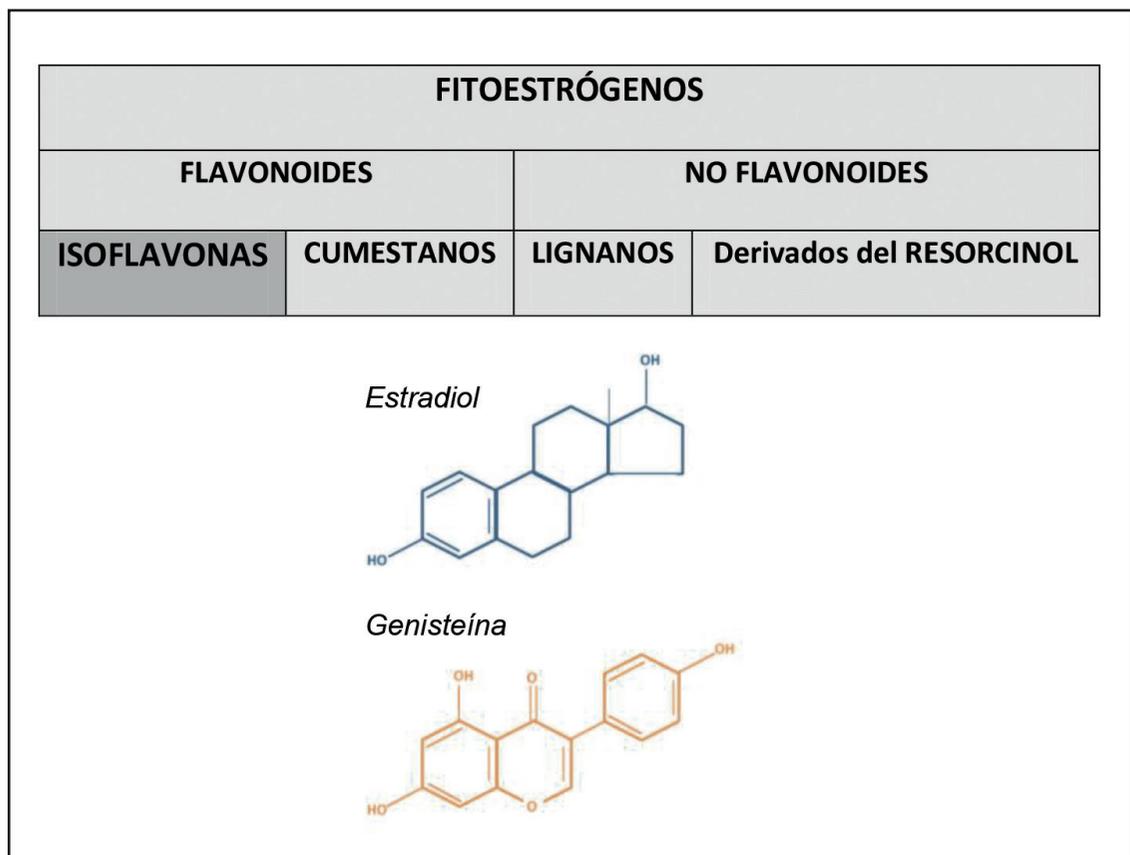


receptor de estrógeno (SERM) pudiendo generar selectivamente respuestas agonistas o antagonistas estrogénicas.<sup>9</sup> El tipo de acción (agonista o antagonista) depende de la distribución tisular de los diferentes tipos de RE, la afinidad por tales receptores, las vías de señalización activadas y la clase de coreguladores de la expresión génica (coactivadores o correpresores) reclutados intracelularmente. Dependiendo de la concentración presente en el medio extracelular, un mismo FE puede inducir acciones biológicas opuestas.<sup>10</sup>

El uso fitoterapéutico de los FE se remonta a inicios del siglo XXI, cuando diferentes estudios correlacionaron la dieta a base de derivados de soja con una menor incidencia de

enfermedades cardiovasculares (ECV).<sup>11,12</sup> En los últimos años, el uso de los FE se volvió popular, particularmente a través de alimentos enriquecidos en fitoesteroles de acceso libre a la población. En nuestro país existen ventajas económicas y estratégicas para tener en cuenta al evaluar la potencial explotación de derivados de la soja como la Gen, dado el carácter de país sojero y productor mundial de esta leguminosa.

Teniendo en cuenta las exigencias y normativas de tipo sanitario existentes, es imprescindible que las investigaciones científicas aporten información sobre los riesgos y beneficios del consumo de estos derivados vegetales y profundicen sobre sus potencialidades clínicas y terapéuticas.



**Figura 1.** Clasificación de los fitoestrógenos. Estructura química del 17 $\beta$ -estradiol y de la genisteína.

### **La calcificación vascular**

La calcificación vascular (CaV) es un proceso celular activo, bioquímicamente regulado que exhibe gran similitud con el proceso fisiológico de remodelación ósea.<sup>13</sup> Esta similitud sustenta la hipótesis de que existe un estrecho vínculo a nivel molecular entre los sistemas óseo y vascular. Dependiendo de la túnica arterial afectada, la CaV se clasifica en: calcificación de la íntima, asociada a la enfermedad aterosclerótica<sup>14</sup> o calcificación de la media (esclerosis de Mönckeberg,<sup>15</sup> asociada a la edad, diabetes o enfermedad renal crónica<sup>16</sup>). En el presente artículo de revisión nos centraremos en la calcificación de la placa ateromatosa.

La aterosclerosis (ATC) es una enfermedad multifactorial que se produce a nivel de la íntima arterial, caracterizada por la formación de placas (ateromas) que estrechan la luz vascular y pueden llegar a la oclusión completa del vaso afectado. Desde el punto de vista fisiopatológico se la considera un proceso inflamatorio crónico que se inicia con una lesión endotelial que lleva a la disfunción y posterior estimulación endotelial.<sup>17</sup> La dislipidemia, el tabaquismo, la hipertensión arterial, la diabetes, el envejecimiento y el hipoestrogenismo menopáusico son factores predisponentes.<sup>18</sup> En su fase temprana, la lesión ateromatosa se inicia con la alteración de la permeabilidad selectiva endotelial, seguida de reducción en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO), aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO) y expresión de moléculas de adhesión celular (MACs) por el endotelio activado.<sup>19</sup> Estos eventos dan lugar al reclutamiento de leucocitos. En respuesta al estrés proinflamatorio y oxidativo, las plaquetas se adhieren al endotelio y liberan citoquinas que promueven el reclutamiento, adhesión e internalización de los monocitos (Mo) en la túnica íntima del vaso afectado.<sup>20</sup> Dentro de la íntima, los Mo se activan, liberan citoquinas proinflamatorias y expresan receptores de superficie que captan oxilípidos transformándose en células

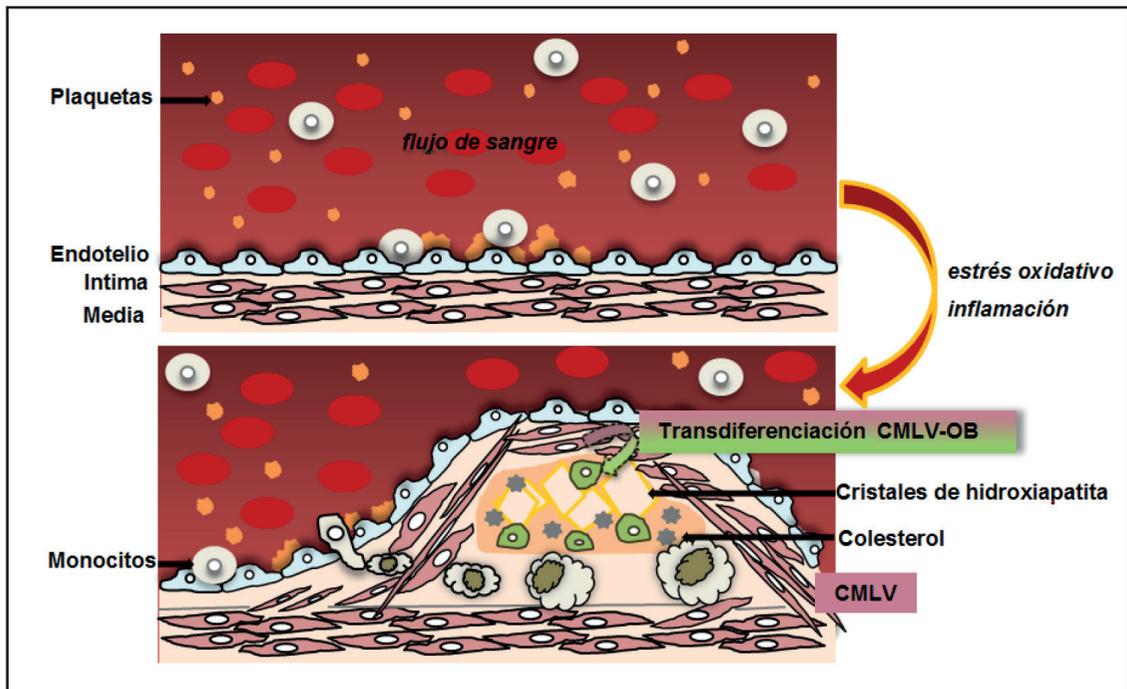
espumosas, generando el núcleo central del ateroma.<sup>21</sup> Las citoquinas inflamatorias estimulan la migración de las células musculares lisas vasculares (CMLV), desde la túnica media hacia la íntima, y posterior proliferación. Con el progreso de la lesión, se desarrolla una capa fibrosa formada por CMLV y matriz que recubre el núcleo necrótico de la placa. La fase más avanzada de la lesión la constituye la calcificación del ateroma, evento en el cual las CMLV tienen un rol clave por su transdiferenciación osteogénica (Figura 2).

El comportamiento de las CMLV dentro de la pared arterial depende del microambiente celular y humoral. El entorno inflamatorio estimula inicialmente a que la CMLV cambie su fenotipo de contráctil a proliferativo y sintético, para finalmente expresar proteínas de estirpe osteoblástica<sup>22</sup> tales como Runx2, BMP-2, el cotransportador de fosfato dependiente de sodio Pit-1 y TNAP (fosfatasa alcalina no específica de tejido). La expresión de TNAP se considera un marcador de transdiferenciación irreversible a osteoblastos (OB).<sup>23</sup> Estas proteínas tienen la capacidad de unirse al calcio y formar hidroxapatita, generando áreas de depósito de calcio. En paralelo, la lesión endotelial activa las células endoteliales (CE), las que sintetizan proteínas morfogénicas óseas (BMPs) que aceleran la transdiferenciación de la CMLV y aumentan la producción de ERO. El proceso de CaV es regulado por inductores (oxilípidos, ERO, Runx2, BMP-2/4) e inhibidores (NO, proteína Gla, osteopontina (OPN), fetuina A).<sup>22</sup>

### **Remodelación ósea, calcificación vascular y menopausia**

De lo expuesto hasta aquí nos preguntamos: *¿Cuáles serían los puntos en común o semejanzas entre la remodelación del tejido óseo y la calcificación vascular?*

Desde un punto de vista celular/molecular debemos considerar que las CMLV y los OB comparten un origen celular, ya que derivan de la célula madre mesenquimal (CMM) sobre



**Figura 2.** Proceso de formación de la placa ateromatosa calcificada.

Panel superior: representación esquemática de la pared arterial intacta donde se distinguen las tunicas íntima y media con estructura tisular conservada.

Panel inferior: lesión ateromatosa calcificada. Se distinguen la adhesión de plaquetas, la internalización de monocitos, la migración a la íntima de las CMLV con su posterior transdiferenciación a linaje óseo (CMLV-OB) y la inducción de mineralización extracelular por depósito de cristales de hidroxapatita.

la cual actuarán las proteínas BMP y vías de señalización Wnt y TFG- $\beta$  para conducir a la diferenciación de las células madre a progenitores tempranos.<sup>24</sup> A partir de este punto, la estirpe celular específica quedará determinada por los factores que regulen el proceso diferenciativo. El factor de transcripción Runx2 (factor transcripcional determinante de estirpe osteoblástica) y la activación de  $\beta$ -catenina son determinantes para diferenciar la CMM a estirpe OB, y promover la transcripción de genes de la matriz ósea como colágeno de tipo I, osteocalcina y osteopontina.<sup>25</sup> En cambio, la familia de las miogeninas definirá la diferenciación de los progenitores a CMLV.<sup>26</sup>

Desde una visión clínica, varios reportes han puesto de manifiesto la relación entre la incidencia de calcificación aórtica y densidad mineral ósea (DMO) baja en mujeres posmenopáusicas.<sup>27,28</sup> En el estudio controlado multicéntrico WHIS (*Women's Health Initiative Study*), las mujeres posmenopáusicas de 50 a 59 años tratadas con terapia de estrógenos a largo plazo presentaban niveles más bajos de calcificación de las arterias coronarias y un impacto positivo sobre su masa ósea respecto de las que recibieron placebo.<sup>29</sup>

La menopausia es un período en el cual la probabilidad de contraer ECV como la aterosclerosis y óseas como la osteoporosis se

incrementa notablemente, hecho atribuido principalmente a la disminución de los estrógenos circulantes. En la mujer posmenopáusicas, la ECV es la primera causa de muerte en el mundo occidental<sup>30</sup> y la Argentina no es la excepción. A su vez la osteoporosis constituye la enfermedad metabólica ósea más prevalente, en la cual la pérdida de masa ósea y el deterioro de la microarquitectura aumentan el riesgo de fracturas.<sup>31</sup> Estas patologías significan un grave problema para la salud pública mundial, debido a los enormes costos sociales y económicos que generan. En el mundo hay alrededor de 700 millones de mujeres con más de 50 años. Debido al aumento en la expectativa de vida, se proyecta que para el año 2030 habrá 1200 millones de mujeres mayores de 50 años. Es por ello que resulta gravitante no solo profundizar en el conocimiento fisiopatológico de estas enfermedades, sino también encontrar opciones preventivas o terapéuticas eficaces para minimizar los signos clínicos asociados al hipostrogenismo posmenopáusico.

En virtud de la controversia planteada sobre los riesgos/beneficios de la terapia de reemplazo hormonal (TRH),<sup>32</sup> los fitoSERMs surgen como una potencial alternativa. Varias investigaciones epidemiológicas indican que la incidencia de enfermedades cardiovasculares<sup>33</sup> y óseas<sup>34</sup> es menor en mujeres orientales que consumen dietas con alto contenido de FE.

### **Impacto vascular de los fitoestrógenos**

Varios estudios epidemiológicos<sup>33,35</sup> proponen que los FE tendrían un rol clave en estadios previos a la CaV no solo para evitar la progresión de la lesión ateromatosa, sino para prevenirla. Asmis y col. reportaron que en pacientes en hemodiálisis, Gen podría prevenir la ATC al suprimir la inflamación vascular mediada por citoquinas monocíticas.<sup>36</sup> Lee y col. demostraron que, en conejos, la suplementación con Gen redujo el progreso de la lesión aterosclerótica inducida por

dietas hipercolesterolémicas.<sup>37</sup> Varios resultados similares se describieron en ratones genéticamente modificados.<sup>38</sup> Diversos estudios en sistemas celulares revelaron que los FE reducen el estrés oxidativo y la producción de ERO,<sup>39</sup> la expresión de MACs por CE activadas por lesión,<sup>40</sup> inhiben la migración e inducen apoptosis de las CMLV.<sup>6</sup>

En la última década, en nuestro laboratorio hemos desarrollado una línea de investigación que estudia los efectos de la isoflavona Gen sobre los procesos celulares y moleculares involucrados en la génesis del ateroma. Nuestra evidencia muestra que el FE formaría parte del espectro de moduladores de la ATC, atenuando tanto el inicio como el progreso y la calcificación de la lesión ateromatosa.

Sobre los procesos celulares involucrados en estadios tempranos demostramos que Gen estimula la producción de NO y prostaciclina (potentes vasoactivos antiaterogénicos y antitrombóticos), e inhibe la interacción endotelio-plaqueta-monocito. La isoflavona inhibe la agregación y adhesión plaquetaria, a través de una acción directa sobre el endotelio vascular.<sup>41</sup> Como se describió anteriormente, la unión de las plaquetas a las CE gatilla la internalización de los monocitos a través de la generación de puentes entre las MACs endoteliales y las integrinas leucocitarias que inducen el rodamiento, adhesión y posterior transendotelización de los mononucleares. Nuestra evidencia demostró que, en condiciones de estrés inflamatorio, Gen inhibe la expresión VCAM-1, ICAM-1, P y E-selectinas endoteliales y de las integrinas CD11b/CD11c/CD18. Consecuentemente, el FE previene la adhesión de Mo activados por factores inflamatorios.<sup>42</sup> Gen exhibió acciones antioxidantes, ya que frente al estrés oxidativo atenuó la apoptosis de CE, lo que limitaría la denudación del endotelio.<sup>42</sup> El mecanismo de acción de la Gen involucra la participación del receptor RE- $\alpha$  y la vía de señalización dependiente de óxido



nítrico sintasa (NOS).<sup>43</sup> Parte de lo reportado lo pudimos reproducir en un modelo experimental de ratas ovariectomizadas (OVX) tratadas *in vivo* con Gen, lo que presupone un potencial efecto beneficioso del FE en estados de hipostrogenismo ovárico.<sup>41</sup>

En el progreso de la lesión, la desregulación fenotípica de la CMLV se torna crucial, como consecuencia del aumento de la migración celular y de la síntesis de proteínas de matriz extracelular, con el saldo final de la transdiferenciación a linaje osteoblástico. Empleando cultivos primarios de CMLV demostramos que la exposición *in vitro* a Gen redujo la tasa de crecimiento celular y la migración, sin afectar la integridad celular.<sup>43</sup> Implementamos un modelo de transdiferenciación celular *in vitro* por exposición prolongada de las CMLV a medio de cultivo osteogénico. Se comprobó el cambio de fenotipo de CMLV a símil-OB (CMLV-OB) por la expresión de los marcadores osteoblásticos Runx2 y TNAP1 (fostatasa alcalina no específica de tejido), así como también de actividad de fosfatasa alcalina (FAL) y depósito de nódulos de calcio en la matriz extracelular.<sup>44</sup> El tratamiento de las CMLV-OB con Gen redujo significativamente la expresión de marcadores óseos, la actividad FAL y la mineralización extracelular (Figura 3).<sup>43</sup>

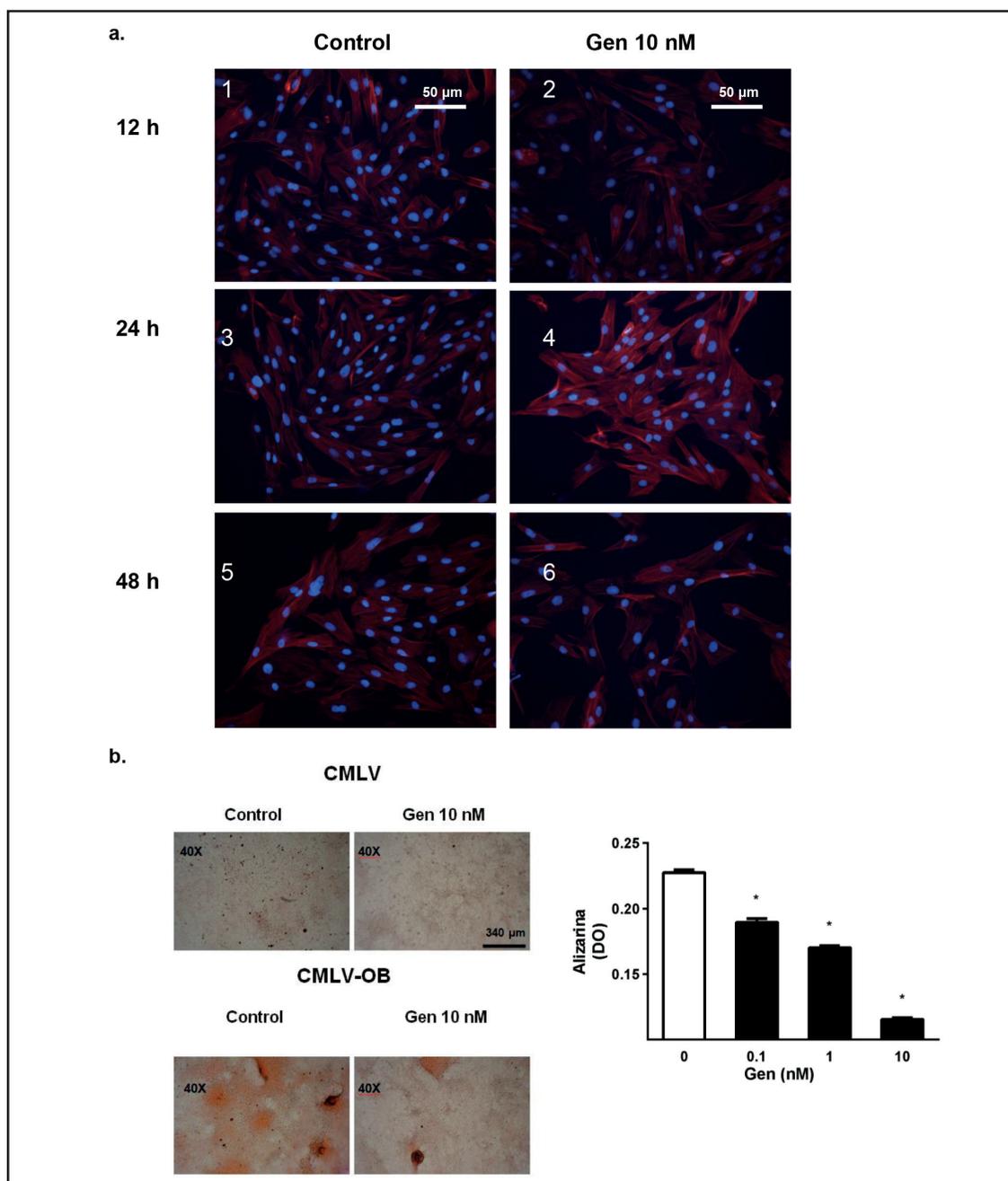
Aproximadamente el 15% de las placas ateroscleróticas humanas exhiben calcificación completa, con una estructura histológica casi indistinguible de la arquitectura trabecular ósea.<sup>45</sup> De hecho, la CaV puede considerarse una osteoblastogénesis que tiene lugar dentro de la pared de la arteria. La información aportada por nuestro laboratorio sugiere una acción protectora de Gen sobre el endotelio vascular acompañada de una acción antiosteogénica inhibiendo el desarrollo de estirpes celulares símil OB. Teniendo en consideración los datos epidemiológicos que promueven que el consumo de FE mejora la calidad ósea, nos preguntamos si este impacto antiosteogénico de Gen a ni-

vel vascular también se manifiesta en células óseas nativas.

### **Impacto óseo de los fitoestrógenos**

La mayoría de los estudios epidemiológicos y ensayos clínicos sugieren una relación positiva entre las isoflavonas y la salud ósea.<sup>46,47</sup> Li y col. reportaron que, en ratas OVX, los estudios de histomorfometría mostraban que la administración de Gen redujo la pérdida de masa ósea tanto trabecular como cortical.<sup>48</sup> Morabito y col. demostraron, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, efectos positivos de Gen aumentando la densitometría ósea (DMO) en fémur y columna en mujeres posmenopáusicas entre 47 y 57 años de edad.<sup>49</sup>

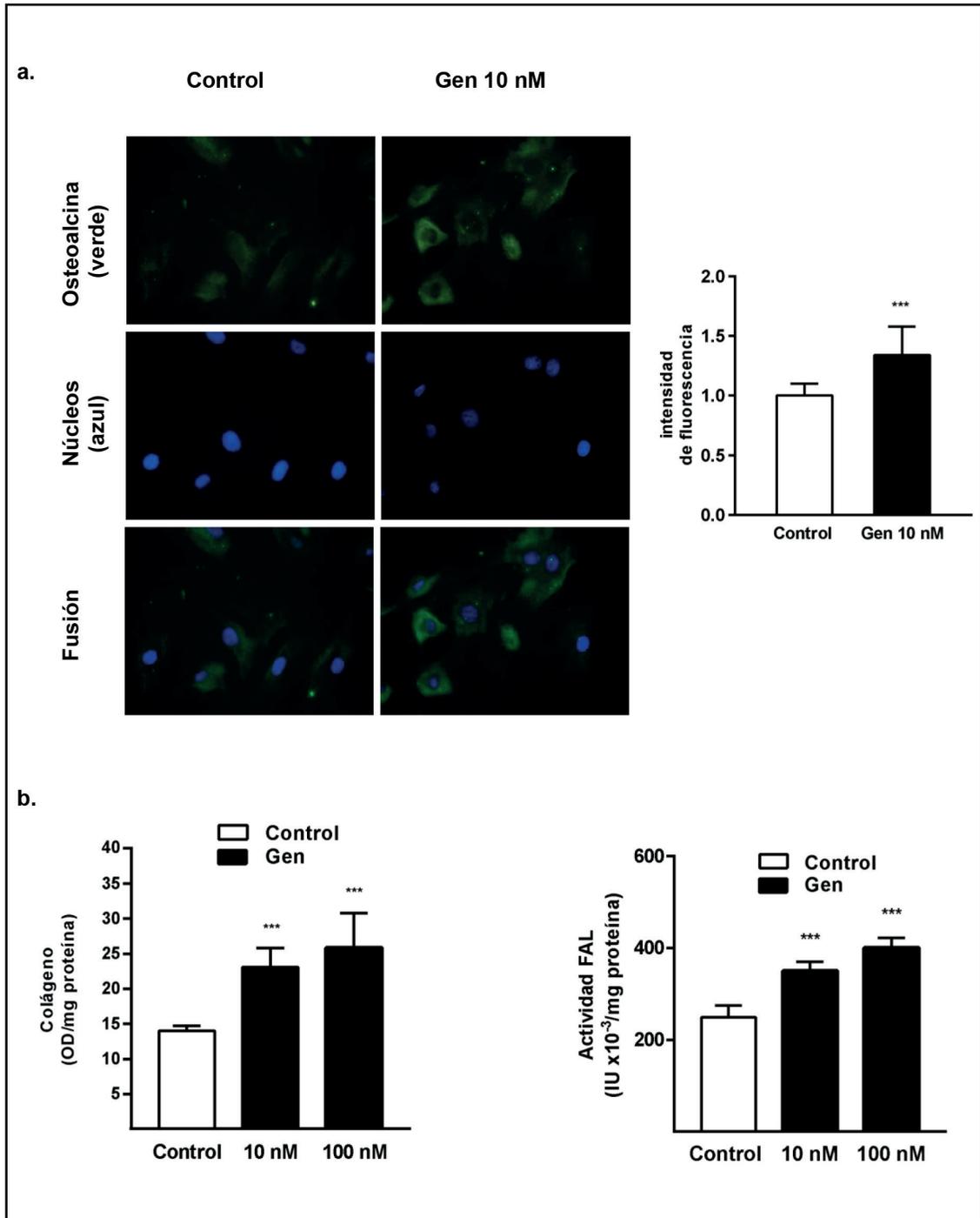
Respondiendo a la pregunta antes planteada, nuestra evidencia mostró que –a diferencia de lo reportado a nivel vascular– la Gen exhibe una acción proosteogénica favoreciendo la diferenciación y activación de células óseas. Para este propósito empleamos cultivos celulares primarios de preosteoblastos aislados de calvaria murina, tratados *in vitro* con isoflavona. El impacto positivo sobre la osteoblastogénesis se manifestó en los estadios tempranos de diferenciación por un aumento en la expresión de Runx2<sup>50</sup> seguido de aumentos en la actividad FAL ósea. En las fases tardías del proceso madurativo, la acción diferenciadora de la isoflavona se evidenció por la estimulación de la expresión de osteocalcina; el incremento en el depósito extracelular de colágeno y por la formación de nódulos de calcio en la matriz (Figura 4). El estudio del ciclo celular confirmó el potencial diferenciativo de la isoflavona al observarse un aumento de la cantidad de células en fase G0/G1 y una concomitante disminución de la población celular en S y G1/M (fase proliferante). Demostramos que el mecanismo molecular de acción Gen en los OB incluye estimulación de la expresión de RE $\alpha$  y la participación de las vías de señalización intracelular NOS, MAPK/PI3K.<sup>51</sup>



**Figura 3.** Acción de la genisteína sobre las células musculares lisas vasculares nativas y transdiferenciadas.

**a.** Microfotografías de campos representativos de cultivos celulares en las que se observa que el tratamiento con Gen reduce la proliferación de CMLV. Las CMLV se distinguen por su núcleo celular azul y citoplasma rojo (tinción fluorescente con DAPI y Texas Red-phalloidin, respectivamente).

**b.** Las imágenes muestran la formación de nódulos de calcio, visualizados en color naranja (tinción rojo de alizarina) en las células CMLV-OB. El tratamiento con Gen reduce la mineralización extracelular. A la derecha, gráfico de cuantificación de contenido mineral. (publicado en Cepeda y col. *J Nutr Biochem* 2017; 50:26-37).



**Figura 4.** La genisteína estimula la expresión de marcadores de formación ósea (osteocalcina, colágeno y actividad fosfatasa alcalina)

**a.** Las imágenes muestran el incremento en el contenido intracelular de osteocalcina en cultivos de OB inducido por el tratamiento con Gen. El contenido de osteocalcina se visualiza en color verde y el núcleo celular azul (tinción fluorescente Alexa Fluor 488 y DAPI, respectivamente). A la derecha, se muestra el gráfico de cuantificación.

**b.** Efecto de Gen sobre la síntesis de colágeno y la actividad FAL.  
(publicado en Cepeda y col. *J Physiol Biochem* 2020; 76:99-110)

Numerosos reportes de la literatura han contribuido al conocimiento del rol de los FE sobre la biología ósea. En cultivos primarios de calvaria de rata, el FE equol estimuló la expresión de osteocalcina y la actividad FAL.<sup>52</sup> Un estudio reciente de Wang y col. reveló un efecto cooperativo de hidrolizados de proteína de soja y Gen en la proliferación y supervivencia de OB fetales humanos.<sup>53</sup> El flavonoide icarina promueve la diferenciación osteogénica de células progenitoras osteoblásticas mediante la activación de la vía MAPK (proteínas kinasas activadas por mitógenos).<sup>54</sup> La isoflavona ipriflavona, a través de un mecanismo molecular que involucra GPR30/PI3K/Akt, induce osteoblastogénesis de las células del ligamento periodontal.<sup>55</sup>

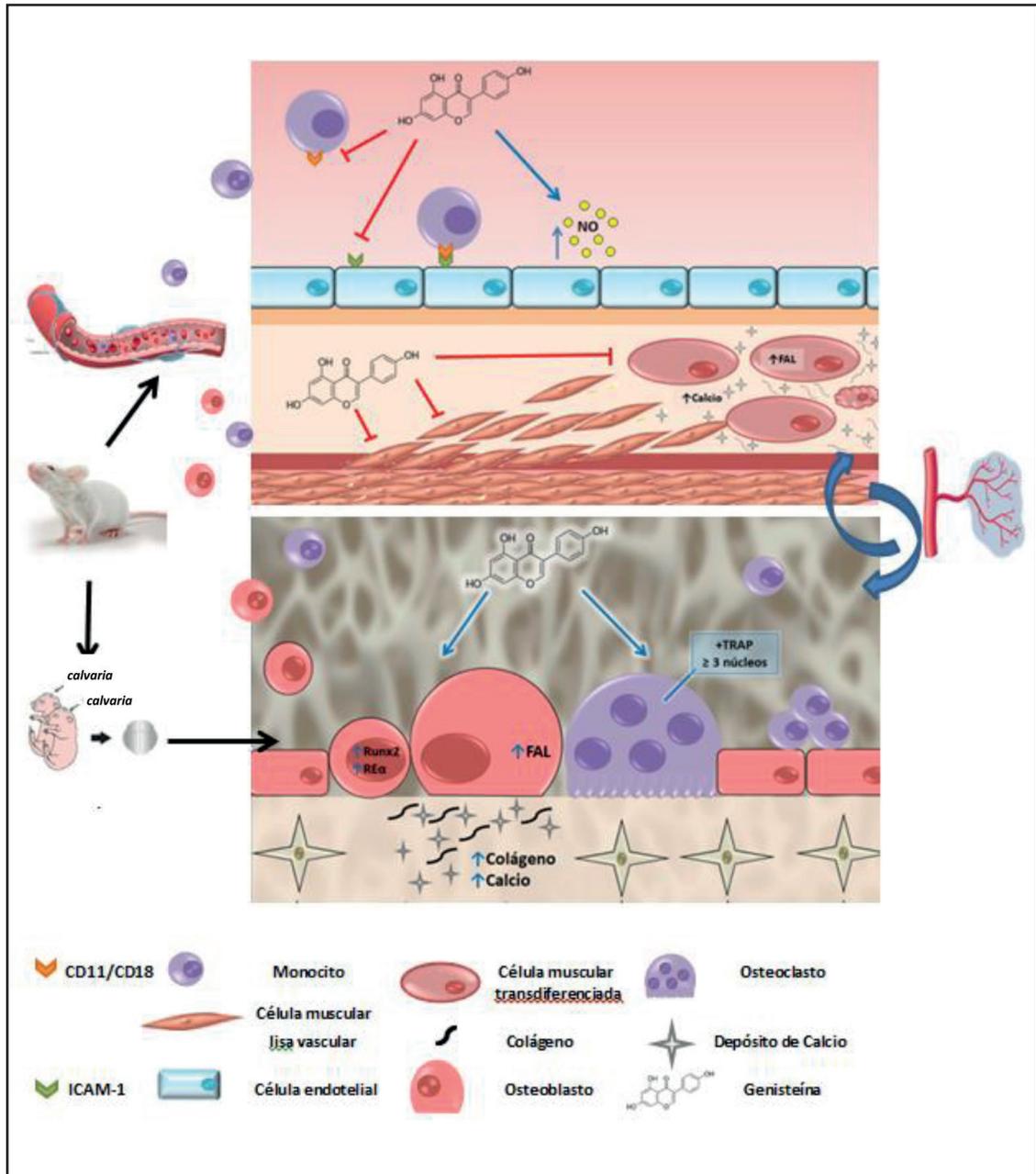
Un importante hallazgo de nuestros estudios lo constituyó la elucidación de una interacción del sistema óseo y el vascular.<sup>43</sup> Es sabido que existe una estrecha vinculación entre ambos sistemas, tanto en el desarrollo orgánico como en lo patológico. La fisiología vascular y la osteogénesis comparten una complejidad metabólica y funcional crítica, que ha sido poco explorada en forma conjunta. La homeostasis vascular y ósea es regulada por señales celulares, endocrinas y metabólicas que fluyen bidireccionalmente. El esqueleto constituye un órgano endocrino que provee hormonas y factores (FGF23 y proteína de matriz de dentina/DMP1) que impactan en la salud vascular. A su vez, un hueso nunca se formaría sin las interacciones vasculares. Esto ha impulsado la concepción del Eje Óseo-Vascular (EOV) como nueva área de investigación, con una visión de estudio integradora con la finalidad de identificar vínculos entre ambos sistemas.<sup>56</sup> Nuestra evidencia demostró que la proliferación y el crecimiento osteoblástico requieren la presencia concomitante de células endoteliales vasculares. La tasa de crecimiento de los OB aumenta si se los cultiva en un medio condicionado proveniente de CE. La Gen estimuló la proliferación de OB en forma

indirecta a través de su acción sobre el endotelio vascular, siendo el NO endotelial producido por el tratamiento con el FE el nexo entre ambos sistemas.<sup>43</sup> A su vez, la isoflavona promueve la angiogénesis y la formación de nuevos capilares sanguíneos por una interacción OB-CE.<sup>57</sup> En concordancia con nuestros hallazgos, las investigaciones de Saura y col. y de Kalyanaraman y col.<sup>59</sup> contribuyeron a determinar el rol clave del NO en el crecimiento de OB. Se reportó que ratones *knock-out* para la enzima NOS endotelial exhibieron una reducción sustancial de la masa ósea e inhibición de la función osteogénica.<sup>60</sup>

La Figura 5 resume esquemáticamente los aportes de nuestro laboratorio en el estudio de las acciones vasculares y óseas de la isoflavona Gen.

## Conclusiones

La información recopilada en el presente artículo de revisión, basada tanto en la experiencia propia como en lo reportado en la literatura, sugiere una acción beneficiosa de los FE, particularmente la genisteína, a nivel óseo y vascular. La isoflavona exhibe acciones selectivas y diferenciales sobre cada tipo celular, contribuyendo a la homeostasis vascular al atenuar la génesis y posterior calcificación de la lesión ateromatosa y, a su vez, promoviendo la osteogénesis. Si bien los avances en el conocimiento son significativos, aún existen interrogantes y aparentes contradicciones por resolver. Algunas investigaciones con una visión integradora de los procesos bioquímicos y celulares que median la interacción a nivel del eje óseo-vascular son necesarias. Es de esperar que los avances en el conocimiento derivado de la ciencia básica, en un futuro cercano, pueda contribuir a decisiones clínicas a favor de promover terapias naturales de potencial acción dual, para la prevención de enfermedades de alta prevalencia y significativo costo social y económico para la población.



**Figura 5.** Efectos de la genisteína sobre los sistemas vascular y óseo.

Panel superior: a nivel del endotelio vascular, Gen estimula la síntesis de NO, la proliferación, la migración e inhibe la apoptosis de CE inducida por especies reactivas del oxígeno. Bajo estrés inflamatorio, la isoflavona reduce la expresión de moléculas de adhesión en CE (VCAM1; ICAM1) y las integrinas monocíticas (CD11/CD18), inhibiendo la adhesión de monocitos a la superficie endotelial. Sobre las CMLV inhibe la expresión de marcadores de osteoblastogénesis reduciendo la transdiferenciación a linaje osteoblástico.

Panel inferior: a nivel óseo, Gen promueve la osteoblastogénesis aumentando la expresión de marcadores de formación ósea.

La interacción de ambos sistemas promueve la formación de nuevos capilares sanguíneos.

Publicado en: <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/4635>

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

Recibido: septiembre 2020  
Aceptado: octubre 2020

## Referencias

1. Nikolić IL, Savić-Gajić IM, Tačić AD, Savić IM. Classification and biological activity of phytoestrogens: A review. *Adv Technol* 2017; 6:96-106.
2. Si H, Liu D. Phytochemical genistein in the regulation of vascular function: new insights. *Curr Med Chem* 2007; 14:2581-9.
3. Fukutake M, Takahashi M, Ishida K, Kawamura H, Sugimura T, Wakabayashi K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol* 1996; 34:457-61.
4. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87:897-904.
5. Cassidi A, Brown JE, Hawdon A, et al. Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J Nutr* 2006; 136:45-51.
6. Gencil VB, Benjamin MM, Bahou SN, Khalil RA. Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease. *Mini Rev Med Chem* 2012; 12:149-74.
7. Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998; 139:4252-63.
8. Ajdžanović V, Medigović I, Živanović J, Mojić M Milošević V. Membrane Steroid Receptor-Mediated Action of Soy Isoflavones: Tip of the Iceberg. *J Membr Biol* 2014; 248:1-6.
9. Brzezinski A, Debi A. Phytoestrogens: the "natural" selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85:47-51.
10. Siow RCM, Mann GE. Dietary isoflavones and vascular protection: Activation of cellular antioxidant defenses by SERMs or hormesis? *Mol Aspects Med* 2010; 31:468-77.
11. Setchell KD. Soy isoflavones--benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulators (SERMs). *J Am Coll Nutr* 2001; 20:354S-362S.
12. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002; 60:205-11.
13. Leopold JA. MicroRNAs Regulate Vascular Medial Calcification. *Cells* 2014; 3:963-80.
14. Hunt JL, Fairman R, Mitchell ME, et al. Bone formation in carotid plaques: a clinicopathological study. *Stroke* 2002; 33:1214-9.
15. Edmonds ME, Morrison N, Laws JW, Watkins PJ. Medial arterial calcification and diabetic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284:928-30.
16. Coll B, Betriu A, Martinez-Alonso M, et al. Large Artery Calcification on Dialysis Patients Is Located in the Intima and Related to Atherosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:303-10.
17. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-26.
18. Rudijanto A. The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Med Indones* 2007; 39:86-93.
19. Manduteanu I, Simionescu M. Inflammation in atherosclerosis: a cause or a result of vascular disorders? *J Cell Mol Med* 2012; 16:1978-90.
20. Steinhubl SR, Moliterno DJ. The role of the platelet in the pathogenesis of atherothrombosis. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005; 5:399-408.
21. Fatkhullina AR, Peshkova IO, Koltsova EK. The Role of Cytokines in the Development of Atherosclerosis. *Biochemistry (Mosc)* 2016; 81:1358-70.



22. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Vascular smooth muscle cell in atherosclerosis. *Acta Physiol (Oxf)* 2015; 214:33-50.
23. Boström KI, Rajamannan NM, Towler DA. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circulation Res* 2011; 109:564-77.
24. Grafe I, Alexander S, Peterson JR, et al. TGF- $\beta$  Family Signaling in Mesenchymal Differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018; 10:a022202.
25. Liu F, Kohlmeier S, Wang CY. Wnt signaling and skeletal development. *Cell Signal* 2008; 20:999-1009.
26. Mill C, George SJ. Wnt signalling in smooth muscle cells and its role in cardiovascular disorders. *Cardiovasc Res* 2012; 95:233-40.
27. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study. *Calcif Tissue Int* 2001; 68:271-6.
28. Osako MK, Nakagami H, Koibuchi N, et al. Estrogen inhibits vascular calcification via vascular RANKL system: common mechanism of osteoporosis and vascular calcification. *Circ. Res* 2010; 107:466-75.
29. Manson JE, Allison MA, Rossouw JE, et al. WHI and WHI-CACS Investigators Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med* 2007; 356:2591-602.
30. Orshal JM, Khalil RA. Gender, sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286:R233-49.
31. Bagur A, Oliveri B, Mautalen C, et al. Low levels of endogenous estradiol protect bone mineral density in young postmenopausal women. *Climacteric* 2004; 7:181-8.
32. Simon JA, Hsia J, Cauley JA, et al. Postmenopausal hormone therapy and risk of stroke. The Heart and Estrogen-Progestin Replacement Study (HERS). *Circulation* 2001; 103:638-42.
33. Yamori Y, Miura A, Taira K. Implications from and for food cultures for cardiovascular diseases: Japanese food, particularly Okinawan diets. *Asia Pac J Clin Nutr* 2001; 10:144-5.
34. Albertazzi P. Purified phytoestrogens in postmenopausal bone health: is there a role for genistein? *Climacteric* 2002; 5:190-6.
35. Sakaki J, Melough M, Lee SG, Pounis G, Chun OK. Polyphenol-Rich Diets in Cardiovascular Disease Prevention. In: Pounis G (ed). *Analysis in Nutrition Research*. London: Elsevier, 2019. pp. 259-98.
36. Asmis R, Stevens J, Begley J, Grimes B, Van Zant G, Fanti P. The isoflavone genistein inhibits LPS-stimulated TNF $\alpha$ , but not IL-6 expression in monocytes from hemodialysis patients and healthy subjects. *Clin Nephrol* 2006; 65:267-75.
37. Lee CS, Kwon SJ, Na SY, Lim SP, Lee JH. Genistein supplementation inhibits atherosclerosis with stabilization of the lesions in hypercholesterolemic rabbits. *J Korean Med Sci* 2004; 19:656-61.
38. Wang J, Zhang R, Xu Y, Zhou H, Wang B, Li S. Genistein inhibits the development of atherosclerosis via inhibiting NF- $\kappa$ B and VCAM-1 expression in LDLR knockout mice. *Can J Physiol Pharmacol* 2008; 86:777-84.
39. Farruggio S, Raina G, Cocomazzi G, Librasi C, Mary D, Gentili S, et al. Genistein improves viability, proliferation and mitochondrial function of cardiomyoblasts cultured in physiologic and peroxidative conditions. *Int J Mol Med* 2019; 44:2298-310.
40. Simoncini T, Garibaldi S, Fu XD, et al. Effects of phytoestrogens derived from red clover on atherogenic adhesion molecules in human endothelial cells. *Menopause* 2008; 15:542-50.
41. Polini N, Rauschemberger MB, Mendiberri J, Selles J, Massheimer V. Effect of genistein and raloxifene on vascular dependent platelet aggregation. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 267:55-62.
42. Sandoval MJ, Cutini PH, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The soyabean isoflavone genistein modulates endothelial cell behaviour. *Br J Nutr* 2010; 104:171-79.
43. Cepeda SB, Sandoval MJ, Rauschemberger MB, Massheimer V L. Beneficial role of

- the phytoestrogen Genistein on vascular calcification. *J Nutr Biochem* 2017; 50:26-37.
44. Cutini PH, Rauschemberger MB, Sandoval MJ, Massheimer VL. Vascular action of bisphosphonates: In vitro effect of alendronate on the regulation of cellular events involved in vessel pathogenesis. *J Mol Cell Cardiol* 2016; 100:83-92.
45. Serrano Jr CV, Oranges M, Brunaldi V, et al. Skeletonized coronary arteries: pathophysiological and clinical aspects of vascular calcification. *Vasc Health Risk Manag* 2011; 7:143-51.
46. Sirotkin AV, Harrath AH. Phytoestrogens and their effects. *Eur J Pharmacol* 2014; 741:230-6.
47. Lagari VS, Levis S. Phytoestrogens and bone health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010; 17:546-53
48. Li B, Yu S. Genistein prevents bone resorption diseases by inhibiting bone resorption and stimulating bone formation. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:780-6.
49. Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2002; 17:1904-12.
50. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. *Adv Exp Med Biol* 2010; 658:43-9.
51. Cepeda SB, Sandoval MJ, Crescitelli MC, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The isoflavone genistein enhances osteoblastogenesis: signalling pathways involved. *J Physiol Biochem* 2020; 76:99-110.
52. Wang J, Xu J, Wang B, Shu FR, Chen K, Mi MT. Equol promotes rat osteoblast proliferation and differentiation through activating estrogen receptor. *Genet Mol Res* 2014; 13:5055-63.
53. Wang S, Fu Y, Zhao XH. The Cooperative Effect of Genistein and Protein Hydrolysates on the Proliferation and Survival of Osteoblastic Cells (hFOB 1.19). *Molecules* 2016; 21:1489.
54. Wu Y, Xia L, Zhou Y, Xu Y, Jiang X. Icarin induces osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells in a MAPK-dependent manner. *Cell Prolif* 2015; 48:375-84.
55. Han Y, Wang X, Ma D, Wu X, Yang P, Zhang J. Ipriflavone promotes proliferation and osteogenic differentiation of periodontal ligament cells by activating GPR30/PI3K/AKT signaling pathway. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12:137.
56. Thompson B, Towler DA. Arterial calcification and bone physiology: role of the bone-vascular axis. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:529-43.
57. Tesis Doctoral Sabrina B. Cepeda. Rol del Fitoestrógeno Genisteína en los sistemas vascular y óseo. <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/12346789/4635>
58. Saura M, Tarin C, Zaragoza C. Recent insights into the implication of nitric oxide in osteoblast differentiation and proliferation during bone development. *Scientific World Journal* 2010; 10:624-32.
59. Kalyanaraman H, Schall N, Pilz RB. Nitric oxide and cyclic GMP functions in bone. *Nitric Oxide* 2018; 76: 62-70.
60. Papachristou DJ, Papachroni KK, Basdra EK, Papavassiliou AG. Signaling networks and transcription factors regulating mechanotransduction in bone. *Bioessays* 2009; 31:794-804.



## INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

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

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

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

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

Las secciones de la revista son: **Artículos Originales, Actualizaciones, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Editoriales, Cartas al Editor.**

Los **Artículos Originales** deben ser divididos en Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los títulos deben estar escritos en letra negra. La extensión máxima del texto recomendado es de 5.000 palabras y hasta 5 figuras y 5 tablas. Se sugiere no incluir más de 50 referencias. Las **Actualizaciones** tienen una extensión máxima recomendada de 6.000 palabras y hasta 5 figuras y 5 tablas. Se sugiere no incluir más de 60 referencias. Para las **Comunicaciones Breves** y **Casuísticas** se sugiere un máximo de 3.000 palabras de extensión y hasta 4 figuras y 4 tablas. Se sugiere no incluir más de 30 referencias. La **Casuística** deben contener las siguientes secciones: Introducción, Caso Clínico y Discusión.

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

## AUTHOR GUIDELINES

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

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

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

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

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

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

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

En los **Artículos Originales** y **Casuísticas** detallar la solicitud de consentimiento informado. Además se solicita se indiquen las normas y directrices éticas y los métodos estadísticos utilizados (Originales).

Para las **Cartas al editor** y **Editoriales** se sugiere un máximo de 1.000 palabras y se admitirán para las Cartas al Editor hasta 2 figuras o tablas. Se sugiere no incluir más de 10 referencias. **Agradecimientos:** la ayuda técnica, el apoyo financiero y las contribuciones que no justifican la autoría se pueden enumerar en este ítem. **Conflicto de intereses:** los autores deben revelar cualquier relación financiera que podría conducir a un conflicto de intereses en relación con el artículo publicado.

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

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

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

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

therefore, are not able to include the abstract and keywords in this language, can submit the manuscript without them.

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

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

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

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

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

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

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



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

## POLÍTICAS EDITORIALES

**Actualizaciones en Osteología** es una revista de Acceso Abierto.

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

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

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

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

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

## EDITORIAL POLICIES

**Actualizaciones en Osteología** is an Open Access Journal.

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

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

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

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



**A.A.O.M.M.**

(Asociación Argentina de Osteología  
y Metabolismo Mineral)