



## Inhibición del RANK-L en la fisiopatología de la osteoporosis. Evidencias clínicas de su empleo

José Luis Neyro,<sup>1,2</sup> María Jesús Cancelo,<sup>3</sup> Santiago Palacios<sup>4</sup>

### RESUMEN

El incremento del remodelado óseo, luego del déficit estrogénico, es uno de los mecanismos fundamentales de la osteoporosis postmenopáusica. Desde el punto de vista molecular es el incremento del RANK-L, el principal mediador que permite la formación, supervivencia y desarrollo de los osteoclastos. Para evaluar los efectos de la inhibición del RANK-L se han utilizado múltiples modelos, entre ellos la sobreexpresión de osteoprotegerina en ratones y ratas transgénicas y mediante otros modelos, que incluyen el tratamiento con osteoprotegerina recombinante. Los resultados de estos estudios muestran que la inhibición del RANK-L incrementa la densidad mineral ósea y mejora la geometría y resistencia del hueso. En diversos ensayos clínicos se ha investigado el potencial de denosumab como fármaco antiresortivo para tratar y prevenir las osteopatías. El denosumab es un anticuerpo monoclonal, totalmente humano, del que hace poco se publicaron los resultados de ensayos clínicos aleatorizados a ocho años en donde se demuestra el incremento de la densidad mineral ósea en diferentes localizaciones y a cinco años para prevenir fracturas vertebrales y de cadera. Se revisan los datos fundamentales del mecanismo de inhibición del RANK-L y los resultados de los diversos ensayos clínicos con denosumab.

**Palabras clave:** osteoporosis postmenopáusica, RANK-L, inhibición de RANK-L, denosumab.

### ABSTRACT

The increase bone turnover is the most important fact at the physiopathology of postmenopausal osteoporosis. At the molecular level it is the increase of the RANK-L the principal mediator who allows the osteoclasts formation, survival and development of them. Multiple models have been in use in preclinical investigations for evaluating the effects of the inhibition of the RANKL, between which it is included on OPG's over-expression in mice and transgenic mouse and by means of other models that include the treatment with recombinant OPG. The results of these studies show that RANKL's inhibition improves the DMO as well as the geometry and resistance of the bone. Several references clinical trials have investigated the potential of denosumab as antiresorptive drug for the prevention and treatment of bone disease. It is a monoclonal antibody, the first fully human, which were recently published results of randomized clinical trials to eight years for increasing BMD in different locations and five years for the prevention of vertebral and hip fractures. We review the fundamentals of the mechanism of inhibition of RANK-L and the results of several clinical trials of Denosumab

**Key words:** Postmenopausal Osteoporosis, RANK-L, RANK-L inhibition, Denosumab.

### RÉSUMÉ

L'augmentation du remodelage osseux, puis du déficit oestrogènes, est l'un des mécanismes fondamentaux de l'ostéoporose post-ménopausique. Depuis le point de vue moléculaire est l'augmentation du Rank-L, le médiateur principal qui permet la formation, de survie et développement des ostéoclastes. Pour évaluer les effets de l'inhibition de RANKL plusieurs modèles ont été utilisés, y compris la surexpression ostéoprotégérine chez des souris transgéniques et des rats par d'autres modèles, qui comprennent le traitement par l'ostéoprotégérine recombinant. Les résultats de ces études montrent que l'inhibition de la densité de RANK-L augmente minérale osseuse et de la géométrie et améliore la solidité des os. Dans plusieurs essais cliniques ont étudié le potentiel de denosumab en tant que médicament inhibiteur de la résorption pour traiter et prévenir les maladies osseuses. Le denosumab est un anticorps monoclonal entièrement humain, qui a récemment publié les résultats d'essais randomisés à huit années au cours desquelles la preuve de l'augmentation de la densité minérale osseuse à différents endroits et cinq ans pour prévenir les fractures vertébrales et de la hanche. Nous passons en revue les éléments fondamentaux du mécanisme d'inhibition de RANK-L et les résultats de divers essais cliniques observés avec dénosumab.

**Mots-clés:** ostéoporose post-ménopausique, RANK-L, inhibiteur RANKL, le denosumab.

### RESUMO

Remodelação óssea aumentada após a deficiência de estrogênio, é um dos mecanismos fundamentais da osteoporose pós-menopásica. De um ponto de vista molecular é aumentado RANK-L, o que permite a formação de mediador principal e sobrevivência do desenvolvimento dos osteoclastos. Para avaliar os efeitos da inibição do RANK-L vários modelos foram utilizados, incluindo a superexpressão osteoprotegerina em ratos transgênicos e os ratos por outros modelos, que incluem o tratamento com osteoprotegerina recombinante. Os resultados destes estudos mostram que a inibição do sistema RANK-L aumenta a densidade mineral óssea e geometria e melhora a resistência do osso. Em vários estudos clínicos investigaram o potencial de denosumab como droga anti-reabsorção para o tratamento e prevenção de doenças dos ossos. Denosumab é um anticorpo monoclonal totalmente humano, que recentemente publicou os

resultados de ensaios clínicos randomizados a oito anos em que a evidência do aumento na densidade mineral óssea em locais diferentes e de cinco anos para prevenir fraturas vertebrais e de quadril. Vamos rever os fundamentos do mecanismo de

inibição de RANK-L e os resultados de vários ensaios clínicos com denosumab.

**Palavras-chave:** osteoporose pós-menopausa, RANK-L, inibindo RANKL, denosumab.

**E**l hueso es un tejido dinámico en continuo proceso de renovación. Debido a que el estrés diario sobre el esqueleto produce daños y microfracturas, es decisivo que exista un proceso fisiológico que repare el hueso dañado y reemplace el hueso antiguo con uno nuevo. En los últimos diez años, algunos notables progresos en biología molecular y genética han conducido al mejor entendimiento de los complejos procesos que regulan el metabolismo óseo y de las señales e interacciones que se establecen para ello; esto ha permitido abrir un interesante camino en la investigación de nuevos tratamientos contra la osteoporosis.<sup>1</sup>

El sistema RANK/RANK-L/OPG (receptor activador del factor nuclear kappa  $\beta$  y su ligando del RANK/osteoprotegerina) se identificó hace poco más de diez años. Su importancia en la fisiología ósea es de tal magnitud,<sup>1,2</sup> que ha permitido el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para la osteoporosis y otras enfermedades relacionadas con alteraciones en el metabolismo óseo.<sup>2,3</sup>

Denosumab es un anticuerpo monoclonal, el primero totalmente humano, que actúa como un potente y totalmente específico inhibidor del ligando del RANK (RANK-L).<sup>2-5</sup> Esta unión evita la interacción del RANK-L-RANK<sup>6</sup> al inhibir la formación, la función y la supervivencia de

los osteoclastos, lo que a su vez disminuye la resorción ósea en el hueso trabecular y cortical.<sup>1-4</sup> Denosumab fue aprobado en los dos últimos años, primero por la FDA y luego por la Unión Europea para tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con riesgo elevado de fracturas y, también (aunque se sale del ámbito de la actuación ginecológica), para el tratamiento de la pérdida ósea asociada con la supresión hormonal en hombres con cáncer de próstata y riesgo elevado de fracturas.<sup>2,3</sup>

El objetivo de este escrito es revisar los pormenores más importantes de la participación del sistema RANK/RANK-L/OPG en la fisiopatología de la osteoporosis postmenopáusica, conocer cómo se secreta y su inhibición farmacológica. Además, conocer los mecanismos de acción del denosumab y revisar las evidencias clínicas que avalan su indicación en el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica, a la luz de los resultados de los ensayos clínicos con asignación al azar publicados hasta ahora.

#### Recuerdo fisiopatológico de la osteoporosis posmenopáusica

A pesar de su apariencia, el hueso es un tejido de extraordinaria actividad y dinamismo. De manera continua tiene procesos de reparación que ocurren en las unidades de remodelación ósea de la superficie del hueso cortical y trabecular.<sup>7</sup> El remodelado sigue una secuencia de tiempo que dura, aproximadamente, seis meses. De manera esquemática, se diferencian cuatro etapas:<sup>3,7</sup>

1. Activación de los precursores de osteoclastos que maduran hacia osteoclastos multinucleados, dirigidos por diversas citocinas locales proinflamatorias y hormonas, y determinados factores mecánicos.<sup>1,3</sup>
2. Resorción de hueso por los osteoclastos, lo que causa una cavidad por resorción. Este proceso dura, aproximadamente, tres semanas.
3. Inversión de la señal de resorción, mediante órdenes locales sólo conocidas en parte.<sup>5</sup>
4. Formación de hueso nuevo que llena la cavidad por resorción. Esta fase dura varios meses.

<sup>1</sup> Servicio de Ginecología y Obstetricia. Facultad de Medicina y Odontología. Grupo de trabajo de Osteoporosis de la Asociación Española para el Estudio de la Menopausia. Universidad del País Vasco. EHU-UPV.

<sup>2</sup> Hospital Universitario Cruces. Baracaldo, España.

<sup>3</sup> Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Universitario de Guadalajara, Universidad de Alcalá de Henares, España.

<sup>4</sup> Instituto Palacios, Salud de la mujer. Madrid, España.

Correspondencia: Dr. José Luis Neyro. Gran Vía 81-4º. Bilbao 48011, España. Correo electrónico: jlneyro@sego.es  
Recibido: julio 2012. Aceptado: febrero 2013.

Este artículo debe citarse como: Neyro JL, Cancelo MJ, Palacios S. Inhibición del RANK-L en la fisiopatología de la osteoporosis. Evidencias clínicas de su empleo. Ginecol Obstet Mex 2013;81:146-157.

Los osteoclastos derivan de precursores mononucleares de la línea monocito-macrocítica. Para su diferenciación en osteoclastos maduros es preciso la expresión del factor macrofágico estimulante de colonias por los osteoblastos del estroma en una acción sinérgica. Además, para completar el proceso de diferenciación se requiere la expresión del RANK-L por los osteoblastos y del RANK por los precursores de los osteoclastos. Los osteocitos regulan el reclutamiento y la función de los osteoclastos al inducir la expresión del RANKL por las células osteoblásticas. Recientemente se determinó, a pesar de lo anterior, que los osteocitos expresan mayor cantidad de RANK-L y que son capaces de estimular, *in vitro*, la osteoclastogénesis en mayor medida que los osteoblastos y que las células estromales de la médula ósea.<sup>5</sup> Los osteoclastos, a su vez, son capaces de regular positiva o negativamente, las funciones de los osteoblastos.<sup>6,7</sup>

Las hormonas, las citocinas y los factores de crecimiento actúan en los receptores de osteoblastos y otras células para inducir la producción del RANK-L. Algunos de estos factores también suprimen la producción de la osteoprotegerina por los osteoblastos, aumentando el cociente RANK-L/OPG. En esta situación, el RANK-L libre actúa en los precursores de los osteoclastos (CFU-M), en donde aumenta su fusión y maduración, y también sobre los osteoclastos maduros, donde incrementa su actividad y los protege de la apoptosis.

Además de la hormona paratiroides, otros agentes pro-resortivos regulan la expresión del RANK-L o la osteoprotegerina, como: las interleucinas IL-1, IL-7 e IL-17; el TNF $\alpha$ , los glucocorticoides y la vitamina D. Además, muchas moléculas que inhiben la resorción ósea, como los estrógenos, el IFN $\alpha$ , el TGF $\beta$  y las interleucinas IL-4 e IL-13, también han demostrado regular el equilibrio RANKL/OPG.<sup>3,8</sup>

En última instancia, la liberación de enzimas lisosomales por el osteoclasto maduro y activo produce, en la zona de contacto con el hueso, reacciones de degradación de la matriz que disuelven las sales minerales del hueso. Hace poco se conoció cómo la catepsina K, proteasa de cisteína que se expresa selectivamente en los osteoclastos y que conduce a la degradación de las proteínas de la matriz ósea, tiene un papel relevante en este proceso.<sup>1,7,8</sup> La deficiencia de catepsina K en el humano disminuye la resorción y osteopetrosis. La resorción osteoclástica depende de factores reguladores externos, como la hormona paratiroides, la

1,25-dihidroxivitamina D3 y la calcitonina. Otros factores que afectan la funcionalidad de los osteoclastos son los glucocorticoides y las prostaglandinas.<sup>3</sup>

Condiciones fisiológicas como la menopausia o patológicas como las metástasis óseas o la artritis reumatoide, conducen a que la cantidad de hueso eliminado por los osteoclastos supera al remplazado durante el proceso de formación ósea por los osteoblastos. Esta situación conduce a la pérdida neta de masa ósea e incremento de la fragilidad y, por tanto, de riesgo de fractura. La acción de los osteoclastos puede regularse de tres maneras:

1. Diferenciación de las células precursoras a osteoblastos; para esto resultan imprescindibles dos citocinas: el factor estimulante de las colonias macrofágicas y el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa  $\beta$  (RANK-L). Su presencia estimula la transformación de células precursoras a osteoclastos.<sup>5</sup>
2. La actividad de los osteoclastos puede traducirse en: capacidad de migración a través de la superficie ósea, síntesis y secreción de enzimas hidrolíticas, como la catepsina K, acidificación del espacio entre la célula y el lugar de resorción y la capacidad de internalizar los productos de degradación.<sup>6,9</sup> Cuando genéticamente se altera alguna de estas acciones sobrevienen los defectos en la resorción, que son los que llevan a un estado de osteopetrosis. *In vitro*, RANK-L activa de manera dosis-dependiente la actividad de los osteoclastos.<sup>7,8</sup>
3. Supervivencia del osteoclasto maduro. En ausencia de factor estimulante de las colonias macrofágicas y de RANK-L la cantidad de osteoclastos maduros desciende significativamente, pero su sobre-expresión permite que supervivan largo tiempo, lo que a su vez hace que se incremente la resorción.

A menor cantidad de osteoclastos, menor diferenciación. La supervivencia de los osteoclastos maduros o su actividad resortiva son las posibles vías de actuación para tratar las enfermedades hiperresortivas del esqueleto.

#### **Sistema RANK/RANK-L/ osteoprotegerina en la fisiopatología de la osteoporosis posmenopáusica**

Los efectores finales de todo el proceso de remodelado se conocieron apenas a finales del decenio de 1990: el ligando

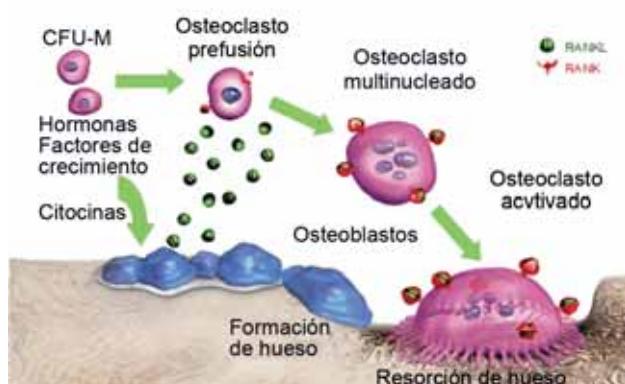
del receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$  (RANK-L), su receptor natural (RANK) y la osteoprotegerina, todos ellos pertenecientes a la familia de los factores de necrosis tumoral (TNF). El RANK-L es una proteína expresada por los osteoblastos y sus precursores bajo el control de hormonas, citocinas y factores de crecimiento pro-resortivo. La unión del RANKL a su receptor natural en la superficie celular de los osteoclastos y sus precursores (el RANK) estimula la fusión de los pre-osteoclastos, promueve la adhesión de los osteoclastos al hueso, activa su función y aumenta su supervivencia al evitar la apoptosis. (Figura 1)<sup>3,6,10</sup> La osteoprotegerina es, a su vez, una proteína sintetizada por los osteoblastos y las células estromales, que actúa como un receptor señuelo que impide la unión de RANKL con su receptor natural RANK. De este modo, la osteoprotegerina impide que cada una de las acciones del RANK-L disminuya el número de osteoclastos y aumenta su apoptosis.<sup>3,7,11</sup> (Figura 2)

Con base en el conocimiento de los efectos antagónicos de las proteínas RANK-L y la osteoprotegerina, es fácil entender que la remodelación ósea depende, en última instancia, del equilibrio entre ambas que, a su vez, están influidas por los múltiples factores. La “teoría de la convergencia” considera que el sistema RANK-L/RANK/osteoprotegerina es el efector final de la mayor parte de los

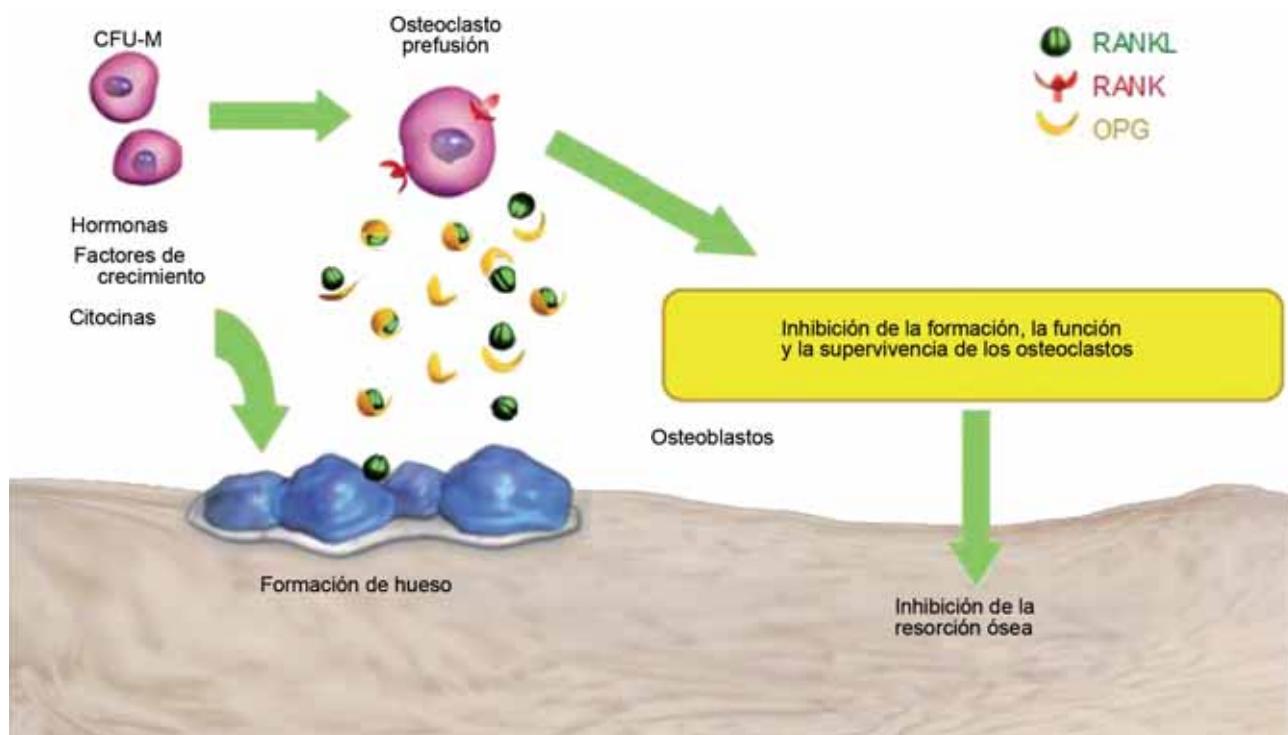
factores reguladores del remodelado óseo. (Figura 3)<sup>1,3,12</sup>

El principal papel fisiológico del sistema RANK-L/RANK/osteoprotegerina es la regulación del remodelado óseo, que interviene en una amplia variedad de enfermedades óseas en donde sucede un desequilibrio entre la formación y la resorción.<sup>3,11,12</sup> En modelos animales se han comprobado otras funciones exo-esqueléticas relacionadas con las calcificaciones vasculares, el sistema inmunitario y el desarrollo de la glándula mamaria, abriendose interesantes puertas a futuras terapias para neoplasias en estas localizaciones.<sup>13-16</sup> En enfermedades caracterizadas por alteraciones locales del remodelado óseo, como la enfermedad ósea de Paget, se han identificado mutaciones de los genes del RANK-L y de la osteoprotegerina (y de sus transductores intracelulares). En las articulaciones inflamadas de modelos animales de artritis reumatoide se ha observado una temprana activación del RANK-L y supresión de la osteoprotegerina. En metástasis óseas también se ha visto cómo las células cancerosas son capaces de aumentar el cociente RANK-L/osteoprotegerina, lo que estimula la resorción ósea y permite a las células cancerosas disponer de espacio para crecer dentro del hueso. Lo mismo ocurre en el mieloma múltiple, cuyas células son incluso más destructivas para el hueso.<sup>6,11, 14</sup> Así, pues, las implicaciones del conocimiento del complejo sistema RANK/RANK-L osteoprotegerina podrían explicar el equilibrio óseo negativo que originan muchas enfermedades en las que el sistema inmunitario tiene un papel relevante, como: leucemia, metástasis óseas, o determinadas infecciones virales.

Los estrógenos reducen la expresión de RANK-L, aumentan la secreción de osteoprotegerina y tienen otros efectos indirectos, como la supresión de la interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-7 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y aumentan la producción de IGF-1 y TGF- $\beta$  por parte de los osteoblastos, lo que en gran medida controla la osteoclastogénesis.<sup>3,11,12</sup> Si la menopausia implica pérdida estrogénica, significa que la capacidad reguladora se reduce considerablemente y el aumento de la actividad RANK-L/RANK pareciera ser el responsable de la pérdida ósea que se experimenta durante la postmenopausia.<sup>3,12</sup> Las concentraciones elevadas de hormona paratiroidea (PTH) aumentan el RANK-L y disminuyen la expresión de la osteoprotegerina por los osteoblastos, lo que origina un efecto catabólico en el hueso. Sin embargo, las concentraciones intermitentes de PTH no parecen alterar la



**Figura 1.** Regulación de la osteoclastogénesis por el sistema RANKL/RANK: el ligando del RANK se une a su receptor RANK que provoca la maduración de los osteoclastos pre-fusiónados hacia osteoclastos multinucleados y, finalmente, hacia osteoclastos activados. Es el mediador esencial de la formación, la función y la supervivencia de los osteoclastos (en hueso trabecular y cortical) (modif. de la referencia 8: Boyle WJ et al. *Nature* 2003;423:337-42.) CFU-M: unidades formadoras de colonias de monocitos, precursores de los osteoclastos.



**Figura 2.** Regulación de la osteoclastogénesis por el sistema RANKL/RANK/OPG: el receptor señuelo OPG, que es una proteína, evita la unión del RANKL al RANK e inhibe la formación, función y supervivencia del osteoclasto (modificado de la referencia 8: Boyle WJ et al. *Nature* 2003;423:337-342).

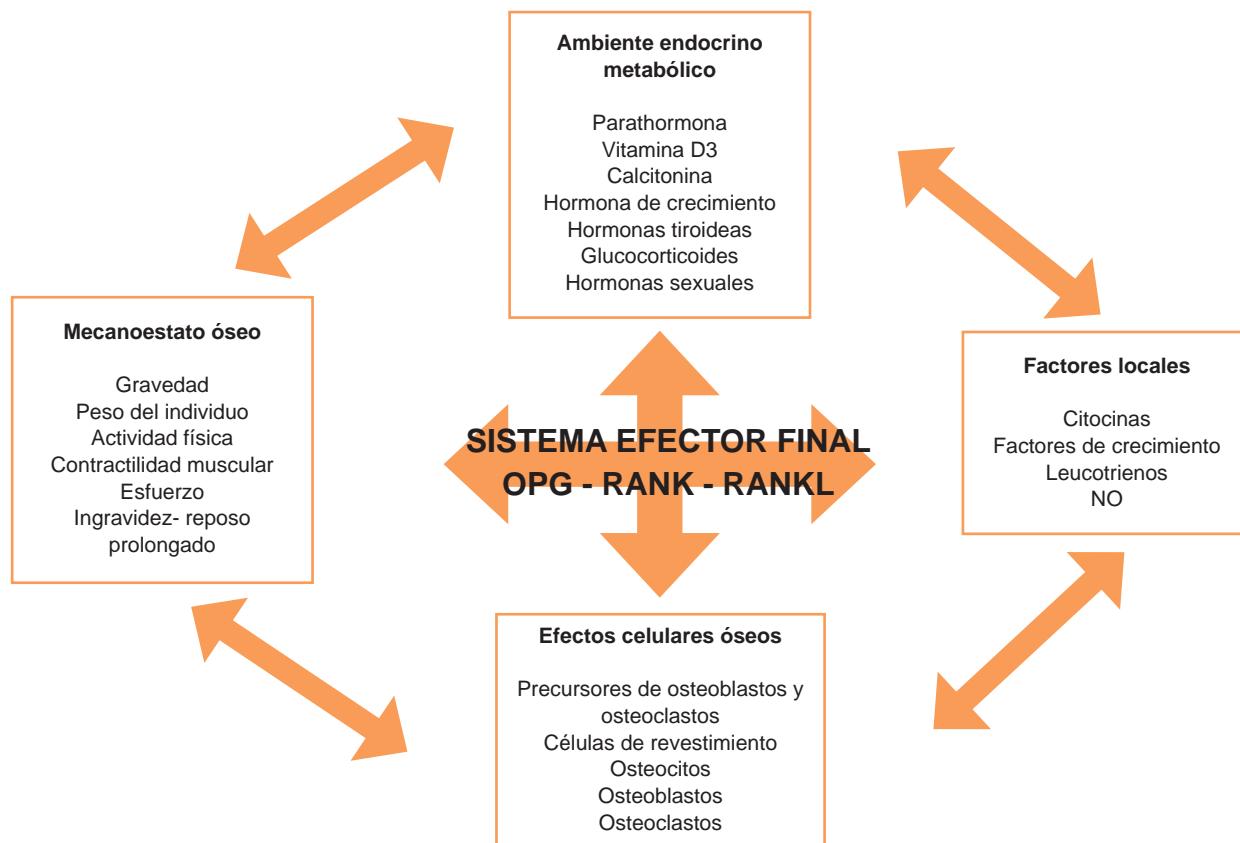
CFU-M: unidades formadoras de colonias de monocitos, precursores de los osteoclastos.

relación osteoprotegerina-RANK-L, lo que podría explicar la disparidad de efectos de ésta (anabolismo o catabolismo) en el hueso, en función de su pauta de administración.<sup>17-19</sup>

El inhibidor natural del sistema RANK es la osteoprotegerina, miembro de la superfamilia de los receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR) que, a diferencia de todos sus parientes, no permanece luego de su síntesis como una proteína trans-membrana con el cometido de elaborar señales de transducción entre distintas células, sino que es secretada y no permanece anclada en la membrana.<sup>3,9</sup> La osteoprotegerina la producen los osteoblastos y células estromales, funciona como antagonista del efecto del RANK-L mediante su unión a esta molécula, impidiendo así el acoplamiento al receptor del RANK-L de los osteoclastos, modulando así su diferenciación, actividad y supervivencia.<sup>10,11</sup>(Figura 2)

Cada vez se conocen mejor los mecanismos de regulación del remodelado óseo; siguen abiertas las apasionantes líneas de investigación de las vías de señalización derivadas de la familia de proteínas Wnt, integrada por una serie

de moléculas de señalización celular.<sup>9</sup> Un punto clave de la vía de señalización de los Wnt es la regulación de la estabilidad de la proteína citoplasmática β-catenina, que actúa como un co-activador transcripcional de la vía. En ausencia de la señal Wnt, un complejo citoplasmático formado por distintas proteínas de anclaje y diversas cinasas, como Gsk3β o Ckla, promueve la fosforilación de β-catenina que, de esta manera, queda marcada para su degradación. Las proteínas de la vía de señalización Wnt participan en diversos tejidos: piel, graso o hematopoyético.<sup>6,9</sup> La esclerostina, proteína secretada por los osteocitos, actúa como regulador negativo de la diferenciación y función de los osteoblastos e inhibidor de la formación ósea. En los humanos, la falta de esclerostina incrementa la formación ósea y la osteopetrosis. Explorar, en el futuro próximo, el potencial terapéutico de la esclerostina es la diana terapéutica de los tratamientos anabólicos. El desarrollo de anticuerpos bloqueadores de esclerostina parece una atractiva posibilidad terapéutica en contra de la pérdida ósea.<sup>20</sup>



**Figura 3.** Teoría de la convergencia: confluencia de los factores moduladores del remodelado óseo en el sistema efector final del RANK/RANK L/OPG (adaptado de la referencia 12: Fiter J, Nolla JM. Fisiopatología: remodelado óseo en el anciano. En: Osteoporosis. Guía de buena práctica clínica en geriatría. Osteoporosis, 2004. Sociedad Española de Geriatría y Gerontología. Ed: Mesa MP, Guañabens N. 21-34. Disponible en: Fiter J, Nolla JM. Fisiopatología: remodelado óseo en el anciano. En: Osteoporosis. Guía de buena práctica clínica en geriatría. Osteoporosis. 2004. Sociedad Española de Geriatría y gerontología. Ed: Mesa MP, Guañabens N. 21-34. Disponible en: <http://www.scribd.com/doc/6696048/Gui-a-Osteoporosis.>).

### Denosumab en el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica

Se trata de un anticuerpo monoclonal totalmente humano, dirigido al RANK-L, que imita los efectos de la osteoprotegerina, un inhibidor endógeno fisiológico del RANK-L que bloquea de forma natural la resorción ósea, pero con una semivida plasmática mucho más duradera.<sup>6,7,11</sup> En la actualidad están en marcha, o terminados, 46 estudios aleatorios y controlados en los que denosumab se compara con placebo o con diversos fármacos con indicación a pacientes con enfermedades del metabolismo óseo, como: alendronato (ALN), teriparatida y ácido zoledrónico. Estos estudios comparan su eficacia y seguridad en el control y tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica y prevención de la pérdida de masa ósea asociada con

las metástasis del cáncer de próstata, mieloma múltiple, tumores sólidos, tumores de células gigantes, artritis reumatoide o la relacionada con el tratamiento con inhibidores de aromatasa en pacientes con cáncer de mama, etc.<sup>21</sup> Todo ello condiciona que en la actualidad se disponga de más de veinte mil pacientes participantes y estudiados en ensayos controlados y aleatorios fase III.

La eficacia y seguridad de denosumab se evaluaron, inicialmente, en un estudio de fase II, con asignación al azar y doble ciego, de búsqueda de dosis, en el que 412 mujeres postmenopáusicas lo recibieron durante 12 meses por vía subcutánea cada tres meses (a dosis de 6, 14 o 30 mg) o cada seis meses (a dosis de 14, 60, 100 y 210 mg), tratamiento no enmascarado con alendronato semanal (a dosis de 70 mg) o placebo.<sup>22</sup> El tratamiento con denosumab

se asoció con rápido aumento de la densidad mineral ósea en la columna, cadera y tercio distal del radio que fue superior al observado con placebo y similar o, incluso, superior (en la cadera y extremo distal del radio) al encontrado con 70 mg de alendronato sódico semanal.<sup>22</sup> A partir de este estudio las dosis óptimas consideradas son las de 30 mg cada tres meses y 60 mg cada seis meses.<sup>22</sup>

La eficacia de denosumab se confirmó posteriormente en cuatro estudios fase III efectuados en mujeres con osteopenia u osteoporosis posmenopáusica. En un estudio controlado con asignación al azar, estratificado en función de los años de posmenopausia (más de cinco años o cinco años o menos), doble-ciego, de dos años de duración, realizado en 332 mujeres postmenopáusicas con baja densidad mineral ósea (T en columna lumbar entre -1.0 y -2.5), se comparó la eficacia de denosumab 60 mg por vía subcutánea cada seis meses con la de placebo.<sup>23</sup> Denosumab aumentó significativamente la densidad mineral ósea en la columna lumbar a los dos años, en comparación con placebo (6.5 vs -0.6%, p < 0.0001), y lo hizo de forma independiente de los años transcurridos desde la menopausia.

En otro estudio controlado y con asignación al azar, doble-ciego, con doble simulación efectuado en 1,189 mujeres postmenopáusicas con una puntuación T de -2.0 o inferior en la columna lumbar o cadera total, se comparó la eficacia de denosumab a la misma dosis, con la de alendronato sódico a dosis de 70 mg semanales.<sup>24</sup> En ese estudio, luego de un año de tratamiento, denosumab se mostró superior a alendronato sódico en el aumento de la densidad mineral ósea en la cadera total (3.5 vs 2.6%, p < 0.0001) y en el resto de localizaciones óseas; ambos fármacos mostraron un perfil similar de seguridad. Esta aparente superioridad de denosumab sobre alendronato sódico en el incremento de la densidad mineral ósea quedó demostrada en otro estudio controlado y con asignación al azar, doble-ciego, con doble simulación, en el que 504 mujeres postmenopáusicas, con una T en la columna lumbar o la cadera de entre -2.0 y -4.0, que habían recibido de forma no enmascarada 70 mg de alendronato sódico semanal por vía oral durante 320 días, se asignaron al azar a continuar tratamiento con alendronato sódico a la dosis de 70 mg semanales o cambiar a denosumab a la dosis estándar durante un año.<sup>25</sup> Las mujeres que cambiaron a denosumab experimentaron un incremento de la densidad mineral ósea en la cadera al año de tratamiento de 1.9% comparado con 1.05% observado en el grupo que recibió

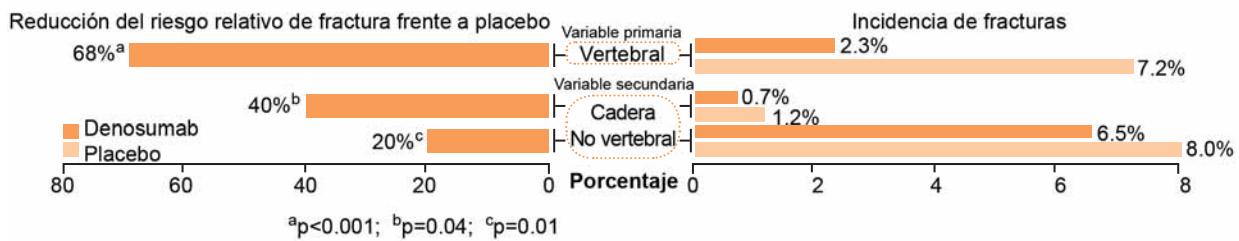
alendronato sódico (p < 0.0001); el incremento de la densidad mineral ósea también fue significativamente superior con denosumab en CL, cuello del fémur y tercio distal del radio; ambos fármacos tuvieron un perfil de seguridad similar.

En un análisis *post hoc* de las pacientes de los dos últimos estudios controlados con asignación al azar, se encontró que las tratadas con denosumab por vía subcutánea se declararon más satisfechas que las que recibieron semanalmente alendronato sódico por vía oral.<sup>26</sup> Todo esto resulta particularmente interesante en un momento en el que muchas de nuestras pacientes cumplen sus primeros cinco y más años de tratamiento con bisfosfonatos orales.

### Estudio FREEDOM

FREEDOM es un estudio internacional, controlado, doble ciego, con asignación al azar, fase III, en el que se evaluó la eficacia y seguridad de denosumab en la reducción del riesgo de fractura en pacientes posmenopáusicas con osteoporosis. Se incluyeron 7,808 pacientes para recibir 60 mg de denosumab (n=3,902) o placebo (n=3,906) por vía subcutánea cada seis meses. El objetivo primario fue: determinar la reducción de nuevas fracturas vertebrales a los 36 meses y, como objetivo secundario: evaluar el tiempo transcurrido hasta la primera fractura no vertebral y la primera fractura de cadera. Se incluyeron pacientes tratadas previamente con bisfosfonatos orales, siempre y cuando los hubieran recibido durante menos de tres años y al menos 12 meses antes del inicio de denosumab. La media de edad de los sujetos fue de 72.3 años y las medias de puntuaciones T (T-score) de la densidad mineral ósea de -2.8 en la columna lumbar, -1.9 en la cadera total y -2.2 en el cuello femoral.<sup>27</sup> El tratamiento con denosumab redujo de forma significativa el riesgo de nuevas fracturas vertebrales, de cadera y no vertebrales frente a placebo (Figura 4).<sup>27</sup>

En un subestudio de 441 pacientes efectuado en el mes 36, denosumab incrementó significativamente la densidad mineral ósea en 9.2% en la columna lumbar y 6.0% en la cadera total en comparación con placebo (p < 0.001). Además, denosumab redujo de manera importante el C-telopéptido sérico (CTX) en 86, 72 y 72% en los meses 1, 6 y 36, respectivamente, en comparación con placebo (p < 0.001) en los 160 pacientes incluidos en un subestudio de marcadores de recambio óseo.<sup>27,28</sup> No hubo diferencias significativas en la incidencia global de

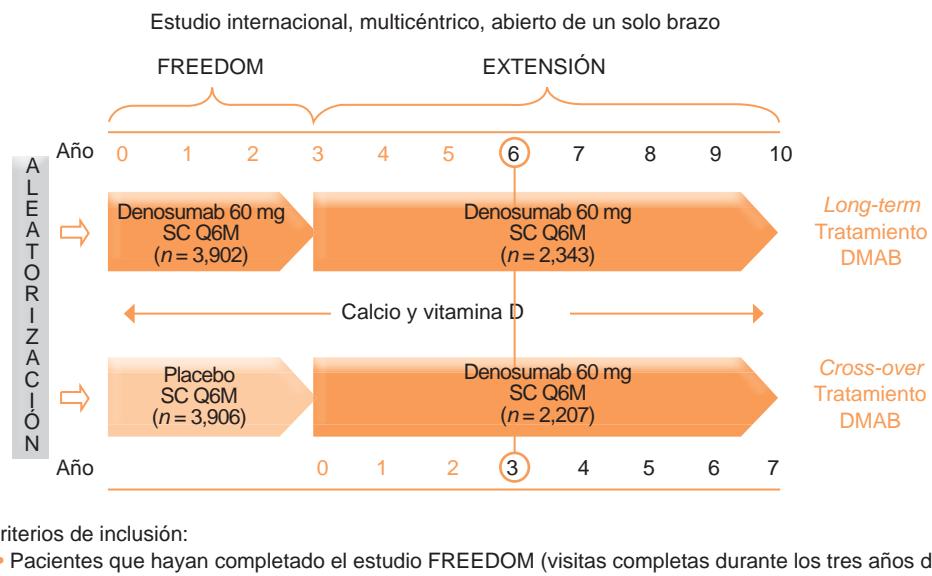


**Figura 4.** Resumen de los resultados del estudio FREEDOM; se aprecia reducción (siempre significativa) a tres años del riesgo relativo de fracturas vertebrales (-68%), no vertebrales (-20%) y de cadera (-40%). Igualmente, en el lado derecho se muestran las incidencias totales comparadas de las fracturas de esas localizaciones, respecto de lo ocurrido en el grupo de placebo (modificado de la referencia 27).

efectos adversos entre los sujetos tratados con denosumab y los que recibieron placebo (92.8% frente a 93.1%, respectivamente). El 82% de las pacientes completaron el estudio y 76% recibieron todas las inyecciones. No se observaron diferencias significativas en la incidencia global de neoplasias malignas, eventos cardiovasculares e infecciones. Se notificaron casos de eccema en 3.0% de las pacientes del grupo de denosumab frente a 1.7% del grupo placebo ( $p < 0.001$ ) y de celulitis, como efecto adverso grave, en 0.3% del grupo de denosumab *versus* menos de 0.1% en el grupo placebo ( $p=0.002$ ). También se describieron las siguientes diferencias significativas

entre denosumab y placebo: 1) caídas no asociadas con una fractura (4.5 vs 5.7%,  $p = 0.02$ ), 2) flatulencia (2.2 vs 1.4%,  $p = 0.008$ ) y 3) commoción (menos de 0.1 vs 0.3%,  $p = 0.004$ ), respectivamente. En este estudio ningún sujeto desarrolló anticuerpos neutralizantes anti-denosumab y no se notificaron casos de osteonecrosis de los maxilares a los tres años de seguimiento.<sup>27,28</sup>

Hace más de un año se reportaron los resultados de la primera extensión a cinco años de este estudio<sup>29</sup> (Figura 5) que continuará hasta los diez años, con la confirmación de que la reducción de las fracturas vertebrales continúa en los años cuatro y cinco, manteniéndose un ritmo adecuado de



**Figura 5.** Diseño del estudio de extensión de FREEDOM durante diez años, abarca incluso cuatro y cinco años (los resultados se muestran en el texto), con diseño internacional, prospectivo, abierto con brazo terapéutico sin comparación para la extensión. Por razones éticas, el grupo placebo, una vez confirmados sus peores resultados hasta el año tres, se reasignó al grupo que recibió denosumab, con el propósito de que toda la población del estudio pudiera beneficiarse de su uso continuado (modificado de la referencia 29).

incremento de la densidad mineral ósea durante todo ese tiempo. No se produjeron ni más ni diferentes efectos adversos en los años cuarto y quinto respecto de lo conocido. Por razones de ética médica, en el diseño de esta extensión se prescindió del brazo comparador de placebo, luego que en los primeros tres años se demostró la superioridad en eficacia de denosumab respecto de placebo.

En septiembre de 2011 se comunicaron los primeros resultados del seguimiento de un estudio controlado y aleatorizado, fase II, acerca de denosumab que tenía como objetivo primario demostrar la ganancia de densidad mineral ósea, la mayor curva de incremento de masa ósea a seis y ocho años (extensión del estudio controlado con asignación al azar original a cinco años) de forma perfectamente coherente y homogénea. El incremento de densidad mineral ósea alcanzado respecto de la basal fue de 6.9% en la cadera y de 16.8% en la columna lumbar.<sup>30</sup>

#### **Estudios comparativos con alendronato**

El alendronato sódico es un bisfosfonato que actúa mediante inhibición específica de la resorción ósea mediada por los osteoclastos. Inhibe la enzima farnesil-pirofosfato-sintetasa en la vía del mevalonato. Los bisfosfonatos, en general, son análogos sintéticos del pirofosfato que se unen a la hidroxiapatita del hueso. El alendronato sódico se describe químicamente como una sal monosódica trihidratada del ácido bifosfónico (4-amino-1-hidroxibutilideno).<sup>31</sup> Sin duda, los mecanismos de acción farmacológica de denosumab y del alendronato sódico son totalmente diferentes, aunque su objetivo terapéutico sea el mismo.

Existen dos estudios de comparación directa entre denosumab y alendronato sódico, ambos de un año de duración (DECIDE y STAND). Estos estudios evaluaron la densidad mineral ósea como variable principal y no se diseñaron para estudiar el efecto de denosumab en la reducción de fracturas, en función del poco tiempo de duración prevista en ambos.

#### **Estudio DECIDE**

DECIDE (Determining Efficacy: Comparison of Initiating Denosumab *versus* Alendronate) fue un estudio controlado, con asignación al azar, doble ciego, internacional y de no inferioridad, que tuvo como propósito evaluar la eficacia y la seguridad de iniciar un tratamiento con denosumab respecto de alendronato sódico e incluyó a 1,189 pacientes posmenopáusicas con baja densidad

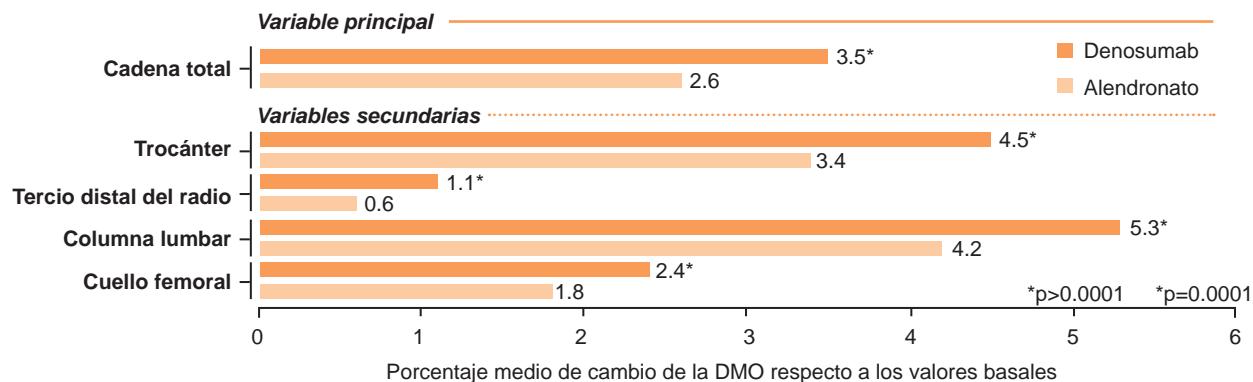
mineral ósea. Las pacientes tratadas previamente con bisfosfonatos completaron un periodo de lavado de tres meses de duración previo a la incorporación al estudio. Todas las pacientes se asignaron al azar para recibir 60 mg de denosumab por vía subcutánea cada seis meses ( $n = 594$ ) o placebo por vía oral cada semana o 70 mg de alendronato sódico por vía oral una vez a la semana ( $n = 595$ ) y placebo por vía subcutánea cada seis meses. La variable principal del estudio fue: evaluar el porcentaje de cambio en la densidad mineral ósea en la cadera total desde el valor basal hasta los 12 meses.<sup>32</sup>

Denosumab incrementó significativamente la densidad mineral ósea en la cadera total en comparación con alendronato sódico, así como en todas las otras localizaciones evaluadas, en el mes seis y doce (Figura 6).<sup>32</sup> No se observó ninguna diferencia significativa en la incidencia global de eventos adversos entre los sujetos tratados con denosumab respecto de las que recibieron alendronato sódico (80.9 vs 82.3%, respectivamente,  $p = 0.60$ ). Este estudio no fue diseñado para comparar la incidencia de fracturas (que se notificaron como efectos adversos). Un número similar de pacientes en ambos grupos reportó más de una fractura durante el estudio [24 (4.0%) con denosumab; 19 (3.2%) con alendronato sódico].<sup>32</sup>

#### **Estudio STAND**

STAND (Study of Transitioning from AleNdrone to De-nosumab) fue un estudio controlado al azar, internacional, doble ciego, con doble enmascaramiento, controlado con tratamiento activo, de grupos paralelos y de no inferioridad que incluyó a pacientes posmenopáusicas con baja densidad mineral ósea (entre -2.0 y -4.0), previamente tratadas con 70 mg de alendronato sódico a la semana. Un criterio de inclusión fue que las pacientes debían haber recibido tratamiento con ese fármaco como mínimo seis meses antes del inicio del estudio. Todas las pacientes se asignaron al azar para recibir 60 mg de denosumab ( $n = 253$ ) por vía subcutánea cada seis meses y placebo por vía oral cada semana o 70 mg de alendronato sódico por vía oral a la semana ( $n = 251$ ) y placebo por vía subcutánea cada seis meses. El objetivo principal del estudio fue: evaluar el cambio en la densidad mineral ósea de la cadera total a los 12 meses.<sup>33</sup>

A los 12 meses de iniciado el estudio, las pacientes que iniciaron tratamiento con denosumab experimentaron un aumento significativo en los valores de densidad mineral



**Figura 6.** Cambios en la densidad mineral ósea a los 12 meses respecto a los valores basales; en el estudio DECIDE se comparó aleatoriamente denosumab vs alendronato sódico (modificado de la referencia 32). En todas las localizaciones estudiadas, denosumab se mostró significativamente superior al alendronato sódico.

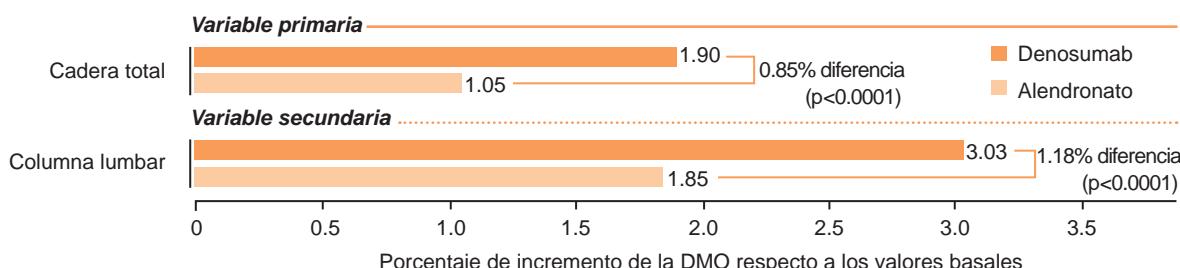
ósea de la cadera total y en la columna lumbar respecto a las pacientes que continuaron con alendronato sódico (Figura 7). También se observaron incrementos significativos en el grupo denosumab respecto el grupo de alendronato sódico en los valores de densidad mineral ósea en el cuello del fémur y en el tercio distal del radio ( $p \leq 0.0121$ ). A los seis meses de tratamiento con denosumab se observó un incremento significativo en la densidad mineral ósea en la columna lumbar y en todas las localizaciones esqueléticas femorales evaluadas ( $p < 0.05$ ).<sup>33</sup> No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa en la incidencia global de acontecimientos adversos entre el grupo tratado con denosumab respecto del grupo tratado con alendronato sódico (77.9 vs 78.7%, respectivamente). Los efectos adversos más frecuentes fueron: nasofaringitis, dolor de espalda, artralgias, dolor en las extremidades y estreñimiento. Los efectos adversos graves, incluidas las

neoplasias o las infecciones graves, no tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Este estudio tampoco se diseñó para comparar el índice de fracturas, en función, entre otros aspectos, del corto tiempo de realización del estudio. No obstante, como un efecto adverso se notificaron fracturas en ocho pacientes del grupo con denosumab (3.2%) y cuatro pacientes con alendronato sódico (1.6%) ( $p$  NS).<sup>33</sup>

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

El proceso de remodelado óseo es regulado por un complejo sistema de señales que controlan el delicado equilibrio entre formación y destrucción de huesos.<sup>3</sup> El descubrimiento del sistema RANK/RANK-L/osteoprotegerina ha sido decisivo para comprender la fisiopatología de este proceso.<sup>1,2</sup> Las informaciones aportadas en estos



**Figura 7.** Cambios en la densidad mineral ósea a los 12 meses respecto a los valores basales, tanto en la cadera total (objetivo primario) como en la columna lumbar (objetivo secundario) experimentados entre denosumab vs alendronato sódico en el estudio STAND (modificado de la referencia 33).

últimos años indican, claramente, que nos encontrábamos ante un sistema regulador fundamental del metabolismo óseo que permitió el desarrollo de una nueva herramienta terapéutica, denosumab, basada en el bloqueo del RANK-L.<sup>2,4,13</sup> El conocimiento de nuevas vías de señales, como Wnt, complementará estas informaciones y ampliará las posibilidades terapéuticas para pacientes con enfermedades relacionadas o no con alteraciones del metabolismo óseo.<sup>9,14-16</sup> Es indudable que el estudio del metabolismo del hueso seguirá siendo apasionante y habrá de aportar nuevas herramientas para prevenir y frenar su deterioro.

Denosumab es un nuevo fármaco biológico indicado en el tratamiento de pacientes con osteoporosis posmenopáusica, que constituye el primer anticuerpo monoclonal totalmente humano que actúa bloqueando de manera reversible y extraordinariamente rápida el RANK-L.<sup>13</sup> Ya se probó en 46 diferentes estudios controlados y aleatorizados de duración diversa y con distintos comparadores.<sup>21</sup> El estudio controlado con asignación al azar de referencia en osteoporosis posmenopáusica se efectuó a tres años,<sup>28</sup> con extensión reciente a cinco años.<sup>29</sup> En el lapso transcurrido ha demostrado:

- Buena tolerancia con mínimos efectos adversos y estables durante la extensión hasta el quinto año, igual que lo sucedido en los tres primeros años.<sup>2,3,27,28,29</sup>
- El estudio FREEDOM demostró mantener la reducción del remodelado óseo, al incrementar de manera considerable la densidad mineral ósea año tras año<sup>27</sup> con una significativamente baja incidencia de nuevas fracturas vertebrales y no vertebrales. Idéntico resultado al reducir la incidencia de nuevas fracturas de cadera en el tercer año.<sup>27</sup>
- En los estudios controlados con asignación al azar (Fase II) a seis y ocho años ha demostrado un continuo incremento de la densidad mineral ósea perfectamente homogéneo año a año y en todas las localizaciones (columna lumbar y cadera).<sup>30</sup>

Además, se ha mostrado significativamente más activo que el alendronato sódico en dos diferentes estudios controlados y con asignación al azar en el aumento de la densidad mineral ósea en muy diferentes localizaciones.<sup>32,33</sup>

Su elevada especificidad por el RANK-L lo hace especialmente seguro y bien tolerado; hasta ahora no se

ha descrito la formación de anticuerpos neutralizantes anti-denosumab.<sup>2</sup> No ha mostrado ninguna influencia en la aparición de fracturas atípicas de fémur de localización sub-trocantérica ni incrementar el riesgo relativo de osteonecrosis mandibular.<sup>2,4,27-29</sup>

## REFERENCIAS

1. Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos Int* 2011;22:1-20.
2. Lewiecki EM. Denosumab update. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21.
3. Neyro JL, Cano A, Palacios S. Regulación del metabolismo óseo a través del sistema RANK-RANKL-OPG. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2011;3:105-112. Disponible en <http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/articulo.php?ano=2011&volumen=3&numero=2&página=105&pagfin=112&idnumero=120110302>. Última consulta 18.02.12
4. Prolia®. Ficha técnica (denosumab). Laboratorios Amgen SA. Disponible en [http://www.amgen.com/medpro/products\\_prolia.html](http://www.amgen.com/medpro/products_prolia.html). Última consulta 18.02.12
5. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-hora M, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nature America*, 2011. Published online at <http://www.nature.com/naturemedicine/>. Última consulta 19.02.12.
6. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev* 2008;29:155-192.
7. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 2008;473:139-146.
8. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423:337-342.
9. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals. *Front Biosci* 2011;16:21-30.
10. Kostenuik PJ. Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength. *Curr Opin Pharmacol* 2005;5(6):618-625.
11. Vega D, Maalouf NM, Sakhaee K. The role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:4514-4521.
12. Fiter J, Nolla JM. Fisiopatología: remodelado óseo en el anciano. En: *Osteoporosis. Guía de buena práctica clínica en geriatría*. Osteoporosis. 2004. Sociedad Española de Geriatría y Gerontología. Ed: Mesa MP, Guañabens N. 21-34. Disponible en: Fiter J, Nolla JM. Fisiopatología: remodelado óseo en el anciano. En: *Osteoporosis. Guía de buena práctica clínica en geriatría*. Osteoporosis. 2004. Sociedad Española de Geriatría y Gerontología. Ed: Mesa MP, Guañabens N. 21-34. Disponible en: <http://www.scribd.com/doc/6696048/Gui-a-Osteoporosis>.

13. Geusens P. Emerging treatments for postmenopausal osteoporosis - focus on denosumab. *Clin Interv Aging* 2009;4:241-250.
  14. Tanos T, Brisken C. High hopes for RANKL: will the mouse model live up to its promise? *Breast Cancer Res* 2011;13:302.
  15. González-Suárez E. RANKL inhibition: a promising novel strategy for breast cancer treatment. *Clin Transl Oncol* 2011;13:222-228.
  16. González-Suárez E, Jacob AP, Jones J, Miller R, Roudier-Meyer MP, et al. RANK ligand mediates progestin-induced mammary epithelial proliferation and carcinogenesis. *Nature* 2010;468:103-107. [Epub 2010 Sep 29.]
  17. Hock JM. Anabolic Actions of PTH in the skeletons of animals. *J Musculoskel Neuron Interact* 2001;2:33-47.
  18. Ma YL, Cain RL, Halladay DL, Yang X, Zeng Q, et al. Catabolic Effects of continuous human PTH (1-38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology* 2001;142:4047-4054.
  19. Onyia JE, Helvering LM, Glebert L, Wei T, Huang S, et al. Molecular profile of catabolic versus anabolic treatment regimens of parathyroid hormone (PTH) in rat bone: An analysis by DNA microarray. *J Cell Biochem* 2005;95:403-418.
  20. Ominsky MS, Li C, Li X, Tan HL, Lee E, et al. Inhibition of sclerostin by monoclonal antibody enhances bone healing and improves bone density and strength of non-fractured bones. *J Bone Miner Res* 2010 Dec. DOI: 10.1002/jbmr.307. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmr.307>. Última consulta 19.02.12.
  21. Disponible en <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=denosumab>. Última consulta 19.02.12
  22. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, Bolognese MA, Woodson GC, et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006;354:821-831.
  23. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, Kendler DL, Wang H, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2149-2157.
  24. Brown JP, Prince RL, Deal C, Recker RR, Kiel DP, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res* 2009;24:153-161. Disponible en: [http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR\\_152185\\_CP.exe](http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR_152185_CP.exe). Última consulta 19.02.12.
  25. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, Brown JP, Lillestol M, et al. Effects of Denosumab on Bone Mineral Density and Bone Turnover in Postmenopausal Women Transitioning from Alendronate Therapy. *J Bone Miner Res* 2009 Jul 13. [Epub ahead of print] PMID: 19594293.
  26. Kendler DL, Bessette L, Hill CD, Gold DT, Horne R, et al. Preference and satisfaction with a 6-month subcutaneous injection versus a weekly tablet for treatment of low bone mass. *Osteoporos Int*. 2009 Aug 6. [Epub ahead of print] PMID: 19657689.
  27. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, et al. FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009;361:756-765.
  28. Neyro JL, Palacios S, Cano A. Perfil de acción de Denosumab en el tratamiento de la osteoporosis. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2011;4:183-188. Disponible en <http://www.revistadeosteoporosymetabolismomineral.com/articulo.php?ano=2011&volumen=3&numero=4&paginicio=183&pagfin=188&idnumero=120110304>. Última consulta 18.02.12.
  29. Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, Brandi M, Brown J, et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: Results from the first two years of the FREEDOM extension. *JBMR* 2012;27:694-701.
  30. McClung M, Lewiecki EM, Bolognese MA, Peacock M, Weinstein R, Ding B, Geller ML, Grauer A, Wagman RB, Miller P. Effects of Denosumab on Bone Mineral Density and Biochemical Markers of Bone Turnover: 8-Year Results of a Phase 2 Clinical Trial. ASBMR 2011 Annual Meeting. September 16-20, 2011. San Diego, California, USA.
  31. Fosamax® (Alendronato). Ficha técnica Laboratorios Merck Sharp & Dohme Ltd Disponible en [http://www.msd.es/productos/fichas-tecnicas/ft\\_fosamax\\_70\\_es.pdf](http://www.msd.es/productos/fichas-tecnicas/ft_fosamax_70_es.pdf). Última consulta 19.02.12.
  32. Brown JP, Prince RL, Deal C, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res*. 2009; 24:153-161. Disponible en: [http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR\\_152185\\_CP.exe](http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR_152185_CP.exe). Última consulta 19.02.12.
  33. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res*. 2010; 25:72-81. Disponible en: [http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR\\_162485\\_CP.exe](http://delivery.sheridan.com/downloads/mobile/JBMR_162485_CP.exe). Última consulta 19.02.12.