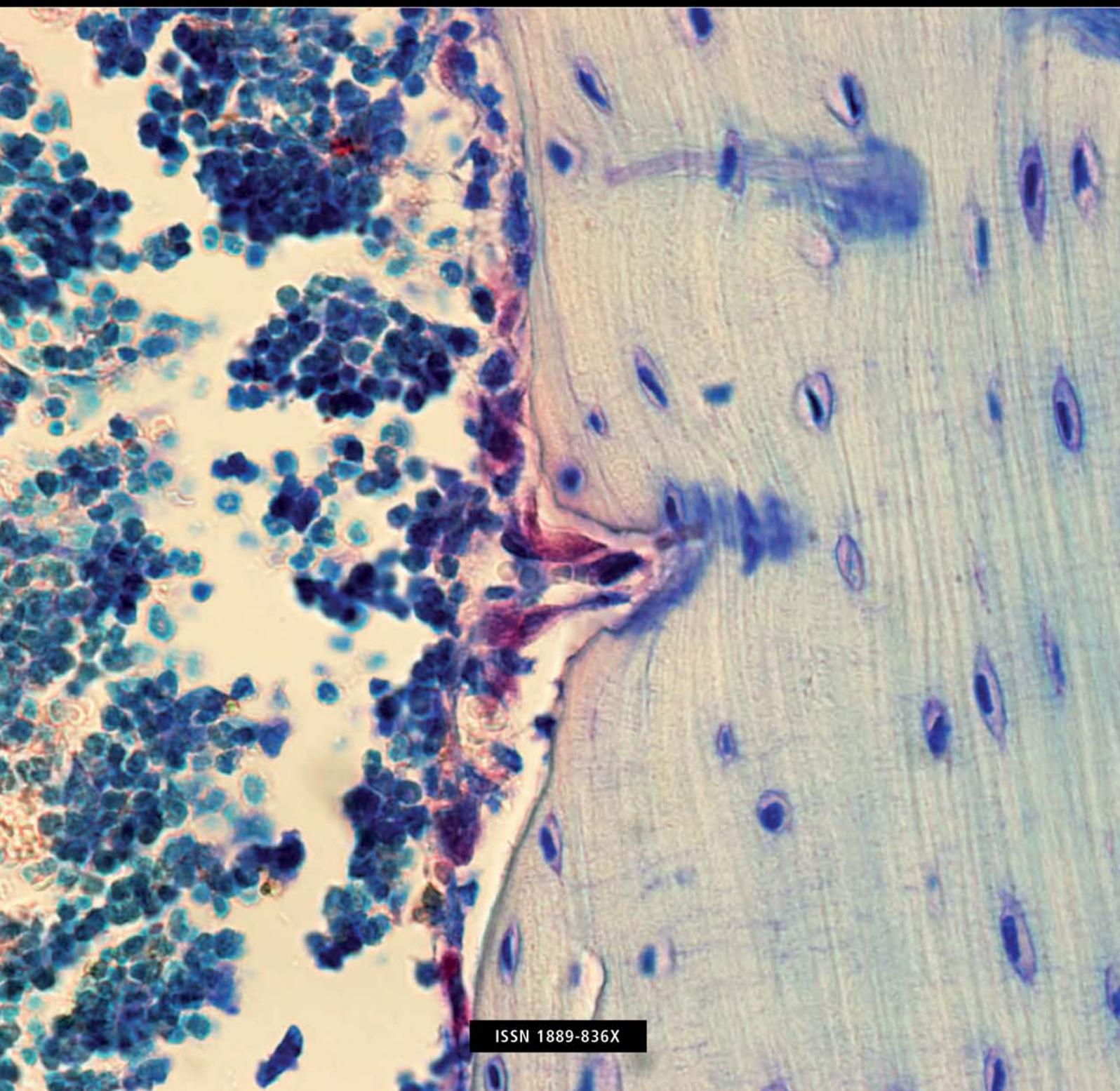
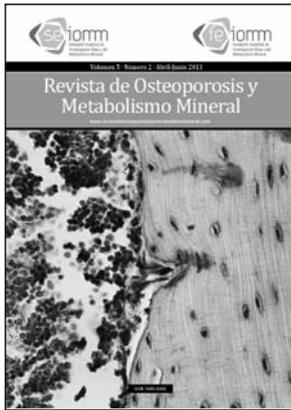


Volumen 5 · Número 2 · Abril-Junio 2013

Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com





Nuestra portada

Osteoclastos

Autora:
Marta Martín Millán

Director
Manuel Sosa Henríquez

Redactora Jefe
M^a Jesús Gómez de Tejada Romero

**Sociedad Española de Investigación Ósea
y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)**

Presidente
Javier del Pino Montes

Vicepresidente
Josep Blanch Rubio

Secretaria
M^a Jesús Moro Álvarez

Tesorera
Carmen Valero Díaz de Lamadrid

Paseo de la Castellana, 135 (7^a planta)
28046 Madrid

Tel: +34-917906834

Fax: +34-917906869

e-mail: seiommm@seiommm.org

<http://www.seiommm.org>

Edición

 **Ibañez & Plaza** Asociados, S.L.
EDITORIAL TÉCNICA Y COMUNICACIÓN

Avda. Reina Victoria, 47 (6^o D)
28003 Madrid

Tel. +34-915 538 297

e-mail: correo@ibanezyplaza.com

<http://www.ibanezyplaza.com>

Maquetación

Concha García García

Traducción inglés

Andrew Stephens

Impresión

Gráficas 82, S.L.

Soporte Válido

32/09-R-CM

Depósito Legal

M-3643-2013

ISSN 1889-836X

SUMARIO

Vol. 5 - Nº 2 - Abril-Junio 2013

65 EDITORIAL
Niveles inadecuados de D: no es una D-eliciosa perspectiva
Quesada Gómez JM, Navarro Valverde C

67 ORIGINALES
Prevalencia de hipovitaminosis D e hiperparatiroidismo secundario en la Unidad de Lesionados Medulares de Gran Canaria
Rivero González L, Méndez Suárez JL, Miranda Calderín G, Bárbara Bataller E, Sánchez Enríquez J, Sosa Henríquez M

73 Riesgo de fractura asociado a los estadios previos al diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2: Estudio de casos-controles anidados (cohorte DIAFOS)
Martínez-Laguna D, Nogués-Solán X, Díez-Pérez A, Soria-Castro A, Carbonell-Abella C, Arias-Moliz I, Estrada-Laza P, Prieto-Alhambra D

79 Efectos divergentes de la inhibición de TGF- β en metástasis óseas de cáncer de mama y pulmón
Luis-Ravelo D, Antón I, Vicent S, Zanduetta C, Martínez S, Valencia K, Ormazábal C, Lecanda F

85 SNPs en el 3'UTR de gen RANK determinan la fractura osteoporótica sitio-dependiente
García-Giralt N, Yoskovitz G, Rodríguez-Sanz M, Urreiziti R, Guerri R, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky L, Grinberg D, Balcells S, Nogués X, Díez-Pérez A

93 NOTA CLÍNICA
Fracturas vertebrales como debut de síndrome de Cushing diagnosticado tras un embarazo
Gutiérrez Medina S, Medrano Izquierdo P, Díaz Curiel M

99 REVISIONES
Biomecánica y hueso (y II): Ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea
Caeiro JR, González P, Guede D

109 Osteoporosis y artrosis: ¿dos enfermedades mutuamente excluyentes o dos entidades relacionadas?
Pariante Rodrigo E, Olmos Martínez JM, Hernández Hernández JL

116 NORMAS DE PUBLICACIÓN

Envío de originales:
revistadeosteoporosisymetabolismomineral@ibanezyplaza.com

Versión on-line:

<http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com>

Comité Editorial

Teresita Bellido. Ph.D.

Department of Medicine, Division of Endocrinology. Indiana University School of Medicine. Indianapolis, Indiana. Estados Unidos

Ernesto Canalis. MD, PhD

St Francis Hospital and Medical Center, Hartford, Connecticut. University of Connecticut. School of Medicine, Farmington, Connecticut. Estados Unidos

Patricia Clark Peralta. MD, PhD

Facultad de Medicina, UNAM. Unidad Clínica Epidemiológica. Hospital Infantil Federico Gómez. México DF. México

Dr. Javier del Pino Montes

Departamento de Medicina. Universidad de Salamanca. Sección de Reumatología. Hospital Universitario de Salamanca. Salamanca. España

Dr. Manuel Díaz Curiel

Universidad Autónoma de Madrid. Unidad de Metabolismo Óseo. Hospital Fundación Jiménez Díaz. Instituto de Investigación FJD. Fundación Hispana de Osteoporosis y Metabolismo Mineral (FHOEMO). Madrid. España

Dr. Adolfo Díez Pérez

Universidad de Barcelona. Servicio de Medicina Interna. Instituto Municipal de Investigación Médica. (IMIM). Hospital del Mar. Barcelona. España

Dr. Oswaldo Daniel Messina

Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Hospital Cosme Argerich. Buenos Aires. Argentina

Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero

(Redactora Jefe)
Universidad de Sevilla. Departamento de Medicina. Sevilla. España

Dr. Manuel Sosa Henríquez

(Director)
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Hospital Universitario Insular. Servicio de Medicina Interna. Unidad Metabólica Ósea. Las Palmas de Gran Canaria. España

Comité de Expertos

Pilar Aguado Acín
Javier Alegre López
María José Américo García
Abdón Arbelo Rodríguez
Miguel Arias Paciencia
Emilia Aznar Villacampa
Chesús Beltrán Audera
Pere Benito Ruiz
Santiago Benito Urbina
Miguel Bernard Pineda
Pedro Betancor León
Josep Blanch i Rubió
José Antonio Blázquez Cabrera
José Ramón Caeiro Rey
Javier Calvo Catalá
M^a Jesús Cancelo Hidalgo
Jorge Cannata Andía
Antonio Cano Sánchez
Cristina Carbonell Abella
Jordi Carbonell Abelló
Pedro Carpintero Benítez
Enrique Casado Burgos
Santos Castañeda Sanz
Fidencio Cons Molina
Sonia Dapia Robleda
Jesús Delgado Calle
Bernardino Díaz López
Casimira Domínguez Cabrera
Anna Enjuanes Guardiola
Pedro Esbrit Argüelles
Fernando Escobar Jiménez
José Filgueira Rubio
Jordi Fiter Areste
Juan José García Borrás
Juan Alberto García Vadillo
Eduardo Girona Quesada
Carlos Gómez Alonso
Milagros González Béjar
Jesús González Macías
Emilio González Reimers
Jenaro Graña Gil
Silvana di Gregorio
Daniel Grinberg Vaisman
Nuria Guañabens Gay
Roberto Güerri Fernández
Federico Hawkins Carranza
Diego Hernández Hernández
José Luis Hernández Hernández
Gabriel Herrero-Beaumont Cuenca
Esteban Jódar Gimeno

Fernando Lecanda Cordero
Pau Lluç Mezquida
José Andrés López-Herce Cid
M^a Luisa Mariñoso Barba
Guillermo Martínez Díaz-Guerra
María Elena Martínez Rodríguez
Julio Medina Luezas
Leonardo Mellivovsky Saldier
Manuel Mesa Ramos
Pedro Mezquita Raya
Ana Monegal Brancos
Josefa Montoya García
María Jesús Moro Álvarez
Manuel Muñoz Torres
Laura Navarro Casado
Manuel Naves García
José Luis Neyro Bilbao
Xavier Nogués i Solán
Joan Miquel Nolla Solé
José Antonio Olmos Martínez
Norberto Ortego Centeno
Santiago Palacios Gil-Antuña
Esteban Pérez Alonso
Ramón Pérez Cano
José Luis Pérez Castrillón
Luis Pérez Edo
Pilar Peris Bernal
Concepción de la Piedra Gordo
José Manuel Quesada Gómez
Enrique Raya Álvarez
Rebeca Reyes García
José Antonio Riancho Moral
Luis de Rio Barquero
Luis Rodríguez Arboleya
Minerva Rodríguez García
Antonia Rodríguez Hernández
Manuel Rodríguez Pérez
Montaña Román García
Inmaculada Ros Villamajó
Rafael Sánchez Borrego
Armando Torres Ramírez
Antonio Torrijos Eslava
Carmen Valdés y Llorca
Carmen Valero Diaz de Lamadrid
Ana Weruaga Rey
Jaime Zubieta Taberner

METODOLOGÍA Y DISEÑO DE DATOS

Pedro Saavedra Santana
José María Limiñana Cañal

SUMMARY

Vol. 5 - Nº 2 - April-June 2013

65 EDITORIAL

Inadequate levels of D: not a D-icious perspective
Quesada Gómez JM, Navarro Valverde C

67 ORIGINAL ARTICLES

Prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in the Spinal Cord Injury Unit in Gran Canaria. Preliminary study
Rivero González L, Méndez Suárez JL, Miranda Calderín G, Bárbara Bataller E, Sánchez Enríquez J, Sosa Henríquez M

73 Risk of fracture associated with states prior to the diagnosis of diabetes mellitus type 2: Nested case-controlled study (DIAFOS cohort)
Martínez-Laguna D, Nogués-Solán X, Díez-Pérez A, Soria-Castro A, Carbonell-Abella C, Arias-Moliz I, Estrada-Laza P, Prieto-Alhambra D

79 Divergent effects of TGF- β inhibition in bone metastases in breast and lung cancer

Luis-Ravelo D, Antón I, Vicent S, Zanduetta C, Martínez S, Valencia K, Ormazábal C, Lecanda F

85 SNPs in the 3'UTR of the RANK gene determine site-dependent osteoporotic fracture

García-Giralt N, Yoskovitz G, Rodríguez-Sanz M, Urreiziti R, Guerri R, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky L, Grinberg D, Balcells S, Nogués X, Díez-Pérez A

93 CLINICAL NOTE

Vertebral fractures as a debut to Cushing's syndrome diagnosed after a pregnancy
Gutiérrez Medina S, Medrano Izquierdo P, Díaz Curiel M

99 REVIEWS

Biomechanics and bone (& II): Trials in different hierarchical levels of bone and alternative tools for the determination of bone strength
Caeiro JR, González P, Guede D

109 Osteoporosis and osteoarthritis: two mutually exclusive diseases or two related entities?
Pariante Rodrigo E, Olmos Martínez JM, Hernández Hernández JL

Niveles inadecuados de D: no es una D-eliciosa perspectiva

Quesada Gómez JM, Navarro Valverde C

Unidad de Metabolismo Mineral - Servicio de Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba - Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC) - RETICEF - Córdoba

Correspondencia: José Manuel Quesada Gómez - Servicio de Endocrinología y Nutrición - IMIBIC - Hospital Universitario Reina Sofía - Avda. Menéndez Pidal, s/n - 14004 Córdoba (España)
Correo electrónico: jmquesada@uco.es

En las últimas décadas la investigación clínica en grandes estudios de población ha puesto de manifiesto la elevada prevalencia de niveles insuficientes de vitamina D en todo el mundo¹, lo que unido a sus efectos sobre el hueso, el músculo esquelético, la inmunidad innata y adquirida, el sistema cardiovascular, y el desarrollo y la función celular, convierten esta insuficiencia en un problema de primer orden para la Salud Pública; de hecho, niveles bajos de vitamina D se asocian significativamente con todas las causas de morbi-mortalidad².

La descripción en este número de la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de niveles inadecuados de vitamina D en pacientes con lesión medular en Las Palmas de Gran Canaria, una ciudad de España que por su clima constituye un paradigma de la facilidad a lo largo del año para obtener vitamina D₃ a partir de la síntesis cutánea, nos reta una vez más³. Debido a su alta prevalencia, su facilidad de detección, las consecuencias adversas asociadas, y los medios sencillos, baratos y eficaces para su tratamiento, la insuficiencia de vitamina D debería ser un objetivo inmediato, urgente y prioritario para las autoridades sanitarias en general, y para todos y cada uno de los médicos independientemente de cuál sea la especialidad desarrollada.

Los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D son considerados el marcador del *estatus* corporal de vitamina D, incluyendo la síntesis endógena por exposición a la luz solar, la ingesta dietética en comidas suplementadas o no y los tratamientos farmacológicos⁴. Sin embargo, los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D no están estrechamente regulados, ningún método para su cuantificación es perfecto, existiendo una gran variabilidad entre

laboratorios incluso los más contrastados, dificultando así la definición de normalidad⁵. De hecho, los métodos que no emplean separación cromatográfica de alta presión no separan entre metabolitos de vitamina D₂ o vitamina D₃⁶. Aunque en España eso no constituye un problema al no emplearse vitamina D₂ en la práctica clínica habitual, muchos metabolitos de la vitamina D son cuantificados como 25 hidroxivitamina D, 24,25 dihidroxivitamina D₃, su epímero C-3, o formas sulfatadas, etc., y ese problema persiste incluso empleando separación por cromatografía líquida de alta presión y medición por masas⁷.

No obstante, aunque deben mejorar sustancialmente, los métodos disponibles en nuestra práctica habitual asistencial o de investigación son suficientemente apropiados, y deberían ser más empleados en nuestra práctica clínica para el diagnóstico y el seguimiento de tratamientos.

De este modo, ante la variabilidad de los distintos laboratorios y métodos en las determinaciones, la controversia de puntos de corte de normalidad para niveles séricos de 25 hidroxivitamina D propuestos por las diferentes sociedades científicas, por encima de 20 ng/ml para el Instituto de Medicina³ y por encima de 30 ng/ml para la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF)⁸, apoyada por la recomendación de la Sociedad de Endocrinología de EE.UU.⁹, constituye una discusión bizantina, tan solo un punto de aproximación al problema.

En cualquier caso, podíamos convenir que el objetivo a conseguir sería niveles superiores a 20 ng/ml como objetivo mínimo irrenunciable, y preferiblemente mayores de 30 ng/ml; porque convendremos en que, si nuestros pacientes están por encima de 30 ng/ml de 25 hidroxivitamina D, estaremos armonizando las recomendaciones existentes.

Niveles séricos mayores de 30 ng/ml propiciarán una adecuada salud ósea y una respuesta ósea adecuada a tratamientos antirresortivos en osteoporosis^{10,11}, además de su más que probable repercusión beneficiosa sobre la práctica totalidad de órganos y sistemas corporales^{2,12}.

Más crítico resulta el objetivo de valores máximos. Aunque, durante tiempo se propuso que valores elevados de vitamina D, salvo por encima de niveles tóxicos, no serían perjudiciales, en la actualidad está abierto el debate sobre si niveles elevados de 25 hidroxivitamina D podrían asociarse con riesgo de muerte cardiovascular o de cualquier otra causa¹³. Por ello, algunos autores han propuesto como punto de corte recomendable niveles séricos de 25 hidroxivitamina D de 60 a 70 ng/ml cuantificados con los métodos habituales de medición, que son los valores presentes en verano en trabajadores del campo, pescadores, vigilantes en playas o piscinas etc., quienes tienen una elevada exposición a los rayos ultravioleta y una intensa producción epidérmica de vitamina D₃, pero no presentan nunca toxicidad³.

En el tratamiento de la insuficiencia/deficiencia de vitamina D después de optimizar los niveles de 25 hidroxivitamina D dentro de un rango de 30 a 70 ng/ml, no debemos olvidar el mantenimiento una vez conseguido ese rango. Para conseguir este objetivo, en España podemos emplear vitamina D₃, o 25 hidroxivitamina D₃ (calcifediol), por lo que resulta obligado recordar que en contra de lo que se ha venido creyendo durante años estos metabolitos no son equipotentes, si no que el segundo es aproximadamente tres veces más potente que el primero^{14,15}.

Por último, insistir que, sobre la ya reconocida elevada prevalencia en España de niveles insuficientes de vitamina D en todos los segmentos de población estudiados^{16,17}, que es todavía más intensa en pacientes con factores de riesgo convencionales para presentar niveles séricos bajos de vitamina D, el incremento en la obesidad y pobreza¹⁸, presumiblemente empeorará la crítica situación actual en los años venideros.

Desafortunadamente, las políticas sanitarias públicas no auguran un cambio eficiente ante este grave problema, por lo que es obligado terminar con el comentario con el que Robert Heaney terminaba una de sus intervenciones en el VI Simposio de la SEIOMM celebrado en Granada en octubre de 1997, sobre el problema de la deficiencia de vitamina D: "... hasta aquí la evidencia; para cuándo la acción".

Bibliografía

1. Van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25:671-80.
2. Norman AW, Bouillon R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. *Exp Biol Med* 2010;235:1034-45.
3. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:53-8.
4. Rivero González L, Méndez Suárez JL, Miranda Calderín G, Bárbara Bataller E, Sánchez Enríquez J, Sosa Henríquez M. Prevalencia de hipovitaminosis D e hiperparatiroidismo secundario en la Unidad de Lesionados Medulares de Gran Canaria. Estudio preliminar. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2013;5;2:67-72.
5. Binkley N, Krueger DC, Morgan S, Wiebe D. Current status of clinical 25-hydroxyvitamin D measurement: an assessment of between-laboratory agreement. *Clin Chim Acta* 2010;411:1976-82.
6. Thienpont LM, Stepman HC, Vesper HW. Standardization of measurements of 25-hydroxyvitamin D₃ and D₂. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2012; 243:41-9.
7. Lensmeyer G, Poquette M, Wiebe D, Binkley N. The C-3 epimer of 25-hydroxyvitamin D(3) is present in adult serum. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:163-8.
8. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 2010;21:1151-4.
9. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-30.
10. Díez-Pérez A, Olmos JM, Nogués X, Sosa M, Díaz-Curiel M, Pérez-Castrillón JL, et al. Risk factors for prediction of inadequate response to antiresortives. *J Bone Miner Res* 2012;27:817-24.
11. Peris P, Martínez-Ferrer A, Monegal A, Martínez de Osaba MJ, Muxi A, Guañabens N. 25 hydroxyvitamin D serum levels influence adequate response to bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2012;51:54-8.
12. Bouillon R, Bischoff-Ferrari H, Willett W. Vitamin D and health: perspectives from mice and man. *J Bone Min Res* 2008;23:974-9.
13. Durup D, Jørgensen HL, Christensen J, Schwarz P, Heegaard AM, Lind B. A reverse J-shaped association of all-cause mortality with serum 25-hydroxyvitamin D in general practice: the CopD study. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2644-52.
14. Burilid A, Lauridsen L, Jakobsen J. Bioavailability and storage of oral 25-hydroxy D₃ and D₃ in relation to plasma 25 hydroxy-D₃. Abstract book. Sesión XIV, pag 31. 16th Vitamin D Workshop. June 11-14th, 2013. San Francisco, California (USA).
15. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Stöcklin E, Sidelnikov E, Willett WC, Edel JO, et al. Oral supplementation with 25(OH)D₃ versus vitamin D₃: effects on 25(OH)D levels, lower extremity function, blood pressure, and markers of innate immunity. *J Bone Miner Res* 2012;27:160-9.
16. Quesada Gómez JM. Insuficiencia de calcifediol. Implicaciones para la salud. *Drugs Today* 2009;45:1-31.
17. Quesada-Gómez JM, Díaz-Curiel M, Sosa-Henríquez M, Malouf-Sierra J, Nogués-Solán X, Gómez-Alonso C, et al. Low calcium intake and inadequate vitamin D status in postmenopausal osteoporotic women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:175-7.
18. Navarro M del C, Saavedra P, Jódar E, Gómez de Tejada MJ, Mirallave A, Sosa M. Osteoporosis and metabolic syndrome according to socio-economic status, contribution of PTH, vitamin D and body weight: The Canarian Osteoporosis Poverty Study (COPS). *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78:681-6.

Rivero González L¹, Méndez Suárez JL¹, Miranda Calderín G¹, Bárbara Bataller E¹, Sánchez Enríquez J¹, Sosa Henríquez M³

1 Hospital Universitario Insular de Gran Canaria - Servicio de Medicina Física y Rehabilitación - Unidad de Lesionados Medulares

2 Unidad Metabólica Ósea - Universidad de Las Palmas de Gran Canaria - Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral

3 Hospital Universitario Insular - Servicio de Medicina Interna - Unidad Metabólica Ósea

Prevalencia de hipovitaminosis D e hiperparatiroidismo secundario en la Unidad de Lesionados Medulares de Gran Canaria. Estudio preliminar

Correspondencia: Leticia Rivero González - Hospital Universitario Insular - Unidad de Lesionados Medulares - Avenida del Dr. Pasteur, s/n - 35016 Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: leticia102_1@hotmail.com

Fecha de recepción: 20/04/2013

Fecha de aceptación: 23/06/2013

Resumen

Fundamento: La deficiencia de vitamina D es muy frecuente, y se ha puesto en evidencia en múltiples estudios realizados tanto en la población general como en pacientes con diferentes patologías. Sin embargo, ha sido poco estudiada en los pacientes afectados de lesión medular.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de hipovitaminosis D y el posible desarrollo de un hiperparatiroidismo secundario en una población de pacientes con lesión medular.

Material y método: Estudio descriptivo transversal realizado en 104 pacientes afectados de lesión medular. A todos se les efectuó una historia clínica y una exploración física detallada, y se les extrajo sangre en ayunas, con la menor compresión posible. Los parámetros analíticos fueron analizados por técnicas automatizadas y la determinación de la 25-hidroxivitamina D (25HCC) y la hormona paratiroidea (PTH) se efectuó por electroinmunoquimioluminiscencia (EIQL).

Resultados: El valor medio global de 25-hidroxivitamina D fue $20,1 \pm 11,6$ ng/ml. El 84,6% de los pacientes tenían unos valores séricos de 25-hidroxivitamina D inferiores a 30 ng/ml y el 62,5% del total de pacientes, mostraron valores inferiores a 20 ng/ml. La prevalencia de insuficiencia de vitamina D fue similar en hombres y mujeres. Sin embargo, aunque encontramos una correlación inversa entre los niveles de PTH y de 25-hidroxivitamina D, sólo el 5,8% de los pacientes llegaron a desarrollar un hiperparatiroidismo secundario.

Conclusiones: Existe una elevada prevalencia de hipovitaminosis D en los pacientes con lesión medular. Es aconsejable, por tanto, la inclusión del estudio de este metabolito en el protocolo de atención de estos pacientes para corregir las deficiencias en cuando se objetiven.

Palabras clave: vitamina D, parathormona, lesión medular.

Prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in the Spinal Cord Injury Unit in Gran Canaria. Preliminary study

Summary

Background: vitamin D deficiency is very common, and has been demonstrated in multiple studies in both the general population and in patients with different pathologies. However, it has been little studied in patients affected by spinal injury.

Objective: to study the prevalence of hypovitaminosis D and the possible development of secondary hyperparathyroidism in a population of patients with spinal injury.

Material and method: transverse descriptive study carried out in 104 patients affected by spinal injury. A clinical history was taken, a detailed physical examination carried out and a blood sample while fasting taken, with the least possible compression, from all patients. The analytical parameters were analysed using automated techniques and the determination of 25-hydroxyvitamin D (25HCC) and parathyroid hormone (PTH) was performed using electroimmunochemiluminescence (ECLIA).

Results: the global mean value of 25-hydroxyvitamin D was 20.1 ± 11.6 n/ml. 84.6% of the patients had blood values of 25-hydroxyvitamin D lower than 30 ng/ml and 62% of all patients showed values lower than 20 ng/ml. The prevalence of vitamin D deficiency was similar in men and women. However, although we found an inverse correlation between levels of PTH and hydroxyvitamin D, only 5.8% of patients ended up developing secondary hyperparathyroidism.

Conclusions: there is a high prevalence of hypovitaminosis D in patients with spinal injury. It is advisable, therefore, to include a study of this metabolite in the care protocol of these patients to correct these deficiencies as and when they are found.

Key words: *vitamin D, parathormone, spinal injury.*

Introducción

La vitamina D juega un papel importante en el metabolismo mineral óseo ya que interviene en la regulación de los niveles de calcio y fósforo, y su deficiencia puede ser un factor etiopatogénico de la osteoporosis. Sin embargo, en los últimos años hay claras evidencias que otorgan a la acción de la vitamina D efectos extraóseos de gran relevancia y que alteran fundamentalmente la función músculo-esquelética. Estudios recientes han publicado que la vitamina D ejerce efectos sobre el sistema inmunológico, previene patologías, tales como la arteriosclerosis¹, la hipertensión arterial², la resistencia a la insulina³ y la hiperglucemia⁴, además de relacionarse con la prevención de distintos tipos de cáncer⁵⁻⁷.

Los niveles séricos de vitamina D constituyen un importante factor de riesgo en la disminución de la masa ósea y en el incremento del riesgo de fracturas en estos pacientes. Se han publicado algunos estudios que demuestran niveles deficientes de vitamina D en los pacientes con lesión medular, estimándose que la prevalencia del déficit está entre el 30 y el 32%^{8,9}.

La medida de los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (25HCC) es la forma universalmente aceptada como indicador de las reservas de vitamina D¹⁰. No existe un consenso unánime sobre los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D mínimos a recomendar para asegurar la salud ósea en la población general, y aún menos en los pacien-

tes lesionados medulares. Sin embargo, se tiende a aceptar que, idealmente, esto niveles deberían ser como mínimo de 30 ng/ml¹¹.

Los pacientes con lesión medular suelen presentar osteoporosis secundaria a la inmovilización y fracturas, sobre todo en las extremidades inferiores. El papel añadido que pueda tener la deficiencia de vitamina D en su etiopatogenia no ha sido determinado. Por ello, hemos efectuado este estudio en una población de pacientes con lesión medular controlados en la Unidad de Lesionados Medulares del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil de Gran Canaria.

Pacientes y métodos

Se trata de un estudio observacional y transversal realizado en 104 pacientes que estuvieron ingresados en la Unidad de Lesionados Medulares del Hospital Insular de Gran Canaria y que fueron atendidos, bien como primera visita o como revisión, a lo largo del año 2012. Como criterio de inclusión en el estudio se exigió la existencia de lesión medular irreversible. Los pacientes fueron informados de los objetivos del estudio, y para participar firmaron previamente un consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos del Hospital Universitario Insular.

En todos los casos aplicamos el protocolo clínico de estudio y seguimiento de los pacientes con lesión medular, que incluía historia clínica,

exploración física, parámetros bioquímicos (Hemoglobina, glucosa, urea, creatinina, calcio, fósforo, proteínas totales, perfil lipídico, fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR), PTH, 25-hidroxivitamina D, beta-*crosslaps*, osteocalcina y pro péptido amino-terminal del colágeno tipo 1 -P1NP-).

La sangre se extrajo en ayunas, con la menor compresión posible y los parámetros bioquímicos generales (Hemoglobina, glucosa, urea, creatinina, calcio, fósforo, proteínas totales, perfil lipídico) fueron medidos con un autoanализador; la FATR por espectrofotometría; y la PTH, la 25HCC, el beta-*crosslaps*, la osteocalcina y el P1NP por electroinmunoquimioluminiscencia (EIQL). El período de recogida de las muestras se extendió desde marzo a mayo de 2012.

Se consideraron niveles de normalidad de vitamina D los valores séricos de 25-HCC superiores a 30 ng/ml; insuficiencia, aquéllos entre 20-30 ng/ml; y deficiencia, las cifras inferiores a 20 ng/ml, de acuerdo con el documento de posición de la International Osteoporosis Foundation (IOF)¹² En cuanto a la PTH, se consideraron valores de normalidad <88 ng/ml, tal como establece el laboratorio, y las cifras superiores a ésta indicativas de un hiperparatiroidismo secundario.

Se realizó una estadística descriptiva de los datos basales de las variables de estudio. Para ello, calculamos las frecuencias absolutas y relativas en el caso de las variables cualitativas. En las variables cuantitativas, las describimos resumidas mediante media ± desviación estándar o percentiles con mediana de rango intercuartílico, respectivamente, según siguieran o no una distribución normal, tras someterlas al test de Kolmogorov-Smirnov.

Resultados

En la tabla 1 mostramos las características de la población estudiada. Los 104 pacientes con lesión medular tenía una edad media de 43,4 años, y de ellos el 74% eran hombres. El 86,5% de los pacientes habían tenido una lesión de origen traumática. El 40% eran tetrapléjicos. El tiempo medio desde la producción de la lesión hasta la fecha del estudio fue de 8 años.

En la tabla 2 se muestran los datos de algunos valores analíticos, como la función renal y los lípidos (colesterol total, triglicéridos y HDL-colesterol). Los valores medios de estos parámetros estaban dentro de la normalidad.

En la tabla 3 mostramos los datos analíticos relacionados con el metabolismo óseo. Los valores medios de 25HCC fue globalmente de 20,1 ± 11,6

Tabla 1. Características basales de la población estudiada

Variable	Valor	Porcentaje (%)
Número	104	100
Hombres	77	74
Mujeres	27	26
<i>Causa de la lesión medular</i>		
Traumática	90	86,5
No traumática	14	13,5
<i>Nivel de lesión medular</i>		
Tetrapleja	41	39,4
Parapleja	63	60,6
<i>Estado funcional (Escala de Asia)</i>		
1 (Lesión completa)	56	53,8
2 (Lesión incompleta)	48	46,2

Tabla 2. Datos bioquímicos de funciones renal y tiroidea y lípidos. (Media ± desviación típica)

Variable (Unidades)	Valor obtenido	Valores de referencia
TSH (UI/l)	1,8 ± 1,1	0,5 - 5
Urea (mg/dl)	29,2 ± 8,8	15 - 45
Creatinina	0,8 ± 0,2	0,8 - 1,4
Colesterol (mg/dl)	191,1 ± 44,1	120 - 220
Triglicéridos (mg/dl)	178,8 ± 9,5	30 - 200
HDL-Colesterol (mg/dl)	47,1 ± 21,5	35 - 65

ng/ml, siendo de 20,1 ± 11 ng/ml en los hombres y de 19,9 ± 13,5 ng/ml en las mujeres (p=0,919). Según los parámetros de normalidad establecidos, el 84,6% de los lesionados medulares tenían unos valores séricos de 25-hidroxivitamina D inferiores a 30 ng/ml, y el 62,5% de ellos, valores inferiores a 20 ng/ml. La prevalencia de insuficiencia de vitamina D fue similar en ambos sexos (Tabla 4).

El análisis en función de la edad, con el límite establecido en 50 años, demostró que los pacientes menores de 50 años tenían mayor porcentaje de déficit de vitamina D (66,6%) respecto a los mayores de 50 años (53,1%). Sin embargo, entre los mayores de 50 años había un porcentaje mayor de pacientes con rangos insuficientes de vitamina D (37,5%).

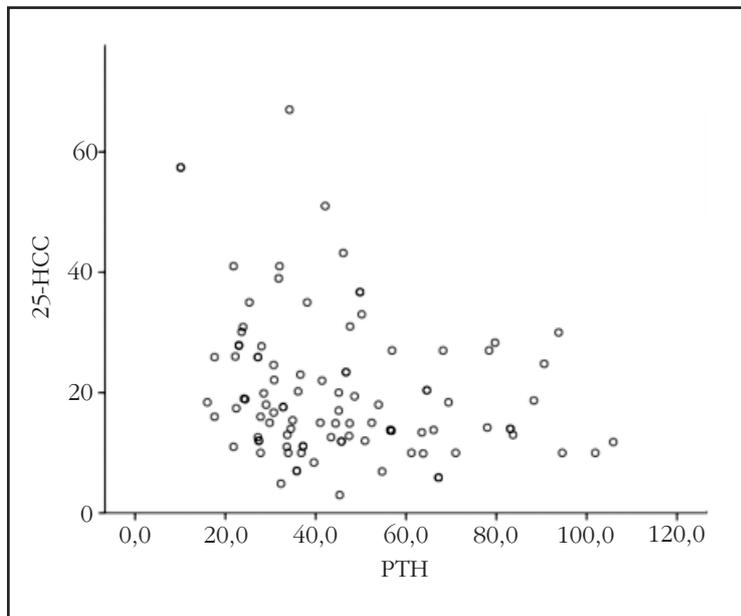
Cuando realizamos la comparación de los valores de 25HCC en función del nivel de lesión medular, observamos que los pacientes parapléjicos tenían unos valores indicativos de déficit de vitamina D superiores a los tetrapléjicos (69% vs. 61,2%, respectivamente).

Tabla 3. Datos bioquímicos relacionados con el metabolismo mineral óseo (Media \pm desviación típica)

Variable (Unidades)	Valor obtenido	Valores de referencia
Calcio (mg/dl)	9,6 \pm 0,4	8,8 - 10,4
Fósforo (mg/dl)	3,3 \pm 0,5	3,3 - 5
Proteínas totales (g/l)	7,1 \pm 0,4	6,2 - 8
Calcio corregido (mg/dl)	9,7 \pm 0,4	8,8 - 10,4
Osteocalcina (ng/ml)	20,2 \pm 9	14 - 46
FATR (UI/l)	2,3 \pm 0,6	0,1 - 3,9
Beta-crosslaps (ng/ml)	0,3 \pm 0,2	0 - 0,5
P1NP (ng/ml)	43,3 \pm 23,7	<36,4
PTH (pg/ml)	45,2 \pm 21,1	15 - 88
25-HCC (ng/ml)	20,1 \pm 11,6	>30

FATR: fosfatasa ácida tartrato resistente; P1NP: péptido amino-terminal del colágeno tipo 1; PTH: parathormona; 25-HCC: 25-hidroxivitamina D.

Figura 1. Correlación entre los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D y PTH en pacientes con lesión medular. (R= - 0,262; p=0,007)



En cuanto al otro parámetro estudiado, la PTH, se encontró una prevalencia de hiperparatiroidismo secundario del 5,8%. Obtuvimos una correlación inversa, estadísticamente significativa, entre los niveles de PTH y los de 25HCC ($r = -0,262$; $p = 0,007$) (Figura 1).

Discusión

Los pacientes con lesión medular crónica tienen una mayor prevalencia de fracturas por fragilidad, sobre todo de huesos largos, debido fundamental-

mente a la disminución de movilidad, aunque pueden existir otros mecanismos que contribuyan, como la hipovitaminosis D.

De hecho, algunos estudios realizados previamente, describen la existencia de hipovitaminosis D en los pacientes afectados de lesión medular. Así, en un grupo de 100 militares con esta patología, estudiados en un Hospital de Veteranos de Nueva York, Baumann y cols. hallaron una deficiencia de vitamina D en el 32% de pacientes afectados tanto de paraplejía como de tetraplejía. Eran pacientes de ambos sexos, con una edad media de 51 años y un promedio de 20 años después de la lesión medular aguda. El umbral escogido por los autores para establecer la deficiencia fue de 16 ng/ml, valor muy inferior al actualmente recomendado de 30 ng/ml, por lo que de aplicar el mismo punto de corte, la prevalencia de insuficiencia de vitamina D sería aún mucho más elevada. De manera similar, Hummel y cols., en 62 pacientes con lesión medular de ambos sexos, encontraron una hipovitaminosis D en el 39% de los casos⁸, estableciendo el umbral de deficiencia en 75 nmol/L de 25HCC (que equivalen a 30 ng/ml) que es precisamente la cifra aceptada para establecer la insuficiencia de vitamina D en la actualidad¹³.

En nuestro estudio hemos aplicado este punto de corte, 30 ng/ml de 25-hidroxivitamina D que establece la insuficiencia de vitamina D a aquellos valores inferiores a 30 ng/ml de 25-hidroxivitamina D y la deficiencia a aquellos inferiores de 20 ng/ml. Estos puntos de corte, han sido sugeridos por varios autores¹⁴⁻¹⁷ y por la IOF en su documento de posición¹². Aceptando los mismos, se ha descrito en España una elevada prevalencia de hipovitaminosis D, tanto en la población general como en ancianos^{18,19} y más específicamente en diversas patologías²⁰⁻²².

Es conocido que niveles bajos de vitamina D favorecen el desarrollo de un hiperparatiroidismo secundario^{13,18}. En nuestros pacientes encontramos una correlación negativa o inversa entre los niveles de PTH y los de 25-hidroxivitamina D, que aún siendo estadísticamente significativa, consideramos débil ($r = 0,262$). No todos los pacientes con bajos niveles de vitamina D tenían un hiperparatiroidismo secundario, lo que sugiere que existen otros factores que pueden condicionar su presentación.

Tabla 4. Prevalencia de normalidad, insuficiencia y deficiencia de vitamina D en pacientes con lesión medular, en función del sexo

		Normal (>30 ng/ml)	Insuficiencia (20-30 ng/ml)	Deficiencia (<20 ng/ml)	Total
Hombres	Número	4	6	17	27
	% del total	3,8	26,1	26,2	26
Mujeres	Número	12	17	48	77
	% del total	11,5	16,3	46,2	74
Total	Número	16	23	65	104
	% del total	15,4	22,1	62,5	100

Los pacientes tenían una función renal normal, estimada por la determinación de creatinina y urea séricas y los valores séricos de TSH también estaban dentro de la normalidad.

Los marcadores de remodelado se encontraban dentro de los límites establecidos como normales por nuestro laboratorio y que se muestran en la tabla 3. Cabría esperar un aumento de los marcadores de resorción, pues se ha descrito tanto en humanos como en animales un incremento de la destrucción ósea en la inmovilización²³⁻²⁵, que no hemos encontrado. Posiblemente ello se haya debido al largo tiempo de evolución de nuestros pacientes con lesión medular, pues el incremento de la resorción y la pérdida de la masa ósea se produce en las primeras semanas tras la lesión²⁶.

Una de las limitaciones de nuestro estudio es haber efectuado la determinación de 25HCC por medio de IQL. Es bien sabido que el patrón de referencia para la medida de la vitamina D es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC)²⁷, a la cual no tenemos acceso en nuestra Unidad. Otra limitación es haber efectuado exclusivamente un estudio descriptivo sin utilizar un grupo control con el que comparar los resultados, pero debe tenerse en cuenta que los niveles escogidos para establecer la insuficiencia y deficiencia ya están prácticamente consensuados (30 ng/ml y 20 ng/ml de 25HCC, respectivamente)^{11-15,17,20} así como el límite superior de PTH, que está establecido como normal en 88 ng/ml en nuestro laboratorio por medio de otros estudios²⁸⁻³¹. Por el contrario, una de las fortalezas del estudio radica en el tamaño muestral, de 108 pacientes con lesión medular, el más alto recogido en la literatura que hemos podido consultar sobre este tema.

En conclusión, una elevada proporción de pacientes con lesión medular crónica presentan unos niveles séricos de 25-hidroxivitamina D que pueden considerarse como "insuficientes", por lo que creemos que es necesario generalizar el estudio de los niveles de vitamina D en estos pacientes, para detectar y corregir las deficiencias cuando se objetiven; aunque debemos plantearnos si los suplementos de vitamina D realmente reducen el riesgo de osteoporosis y de fractura, lo cual puede ser el objetivo de otros estudios.

Bibliografía

1. Chua GT, Chan YC, Cheng SW. Vitamin D status and peripheral arterial disease: evidence so far. *Vasc Health Risk Manag* 2011;7:671-5.
2. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW, Nachtigall D, Hansen C. Effects of a short-term vitamin D(3) and calcium supplementation on blood pressure and parathyroid hormone levels in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1633-7.
3. Boucher BJ, John WG, Noonan K. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1666.
4. Jódar-Gimeno E, Muñoz-Torres M. Vitamin D hormone system and diabetes mellitus: lessons from selective activators of vitamin D receptor and diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr* 2013;60:87-95.
5. Cheung FS, Lovicu FJ, Reichardt JK. Current progress in using vitamin D and its analogs for cancer prevention and treatment. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012;12:811-37.
6. Cutolo M. The challenges of using vitamin D in cancer prevention and prognosis. *Isr Med Assoc J* 2012;14:637-9.
7. Krishnan AV, Trump DL, Johnson CS, Feldman D. The role of vitamin D in cancer prevention and treatment. *Rheum Dis Clin North Am* 2012;38:161-78.
8. Hummel K, Craven BC, Giangregorio L. Serum 25(OH)D, PTH and correlates of suboptimal 25(OH)D levels in persons with chronic spinal cord injury. *Spinal Cord* 2012;50:812-6.
9. Bauman WA, Zhong YG, Schwartz E. Vitamin D deficiency in veterans with chronic spinal cord injury. *Metabolism* 1995;44:1612-6.
10. Scharla S. Diagnosis of disorders of vitamin D-metabolism and osteomalacia. *Clin Lab* 2008;54:451-9.
11. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-30.
12. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int* 2010;21:1151-4.
13. Gómez Alonso C, Naves Díaz M, Rodríguez García M, Fernández Martín JL, Cannata Andía JB. Revisión del concepto de "suficiencia e insuficiencia" de vitamina D. *Nefrología* 2003;23 Suppl 2:73-7.
14. Heaney RP. Optimal vitamin D status. *J Bone Miner Res* 2009;24:755.
15. Holick MF. Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis. *Drugs Aging* 2007;24:1017-29.
16. Vieth R. What is the optimal vitamin D status for health? *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:26-32.

17. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005;16:713-6.
18. Quesada JM, Coopmans W, Ruiz B, Aljama P, Jans I, Bouillon R. Influence of vitamin D on parathyroid function in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:494-501.
19. Quesada JM, Jans I, Benito P, Jiménez JA, Bouillon R. Vitamin D status of elderly people in Spain. *Age Ageing* 1989;18:392-7.
20. González-Molero I, Morcillo S, Valdés S, Pérez-Valero V, Botas P, Delgado E, et al. Vitamin D deficiency in Spain: a population-based cohort study. *Eur J Clin Nutr* 2011;65:321-8.
21. López-Robles C, Ríos-Fernández R, Callejas-Rubio JL, Ortego-Centeno N. Vitamin D deficiency in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus from the South of Spain. *Lupus* 2011;20:330-1.
22. Ríos Fernández R, Fernández Roldán C, Callejas Rubio JL, Ortego Centeno N. Vitamin D deficiency in a cohort of patients with systemic scleroderma from the south of Spain. *J Rheumatol* 2010;37:1355.
23. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiafico RA, et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2248-53.
24. Wang PL, Meyer MM, Orloff SL, Anderson S. Bone resorption and "relative" immobilization hypercalcemia with prolonged continuous renal replacement therapy and citrate anticoagulation. *Am J Kidney Dis* 2004;44:1110-4.
25. Yeh JK, Liu CC, Aloia JF. Effects of exercise and immobilization on bone formation and resorption in young rats. *Am J Physiol* 1993;264(2 Pt 1):E182-9.
26. Kim CS, Maekawa Y, Fujita M, Sato N, Nishimuta M, Ishizaki Y, et al. Immobilization on the day 14th does not disrupts the basic diurnal rhythm of bone resorption. *J Gravit Physiol* 2000;7:P125-6.
27. Luque de Castro MD, Fernández-Romero JM, Ortiz-Boyer F, Quesada JM. Determination of vitamin D3 metabolites: state-of-the-art and trends. *J Pharm Biomed Anal* 1999;20:1-17.
28. Sosa M, Jódar E, Arbelo E, Domínguez C, Saavedra P, Torres A, et al. Bone mass, bone turnover, vitamin D, and estrogen receptor gene polymorphisms in male to female transsexuals: effects of estrogenic treatment on bone metabolism of the male. *J Clin Densitom* 2003;6:297-304.
29. Sosa M, Jódar E, Saavedra P, Navarro MC, Gómez de Tejada MJ, Martín A, et al. Postmenopausal Canarian women receiving oral glucocorticoids have an increased prevalence of vertebral fractures and low values of bone mineral density measured by quantitative computer tomography and dual X-ray absorptiometry, without significant changes in parathyroid hormone. *Eur J Intern Med* 2008;19:51-6.
30. Del Carmen Navarro M, Saavedra P, Jódar E, de Tejada MJ, Mirallave A, Sosa M. Osteoporosis and metabolic syndrome according to socio-economic status; contribution of PTH, Vitamin D and body weight: The Canarian Osteoporosis Poverty Study (COPS). *Clin Endocrinol* 2013;78:681-6.
31. González-Padilla E, Soria López A, González-Rodríguez E, García-Santana S, Mirallave-Pescador A, Groba Marco M del V, et al. Elevada prevalencia de hipovitaminosis D en estudiantes de Medicina en Gran Canaria, Islas Canarias (España). *Endocrinol Nutr* 2011;58:267-73.

Martínez-Laguna D^{1,2}, Nogués-Solán X^{2,3}, Díez-Pérez A³, Soria-Castro A^{1,2}, Carbonell-Abella C^{1,2}, Arias-Moliz I¹, Estrada-Laza P¹, Prieto-Alhambra D^{1,2,3,4}

1 Atención Primaria Barcelona Ciudad - Instituto Catalán de la Salud

2 Grupo de Investigación GREMPAL - IDIAP Jordi Gol - Universidad Autónoma de Barcelona

3 URFOA y Departamento Medicina Interna - Parque de Salud MAR - RETICEF

4 Departamento de Ortopedia - Reumatología y Ciencias Musculoesqueléticas de Nuffield - Universidad de Oxford (Reino Unido)

Riesgo de fractura asociado a los estadios previos al diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2: Estudio de casos-contróles anidados (cohorte DIAFOS)

Correspondencia: Daniel Martínez Laguna - c/Fluvià, 211 - 08020 Barcelona (España)

Correo electrónico: 34859dml@comb.cat

Fecha de recepción: 14/02/2013

Fecha de aceptación: 26/03/2013

Trabajo becado con la Beca de Investigación Clínica FEIOMM 2011.

Premio Italfármaco a las Mejores Comunicaciones Orales del XVII Congreso de la SEIOMM (Cuenca, 2012).

Resumen

Fundamento: En fases previas al diagnóstico de diabetes *mellitus* tipo 2 existe riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular, pero se desconoce si esto sucede en lo relativo al riesgo de fracturas.

Objetivo: Comparar la prevalencia de fractura en casos incidentes de diabetes *mellitus* y en controles apareados.

Material y método: Estudio de casos-contróles anidados en una cohorte de base poblacional. Se incluyó a todos los pacientes diabéticos tipo 2 diagnosticados en el periodo 2006-2011 y, por cada uno, a dos sujetos controles sin diabetes de igual edad, género y centro de salud. Se identificaron en ellos fracturas, accidentes cerebro-vascular y cardiopatía isquémica prevalentes utilizando códigos CIE10. Se calculó la prevalencia de fracturas osteoporóticas, mayores y de cadera, y de enfermedad cardiovascular en el momento del diagnóstico para los sujetos diabéticos, y en esa misma fecha índice para los controles apareados. Mediante regresión logística condicional se calcularon las *odds ratios* (OR) ajustadas por índice masa corporal, tabaquismo, enolismo, uso de estatinas, enfermedad cardiovascular y complicaciones diabéticas.

Resultados: Se identificaron 58.931 pacientes diabéticos y 117.862 controles. En la fecha del diagnóstico, los pacientes diabéticos presentaban mayor prevalencia de accidente cerebro-vascular (4,9% *vs.* 3,5%; $p < 0,001$) y de cardiopatía isquémica (8,1% *vs.* 4,7%; $p < 0,001$). Por el contrario, la prevalencia de fractura osteoporótica (2,8% *vs.* 2,7%; $p = 0,22$), fractura de cadera (0,4% *vs.* 0,4%; $p = 0,63$) y fractura mayor (1,5% *vs.* 1,5%; $p = 0,97$) fue similar en ambos grupos. Las OR ajustadas fueron: 1,02 (IC 95%: 0,96-1,09), 1,08 (IC 95%: 0,90-1,28), y 0,99 (IC 95%: 0,91-1,09), respectivamente.

Conclusiones: Los pacientes diabéticos tipo 2 presentan mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular en el momento del diagnóstico. Sin embargo, su riesgo de fractura es similar al de los sujetos controles no diabéticos.

Palabras clave: diabetes *mellitus* tipo 2, fracturas osteoporóticas, enfermedad cardiovascular, prevalencia.

Risk of fracture associated with stages prior to a diagnosis of diabetes mellitus type 2: nested case-control study (DIAFOS cohort)

Summary

Background: In phases prior to the diagnosis of diabetes mellitus type 2 there is an increased risk of cardiovascular disease, but it is not known if this is the case in relation to the risk of fractures.

Objective: To compare the prevalence of fracture in cases of diabetes mellitus and in matched controls.

Material and method: Nested case-control study in a population-based cohort. All patients diagnosed with type 2 diabetes in the period 2006-2011 were included, as were, for each of these patients, two control subjects of the same age, gender, and from the same medical centre, without diabetes. Any fractures, cerebro-vascular accidents and ischemic cardiopathy prevalent in these patients were identified using ICD codes 10. The prevalence of osteoporotic, major and hip fractures, and of cardiovascular disease at the time of diagnosis for the diabetic subjects, and on the same date for the matched controls, were calculated. Using conditional logistical regression the odds ratios (OR) were calculated, adjusting for body mass index, smoking, alcoholism, use of statins, cardiovascular disease and diabetic complications.

Results: 58,931 diabetic patients and 117,862 controls were identified. At the date of diagnosis the diabetic patients had a higher prevalence of cerebro-vascular accident (4.9% vs 3.5%; $p < 0.001$) and ischemic cardiopathy (8.1% vs 4.7%; $p < 0.001$). On the other hand, the prevalence of osteoporotic fracture (2.8% vs 2.7%; $p = 0.22$), hip fracture (0.4% vs 0.4%; $p = 0.63$) and major fracture (1.5% vs. 1.5%; $p = 0.97$) was similar in both groups. The adjusted ORs were: 1.2 (CI 95%: 0.96-1.09), 1.08 (CI 95%: 0.90-1.28), and 0.99 (CI 95%: 0.91-1.09), respectively.

Conclusions: The type 2 diabetic patients had a higher prevalence of cardiovascular disease at the time of diagnosis. However, their risk of fracture was similar to the non-diabetic control subjects.

Key words: *diabetes mellitus type 2, osteoporotic fractures, cardiovascular disease, prevalence.*

Introducción

Diabetes *mellitus* y osteoporosis son dos enfermedades de elevada prevalencia en nuestro medio. Según las estimaciones de la *International Diabetes Federation*, cerca de 245 millones de personas en el año 2006 padecían diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2)¹. La prevalencia de DM2 en adultos en España oscila entre el 12 y el 15%². De forma similar la prevalencia global de osteoporosis en nuestro medio es del 12,73% en mujeres y del 4,15% en hombres³.

Si bien la relación entre diabetes *mellitus* y enfermedad cardiovascular es bien conocida, se dispone de menos datos sobre una posible relación entre DM2 y osteoporosis. Diferentes estudios epidemiológicos señalan un aumento de la masa ósea en pacientes diabéticos tipo 2 y, contrariamente a lo que sería de esperar, existe un aumento del riesgo de fractura tanto de fémur, como vertebral y otras localizaciones^{4,6}.

Según la historia natural de la DM2⁷, los pacientes pueden pasar una media de 5-10 años en unos estadios previos caracterizados por una alteración del metabolismo de los hidratos de carbono: la prediabetes. Se entiende por prediabetes aquellas situaciones intermedias entre la normalidad y la diabetes. Se pueden distinguir dos situaciones: la intolerancia a la glucosa (ITG), definida por la *American Diabetes Association* (ADA) como un valor de glucemia entre 140 y 199 mg/dl a las 2 horas de una prueba de tolerancia oral con 75 g de glucosa; y la glu-

cemia basal alterada (GBA), definida como una glucemia basal entre 100 y 125 mg/dl. Aunque no deben ser considerados como enfermedades, estos estadios pre-diabéticos se asocian a un aumento de la morbimortalidad cardiovascular⁸, que es mayor en pacientes con ITG que con GBA⁹. Se disponen de pocos datos sobre el riesgo de fractura en estos estadios; el estudio Rotterdam¹⁰ puso de manifiesto que los pacientes con ITG presentaban una disminución significativa del riesgo de fractura.

En consecuencia, se diseñó el presente estudio con el objetivo de analizar la prevalencia de fracturas en el momento del diagnóstico de DM2 en una cohorte de base poblacional.

Material y método

Se trata de un estudio de casos-contrroles anidados en una cohorte de base poblacional (cohorte DIAFOS). Los datos fueron obtenidos de la base de datos SIDIAP, que contiene la información clínica registrada por los médicos de Atención Primaria que trabajan en el Instituto Catalán de la Salud (ICS), principal proveedor de servicios sanitarios en Cataluña, así como los datos de facturación de farmacia, resultados analíticos de los laboratorios de referencia e informes de los hospitales del sistema público. Dicha base de datos dispone de información de aproximadamente 5,8 millones de pacientes (aproximadamente un 80% de la población catalana). Después de un control de calidad,

Tabla 1. Características basales de los pacientes con DM2 (casos) y de los pacientes sin DM2 (controles)

	Casos DM2	Controles apareados	P
Número de pacientes	58.931	117.862	
Edad en años. Media (DE)	62,79 (11,97)	62,80 (11,97)	0,896
Hombres. N (%)	33.362 (56,6%)	66.724 (56,6%)	1
Mujeres. N (%)	25.569 (43,4%)	51.138 (43,4%)	1
Pacientes con sobrepeso. N (%)	19.169 (32,5%)	31.962 (27,1%)	<0,0001
Pacientes con obesidad. N (%)	26.472 (44,9%)	23.673 (20,1%)	<0,0001
Pacientes con consumo alcohol moderado o de riesgo. N (%)	19.651 (33,3%)	28.298 (24%)	<0,0001
Fumadores activos. N (%)	10.228 (17,3%)	17.342 (14,7%)	<0,0001
Pacientes con cataratas previas. N (%)	3.849 (6,5%)	7.333 (6,2%)	0,012
Pacientes con nefropatía previa. N (%)	6.546 (11,1%)	9.469 (8,03%)	<0,0001
Pacientes con neuropatía diabética previa. N (%)	295 (0,5%)	128 (0,1%)	<0,0001
Pacientes que reciben estatinas. N (%)	26.071 (44,2%)	29.535 (25,1%)	<0,0001

se dispone de información de casi 5 millones de personas, representativas a nivel demográfico de esta población. La calidad de la información que contiene SIDIAP ha sido validada¹¹; estudios previos validan los registros de incidencia de fractura en comparación a cohortes clásicas¹² y los datos relacionados con el registro de DM2¹³.

Del total de pacientes incluidos en SIDIAP, se identificaron aquéllos que presentan un diagnóstico de DM2 incidente en el periodo comprendido entre el 01/01/2006 y el 31/12/2011 (incluidos como casos) usando códigos CIE10. Del total de participantes SIDIAP libres de diabetes (tipo 1 y 2) se seleccionaron dos controles al azar por cada caso apareados por año de nacimiento, sexo y centro de salud.

Se recogió información sobre variables descriptivas: edad, sexo, índice de masa corporal, presencia de complicaciones asociadas a la diabetes *mellitus* (cataratas, nefropatía y neuropatía diabéticas), tabaquismo (fumador, no fumador y ex fumador), consumo de alcohol (medido por unidades de consumo a la semana y clasificado en: consumo de bajo riesgo, cuando el consumo en hombres es inferior a 17 unidades o en mujeres a 11; consumo moderado, cuando en hombres está entre 17 y 28 unidades o en mujeres entre 11 y 17; y consumo de riesgo, cuando en hombres es superior a 28 unidades o en mujeres a 17) y uso de estatinas (códigos ATC C10AA01 a C10AA08). Se identificó la presencia de cardiopatía isquémica (angina estable, angina inestable o infarto de miocardio) y enfermedad cerebro-vascular (infarto cerebral o accidente isquémico transitorio) en el momento del diagnóstico de DM2 utilizando códigos CIE10. También se recogieron todas las fracturas clínicas registradas en la historia clínica informatizada previas al diagnóstico de diabetes *mellitus* mediante revisión de códigos CIE10; la base de datos SIDIAP

no contiene información de pruebas de imagen, motivo por el cual no se han podido confirmar radiológicamente las fracturas. Se distinguieron tres subtipos de fractura: fracturas osteoporóticas (cualquier localización excepto dedos manos y pies, cara o cráneo); fracturas mayores según FRAX^{®14} (cadera, muñeca, antebrazo, húmero y vertebral) y fractura de cadera.

Análisis estadístico

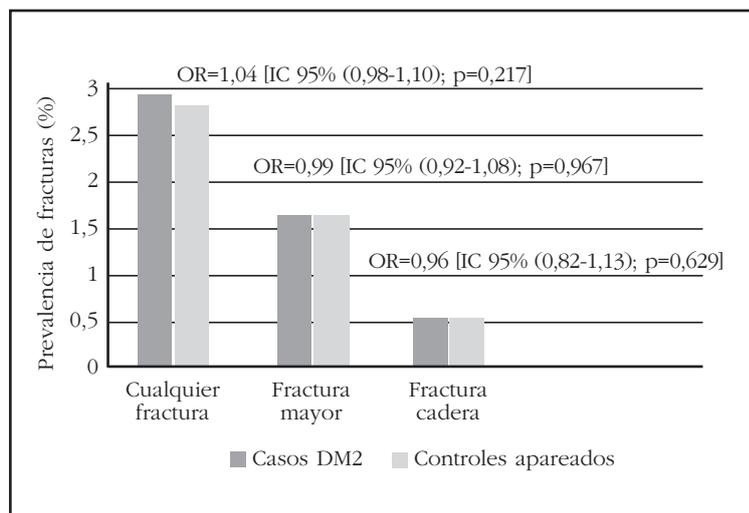
Las características de la población estudiada se describen mediante análisis descriptivo univariante, calculando media y desviación estándar para variables continuas y frecuencia absoluta y porcentaje para variables categóricas. Para comparar las prevalencias de enfermedad cardiovascular y de fracturas en ambos grupos se utilizó la prueba de Chi cuadrado. Mediante regresión logística condicional se calcularon las *odds ratios* no ajustadas para enfermedad cardiovascular y fracturas, y se ajustaron por los siguientes factores de confusión, definidos *a priori* según literatura disponible y plausibilidad biológica: índice de masa corporal, tabaquismo, enolismo, uso de estatinas, enfermedad cardiovascular, cataratas, nefropatía y neuropatía diabéticas. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un intervalo de confianza (IC) del 95% y suponiendo un contraste bilateral.

La base de datos SIDIAP proporcionó datos puramente observacionales para este estudio. Los datos de SIDIAP son totalmente anónimos e identificados por un código interno que se crea en el momento de la incorporación de los datos, hecho que imposibilita la identificación de los sujetos incluidos. Se obtuvo la aprobación del Comité Ético de Investigaciones Clínicas local (CEIC IDIAP Jordi Gol).

Tabla 2. Prevalencia de fracturas previas agrupadas en pacientes con DM2 y en pacientes sin DM2

	Casos DM2	Controles apareados	P
Fracturas osteoporóticas			
Número de pacientes	1.654	3.192	
Prevalencia	2,8%	2,7%	0,224
Fracturas mayores			
Número de pacientes	891	1.785	
Prevalencia	1,5%	1,5%	0,967
Fracturas de cadera			
Número de pacientes	232	482	
Prevalencia	0,4%	0,4%	0,633

Figura 1. Riesgo de presentar una fractura en el momento del diagnóstico de la DM2 (ORs no ajustados) según la localización de la fractura



Resultados

58.931 pacientes fueron diagnosticados de DM2 entre 01/01/2006 y el 31/12/2011 (casos); y se seleccionaron 117.862 controles apareados. En la Tabla 1 se describen las características basales de ambas cohortes, siendo, como era de esperar, edad y sexo similares, pero hubo una mayor proporción de pacientes con sobrepeso u obesidad, fumadores y que recibían estatinas entre los diabéticos.

En relación a la presencia de enfermedad cardiovascular en el momento del diagnóstico, 4.799 (8,1%) casos y 5.535 (4,7%) controles presentaban cardiopatía isquémica previa a la fecha índice ($p < 0,0001$); y 2.895 (4,9%) y 4.125 (3,5%), respectivamente, presentaban enfermedad cerebro-vascular ($p < 0,0001$). Las OR correspondientes fueron: 1,79 (IC 95%: 1,73-1,87; $p < 0,0001$) para cardiopatía isquémica y 1,42 (IC 95%: 1,36-1,49; $p < 0,0001$) para enfermedad cerebro-vascular.

La prevalencia de fracturas osteoporóticas, mayores y de cadera, fue similar y sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2). Los pacientes DM2 presentaban en el momento del diagnóstico un riesgo similar de fractura que los controles no diabéticos (Figura 1). Las OR ajustadas fueron: para fracturas osteoporóticas, 1,02 (IC 95%: 0,96-1,09; $p = 0,46$); para fracturas mayores, 0,99 (IC 95%: 0,91-1,09; $p = 0,93$); y para fractura de cadera, 1,08 (IC 95%: 0,90-1,28; $p = 0,39$).

Analizando por subgrupos de pacientes según la exposición al tabaco, el uso de estatinas o el grado de control de la DM2 de partida (definido por una HbA1c $< 7\%$ ó $\geq 7\%$) no se observan diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de fracturas osteoporóticas, mayores o de cadera (Tabla 3). Los

pacientes con una HbA1c inicial por encima de 7% presentaron un riesgo de fractura de fémur muy próximo a la significación estadística (OR ajustada = 1,30; IC 95%: 0,96-1,75; $p = 0,09$).

Discusión

Los pacientes DM2 tienen un incremento del riesgo de alrededor el 70% y 40% de cardiopatía isquémica y enfermedad cerebro-vascular respectivamente, comparados con los controles apareados. Un reciente metanálisis¹⁵ de pacientes con prediabetes (incluye pacientes con ITG y GBA) concluye que éstos presentan un incremento de un 26% de enfermedad cerebro-vascular (RR=1,26; IC 95%: 1,10-1,41; $p < 0,001$). Un estudio en pacientes con GBA¹⁶, según criterios de la ADA (*American Diabetes Association*), encuentra un aumento del riesgo del 70% de cardiopatía isquémica en mujeres (OR=1,70; IC 95%: 1,0-3,0; $p = 0,049$).

Tabla 3. Análisis del riesgo de fractura osteoporótica, mayor y de cadera, por subgrupos: exposición a tabaco, uso de estatinas y grado de control metabólico inicial

	OR ajustada [IC 95%]; p-valor	
	HbA1c basal <7%	HbA1c basal ≥7%
Fractura osteoporótica	1,02 [0,94-1,10]; p=0,71	1,01 [0,90-1,14]; p=0,83
Fractura mayor	0,98 [0,94-1,10]; p=0,71	1,01 [0,86-1,18]; p=0,91
Fractura de cadera	0,97 [0,79-1,20]; p=0,77	1,30 [0,96-1,75]; p=0,09
	Nunca fumador	Fumador/Ex fumador
Fractura osteoporótica	1,00 [0,93-1,09]; p=0,91	0,94 [0,76-1,17]; p=0,59
Fractura mayor	0,98 [0,89-1,09]; p=0,72	0,93 [0,67-1,28]; p=0,66
Fractura de cadera	1,06 [0,88-1,28]; p=0,53	0,81 [0,31-2,11]; p=0,67
	No terapia previa con estatinas	Terapia previa con estatinas
Fractura osteoporótica	1,08 [0,97-1,20]; p=0,16	0,98 [0,86-1,12]; p=0,81
Fractura mayor	1,05 [0,91-1,20]; p=0,54	0,99 [0,83-1,19]; p=0,93
Fractura de cadera	1,16 [0,88-1,52]; p=0,29	1,15 [0,77-1,71]; p=0,50

Sin embargo, según los resultados de nuestro estudio, los pacientes DM2 no presentan una mayor probabilidad de padecer una fractura (osteoporótica, fractura mayor o de cadera) que el resto de la población en el momento del diagnóstico de la diabetes. Esto sugiere que el incremento de riesgo asociado a la DM2 no aparece en las fases iniciales de la enfermedad, sino con la evolución de la enfermedad.

El mecanismo por el que la DM2 favorece la aparición de fracturas no está claramente definido, si bien se han descrito diferentes sustancias que tienen un papel crucial en la patogenia de esta asociación¹⁷⁻¹⁸. Al realizar un análisis por subgrupos hemos observado que en los pacientes con HbA1c inicial por encima de 7% presentaban un riesgo de fractura de cadera al límite de la significación estadística. Estudios previos¹⁸ ponen de manifiesto que un grado de control metabólico deficiente se asocia a unos niveles superiores de esclerostina, provocando un aumento del riesgo de fracturas. Además, los niveles altos de glucosa conducen a una acumulación de productos de degradación en la matriz ósea, lo que origina un hueso biomecánicamente menos resistente¹⁹. Si bien nuestro estudio no dispone de datos sobre estas sustancias, el no haber encontrado una mayor incidencia de fracturas en el momento del diagnóstico de DM2 podría apoyar esta hipótesis. La temporalidad entre la asociación entre diabetes y fractura será objeto de un nuevo estudio prospectivo en el seguimiento de la cohorte DIAFOS.

Como era de esperar, los pacientes DM2 en el momento del diagnóstico presentaban un riesgo aumentado de cardiopatía isquémica, así como de enfermedad cerebro-vascular, en comparación con la población general. Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que los pacientes

con intolerancia a la glucosa presentan una mayor morbi-mortalidad cardiovascular²⁰. Se han postulado diferentes mecanismos asociados a la hiperglucemia que favorecen la aterosclerosis entre ellos la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y la formación de productos de degradación²¹. Es de interés remarcar que en la población de pacientes DM2 de nuestro estudio, la proporción de pacientes con sobrepeso-obesidad y que ya reciben estatinas (indicador indirecto de la presencia de un trastorno del metabolismo de los lípidos) es superior que en los controles. Esto podría ser explicado por el hecho de que la obesidad y los trastornos del metabolismo de los lípidos favorecen la aparición de trastornos del metabolismo hidrocarbonado (glucemia basal alterada, intolerancia a la glucosa, diabetes o síndrome metabólico). Además, la presencia de una mayor proporción de fumadores activos entre los diabéticos tipo 2 podría aumentar tanto el riesgo de padecer un evento cardiovascular como el de fracturas. El uso de estatinas se ha asociado a una menor incidencia de fracturas osteoporóticas²², posiblemente debido a que interfieren la misma vía metabólica, la del mevalonato, sobre la que actúan también los bifosfonatos. También se ha demostrado un efecto directo *in vitro* de las estatinas en cultivos primarios de osteoblastos humanos²³. Sin embargo, sus efectos sobre el hueso son muy poco acusados y no explican, en nuestra opinión, la falta de diferencia en la incidencia de fracturas. En todo caso, nuestro análisis se ajustó por este posible factor de confusión.

Una de las limitaciones de nuestro estudio es que los datos provienen de la historia clínica informatizada y, a diferencia de los estudios clásicos de cohortes, pueden presentar un infrarregistro. Esto podría provocar un sesgo de clasificación aleato-

rio que podría ajustar a la baja la asociación entre factores predictores y el evento de interés. Efectivamente, el registro de fracturas en SIDIAP se ha validado en comparación con estudios de cohortes clásicas y bases de datos de alta hospitalaria, y los datos presentan una sensibilidad moderada (cerca del 70%) y una especificidad elevada (>95%)¹². Por el contrario, este estudio tiene importantes fortalezas, como son el elevado número de individuos, lo que permite detectar diferencias estadísticamente significativas aún en el caso de que sea muy limitadas. Por tanto, pensamos que la falta de aumento de fracturas en el momento del diagnóstico de DM2 es un dato consistente.

Conclusiones

La cohorte DIAFOS consta de una población de pacientes diagnosticados de novo de diabetes *mellitus* tipo 2 en la que se pretende analizar la asociación entre la diabetes y la presencia de fracturas. En este primer análisis, usando un diseño de casos-controles anidados dentro de esta cohorte, podemos concluir que los pacientes diabéticos en el momento del diagnóstico no presentan un mayor riesgo de padecer una fractura que la población general, de tal forma que parece ser que la prediabetes no provoca un aumento del riesgo de padecer fracturas, al contrario de lo que sucede con la enfermedad cardiovascular. Así pues, estos resultados no apoyan la necesidad de una valoración específica del riesgo de fracturas en los pacientes con diagnóstico reciente de DM2 más allá del habitual en la población general.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004;27:1047-53.
2. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulations in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia* 2012;55:88-93.
3. Díaz M, García JJ, Carrasco JL, Honorato J, Pérez R, Rapado A, et al. Prevalencia de la osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2011;116:86-8.
4. Janghorbani M, van Dam RM, Willet 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. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Kaji H, Sugimoto T. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J Bone Miner Res* 2009;24:702-9.
6. Khalil N, Sutton-Tyrrell K, Strotmeyer ES, Greendale GA, Vuga M, Selzer F, et al. Menopausal bone changes and incident fractures in diabetic women: a cohort study. *Osteoporos Int* 2011;22:1367-76.
7. David M, Nathan MD. Initial management of glycemia in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2002;347:1342-9.
8. Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident events. A meta-regression analysis of published data from 20 studies of 95783 individuals followed for 12.4 years. *Diabetes Care* 1999;22:233-40.
9. DECODE Study Group, the European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and cardiovascular mortality: comparison of fasting and 2-hour diagnostic criteria. *Arch Intern Med* 2001;161:397-405.
10. De Liefde II, van der Klift M, de Laet CE, van Daele PL, Hofman A, Pols HA. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam study. *Osteoporos Int* 2005;16:1713-20.
11. García-Gil M, Hermosilla E, Prieto-Alhambra D, Fina F, Rossell M, Ramos R, et al. Construction and Validation of a Scoring System for Selection of High Quality Data in a Spanish Population Primary Care Database (SIDIAP). *Inform Prim Care* 2011;19:135-45.
12. Pagès-Castellà A, Carbonell-Abella C, Fina Avilés F, Alzamora M, Baena-Díez JM, Martínez-Laguna D, et al. Burden of osteoporotic fractures in primary health care in Catalonia (Spain): a population-based study. *BMC Musculoskelet Disord* 2012;13:79.
13. Vinagre I, Mata-Cases M, Hermosilla E, Morros R, Fina Avilés F, Rosell M, et al. Control of glycemia and cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes in primary care in Catalonia (Spain). *Diabetes Care* 2012;35:774-9.
14. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008;19:385-97.
15. Lee M, Saver JL, Hong KS, Song S, Chang KH, Ovbiagele B. Effect of pre-diabetes on future risk of stroke: meta-analysis. *BMJ* 2012;334:e3564.
16. Levitzky YS, Pencina MJ, D'Agostino RB, Meigs JB, Murabito JM, Vasan RS, et al. Impact of impaired fasting glucose on cardiovascular disease: the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:264-70.
17. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Relationships between serum adiponectin levels versus bone mineral density, bone metabolic markers, and vertebral fractures in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2009;160:265-73.
18. García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:234-41.
19. Viguet-Carrin S, Roux JP, Arlot ME, Merabet Z, Leeming DJ, Byrjalsen I, et al. Contribution of the advanced glycation end product pentosidine and of maturation of type I collagen to compressive biomechanical properties of lumbar vertebrae. *Bone* 2006;39:1073-9.
20. The DECODE study group. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. European diabetes epidemiology group. *Diabetes epidemiology: collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe. Lancet* 1999;354:617-21.
21. Chu CS, Lee KT, Cheng KH, Lee MY, Kuo HF, Lin TH, et al. Postchallenge responses of nitrotyrosine and TNF-alpha during 75-g oral glucose tolerance test are associated with the presence of coronary artery diseases in patients with prediabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2012;11:21.
22. Toh S, Hernández-Díaz S. Statins and fracture risk. A systematic review. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007;16:627-40.
23. Ruiz-Gaspa S, Nogués X, Enjuanes A, Monllau JC, Blanch J, Carreras R, et al. Simvastatin and atorvastatin enhance gene expression of collagen type 1 and osteocalcin in primary human osteoblasts and MG-63 cultures. *J Cell Biochem* 2007;101:1430-8.

Luis-Ravelo D, Antón I, Vicent S, Zanduetta C, Martínez S, Valencia K, Ormazábal C, Lecanda F

Laboratorio de Adhesión y Metástasis - División de Oncología - Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA)-Universidad de Navarra - Pamplona

Efectos divergentes de la inhibición de TGF- β en metástasis óseas de cáncer de mama y pulmón

Correspondencia: Fernando Lecanda - Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA)-Universidad de Navarra - Avda. Pío XII, 55 - 31008 Pamplona (España)
Correo electrónico: flecanda@unav.es

Fecha de recepción: 27/02/2013

Fecha de aceptación: 29/04/2013

Trabajo becado por la SEIOMM para asistir al 33 Congreso de la ASBMR (Toronto, Canadá. 2010).

Resumen

Fundamento: El objetivo de este estudio radica en la determinación de la validez del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) como diana terapéutica en modelos de metástasis óseas derivadas de distintos tipos histopatológicos del cáncer de pulmón.

Material y métodos: Ratones inmunodeprimidos de 4 semanas de edad inoculados con líneas de cáncer de pulmón y de mama fueron tratados con péptido inhibidor de la citoquina, péptido control o placebo. Se tomaron semanalmente medidas de bioluminiscencia y microrradiografías para determinar el efecto del tratamiento sobre la carga tumoral presente en los huesos largos y las lesiones metastásicas en los mismos.

Resultados: El tratamiento con el péptido específico frente a TGF- β tiene un efecto protector en el hueso en los animales inoculados con la línea de cáncer de mama, a diferencia de lo ocurrido en los grupos de péptido control y placebo. Sin embargo, el tratamiento anti-TGF- β carece de efectos terapéuticos significativos sobre las metástasis óseas que se desarrollan en los animales inoculados con las líneas de cáncer de pulmón empleadas.

Conclusiones: El carácter de TGF- β como posible diana terapéutica en metástasis en hueso es altamente dependiente del tipo y subtipos histopatológicos de tumor.

Palabras clave: TGF- β , hueso, metástasis, modelos animales.

Divergent effects of TGF- β inhibition in bone metastases in breast and lung cancer

Summary

Background: The objective of this study lies in the determination of the validity of transforming growth factor β (TGF- β) as a therapeutic target in models of metastasis deriving from different histological types of lung cancer.

Material and methods: 4-week-old immunodeficient mice inoculated with lung and breast cancer lines were treated with cytokine inhibitor peptide, control peptide or placebo. Weekly bioluminescence and microradiographic measurements were taken to determine the effects of the treatment on tumor burden and metastatic lesions in the long bones.

Results: Treatment with the specific peptide against TGF- β has a protector effect in the bone of animals inoculated with the breast cancer lines, unlike what happens in the control peptide and placebo groups. However, the anti-TGF- β treatment lacks the significant therapeutic effects on the bone metastases which develop in lung cancer bearing animals.

Conclusions: The role of TGF- β as a potential therapeutic target in bone metastasis is highly dependent on the histopathological type and subtype of tumor.

Key words: TGF- β , bone, metastasis, animal models.

Introducción

El esqueleto constituye uno de los órganos diana preferentes de las células tumorales. Las neoplasias de mama, próstata, pulmón y mieloma originan metástasis óseas con alta frecuencia¹. El pronóstico de supervivencia desde el diagnóstico de la metástasis ósea varía dependiendo del tipo de tumor. En los pacientes de cáncer de pulmón con este tipo de metástasis, la mediana de supervivencia se mide frecuentemente en meses, siendo la menor de todos los tipos de tumor con tropismo óseo². Además, en muchas ocasiones este fenómeno se detecta en el momento del diagnóstico de la enfermedad, lo que contribuye a que esta neoplasia sea la primera causa de muerte por cáncer³.

La alta frecuencia de metástasis óseas puede explicarse por la fenestración del endotelio del compartimento medular, que podría facilitar el asentamiento de las células metastásicas⁴. También el hueso constituye un entorno propicio para el desarrollo de las células, ya que es un medio rico en factores de crecimiento, como el factor de crecimiento transformante β (TGF- β)⁵. La ruta de señalización intracelular de esta citoquina implica la fosforilación de proteínas Smads, que en última instancia permiten la expresión de genes diana en el núcleo. El TGF- β presenta funciones opuestas en carcinogénesis. Por un lado, la señalización a través de su receptor desencadena una respuesta antiproliferativa en condiciones de estrés oncogénico. Esto tiene lugar a través de la inducción de la expresión de genes supresores de tumor como inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina (CDKI) o la represión de oncogenes como c-Myc y miembros de la familia ID⁶. Por otro lado,

existen neoplasias que retienen intacta esta vía evadiendo esta respuesta citostática y favoreciendo simultáneamente la progresión tumoral. Entre otros mecanismos, destaca su contribución a la evasión de la inmunidad mediada por linfocitos T CD8⁺⁷ y a la angiogénesis por inducción del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) y MMPs (metaloproteasas de matriz) en tumor y endotelio⁸. La célula tumoral también puede utilizar la señalización del TGF- β para la progresión metastásica en el microentorno óseo, puesto que esta citoquina favorece la expresión de proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) o IL11^{9,10}. Estos factores inducen la expresión de RANKL (ligando del receptor activador para el factor nuclear κ B) en la membrana de los osteoblastos. El reconocimiento de este ligando por el receptor correspondiente en los precursores mononucleares conlleva la activación de éstos y formación de osteoclastos maduros. La acción de estas células promueve la liberación de la matriz ósea de citoquinas que ceban la colonización metastásica. Se genera así un proceso de retroalimentación positiva o "ciclo vicioso" que magnifica los efectos osteolíticos.

La inhibición genética o farmacológica de la vía de señalización del TGF- β ha demostrado un beneficio terapéutico en modelos preclínicos. La expresión de la forma dominante negativa del receptor *TGFBR2* en células tumorales de mama o el uso del inhibidor SD-208 de *TGFRI* en animales inoculados con células de melanoma con tropismo óseo han demostrado una reducción de las lesiones metastásicas en el hueso que ocasionan estas líneas celulares^{11,12}. En la misma línea, nues-

tro grupo demostró este efecto en un modelo de metástasis óseas derivadas de una línea de carcinoma pulmonar de células grandes¹³.

El objetivo principal de este estudio es valorar la contribución del TGF- β a la metástasis en hueso en modelos derivados de otros tipos histopatológicos del cáncer de pulmón como adenocarcinoma o carcinoide. Como control se empleó un modelo de metástasis ósea derivado de cáncer de mama.

Material y métodos

Cultivo celular

Se utilizaron las líneas tumorales A549, H727 y MDA-MB-231, procedentes de adenocarcinoma pulmonar, carcinoide de pulmón y cáncer de mama, respectivamente. Las líneas A549 y H727 fueron transfectadas con el vector retroviral SFG-NES-TGL (donado gentilmente por Dr. Ponomarev), que contiene el gen reportero de la luciferasa. Las células se cultivaron a 37°C y 5% CO₂ bajo condiciones de esterilidad en medio RPMI (A549 y H727) o DMEM (MDA-MB-231) suplementados con 10% de FBS, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomycin (Invitrogen®).

Animales e inoculación intracardiaca (I.C.)

Se realizó la inyección de las células tumorales en el ventrículo izquierdo de 24 ratones inmunodeprimidos de 4 semanas de edad (Laboratorios Harlan) de acuerdo a descripciones previas^{14,15}. Las células se resuspendieron en PBS a una concentración de 2 x 10⁶ células/ml. Los animales se anestesiaron previamente a la inoculación con ketamina (65 mg/kg) y xilacina (2,5 mg/kg) por vía intraperitoneal. Se inyectaron 2 x 10⁵ células (100 μ l) usando una aguja de calibre 29G.

Todos los protocolos de trabajo con animales de laboratorio fueron aprobados por el Comité de Ética para la Experimentación Animal de la Universidad de Navarra (CEEAA).

Régimen terapéutico

Se utilizaron los péptidos control p41 o los anti-TGF- β p17 o p144 (donados gentilmente por Digna Biotech según disponibilidad) para valorar esta citoquina como diana terapéutica. Ambos presentan similar actividad *in vivo*^{13,16}. Cinco días después de la inoculación de las líneas tumorales, los animales se dividieron en 3 grupos de 8 ratones cada uno para recibir una dosis diaria por vía intraperitoneal de 3,75 mg/kg de p144, péptido control (p41) o vehículo (suero fisiológico). Los ratones inoculados con la línea MDA-MB-231 se dividieron igualmente y fueron tratados a partir del día 7 en jornadas alternas con 2,5 mg/kg de p17 (actividad similar a p144), péptido control p41 o vehículo.

La dosis de p17 fue elegida en base a su actividad en estudios previos^{13,17}, mientras que la de p144 fue superior para asegurar que los resultados observados *in vivo* con las líneas celulares de cáncer de pulmón no fueran atribuibles a una baja concentración del péptido. El tiempo transcurrido

desde la inoculación intracardiaca hasta el inicio de tratamiento se estableció en experimentos previos, en los que se determinó el tiempo necesario para que las células se detectaran en hueso, mediante bioluminiscencia o aislamiento de las células metastásicas.

Se determinó semanalmente el efecto sobre la carga tumoral mediante bioluminiscencia y/u osteolisis por análisis radiológico en busca de posibles diferencias.

La duración de cada experimento dependió del desarrollo de las metástasis por cada línea celular.

Bioluminiscencia

Se administró D-luciferina (PROMEGA) a una concentración de 150 mg/kg por vía intraperitoneal a los animales previamente anestesiados. Transcurridos 5 minutos se tomaron diferentes imágenes en cámara CCD de bioluminiscencia con el programa Living Image (IVIS® system, Xenogen). Para cuantificar la señal bioluminométrica se utilizó el mismo programa delimitando las extremidades inferiores. A los datos obtenidos se les sustrajo el valor luminométrico de un ratón no inyectado con células (control). Los valores obtenidos se dividieron por el valor luminométrico de cada extremidad obtenido antes del inicio del tratamiento. La señal luminométrica obtenida aparece superpuesta en el roedor.

Las células transfectadas con el vector SFG-NES-TGL, A549 y H727, presentan señal detectable. No se obtuvieron datos luminométricos de la carga tumoral de los animales inoculados con la línea MDA-MB-231 puesto que el vector con el gen de luciferasa con el que se transfectó no generó señal, probablemente por metilación del promotor¹³.

Análisis radiográfico

Las radiografías se realizaron bajo anestesia usando un modelo de rayos X de Faxitron® (MX-20). Se utilizaron películas sensibles a esta radiación (MIN-R, Kodak®) a 20 kV durante 20 segundos a un aumento 2x. Las radiografías se digitalizaron a una resolución de 1200 ppi (Epson® Expression 1680 Pro). El área de las lesiones osteolíticas fue evaluado con el programa de análisis de imagen computarizada AnalySIS® (GmbH). La cuantificación relativa de las áreas metastásicas se expresa como el porcentaje de la suma de las áreas lesionadas presentes en fémur y tibia con respecto al total de la superficie de estos huesos largos en las películas.

Microtomografía computarizada (μ CT)

Las articulaciones de fémures y tibias representativas de cada grupo de experimentación fueron analizadas en un dispositivo de microCT (micro CAT II, Siemens® Preclinical Solutions) a 75,0 kVp y 250 μ A. Cada escaneo se realizó a 10 μ m de resolución. Las imágenes bidimensionales se reconstruyeron usando un procedimiento estándar de deconvolución con un filtro Shepp-Logan. Para la reconstrucción de las imágenes se utilizó el programa COBRA®_Exxim. Las imágenes se almacenaron en tramas tridimensionales con un tamaño de voxel de 19*19*23 μ m.

Figura 1. (Izquierda) Análisis radiográfico a día 21 del área metastásica en los huesos largos de animales inoculados con la línea de cáncer de mama MDA-MB-231. Las lesiones osteolíticas (flechas) se evaluaron después del tratamiento con placebo (PBS), p17 (péptido anti-TGF- β) o p41 (péptido control). * $p < 0,05$. (Derecha) Radiografías representativas de huesos largos de los animales de cada grupo

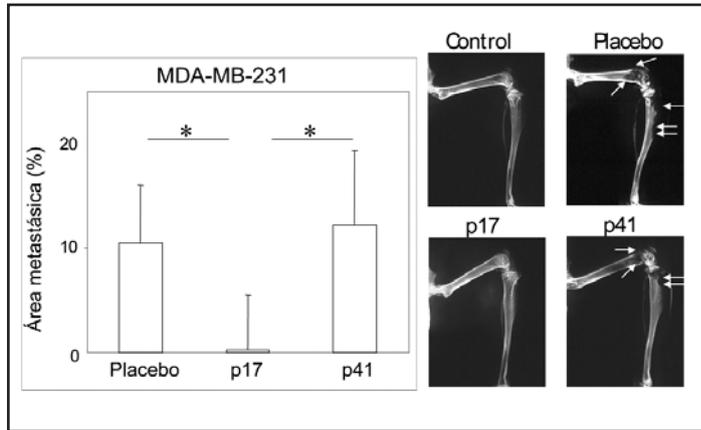
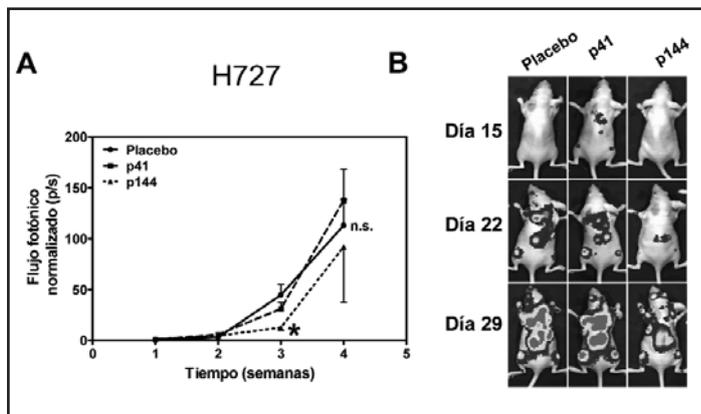


Figura 2. A. Análisis de bioluminiscencia de los ratones inoculados con la línea H727 y tratados con placebo, p144 (péptido anti-TGF- β) o p41. Obsérvese la moderada disminución de la carga tumoral 22 días después de la inoculación en los animales tratados con p144 (* $p < 0,05$; n.s., no significativo en la semana posterior). B. Imágenes de bioluminiscencia representativas de cada grupo durante el curso del experimento



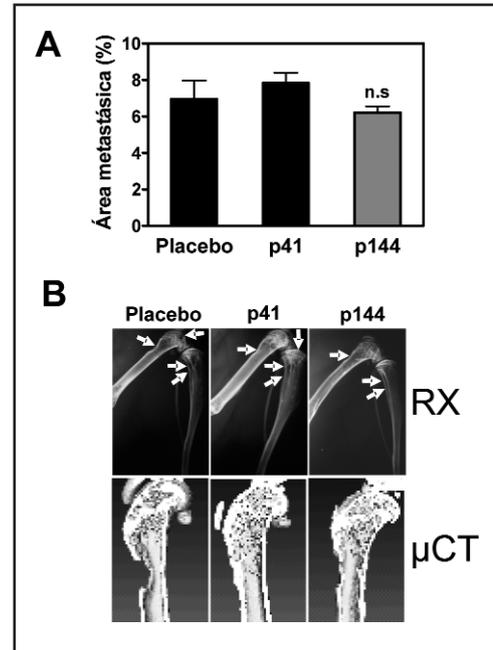
Análisis estadístico

El programa informático SPSS 15.0 fue utilizado para determinar el valor estadístico de los resultados. Se utilizó un nivel de significación $\alpha = 0,05$. Los valores p inferiores a este límite se consideraron significativos (*). Se realizó ANOVA de un factor para estudiar el área metastásica de las radiografías con comparaciones múltiples Tukey y la prueba de Kruskal-Wallis seguido de comparaciones múltiples con Mann-Whitney para bioluminiscencia. Los valores p obtenidos se ajustaron con el método de Bonferroni.

Resultados

El análisis radiológico de fémures y tibias en los animales inoculados con la línea MDA-MB-231 demostró una drástica reducción de las metástasis

Figura 3. A. Análisis radiográfico del área metastásica en los huesos largos de animales inoculados con la línea de carcinoma pulmonar H727. B. Análisis histomorfométrico: rayos X (RX) y microtomografía computarizada (μ CT)



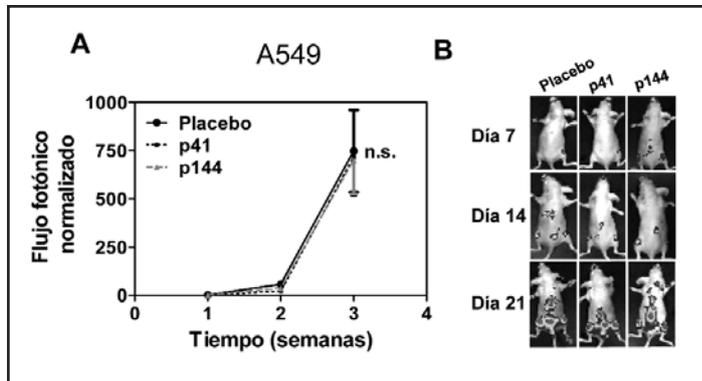
en los animales tratados con p17 en comparación con los tratados con péptido control o placebo a las 3 semanas desde el inicio del experimento (Figura 1). En los animales inoculados con la línea H727, las imágenes de bioluminiscencia a día 22 mostraron un ligero efecto de p144 sobre la carga tumoral en las extremidades inferiores de los animales tratados con este péptido (* $p < 0,05$, Figura 2A). Este efecto perdió carácter significativo en los siguientes días de experimentación (Figura 2B).

De forma similar, el análisis radiográfico de los huesos largos reveló una leve disminución de las lesiones metastásicas en estos ratones que no alcanzó significación (Figuras 3A y 3B). Por el contrario, en los animales inoculados con la línea A549 el p144 no mostró efecto protector alguno sobre la carga tumoral determinada por bioluminiscencia (Figuras 4A y 4B) o sobre el desarrollo de las lesiones osteolíticas (Figuras 5A y 5B). Estos resultados indican que la actividad prometastásica de TGF- β es altamente dependiente de cada línea celular.

Discusión

La metástasis implica la adquisición de nuevas funciones por parte de la célula en el tumor primario. Éstas incluyen motilidad e invasión, intravasación, supervivencia en circulación, adhesión a

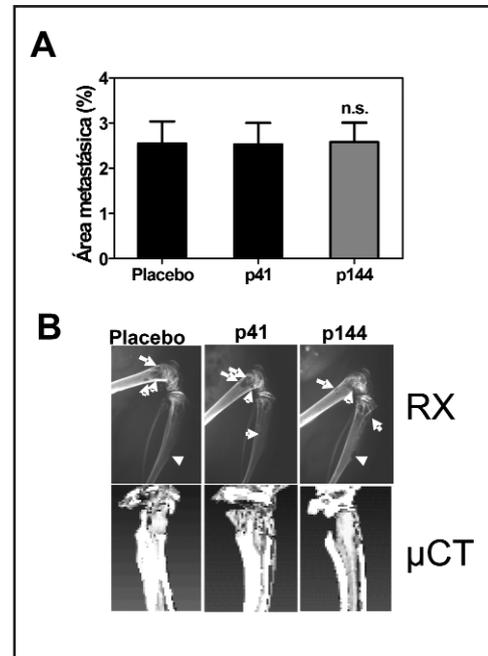
Figura 4. A. Análisis de bioluminiscencia de los ratones inoculados con la línea A549 y tratados con placebo, p144 o p41. (n.s., no significativo). B. Imágenes de bioluminiscencia representativas de cada grupo durante el curso del experimento



endotelio, extravasación y crecimiento o colonización de órganos diana¹⁸. Para ello es necesario un programa genético y/o epigenético –hoy por hoy poco conocido– influenciado por la presión selectiva establecida en el propio tumor y su microambiente. Por tanto, resulta crítica la identificación de estas dianas implicadas en metástasis. El conocimiento de los efectores de este proceso podría permitir el desarrollo de nuevas terapias antimetastásicas que repercutan en una mejora de la calidad de vida del paciente oncológico. Este hecho justifica el desarrollo de modelos de metástasis que reproduzcan la realidad clínica. El modelo basado en la inoculación intracardiaca recapitula las últimas etapas de la metástasis: extravasación, anidación (“*homing*”) y colonización de los órganos diana. Con esta técnica se obtuvo una alta y rápida incidencia de metástasis con resultados reproducibles. Esta aproximación se ha utilizado anteriormente con líneas tumorales de melanoma, próstata y mama^{10,19}. La principal limitación es la exclusión de los eventos iniciales de la cascada metastásica como la invasión, motilidad e intravasación desde el parénquima pulmonar. Los modelos que recapitulan estas etapas iniciales de la metástasis como los de inyección ortotópica han resultado exitosos para el cáncer de mama. En ellos se realiza una extirpación del tumor primario tras su crecimiento para facilitar la aparición posterior de metástasis a distancia²⁰. Sin embargo, esta aproximación resulta inviable en cáncer de pulmón, ya que la muerte de los animales sobreviene con frecuencia antes del desarrollo de metástasis debido al crecimiento rápido del tumor. Además, la frecuencia de metástasis óseas en los modelos ortotópicos es baja.

Pese a la importancia del TGF-β en microentorno óseo y metástasis, su potencial terapéutico debe ser considerado con precaución. En primer lugar, la inhibición sistémica de esta vía puede generar efectos colaterales, ya que la señalización por esta vía es de vital importancia en los procesos homeostáticos en los tejidos. En segundo

Figura 5. A. Análisis radiográfico del área metastásica en los huesos largos de animales inoculados con la línea de adenocarcinoma de pulmón A549. B. Análisis histomorfométrico: RX y μCT



lugar, los resultados obtenidos demuestran que el efecto de esta vía depende del contexto celular. Las células tumorales de mama evaden las señales de inhibición del TGF-β conservando intactos a los miembros de la ruta favoreciendo la función prometastásica de la citoquina. La mayor abundancia de inhibidores transcripcionales de los genes involucrados en la respuesta citostática en estas células puede explicar este fenómeno²¹. Esto puede explicar la mejora terapéutica obtenida en el modelo de metástasis ósea de la línea celular MDA-MB-231. Al igual que ocurre en cáncer de mama, la oncogénesis pulmonar puede implicar la pérdida de los efectos supresores de tumor de TGF-β²². Por tanto, esta citoquina puede ser de interés terapéutico para el tratamiento de metástasis óseas del cáncer de pulmón. En concordancia con estos resultados, el uso de un péptido inhibidor de TGF-β en un modelo de carcinoma de células grandes demostró una reducción de las metástasis óseas¹⁵. Sin embargo, los resultados mostrados en este trabajo demuestran que este efecto sobre los modelos de adenocarcinoma y carcinoma de pulmón es poco o nada significativo. Estos experimentos sustentan por tanto el contexto célula dependiente en la vía de TGF-β. Además, es posible que otras citoquinas presentes en abundancia en el hueso puedan constituir elementos claves para la progresión del “ciclo vicioso” y consiguiente colonización metastásica del hueso, como IGF-1²³. Futuros estudios pueden determinar la idoneidad de otras dianas para el desarrollo de terapias antimetastásicas.

Este trabajo fue financiado por el acuerdo "proyecto FIMA UTE", RTICC RD06/0020/0066, PIO42282, FIT-090100-2005-46, SAF-2009-11280 y los Premio "Ortiz de Landázuri" (67/2005, Gobierno de Navarra) y "Fundación La Caixa" obtenidos por F.L. D. L-R por FIMA y Programa Nacional FPU e I.A. por FIMA y Gobierno del País Vasco. F.L. es investigador del Programa I3.

Bibliografía

- Vicent S, Luis-Ravelo D, Antón I, Hernández I, Martínez S, de las Rivas J, et al. Bone metastases. *An Sist Sanit Navar* 2006;29:177-88.
- Coleman RE. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin Cancer Res* 2006;12(20 Pt 2):6243s-9s
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69-90.
- Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009;9:274-84.
- Baylink DJ, Finkelman RD, Mohan S. Growth factors to stimulate bone formation. *J Bone Miner Res* 1993;8 Suppl 2:S565-72.
- Padua D, Massagué J. Roles of TGFbeta in metastasis. *Cell Res* 2009;19:89-102.
- Thomas DA, Massagué J. TGF-beta directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. *Cancer Cell* 2005;8:369-80.
- Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Corbí A, Attisano L, Bernabéu C. Synergistic cooperation between hypoxia and transforming growth factor-beta pathways on human vascular endothelial growth factor gene expression. *J Biol Chem* 2001;276:38527-35.
- Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002;2:584-93.
- Kang Y, Siegel PM, Shu W, Drobnjak M, Kakonen SM, Córdón-Cardo C, et al. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 2003;3:537-49.
- Yin JJ, Selander K, Chirgwin JM, Dallas M, Grubbs BG, Wieser R, et al. TGF-beta signaling blockade inhibits PTHrP secretion by breast cancer cells and bone metastases development. *J Clin Invest* 1999;103:197-206.
- Mohammad KS, Javelaud D, Fournier PG, Niewolna M, McKenna CR, Peng XH, et al. TGF-beta-RI kinase inhibitor SD-208 reduces the development and progression of melanoma bone metastases. *Cancer Res* 2011;71:175-84.
- Vicent S, Luis-Ravelo D, Antón I, García-Tuñón I, Borrás-Cuesta F, Dotor J, et al. A novel lung cancer signature mediates metastatic bone colonization by a dual mechanism. *Cancer Res* 2008;68:2275-85.
- Catena R, Luis-Ravelo D, Antón I, Zanduetta C, Salazar-Colocho P, Larzábal L, et al. PDGFR signaling blockade in marrow stroma impairs lung cancer bone metastasis. *Cancer Res* 2011;71:164-74.
- Luis-Ravelo D, Antón I, Vicent S, Hernández I, Valencia K, Zanduetta C, et al. Tumor-stromal interactions of the bone microenvironment: in vitro findings and potential in vivo relevance in metastatic lung cancer models. *Clin Exp Metastasis* 2011;28:779-91.
- Dotor J, López-Vázquez AB, Lasarte JJ, Sarobe P, García-Granero M, Riezu-Boj JJ, et al. Identification of peptide inhibitors of transforming growth factor beta 1 using a phage-displayed peptide library. *Cytokine* 2007;39:106-15.
- Ezquerro I, Lasarte JJ, Dotor J, Castilla-Cortázar I, Bustos M, Penuelas I, et al. A synthetic peptide from transforming growth factor beta type III receptor inhibits liver fibrogenesis in rats with carbon tetrachloride liver injury. *Cytokine* 2003;22:12-20.
- Bogenrieder T, Herlyn M. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* 2003;22:6524-36.
- Wu TT, Sikes RA, Cui Q, Thalmann GN, Kao C, Murphy CF, et al. Establishing human prostate cancer cell xenografts in bone: induction of osteoblastic reaction by prostate-specific antigen-producing tumors in athymic and SCID/bg mice using LNCaP and lineage-derived metastatic sublines. *Int J Cancer* 1998;77:887-94.
- Hoffman RM. Orthotopic metastatic mouse models for anticancer drug discovery and evaluation: a bridge to the clinic. *Invest New Drugs* 1999;17:343-59.
- Gomis RR, Alarcón C, Nadal C, Van Poznak C, Massagué J. C/EBPbeta at the core of the TGFbeta cytosolic response and its evasion in metastatic breast cancer cells. *Cancer Cell* 2006;10:203-14.
- Jeon HS, Jen J. TGF-beta signaling and the role of inhibitory Smads in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010;5:417-9.
- Yoneda T, Williams PJ, Hiraga T, Niewolna M, Nishimura R. A bone-seeking clone exhibits different biological properties from the MDA-MB-231 parental human breast cancer cells and a brain-seeking clone in vivo and in vitro. *J Bone Miner Res* 2001;16:1486-95.

García-Giralt N¹, Yoskovitz G¹, Rodríguez-Sanz M¹, Urreizti R², Guerri R^{1,3}, Prieto-Alhambra D^{1,4,5}, Mellibovsky L^{1,3}, Grinberg D², Balcells S², Nogués X^{1,3}, Díez-Pérez A^{1,3}

1 IMIM (Instituto de Investigaciones Médicas del Hospital del Mar) - RETICEF - Barcelona - España

2 Universidad de Barcelona - IBUB - Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER) - ISCIII - Departamento de Genética - Barcelona - España

3 Servicio de Medicina Interna - Hospital del Mar - Universidad Autónoma de Barcelona - Barcelona - España

4 Departamento NDORMS - Centro Ortopédico de Nuffield - Universidad de Oxford - Oxford - Reino Unido

5 IDIAP Jordi Gol - Instituto Catalán de Salud - Atención Primaria - Barcelona - España

SNPs en el 3'UTR de gen RANK determinan la fractura osteoporótica sitio-dependiente

Correspondencia: Natalia García-Giralt - IMIM-PRBB - c/Dr. Aiguader, 88 - 08003 Barcelona (España)
Correo electrónico: ngarcia@imim.es

Fecha de recepción: 01/03/2013

Fecha de aceptación: 05/06/2013

Resumen

Objetivos: El sistema RANK/RANKL/OPG está implicado en la determinación de la densidad mineral ósea (DMO) y de la microarquitectura ósea. Nuestro estudio pretende evaluar si existen SNPs en la región 3'UTR del gen RANK asociados con fenotipos osteoporóticos.

Material y métodos: Se genotiparon siete variantes genéticas en 1.098 mujeres de la cohorte BARCOS, y se evaluó su asociación con la DMO y las fracturas osteoporóticas. Se testó una interacción con el SNP rs9594738 en el gen RANKL el cual fue previamente asociado con la DMO.

Resultados: Ninguno de los SNPs se asoció significativamente con la DMO. El SNP rs78326403 se asoció con fracturas de muñeca/antebrazo (Modelo Log-aditivo *odds ratio* (OR)=3,12 [IC 95%: 1,69 ; 5,75]; $p=7,16 \times 10^{-4}$), mientras que el SNP rs884205 se asoció con fracturas de columna vertebral (OR=4,05 Recesivo; [IC 95%: 1,59 ; 10,35]; $p=8,24 \times 10^{-3}$). Por último, se detectó una interacción entre el SNP rs9594738 del RANKL y el rs78326403 del RANK sobre la prevalencia de fractura ($p=0,039$). El análisis del efecto de los genotipos compuestos rs9594738 y rs78326403 dio un aumento de la prevalencia de fracturas en sujetos con un mayor número de alelos desfavorables, siendo las OR 2,76 [IC 95%: 1,30 ; 5,81]; $p=0,007$) y 5,14 [IC 95%: 1,37 ; 15,67]; $p=0,007$) para 2 y ≥ 3 alelos desfavorables, respectivamente, en comparación con ninguno/1.

Conclusiones: Dos SNPs en el 3'UTR del gen RANK predisponen a la fractura osteoporótica sitio-dependiente. Una interacción con el SNP rs9594738 del RANKL sugiere un efecto aditivo de la DMO y la resistencia ósea.

Palabras clave: osteoporosis, fractura, SNPs, estudios de asociación.

SNPs in the 3'UTR of the RANK gene determine site-dependent osteoporotic fracture

Summary

Objectives: The RANK/RANKL/OPG system is involved in the determination of bone mineral density (BMD) and bone microarchitecture. Our study seeks to evaluate if there are SNPs in the 3'UTR region of the RANK gene associated with osteoporotic phenotypes.

Material and methods: Seven genetic variants in 1,098 women from the BARCOS cohort were genotyped, and their association with BMD and osteoporotic fractures evaluated. An interaction with SNP rs9594738 in the RANKL gene which was previously associated with BMD was tested.

Results: None of the SNPs were associated significantly with BMD. SNP rs78326403 was associated with wrist/forearm fractures (Log-additive model odds ratio (OR)=3.12 [IC 95%: 1.69 ; 5.75]; $p=7.16 \times 10^{-4}$), while SNP rs884205 was associated with fractures of the spinal column (OR=4.05 Recessive; [95% CI: 1.59 ; 10.35]; $p=8.24 \times 10^{-3}$). Lastly, an interaction was detected between SNP rs9594738 from RANKL and rs78326403 from RANK on the presence of fracture ($p=0.039$). The analysis of the effects of combined genotypes rs9594738 and rs78326403 pointed to an increase in the prevalence of fractures in subjects with a greater number of unfavourable alleles, the ORs being 2.76 [95% CI: 1.30 ; 5.81]; $p=0.007$) and 5.14 [95% CI: 1.37 ; 15.67]; $p=0.007$) for 2 and ≥ 3 unfavourable alleles respectively, in comparison with none/1.

Conclusions: Two SNPs in 3'UTR from the RANK gene predispose to site-dependent osteoporotic fracture. An interaction with SNP rs9594738 from RANKL suggests an additive effect of BMD and bone strength.

Key words: osteoporosis, fracture, SNPs, association studies.

Introducción

La osteoporosis es uno de los problemas más comunes en las mujeres postmenopáusicas, con una carga económica importante para la sociedad occidental^{1,2}. Según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la osteoporosis se diagnostica de forma no invasiva midiendo la densidad mineral ósea (DMO)³. Los traumatismos de bajo impacto son la consecuencia inmediata de la osteoporosis y son una causa creciente de hospitalización, de morbilidad y de mortalidad entre los ancianos⁴. Sin embargo, la definición de estas fracturas de bajo traumatismo como "fracturas osteoporóticas" puede ser engañoso, ya que muchos de los pacientes tienen niveles de DMO considerados normales según los criterios de la OMS^{5,6}. Para mejorar la identificación de sujetos con alto riesgo de fractura, una serie de estudios⁷⁻⁹ han propuesto el uso clínico de varios predictores, incluyendo el algoritmo de la OMS FRAX¹⁰⁻¹², en lugar de sólo la DMO. La identificación de un número de predictores independientes a la DMO (como la historia familiar de fractura de cadera) indica que otros factores, probablemente relacionados con la microarquitectura u otros elementos de la resistencia ósea, juegan un papel importante en la definición de fractura osteoporótica.

El sistema de señalización RANK/RANKL/OPG es fundamental para el remodelado óseo. El ligando RANK (RANKL) es una proteína de membrana de la célula pre-osteoblástica o secretada por osteocitos que se une al receptor RANK del osteoclasto precursor, promoviendo así la diferenciación y activación de éste a osteoclasto maduro. El osteoblasto, a su vez, también segrega la proteína solu-

ble OPG, que actúa de receptor señuelo e interactúa con RANKL, impidiendo la unión de éste con RANK e inhibiendo así la osteoclastogénesis. El equilibrio entre OPG y RANKL y la unión de este último a su receptor RANK es clave en la determinación del estado anabólico o catabólico del hueso. De esta manera, el gen TNFRSF11A (locus 18q22.1), que codifica a RANK, tiene una importancia especial en el remodelado óseo, ya que determina la diferenciación de los osteoclastos y su supervivencia¹³. Una alteración en este complejo provocaría una desregulación del remodelado óseo pudiendo ocasionar estados patológicos, como sería la osteoporosis.

Estudios de asociación de todo el genoma¹⁴⁻¹⁷ y de análisis de interacción de SNPs de RANK/RANKL¹⁸ aportan evidencias de la importancia del gen TNFRSF11A para la determinación de la DMO y la incidencia de fracturas.

Cambios en la región 3'UTR de un gen pueden afectar a su expresión mediante la modulación de los sitios de unión de microRNAs (miRNAs)¹⁹. Además, se ha demostrado que miRNAs específicos pueden regular la osteogénesis²⁰. Por lo tanto, nuestra hipótesis de estudio consistió en que variantes genéticas en regiones 3'UTR de genes importantes para el metabolismo óseo pudieran estar asociadas a fenotipos osteoporóticos.

El objetivo fue identificar SNPs en el 3'UTR del gen RANK como posibles variantes funcionales genéticas que puedan afectar al riesgo de fractura. Por otro lado se estudió una posible interacción entre los SNPs asociados a fractura dentro del 3'UTR del gen de RANK con el SNP rs9594738 del gen RANKL (previamente asociado con la DMO)¹⁴.

Materiales y métodos

Características de la cohorte BARCOS

Todos los pacientes de la cohorte son mujeres postmenopáusicas que asistieron a la consulta externa de una visita inicial a causa de la menopausia en la Unidad de Metabolismo Óseo del Hospital del Mar-Parque de Salud Mar en Barcelona, España^{21,22}. Las pacientes se han recogido de manera consecutiva, no seleccionadas, y fueron reclutadas prospectivamente, independientemente de sus valores de DMO. Se registró la edad, el peso, la estatura, la edad de la menarquia, años desde la menopausia en el momento de la densitometría, meses de lactancia materna y los antecedentes de fracturas previas (Tabla 1). Se excluyeron las mujeres con enfermedades metabólicas o endocrinas, insuficiencia renal crónica, enfermedad hepática crónica, cáncer (excepto cáncer de piel superficial), enfermedad de Paget del hueso, síndrome de mala absorción o con tratamiento de reemplazo hormonal, agentes antirresortivos o anabólicos, corticosteroides orales, fármacos antiepilépticos, litio, heparina o warfarina, así como aquéllas que declinaron la invitación a participar y no dieron su consentimiento informado. Además, los sujetos con una historia de menopausia temprana (<40 años de edad) fueron excluidos de este análisis. Las muestras de sangre y el consentimiento informado por escrito se obtuvieron de acuerdo con los reglamentos de la Comisión del Hospital del Mar de Investigación Genética en Humanos.

Determinación de la DMO y de la fractura

Se utilizó el densitómetro de energía dual de rayos X, DXA (QDR 4500 SL, Hologic, Waltham, MA, EE.UU.) para medir la DMO (g/cm^2) en columna lumbar (LS) L2-L4 y en cuello del fémur (FN). La técnica tiene un coeficiente de variación (CV) de 1,0% para la medición de LS y 1,65% para la de FN. Se registraron las fracturas vertebrales y no vertebrales clínicas. Las fracturas no vertebrales se validaron mediante los registros médicos, y las de columna vertebral mediante radiografías si había antecedentes de diagnóstico de fractura vertebral, pérdida de altura, o dolor de espalda. Se definieron como fracturas osteoporóticas aquéllas que se producían después de los 45 años y debido a un traumatismo de bajo impacto. Las fracturas de cara, dedos de manos y pies, y del cráneo fueron excluidas. Las fracturas vertebrales se definieron de acuerdo con los criterios semicuantitativos de Genant *et al.*²³.

Extracción de ADN

Se obtuvieron los *buffy coats* a partir de 3 ml de sangre recogida en tubos de EDTA y se almacenaron a -20°C . El ADN genómico se obtuvo a partir de leucocitos mediante un procedimiento de *salt-ting-out*²⁴ o por Autopure LS (Qiagen), una estación de trabajo robotizada para la purificación automatizada de ADN genómico, en los laboratorios de Servicios de Apoyo de Laboratorio Biomédico, IMIM, Barcelona (España), y almacenado a -20°C .

Selección de los SNPs y genotipado

Se utilizaron las bases de datos del Ensembl (www.ensembl.org) y del Entrez SNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) para seleccionar SNPs del 3'UTR del gen RANK. Sólo se incluyeron los SNPs con una MAF $>0,01$.

El genotipado de los polimorfismos se realizó en Kbioscience (Herts, Inglaterra) utilizando el sistema de Kaspar v4.0 y el algoritmo Kraken alelo. Para el control de calidad, se genotiparon 959 muestras para el SNP rs9594738 (alrededor de 11% del genotipado total) utilizando el Sistema de SNPlex (Applied Biosystem) de la plataforma CEGEN (Barcelona, España). Había 99,8% de concordancia entre los resultados de las dos técnicas.

Métodos estadísticos

El equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) se calculó mediante la prueba de Chi-cuadrado, y el valor *p* se calculó con la calculadora de la Universidad de Tufts *online* ([Http://www.tufts.edu/~mccourt01/Documents/Court 20lab% 20 -% 20calculator.xls](http://www.tufts.edu/~mccourt01/Documents/Court%20lab%20-%20calculator.xls) 20HW%).

Para evaluar la asociación de los SNPs genotipados con la DMO y las fracturas se utilizaron modelos ajustados de regresión lineal y logística, respectivamente. Los factores de confusión considerados para el ajuste fueron el índice de masa corporal (IMC)²⁵ y la edad para la asociación con fractura; y la edad de la menarquia, años desde la menopausia en el momento de la densitometría, los meses de lactancia materna y el IMC²⁵ para la DMO. Con la hipótesis de que el efecto sobre el fenotipo fractura de las diferentes variantes genéticas de RANK puede variar en función de la arquitectura ósea, se estudió el efecto de los SNPs tanto en los sitios de fractura predominantemente trabecular (columna vertebral) como en los sitios con más hueso cortical (muñeca/antebrazo).

Aparte, se testaron interacciones entre el rs9594738 del gen RANKL y los SNPs asociados a fractura del RANK al introducir términos multiplicativos en la ecuación de regresión.

Todos los análisis fueron de dos colas y los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos. Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS para Windows versión 13.0 y la versión R 2.13.2 con haplo.stats, epicalc, SNPassoc, foreign, rms, y packs de genética.

Resultados

Se genotiparon siete variantes genéticas del 3'UTR del gen RANK en la cohorte BARCOS (Tabla 2). Todos los SNPs, excepto el rs72933640, estaban en HWE. Sin embargo, la MAF del rs72933640 en BARCOS era muy similar a la MAF (0.108) publicada por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) en población CEU. La MAF de todos los SNPs genotipados fue $>0,01$ en nuestra población. El SNP rs78326403 y rs78459945 estaban en total desequilibrio de ligamiento (LD) ($D' = 0,999$; $R^2 = 0,968$). Este último, al tener una menor eficiencia de genotipado, se eliminó del análisis estadístico.

Tabla 1. Características basales de la cohorte BARCOS

Características de las pacientes	Media \pm DS	n
Edad de la menopausia (años)	48,46 \pm 4,06	1096
IMC	26,16 \pm 3,85	1088
Lactancia (meses)	7,73 \pm 12,79	1091
Edad a la densitometría LS (años)	56,04 \pm 8,49	1087
Años desde la menopausia LS	7,59 \pm 8,26	1091
DMO LS (g/cm ²)	0,853 \pm 0,15	1092
Edad a la densitometría FN (años)	57,89 \pm 8,03	1003
Años desde la menopausia FN	9,36 \pm 7,91	1007
DMO FN (g/cm ²)	0,683 \pm 0,11	1009
Edad menarquia (años)	12,89 \pm 1,58	1081
Fracturas:	152 (13,8%)	1098
Columna		68 (44,7%)
Cadera		8 (5,3%)
Muñeca/Antebrazo		36 (23,7%)
Otras		40 (26,3%)

Ninguno de los SNPs estudiados se encontró asociado con la DMO (datos no mostrados). Por el contrario, los SNPs rs78326403 y rs884205 se asociaron significativamente con la prevalencia de fractura en nuestra cohorte (Figura 1 y tabla 2). Para el SNP rs78326403, el modelo log-aditivo dio un valor de $p=0,053$; OR=1,58 [IC 95%: 1,00 ; 2,49]. Para el SNP rs884205, el modelo log-aditivo dio un valor de $p=0,048$ con OR=1,40 [IC 95%: 1,01 ; 1,95], mientras que el modelo recesivo producido $p=4,9 \times 10^{-3}$; OR=3,28 [IC 95%: 1,51 ; 7,13]. Sólo el SNP rs884205 superó la corrección de Bonferroni (valor p para la asociación significativa: $p=8,33 \times 10^{-3}$) (Figura 1). No se detectó una interacción significativa entre ellos ($p=0,87$).

A continuación se analizaron ambos SNPs para su asociación con fracturas de columna vertebral o muñeca/antebrazo por separado (Tabla 3). El SNP rs78326403 se asoció con fracturas de muñeca/antebrazo (modelo Log-aditivo, $p=7,16 \times 10^{-4}$; OR=3,12 [IC 95%: 1,69 ; 5,75]), pero no con fracturas vertebrales ($p=0,78$, modelo log-aditivo). Por el contrario, el SNP rs884205 estuvo asociado con las fracturas de columna (modelo recesivo, $p=8,24 \times 10^{-3}$; OR=4,05 [IC 95%: 1,59 ; 10,35]), pero no con fracturas de muñeca/antebrazo ($p=0,66$, modelo log-aditivo). En este caso, ambos SNPs superaron la corrección de Bonferroni. Después del ajuste adicional con la DMO, ambas asociaciones siguieron siendo significativas (Tabla 3) aunque la asociación nominal entre el rs884205 y las fracturas de columna vertebral después de ajustar por la LS DMO no superó la correc-

ción de Bonferroni (modelo recesivo $p=0,025$).

El análisis de la interacción entre el SNP de RANKL rs9594738, previamente asociado a la DMO, y el rs78326403, considerando como variable las fracturas de muñeca/antebrazo, produjo un resultado significativo ($p=0,039$). Teniendo en cuenta la fractura de columna, no hubo interacción entre el rs9594738 y el rs884205 ($p=0,39$). Tampoco se ha encontrado ninguna interacción significativa cuando la variable de estudio era la DMO. El análisis del efecto de los genotipos compuestos de los SNPs rs9594738 y rs78326403 apuntaba hacia el aumento de la prevalencia de fracturas en sujetos con un mayor número de alelos desfavorables (Tabla 4). Debido a diferencias menores o nulas entre portadoras de ningún o un solo alelo desfavorable sobre la prevalencia de fractura, se combinaron ambas categorías. Asimismo, debido al pequeño número de pacientes con 4 alelos desfavorables ($n=3$), esta categoría se fusionó con el

grupo de 3 alelos desfavorables. En general, se realizó la comparación de la siguiente manera: 0/1 *vs.* 2 y 0/1 *vs.* 3 o más alelos desfavorables. El análisis del efecto de estos genotipos compuestos sobre la prevalencia de fractura sugiere un efecto aditivo con las correspondientes OR ajustadas: 2,76 [IC 95%: 1,30 ; 5,81], $p=7,4 \times 10^{-3}$; y 5,14 [IC 95%: 1,37 ; 15,67]; $p=7,5 \times 10^{-3}$, para 2 y ≥ 3 alelos desfavorables, respectivamente (Tabla 4).

Discusión

El equilibrio del remodelado óseo es, en parte, regulado por el sistema RANK/RANKL/OPG. Es por ello que este sistema se ha estudiado bien en el campo de la osteoporosis. A la luz del creciente interés por los miRNAs como elemento regulador epigenético, este estudio se ha centrado en SNPs, situados en el 3'UTR del gen RANK, que pueden afectar a la unión de miRNAs. Se han genotipado 7 SNPs en esta región, resultando en dos de ellos asociados a fractura osteoporótica. Las bases de datos disponibles hasta la fecha ofrecen poca información, la mayor parte *in silico* y basado en algoritmos, en cuanto a los sitios de unión de miRNAs en la región 3'UTR de RANK. Estas bases de datos, además, no aportan ninguna información sobre las secuencias genómicas que contienen los SNPs asociados a fractura. Por lo tanto, no tenemos datos sobre miRNAs que puedan unirse a la región que contiene los SNPs significativos, y por ello serían necesarios estudios funcionales para aclarar esta cuestión.

Tabla 2. Lista de los SNPs genotipados, MAF y valores de p para la asociación con fracturas bajo un modelo log-aditivo (u otro modelo si está indicado)

SNP #	rs	Localización ¹	Eficiencia	MAF BARCOS	HWE	p	OR (IC 95%)
1	rs78622775	18:60052935	0,95	0,01 ²	0,73	(0,99) ^c	
2	rs12455323	18:60053891	0,94	0,32	0,90	0,82	
3	rs72933640	18:60054077	0,94	0,12	0,005	0,59	
4	rs78326403	18:60054440	0,95	0,08	0,27	0,053 (0,022) ^o	1,83 (1,11-3,02)
5	rs78459945	18:60054757	0,94	0,08	0,39	En DL con rs78326403	
6	rs72933641	18:60054804	0,95	0,13	0,07	0,57	
7	rs884205	18:60054857	0,94	0,19	0,32	0,048 (0,0049) ^r	3,28 (1,51-7,13)

¹: ENSEMBL *website*, release 66, Febrero 2012.

²: Debido a la baja MAF para el rs78622775, el único modelo posible es el codominante. En el caso de que se consiga un p valor mas significativo en otro modelo, éste se indica entre (). Negrita p<0,05; ^c: codominante;

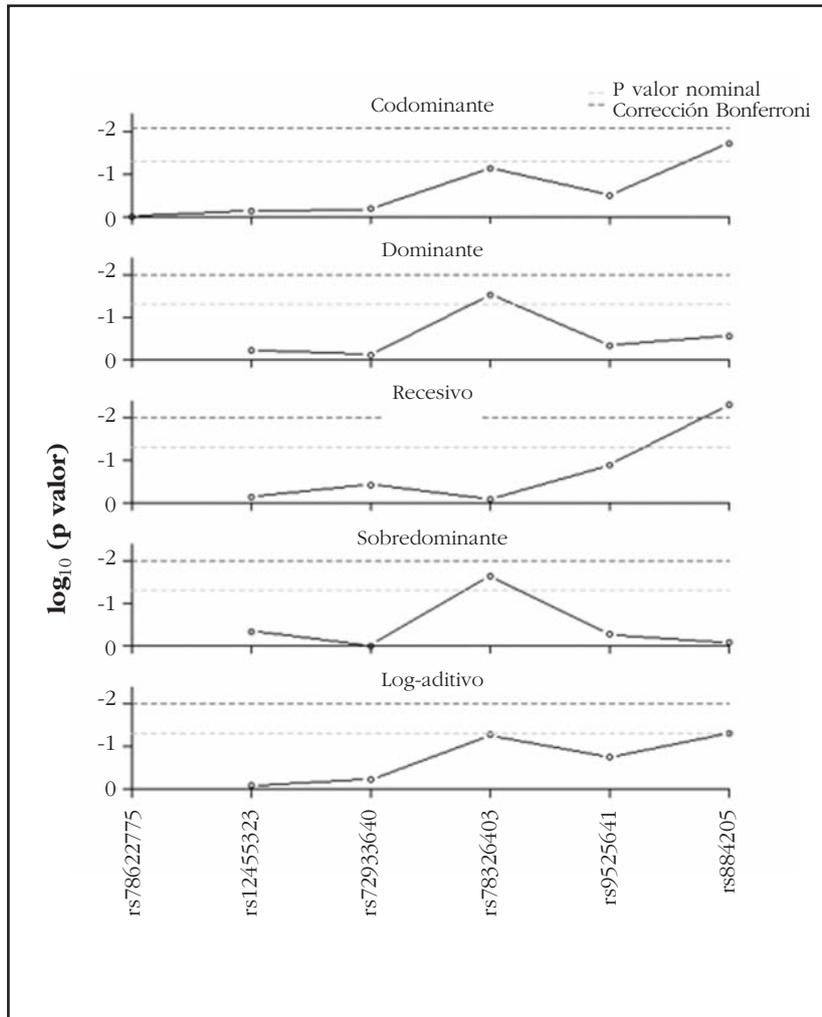
^o: sobredominante; ^r: recesivo.

En los últimos años se ha profundizado en el estudio de la genómica así como de los sucesos que acontecen desde la expresión génica hasta la proteína final, es decir, todos aquellos pasos y moléculas implicadas desde que un gen se expresa dando lugar al mRNA primario hasta la proteína funcional operativa, pasando por todo el proceso de regulación tanto de la transcripción como de la traducción. Los microRNAs (miRNAs o miRs) forman parte de esta dimensión en la regulación génica. Los miRNAs son RNAs pequeños de cadena sencilla (*short single-stranded* RNAs, ssRNAs), de 19-25 nucleótidos generados a partir de transcritos endógenos con forma de *hairpin*, y se encuentran evolutivamente conservados. Su función consiste en el silenciamiento post-transcripcional de genes mediante el apareamiento a la región 3'UTR del mRNA diana, provocando el corte del mRNA y así la represión de la traducción de dicho RNA. Un determinado miRNA puede actuar a nivel de varios genes, así como varios miRNAs diferentes pueden actuar sobre el mismo gen. Si el apareamiento entre el miRNA y el mRNA es sólo parcial, se produce una represión traducional y posterior degradación. Si el apareamiento entre el miRNA y el mRNA es perfecto (o casi), se produce el corte y degradación.

La mayoría de las dianas de los miRNAs identificadas están en el 3'UTR de los RNAs mensajeros, que incluyen factores de transcripción, receptores y quinasas. Los miRNAs regulan la traducción proteica y la estabilidad del mRNA y de esta manera pueden modificar numerosas vías relacionadas con el desarrollo y las enfermedades. Diferentes estudios han mostrado que variantes genéticas en las secuencias de los miRNAs así como en sus secuencias diana en los 3'UTR de los genes pue-

den alterar el mecanismo de regulación de la expresión génica y en consecuencia dar lugar a diversas patologías¹⁹. Lei *et al.* identificaron 3 polimorfismos situados en potenciales sitios de unión para 9 miRNAs en el 3'UTR del gen FGF2 que fueron asociados a la DMO de cadera²⁶. Hemos identificado 2 SNP en región 3'UTR del gen RANK, el rs78326403 y el rs884205, que están asociados con las fracturas osteoporóticas en la cohorte BARCOS. En un posterior análisis, cada SNP mostró una asociación más fuerte en función del sitio de fractura estudiado: el rs78326403 se encontró asociado solamente con fracturas de muñeca/antebrazo mientras que el rs884205 se asoció sólo con fracturas de columna vertebral. Además, el ajuste de los resultados con la correspondiente DMO (FN-DMO para rs78326403 y LS-DMO para rs884205) no cambió la asociación del rs78326403, mientras que atenuó la asociación del rs884205 con fractura. Estos hallazgos sugieren que diferentes SNPs en el gen de RANK, incluso situados en la misma región, pueden influir diferencialmente en un determinado sitio de fractura (hueso cortical *vs.* trabecular). Estas asociaciones con diferentes tipos de fractura sugieren un mecanismo distinto de regulación del metabolismo óseo en huesos predominantemente corticales frente a huesos predominantemente trabeculares. Otros factores también han mostrado la capacidad de regular diferencialmente hueso cortical y trabecular, tales como el eje GH-IGF-1²⁷⁻³⁰ o las hormonas gonadales³¹⁻³⁴. Cabe mencionar que estas hormonas regulan el remodelado óseo a través de RANK/RANKL/OPG³⁵⁻³⁹. Por lo tanto, parece plausible que las distintas señales hormonales puedan efectuar su acción a través de diferentes elementos del sistema RANK/RANKL.

Figura 1. Resultados del estudio de asociación de los SNPs genotipados con la prevalencia de la fractura osteoporótica en la cohorte BARCOS para todos los modelos estadísticos, presentados como $-\log_{10}(\text{valor } p)$. En cada una de las gráficas, la línea del umbral mas bajo representa $p=0,05$, y la línea mas alta representa el valor p necesario después de la corrección Bonferroni ($p=8,33 \times 10^{-3}$)



Ésta es la primera vez que el SNP rs78326403 se ha asociado con fracturas; el SNP rs884205 se había relacionado previamente a fenotipos osteoporóticos^{16,40}. En un reciente meta-análisis llevado a cabo por el consorcio GEFOS-GENOMOS⁴¹, que incluye la cohorte BARCOS, el rs884205 se asoció con la DMO, pero no con fracturas. Esta diferencia puede deberse a la heterogeneidad entre las distintas cohortes en la evaluación de la fractura por parte de los diferentes grupos del consorcio. Una replicación futura debe clarificar la asociación de este SNP con el riesgo de fractura.

Por último, una interacción significativa entre el SNP rs9594738 del RANKL, que está asociado con la DMO, y el rs78326403, sugiere un efecto epistático entre RANK y RANKL. En concordancia con estos resultados, en el estudio de los genotipos compuestos se comprobó que había un efecto aditivo de los alelos de los dos SNPs. De esta manera, las portadoras de más alelos desfavorables tienen un riesgo

mayor (OR=5,14) de sufrir fractura respecto las portadoras de los genotipos más favorables.

De acuerdo con nuestros datos, numerosos estudios genéticos de asociación han demostrado una heredabilidad diferente para la DMO y la fractura (o calidad del hueso)¹⁴⁻¹⁶. Sin embargo, es ampliamente conocido que estos fenotipos osteoporóticos están estrechamente relacionados, y nuestros resultados refuerzan esta premisa. En consecuencia, se deberían considerar tanto la DMO baja y otras mediciones adicionales de la calidad del hueso o microarquitectura para evaluar con precisión el riesgo de fractura en el ámbito clínico. Estos hallazgos pueden ser clínicamente relevantes en el futuro para un enfoque más específico para los diferentes tipos de fracturas, tanto para comprender mejor sus mecanismos subyacentes como para buscar estrategias terapéuticas más específicas.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. La muestra disponible es relativamente pequeña (1.098 mujeres) teniendo un número limitado de fracturas, y esto reduce el poder estadístico del estudio y, por lo tanto, nuestra capacidad de identificar y analizar genotipos

raros. Además, nuestros resultados podrían ser específicos de la población estudiada, que se limita a mujeres caucásicas postmenopáusicas mediterráneas. Otros estudios en cohortes más grandes con características diferentes podrían determinar si las asociaciones que reportamos son replicables.

En conclusión, hemos identificado 2 SNP en el 3'UTR de gen RANK (rs78326403 y rs884205), que están asociados con las fracturas osteoporóticas. En nuestra cohorte, cada uno de los SNPs está asociado con un sitio de fractura específico. También se ha encontrado una interacción significativa entre el rs78326403 y un SNP (rs9594738) en el gen RANKL asociado con la DMO destacando la importancia de la DMO y la microarquitectura como predictores genéticamente determinados del riesgo de fractura.

Declaración de intereses: Todos los autores declaran la no existencia de conflictos de intereses.

Tabla 3. Resultados significativos de la asociación entre los SNPs rs884205 y rs78326403 y el sitio de fractura

SNP	Sitio fractura	n	n fracturas	p	OR	IC 95%	p ¹	OR ¹	95% CI ¹
rs78326403	Muñeca/ antebrazo	1.033	34	7,16x10 ^{-4a}	3,12	1,69-5,75	5,8x10 ^{-4a}	3,21	1,74-5,94
rs884205	Columna	1.029	62	8,24x10 ^{-3r}	4,05	1,59-10,35	0,025 ^r	3,31	1,24-8,82

¹: Resultado tras la corrección por DMO: DMO del cuello del fémur para el rs78326403 y de la columna para el rs884205; ^r: recesivo; ^a: log-aditivo.

Tabla 4. Análisis del efecto de los genotipos compuestos de los SNPs rs9594738 y rs78326403: 0/1 alelos desfavorables como grupo de referencia *vs.* 2 y ≥3 alelos desfavorables

Interacción	n alelos desfavorables	n	n individuos con fracturas (%)	Grupos	p	OR	IC 95%
	0	266	7 (2,6%)	Grupo de referencia			
rs9594738x	1	476	9 (1,9%)				
rs78326403	2	244	14 (5,7%)	0/1 <i>vs.</i> 2	7,4x10 ⁻³	2,76	1,30-5,81
	3	33	4 (12,1%)	0/1 <i>vs.</i> 3/4	7,5x10 ⁻³	5,14	1,37-15,67
	4	3	0 (0%)				

Bibliografía

- Knapp KM, Blake GM, Spector TD, Fogelman I. Can the WHO definition of osteoporosis be applied to multi-site axial transmission quantitative ultrasound? *Osteoporos Int* 2004;15:367-74.
- Riggs BL, Melton LJ, 3rd. The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone* 1995;17:505S-11S.
- Kanis JA, Melton LJ, 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:1137-41.
- Shepstone L, Fordham R, Lenaghan E, Harvey I, Cooper C, Gittoes N, et al. A pragmatic randomised controlled trial of the effectiveness and cost-effectiveness of screening older women for the prevention of fractures: rationale, design and methods for the SCOOP study. *Osteoporos Int* 2012;23:2507-15.
- Schuit SC, van der Klift M, Weel AE, de Laet CE, Burger H, Seeman E, et al. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone* 2004;34:195-202.
- Hillier TA, Cauley JA, Rizzo JH, Pedula KL, Ensrud KE, Bauer DC, et al. WHO absolute fracture risk models (FRAX): do clinical risk factors improve fracture prediction in older women without osteoporosis? *J Bone Miner Res* 2011;26:1774-82.
- Sornay-Rendu E, Munoz F, Garnero P, Duboeuf F, Delmas PD. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 2005;20:1813-9.
- Baim S, Leslie WD. Assessment of Fracture Risk. *Curr Osteoporos Rep* 2012;10:28-41.
- Leslie WD, Morin S, Lix LM, Johansson H, Oden A, McCloskey E, et al. Fracture risk assessment without bone density measurement in routine clinical practice. *Osteoporos Int* 2012;23:75-85.
- Sornay-Rendu E, Munoz F, Delmas PD, Chapurlat RD. The FRAX tool in French women: How well does it describe the real incidence of fracture in the OFELY cohort? *J Bone Miner Res* 2010;25:2101-7.
- González-Macías J, Marín F, Vila J, Díez-Pérez A. Probability of fractures predicted by FRAX(R) and observed incidence in the Spanish ECOSAP Study cohort. *Bone* 2012;50:373-7.
- Kanis JA, Oden A, Johansson H, Borgstrom F, Strom O, McCloskey E. FRAX and its applications to clinical practice. *Bone* 2009;44:734-43.
- Liu C, Walter TS, Huang P, Zhang S, Zhu X, Wu Y, et al. Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling. *J Immunol* 2010;184:6910-9.
- Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med* 2008;358:2355-65.
- Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, Gudbjartsson DF, Walters GB, Ingvarsson T, et al. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet* 2009;41:15-7.
- Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, Halldorsson BV, Hsu YH, Richards JB, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009;41:1199-206.
- Duncan EL, Danoy P, Kemp JP, Leo PJ, McCloskey E, Nicholson GC, et al. Genome-wide association study using extreme truncate selection identifies novel genes affecting bone mineral density and fracture risk. *PLoS Genet* 2011;7:e1001372.
- Zupan J, Mencej-Bedrac S, Jurkovic-Mlakar S, Prezelj J, Marc J. Gene-gene interactions in RANK/RANKL/OPG system influence bone mineral density in postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;118:102-6.
- Landi D, Gemignani F, Landi S. Role of variations within microRNA-binding sites in cancer. *Mutagenesis* 2012;27:205-10.
- Dong S, Yang B, Guo H, Kang F. MicroRNAs regulate osteogenesis and chondrogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;418:587-91.

21. Bustamante M, Nogués X, Agueda L, Jurado S, Wesselius A, Cáceres E, et al. Promoter 2 -1025 T/C polymorphism in the RUNX2 gene is associated with femoral neck BMD in Spanish postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2007;81:327-32.
22. Bustamante M, Nogués X, Mellibovsky L, Agueda L, Jurado S, Cáceres E, et al. Polymorphisms in the interleukin-6 receptor gene are associated with bone mineral density and body mass index in Spanish postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 2007;157:677-84.
23. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993;8:1137-48.
24. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
25. Prieto-Alhambra D, Premaor MO, Fina Avilés F, Hermosilla E, Martínez-Lagunamd D, Carbonell-Abella C, et al. The association between fracture and obesity is site-dependent: a population-based study in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2012;27:294-300.
26. Lei SF, Papasian CJ, Deng HW. Polymorphisms in predicted miRNA binding sites and osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2011;26:72-8.
27. Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, Liu JL, et al. Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *J Clin Invest* 2002;110:771-81.
28. Hamrick MW, Ding KH, Ponnala S, Ferrari SL, Isaacs CM. Caloric restriction decreases cortical bone mass but spares trabecular bone in the mouse skeleton: implications for the regulation of bone mass by body weight. *J Bone Miner Res* 2008;23:870-8.
29. Moyer-Mileur LJ, Slater H, Jordan KC, Murray MA. IGF-1 and IGF-binding proteins and bone mass, geometry, and strength: relation to metabolic control in adolescent girls with type 1 diabetes. *J Bone Miner Res* 2008;23:1884-91.
30. Yakar S, Canalis E, Sun H, Mejia W, Kawashima Y, Nasser P, et al. Serum IGF-1 determines skeletal strength by regulating subperiosteal expansion and trait interactions. *J Bone Miner Res* 2009;24:1481-92.
31. Windahl SH, Vidal O, Andersson G, Gustafsson JA, Ohlsson C. Increased cortical bone mineral content but unchanged trabecular bone mineral density in female ERbeta(-/-) mice. *J Clin Invest* 1999;104:895-901.
32. Lorentzon M, Swanson C, Andersson N, Mellstrom D, Ohlsson C. Free testosterone is a positive, whereas free estradiol is a negative, predictor of cortical bone size in young Swedish men: the GOOD study. *J Bone Miner Res* 2005;20:1334-41.
33. Taes Y, Lapauw B, Griet V, De Bacquer D, Goemaere S, Zmierzak H, et al. Prevalent fractures are related to cortical bone geometry in young healthy men at age of peak bone mass. *J Bone Miner Res* 2010;25:1433-40.
34. Vanbillemont G, Lapauw B, Bogaert V, Goemaere S, Zmierzak HG, Taes Y, et al. Sex hormone-binding globulin as an independent determinant of cortical bone status in men at the age of peak bone mass. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1579-86.
35. Rubin J, Ackert-Bicknell CL, Zhu L, Fan X, Murphy TC, Nanes MS, et al. IGF-I regulates osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in vitro and OPG in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4273-9.
36. Zhao HY, Liu JM, Ning G, Zhao YJ, Chen Y, Sun LH, et al. Relationships between insulin-like growth factor-I (IGF-I) and OPG, RANKL, bone mineral density in healthy Chinese women. *Osteoporos Int* 2008;19:221-6.
37. Taxel P, Kaneko H, Lee SK, Aguila HL, Raisz LG, Lorenzo JA. Estradiol rapidly inhibits osteoclastogenesis and RANKL expression in bone marrow cultures in postmenopausal women: a pilot study. *Osteoporos Int* 2008;19:193-9.
38. Michael H, Harkonen PL, Vaananen HK, Hentunen TA. Estrogen and testosterone use different cellular pathways to inhibit osteoclastogenesis and bone resorption. *J Bone Miner Res* 2005;20:2224-32.
39. Hofbauer LC, Kuhne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2004;4:268-75.
40. Guo Y, Wang JT, Liu H, Li M, Yang TL, Zhang XW, et al. Are bone mineral density loci associated with hip osteoporotic fractures? A validation study on previously reported genome-wide association loci in a Chinese population. *Genet Mol Res* 2012;11:202-10.
41. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet* 2012;44:491-501.

Gutiérrez Medina S¹, Medrano Izquierdo P², Díaz Curiel M³

1 Servicio de Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz - Madrid

2 Servicio de Urgencias - Hospital Severo Ochoa - Leganés - Madrid

3 Servicio de Medicina Interna/Enfermedades Metabólicas Óseas - Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz - Madrid

Fracturas vertebrales como debut de síndrome de Cushing diagnosticado tras un embarazo

Correspondencia: Sonsoles Gutiérrez Medina - Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz - Servicio de Endocrinología y Nutrición - Avda. Reyes Católicos, 2 - 28040 Madrid (España)

Correo electrónico: sgutierrezme@fjd.es

Fecha de recepción: 22/03/2012

Fecha de aceptación: 25/06/2012

Resumen

Se describe el caso de una paciente de 34 años con enfermedad de Cushing diagnosticada a raíz de presentar múltiples fracturas vertebrales patológicas tras el parto. El debut fulminante con fracturas agudas en cinco cuerpos vertebrales, las características fenotípicas de la paciente y sus antecedentes médicos orientaron hacia el diagnóstico de síndrome de Cushing, entidad poco habitual coincidente con un embarazo. Tras la resección del adenoma hipofisario y el inicio de tratamiento con teriparatida la paciente experimentó una notable mejoría clínica y densitométrica. Este caso demuestra la importancia de sospechar un trastorno del metabolismo óseo ante la presencia de fracturas patológicas en pacientes jóvenes, más aún en ciertas etapas, como embarazo o lactancia.

Palabras clave: *síndrome de Cushing, osteoporosis, embarazo, lactancia.*

Vertebral fractures as a debut to Cushing's syndrome diagnosed after a pregnancy

Summary

The case is described of a 34 year old patient with Cushing's disease diagnosed as a result of having multiple pathological vertebral fractures after giving birth. The sudden appearance of acute fractures in five vertebral bodies, the phenotype characteristics of the patient and her medical history pointed to a diagnosis of Cushing's syndrome, a condition which rarely coincides with pregnancy. After a resection of the hypophysary adenoma and the start of treatment with teriparatide, the patient experienced notable clinical and densitometric improvement. This case demonstrates the importance of suspecting a bone metabolism disorder in the presence of pathological fractures in young patients, even more in certain states, such as pregnancy or lactation.

Key words: *Cushing's syndrome, osteoporosis, pregnancy, lactation.*

Introducción

El síndrome de Cushing comprende los síntomas y signos asociados con una exposición prolongada a unos niveles inapropiadamente elevados de glucocorticoides. Excluidos los casos debidos al uso crónico de glucocorticoides, la gran mayoría (60-70%) se debe a un adenoma hipofisario; es lo que se conoce como enfermedad de Cushing. Otras causas son: tumores o anomalías en las glándulas suprarrenales y secreción ectópica de ACTH. La osteoporosis es muy frecuente en los pacientes con síndrome de Cushing. El deterioro funcional y estructural del hueso es causa importante de morbilidad y discapacidad en estos pacientes, los cuales tienen un mayor riesgo de fracturas, fundamentalmente a nivel vertebral.

Por otra parte, el embarazo y la lactancia determinan múltiples cambios en la mujer, muchos de los cuales afectan al hueso.

Sin embargo, la combinación de síndrome de Cushing y embarazo es muy poco frecuente debido a que el hipercortisolismo habitualmente cursa con amenorrea e infertilidad.

Caso Clínico

Paciente mujer de 34 años, natural de España, derivada a la consulta de enfermedades metabólicas óseas por presentar varias fracturas vertebrales después del parto.

La paciente negaba antecedentes familiares de fracturas. Afirmaba ingesta diaria adecuada de derivados lácteos y escasa actividad física habitual. Como antecedentes médicos de interés, había presentado una fractura traumática transversal de rótula 3 años antes con complicación de pseudoartrosis. La paciente además estaba diagnosticada de síndrome de ovario poliquístico por amenorrea persistente desde los 14 años, y recibió tratamiento con acetato de ciproterona y etinilestradiol de forma conti-

nuada, suspendiendo el tratamiento para intentar embarazo. Tras suspender los anovulatorios la paciente mantuvo la amenorrea previa sin conseguir gestación, por lo que finalmente requirió técnicas de reproducción asistida (fecundación *in vitro*). Tuvo embarazo sin complicaciones (no diabetes gestacional, no hipertensión ni preeclampsia). Mantuvo lactancia natural durante 5 meses. La paciente afirmaba aumento de peso en los últimos años, y de forma importante después del parto. Un mes después del parto comenzó con dolor en región lumbar persistente. Tras dos meses con lumbalgia resistente a tratamiento se realizó resonancia magnética de columna, que evidenció fracturas de varios cuerpos vertebrales tanto dorsales como lumbares, observándose disminución de altura de los cuerpos vertebrales T6, T8, T9, T11, T12, L1, L2, L3 y L5 con signos agudos a nivel de T8, T9, T10, L1 y L3 (Figura 1). La exploración física revelaba rubicundez facial, acúmulo de grasa supraclavicular y retrocervical con discreta atrofia cutánea. El peso era de 75,8 kg, la talla de 1,61 metros, con un índice de masa corporal de 29,2 kg/m². La tensión arterial era 150/95 mm Hg, confirmada en varias ocasiones.

En la analítica general destacaban los siguientes valores: hemoglobina, 13,4 g/dl; velocidad de sedimentación en la primera hora, 10 mm/h (normal, <25); 25-OH-vitamina D, 8,39 ng/ml (normal, 20-50); calcio sérico, 8,6 mg/dl; parathormona intacta (PTH), 26 pg/ml (normal, 10-65); fosfatasa alcalina, 93 UI/l (normal, 38-126); telopéptido carboxiterminal del colágeno (CTX), 0,595 ng/ml (normal, 0,064-0,548), propéptido aminoterminal del procolágeno (P1NP), 38,7 ng/ml (normal, 10,4-62); cortisol urinario en 24 horas, 616,00 y 779,9 µg (normal, <200); creatinina en orina, 41,6 mg/dl; ACTH, 81,97 pg/ml (normal, 4,7-48,8); TSH, 0,45 µUI/ml (normal, 0,465-468); y espectro electroforético, sin alteraciones.

La densitometría ósea (absorciometría dual de rayos X, DXA) era compatible con osteoporosis en columna lumbar y osteopenia en cuello de fémur: columna lumbar (L2-L4), 0,709 g/cm² (T-score = -3,26) y cuello de fémur, 0,683 g/cm² (T-score = -1,44).

Ante la evidencia de hipercortisolismo ACTH dependiente, y tras el descenso de más del 50% del cortisol plasmático tras el test de supresión fuerte con dexametasona, se diagnosticó enfermedad de Cushing. En la resonancia magnética (RM) cerebral se evidenció una imagen nodular de 4 mm en adenohipófisis derecha, en el margen superior y anterior (Figura 2). Inició tratamiento con fluconazol previo a la cirugía que mejoró las cifras tensionales y provocó un pequeño sangrado menstrual espontáneo. Fue sometida a intervención quirúrgica vía transesfenoidal para la resección del microadenoma a los 8 meses del parto.

Se recomendó posteriormente un tratamiento con suplementos de calcio y vitamina D (1.500 mg al día de carbonato cálcico y 400 mg al día de colecalciferol), teriparatida subcutánea diaria e hidroclorotiazida a dosis sustitutivas de 30 mg al día, así como recomendaciones de dieta rica en lácteos y ejercicio físico habitual. Tras la cirugía del adenoma hipofisario la paciente comenzó a tener menstruaciones espontáneas sin tratamiento, se normalizaron las cifras de tensión arterial, desapareció progresivamente el fenotipo cushingoide que presentaba, y experimentó una notable reducción de peso.

Al año del inicio del tratamiento con teriparatida mostró una mejoría notable de la DXA en ambas localizaciones: columna lumbar (L2-L4), 0,837 g/cm² (T-score = -2,03) y cuello de fémur 0,714 g/cm² (T-score = -1,14), así como una evolución analítica favorable: fosfatasa alcalina, 69 UI/l; 25-OH-vitamina D, 21,9 ng/ml; PTH, 31,4 pg/ml; CTX, 1,830 ng/ml; y P1NP, 286,9 ng/ml.

Discusión

El síndrome de Cushing se define como el conjunto de signos y síntomas derivados de la exposición prolongada a niveles inapropiadamente elevados de glucocorticoides.

Harvey Cushing, en 1932, fue el primero en postular que el síndrome caracterizado por obesidad, plétora, diabetes, hipertensión, hirsutismo, amenorrea y osteoporosis, podía estar causado por adenomas hipofisarios¹.

El síndrome de Cushing es infrecuente durante el embarazo porque el exceso de corticoides y andrógenos suprimen la secreción de gonadotropinas, lo que conlleva una disfunción ovárica y endometrial. La causa más frecuente de síndrome de Cushing durante el embarazo es el adenoma adrenal; sin embargo, se han publicado casos de adenoma hipofisario². Por otra parte, el síndrome de Cushing durante el embarazo conlleva una elevada morbilidad materna, hasta en un 70% de los casos³, siendo las complicaciones más frecuentes la hipertensión arterial y la diabetes *mellitus*.

Figura 1. Resonancia magnética de columna vertebral



Figura 2. Resonancia magnética hipofisaria



Menos frecuentes son la osteoporosis, las fracturas, la enfermedad psiquiátrica y la insuficiencia cardíaca. Por tanto, es común infradiagnosticar esta patología durante la gestación y confundirla con otras entidades como pre-eclampsia o diabetes gestacional⁴.

La fisiopatología de la Osteoporosis Inducida por Esteroides (OIE) es compleja, puesto que existen múltiples factores implicados y muchos de ellos no han sido aclarados completamente⁵. Existe un descenso de la formación ósea por la apoptosis de osteoblastos y osteocitos⁶, así como un aumento de la resorción ósea por la activación de osteoclastos⁷, con una vida útil más prolongada. La formación de nuevo colágeno es inhibida y la degradación del colágeno preexistente es acelerada⁸. Los esteroides también tienen efectos sobre el remodelado óseo a nivel de la unidad básica de remodelado, dando lugar a una reducción del espesor medio trabecular y a un menor grado de aposición ósea. Además, los esteroides disminuyen los niveles de factor de crecimiento de la insulina (IGF-1), hormona del crecimiento (GH) y hormonas sexuales. Con respecto al metabolismo del calcio, disminuyen la absorción intestinal y aumentan la excreción renal de calcio⁹.

Los pacientes con enfermedad de Cushing pueden tener un descenso en las cifras de fosfatasa alcalina y osteocalcina, lo que indica el efecto inhibitorio de la función osteoblástica⁹, así como una elevación de los parámetros de resorción ósea.

Las fracturas óseas están presentes en el 19-50% de los pacientes con síndrome de Cushing, incluyendo enfermedad de Cushing¹⁰ y concretamente, las fracturas vertebrales en el 16-20%¹¹. En la OIE las zonas de mayor afectación son las de alto contenido en hueso trabecular. Esto implica un aumento de fracturas vertebrales, en costillas y pelvis.

La OIE ocurre en dos fases, una temprana más rápida, en la cual la densidad mineral ósea (DMO) es reducida por la resorción ósea excesiva, y una más lenta y progresiva, en la cual la DMO disminuye por el daño en la formación ósea. Sin embargo, la OIE es reversible, siendo la recuperación de la DMO gradual.

Se ha publicado que la recuperación completa de la DMO en pacientes curados de enfermedad de Cushing puede llevar más de diez años¹⁰. El tratamiento con bifosfonatos y el fragmento activo de la Hormona Paratiroidea Humana (PTH 1-34) o teriparatida, pueden acelerar la recuperación de la DMO en estos pacientes.

Los fármacos aprobados en España para el tratamiento de la OIE son el risedronato, el zoledronato y, en casos de alto riesgo de fractura, la teriparatida. Los bifosfonatos tienen efecto antirresortivo al inhibir la activación o reclutamiento de los osteoclastos. El risedronato constituye el fármaco de primera elección en el tratamiento de esta enfermedad, al ser de uso oral. El zoledronato se administra de forma intravenosa, una vez al año, lo que supone mayor comodidad para los pacientes y mayor adherencia al tratamiento. La PTH 1-34 o teriparatida es

obtenida por tecnología del ADN recombinante, tiene una acción anabolizante, puesto que estimula la formación de hueso por efecto directo en los osteoblastos aumentando indirectamente la absorción intestinal de calcio y aumentando en el riñón la reabsorción tubular de calcio y la excreción de fosfato. También se relaciona con una mejora en la densidad mineral y en la calidad del hueso¹². Está aprobada en el tratamiento de la osteoporosis establecida en mujeres postmenopáusicas (fractura por fragilidad capilar y DMO con un valor T-score menor de -2,5) y en el tratamiento de la osteoporosis esteroidea, demostrando un aumento de la DMO y una reducción del riesgo de fractura en estos pacientes¹³. Su uso está limitado a un máximo de 18 meses, pudiendo ser a continuación sustituido por un fármaco antirresortivo.

Por otra parte, el embarazo es un estado de hiperestrogenismo que suele inhibir la resorción ósea¹⁴; no obstante, se ha descrito en ocasiones pérdida de masa ósea y fracturas. Las fracturas osteoporóticas asociadas al embarazo se caracterizan por la presencia de dolor lumbar y en cadera en el tercer trimestre de gestación. Se han publicado fracturas púbicas y femorales subcapitales en embarazadas con osteoporosis¹⁴. Sin embargo, es frecuente la rápida resolución clínica y radiológica después del parto¹⁵. En el presente caso, la paciente sufrió múltiples fracturas vertebrales varios meses después del parto, lo que no es compatible con la osteoporosis transitoria del embarazo.

La lactancia materna también puede afectar a los huesos de la madre. Algunos estudios han demostrado que las mujeres pueden perder del 1 al 3% de su masa ósea durante la lactancia, por la creciente necesidad del recién nacido por el calcio, por la reducción en la producción de estrógenos y por el aumento de los niveles de proteínas relacionadas con la hormona paratiroidea (PTHrP)¹⁶. No obstante, la pérdida de masa ósea que tiene lugar durante la lactancia suele recuperarse en los seis primeros meses postparto.

En la paciente confluyen determinadas características que hacen interesante el caso. En primer lugar la aparición de un embarazo sin complicaciones en una paciente con un síndrome de Cushing es un hecho poco habitual. Aunque este punto puede ser discutible por la ausencia de niveles de cortisol previos al embarazo, sin embargo, la aparición de ganancia de peso previa a éste, los defectos de consolidación de la fractura de rótula, la esterilidad o la amenorrea recuperada tras la cirugía, nos hacen pensar que el síndrome de Cushing estaba presente antes del embarazo. En segundo lugar, la presencia de un debut fulminante con múltiples fracturas vertebrales agudas también es infrecuente en personas jóvenes. Quizá este punto se explique por el efecto desmineralizante del embarazo y la lactancia¹⁶ que tiene lugar sobre un hueso previamente afectado por OIE. Y en tercer y último lugar, es interesante la buena respuesta a la teriparatida en el caso de una OIE.

Existen múltiples causas de osteoporosis secundarias en pacientes jóvenes, muchas de ellas relacionadas con endocrinopatías. Por ello, es fundamental sospechar e incluir el síndrome de Cushing en el diagnóstico diferencial ante la presencia de múltiples fracturas patológicas en pacientes jóvenes, incluso en ciertas etapas, como el embarazo y la lactancia.

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Arnaldo G, Angeli A, Atkinson AB, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: A consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5593-602.
2. Yoshihara A, Okubo Y, Tanabe A, Sata A, Nishimaki M, Kawamata T, et al. A juvenile case of Cushing's Disease incidentally discovered with multiple bone fractures. *Intern Med* 2007;46:583-7.
3. Goñi Iriarte MJ. Síndrome de Cushing: situaciones especiales. *Endocrinol Nutr* 2009;56:251-61.
4. Choi WJ, Sik Jung T, Young Paik W. Cushing's syndrome in pregnancy with a severe maternal complication: A case report. *J Obstet Gynecol Res* 2011;37:163-7.
5. Adachi JD, Papaioannou A. Corticosteroid-induced osteoporosis. *Drug Safety* 2001;24:607-24.
6. Manolagas SC, Weinstein RS. New developments in the pathogenesis and treatment of steroid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1999;14:1061-6.
7. Bressot C, Meunier PJ, Chapuy MC, Lejeune E, Edouard C, Darby AJ. Histomorphometric profile pathophysiology, and reversibility of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Metab Bone Dis Relat Res* 1979;1:303-11.
8. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3441-6.
9. Canalis E, Delany AM. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Ann NY Acad Sci* 2002;966:73-81.
10. Mancini T, Doga M, Mazziotti G, Giustina A. Cushing's syndrome and bone. *Pituitary* 2004;7:243-6.
11. Khanine V, Fournier JJ, Requeda E, Luton JP, Simon F, Crouzet J. Osteoporotic fractures at presentation of Cushing's disease: two case reports and a literature review. *Joint Bone Spine* 2000;67:341-5.
12. Weinstein RS, Jilka RL, Almeida M, Roberson PK, Manolagas SC. Intermittent parathyroid hormone administration counteracts the adverse effects of glucocorticoids on osteoblast and osteocyte viability, bone formation, and strength in mice. *Endocrinology* 2010;151:2641-9.
13. Carpinteri R, Porcelli T, Mejia C, Patelli I, Bilezikian JD, Canalis E, et al. Glucocorticoid-induced osteoporosis and parathyroid hormone. *J Endocrinol Invest* 2010;33:16-21.
14. Smith R, Athanasou NA, Ostlere SJ, Vipond SE. Pregnancy-associated osteoporosis. *Q J Med* 1995;88:865-78.
15. Tajika T, Shinozaki T, Watanabe H, Yangawa T, Takagishi K. Case report of a Cushing's syndrome patient with multiple pathologic fractures during pregnancy. *J Orthop Sci* 2002;7:498-500.
16. Hirata G, Chaki O. Bone loss in lactating women and post-pregnancy osteoporosis. *Clin Calcium* 2011;21:1347-52.

Caeiro JR^{1,2}, González P³, Guede D^{1,4}

1 Red Temática de Investigación en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF) - Instituto de Salud Carlos III - Ministerio de Economía y Competitividad - Madrid

2 Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología - Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela - A Coruña

3 Grupo de Nuevos Materiales - Departamento de Física Aplicada - Universidad de Vigo - Pontevedra

4 Trabeculae - Empresa de Base Tecnológica, S.L. Ourense - España

Biomecánica y hueso (y II): Ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea

Correspondencia: David Guede - Trabeculae, S.L. Parque Tecnológico de Galicia - Edificio "Tecnópole I" Local 22 - 32900 San Cibrao das Viñas - Ourense (España)
Correo electrónico: dguede@trabeculae.com

Resumen

Para una mayor comprensión de las propiedades mecánicas del hueso en conjunto, debe determinarse primero el comportamiento de cada uno de los componentes de forma individual en su nivel estructural correspondiente y su implicación a nivel global. Ésta es la base de la teoría de la estructuración jerárquica del hueso, que implica su división en varios niveles estructurales. Repasamos en este trabajo dicha estructuración jerárquica nivel a nivel, revisando los distintos ensayos mecánicos que se aplican a cada una de las estructuras. Por otro lado, se presentan los métodos para la determinación de la resistencia ósea alternativos a los ensayos mecánicos clásicos, que en los últimos años están contribuyendo significativamente al entendimiento mecánico del hueso.

Palabras clave: *biomecánica, tejido óseo, resistencia ósea.*

Biomechanics and bone (& II): Trials at different hierarchical levels of bone and alternative techniques for determining bones strength

Summary

For a greater understanding of the mechanical properties of bone as a whole, it is first necessary to determine the behaviour of each of the components in an individual way at its corresponding structural level, as well as its overall involvement. This is the basis of the theory of hierarchical structure of bone, which involves its division into different structural levels. In this work we review, level by level, this hierarchical structure, reviewing the different mechanical trials which are applied to each of the structure. In addition, the methods for the determination of bone strength alternative to the classic mechanical trials are presented, which in recent years have been contributing significantly to the mechanical understanding of bone.

Key words: *biomechanics, bone tissue, bone strength.*

Introducción

Cualquiera que sea el tipo de fuerza a la que sometamos un hueso *in vitro*, el módulo elástico siempre es proporcional a la densidad mineral ósea (DMO), por lo que la carga necesaria para la deformación del hueso será proporcional al grado de mineralización del mismo. Sin embargo, un hueso con una DMO muy elevada implicaría una elevada rigidez, provocando que dicho hueso sea altamente quebradizo. Esto demuestra que existen otros factores, además de la masa, que influyen en la eficacia biomecánica del hueso, como la composición del tejido óseo y la estructura arquitectónica del mismo (macro- y microscópica), agrupándose todos ellos en el término calidad ósea. Se ha estimado que la cantidad ósea es responsable del 60 al 80% de la resistencia biomecánica del hueso, mientras que el 20-40% restante depende de la calidad ósea, por lo que es un gran error subestimar la importancia de la misma¹. Por eso resulta de vital importancia conocer la aportación de cada uno de los componentes del hueso a la resistencia mecánica del conjunto.

En la primera parte de esta revisión² los autores hicimos una introducción al campo de la biomecánica enfocada al hueso. Presentamos los conceptos básicos de la materia y mostramos los ensayos mecánicos clásicos que se utilizan desde hace tiempo para conocer las propiedades mecánicas del hueso. Pero en los últimos años, los avances en el campo de la biomecánica han ido mucho más allá, consiguiendo analizar por separado la resistencia mecánica de los distintos niveles estructurales del hueso, lo cual sirve de gran ayuda para entender la capacidad del hueso como conjunto para soportar las cargas a las que es sometido. En esta segunda parte de la revisión, queremos repasar los ensayos realizados en todos los niveles estructurales. Además, se presentan técnicas alternativas a los ensayos clásicos que se están utilizando cada vez más para la determinación de la resistencia ósea.

La estructura jerárquica del hueso y sus propiedades biomecánicas

El hueso está formado por una matriz orgánica compuesta principalmente por colágeno tipo I y una matriz inorgánica mineralizada (cristales de hidroxiapatita y fosfato cálcico). Las fibras de colágeno que forman el hueso son el resultado de la unión mediante enlaces cruzados de una triple hélice de cadenas de este material. Esta estructura le confiere al hueso su resistencia a la tracción en sentido longitudinal y es responsable en gran parte de la elasticidad del mismo. Las propiedades biomecánicas que proporciona el colágeno dependen a su vez de las características ultraestructurales del mismo, como la cantidad y la orientación de sus fibras o la estabilidad de sus enlaces. En diversos estados patológicos estas características se ven seriamente afectadas (principalmente la estabilidad de los enlaces). Por otro lado, los cristales se disponen en los huecos que quedan libres en la matriz orgánica y son los responsables de la rigidez del hueso y de su resistencia a la compresión, por lo que estas características dependerán de la cantidad de mineral, del grado de empaquetamiento y de la ordenación de los cristales alrededor de las fibras de colágeno.

A causa de su compleja estructura, para conocer y comprender las propiedades biomecánicas del hueso, deben tenerse en cuenta los distintos niveles estructurales. El hueso, al igual que otros materiales biológicos, posee lo que se conoce como estructura jerárquica, compuesta de distintos niveles a medida que variamos la escala (Figura 1). En la Tabla 1 se definen dichos niveles, según las clasificaciones establecidas por diferentes autores en los últimos años³⁻⁶. Cada una de estas escalas o niveles jerárquicos va a tener influencia en las características biomecánicas del hueso.

Tabla 1. Clasificación y definición de los niveles jerárquicos del hueso propuestos por distintos autores³⁻⁶

Nivel jerárquico	Componentes principales	Referencia
Macroestructura	Hueso cortical y trabecular	(Rho <i>et al.</i> , 1998) ³
Microestructura	Osteonas y trabéculas individuales	
Submicroestructura	Láminas	
Nanoestructura	Colágeno fibrilar y componentes minerales	
Subnanoestructura	Estructura molecular de los distintos elementos	
Nivel 7	Hueso entero	(Weiner and Wagner, 1998) ⁴
Nivel 6	Hueso cortical y trabecular	
Nivel 5	Osteonas	
Nivel 4	Patrones de las fibras (hueso maduro <i>vs.</i> hueso intersticial)	
Nivel 3	Fibras de colágeno	
Nivel 2	Fibrillas de colágeno y minerales	
Nivel 1	Moléculas	
Nivel hueso entero	Hueso entero o representativo de ambos subtipos	(Hoffler <i>et al.</i> , 2000) ⁵
Nivel arquitectural	Hueso cortical o trabecular	
Nivel tisular	Trabéculas y osteonas individuales	
Nivel laminar	Láminas	
Nivel ultraestructural	Componentes minerales y moleculares	
Macroestructura	Hueso entero o representativo de ambos subtipos	(An, 2000) ⁶
Arquitectura	Bloques de hueso cortical o trabecular	
Microestructura	Trabéculas y osteonas individuales	
Submicroestructura	Láminas, fibras grandes de colágeno	
Ultra o nanoestructura	Fibrillas y moléculas de colágeno, componentes minerales	

Biomecánica de la estructura entera

El comportamiento mecánico de un material puede ser descrito completamente por un grupo de propiedades materiales. Sin embargo, el comportamiento mecánico de una estructura ósea entera es mucho más complejo de predecir, ya que es el resultado de las propiedades materiales de cada uno de sus componentes y de su distribución geométrica en el espacio.

Los ensayos mecánicos con huesos enteros o fracciones representativas de un hueso determinan las propiedades del conjunto del hueso, asumiendo que tanto el tejido trabecular como el cortical se pueden modelar como una estructura continua, incorporando tanto su geometría como las propiedades de los distintos materiales que lo componen. Para poder llevar a cabo esta simplificación, obviando con ella la anisotropía y heterogeneidad ósea, debe cumplirse la máxima de que la muestra a ensayar sea significativamente mayor que las dimensiones de sus unidades estructurales básicas. El análisis biomecánico del hueso entero

debe acompañarse siempre del análisis de su geometría. El comportamiento mecánico de este tipo de muestras es el que más se aproxima al comportamiento del hueso *in vivo*; sin embargo, no resulta conveniente calcular parámetros materiales a este nivel, ya que debido a la compleja geometría y propiedades materiales del hueso entero, no se pueden identificar alteraciones de la microestructura o de la matriz extracelular, que deben ser investigados en niveles microscópicos⁵. No obstante, los ensayos con hueso entero se pueden utilizar para analizar las propiedades mecánicas del componente estructural, resultando de utilidad en el análisis de los efectos que diversos factores, como la edad, las enfermedades osteodegenerativas y sus correspondientes tratamientos, etc., provocan en las propiedades biomecánicas del hueso.

Se han llevado a cabo muchos trabajos para conocer el comportamiento mecánico de huesos enteros, en los cuales se emplean ensayos de compresión y de flexión en tres o cuatro puntos y en menor medida, ensayos de torsión.

Figura 1. Esquema representativo de los distintos niveles de la estructuración jerárquica del hueso

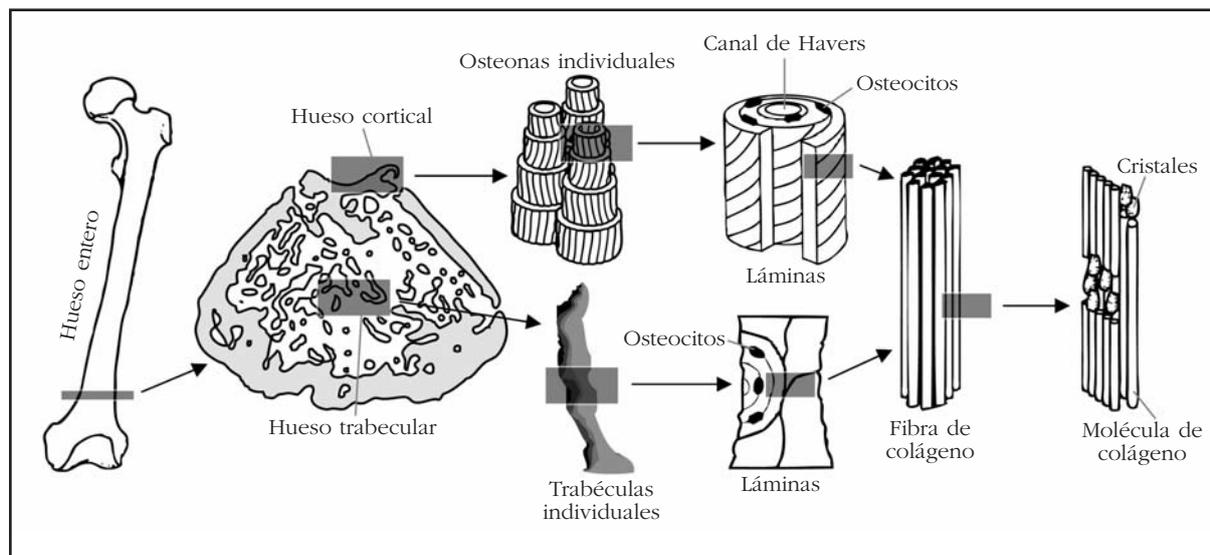
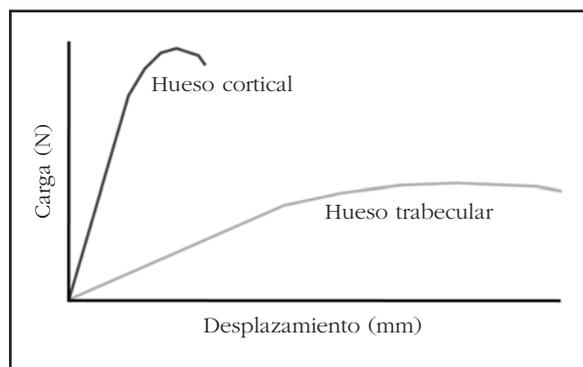


Figura 2. Curva carga-desplazamiento del comportamiento biomecánico característico de los distintos tipos tisulares



En las pruebas de flexión, las medidas consisten en simples valores de cargas de vencimiento y de fractura, y rigidez (pendiente de la zona elástica). Se puede obtener también un valor del módulo de Young, pero estos cálculos ignoran la heterogeneidad y la compleja geometría del hueso, ya que asumen que el hueso es un tubo hueco perfecto, por lo que el valor obtenido es simplemente aproximado⁷. No obstante, es el método más comúnmente usado para estimar las propiedades mecánicas del material óseo en el hueso entero. El hueso es más resistente a la compresión que a la tracción, y es todavía más débil frente a fuerzas de corte⁸. Por ejemplo, cuando un hueso largo se carga en dirección perpendicular a su eje longitudinal sufre una carga de flexión, ya que la cara impactada se carga por compresión, mientras que la cara opuesta se carga por tracción. Como resultado, el hueso empezará a fracasar mecánicamente por el lado opuesto al impacto (la cara sometida a tracción), ya que alcanzará primero su resistencia máxima que el lado sometido a compresión.

Biomecánica de los componentes tisulares

En función de la estructura del hueso y de su comportamiento biomecánico, podemos encontrar dos subtipos tisulares: el hueso cortical y el hueso trabecular o esponjoso. Las diferencias morfológicas entre hueso cortical y trabecular producen importantes implicaciones biomecánicas. El hueso cortical posee un módulo elástico mayor, por lo que su curva de esfuerzo-deformación presenta una mayor pendiente. Esto implica que es capaz de soportar un alto grado de carga por unidad de superficie con un bajo índice de deformación, lo que le confiere una gran rigidez. Sin embargo, el hueso trabecular presenta un módulo de Young menor y biomecánicamente describe una curva más aplanada, lo que se traduce en que la carga soportable por unidad de superficie es menor, pero con un mayor índice de deformación, lo que conlleva mayor flexibilidad (Figura 2).

Biomecánica del hueso cortical o compacto

El análisis biomecánico de hueso cortical se lleva a cabo en cubos o cilindros que contengan el número suficiente de sistemas de Havers y huecos intersticiales para considerarse representativo. El límite superior del tamaño de la muestra vendrá determinado por la región anatómica de la que se ha extraído⁹. Las propiedades mecánicas del hueso cortical dependen del tipo de ensayo al que se someta. En la Tabla 2 se muestran los valores de resistencia y módulo elástico para el hueso cortical humano¹⁰⁻¹⁴. Las variaciones de los valores se deben principalmente a la región de procedencia y a la edad de la muestra.

Aunque la prueba de referencia para determinar las propiedades biomecánicas del hueso cortical es el ensayo de tracción, la que se emplea con mayor frecuencia es el ensayo de flexión. La resistencia a la tracción es menor que la resistencia a la compresión, y en el ensayo de torsión el valor del módulo de Young es mucho menor que en el resto de casos. Debido a la orientación longitudinal de

las fibras de colágeno y las osteonas, el hueso cortical presenta una mayor resistencia a la aplicación de cargas longitudinales (0° de inclinación) que transversales (90° de inclinación), y para valores intermedios de inclinación se obtendrán valores intermedios de resistencia. Además, su resistencia biomecánica en sentido longitudinal es también mayor que la provocada por cargas de torsión. Mientras que las propiedades de un hueso largo entero son función de su forma tubular y su densidad, las del

hueso cortical aislado dependen de su densidad y de la orientación de las osteonas. Debido a esto, los valores de resistencia del hueso cortical suponen un 60% de la resistencia del hueso entero, lo que implica una mayor resistencia mecánica de este componente tisular¹⁵.

La densidad del hueso cortical depende de su porosidad y de la mineralización del material, y en el hueso humano posee un valor aproximado de $1,9 \text{ g/cm}^2$, prácticamente constante debido a que la estructura cortical es bastante compacta¹⁶. Se ha llegado a la conclusión de que existe una correlación positiva entre la densidad cortical y sus propiedades biomecánicas, de forma que si aumenta la primera mejoran las segundas. La porosidad se define como la relación entre el volumen óseo y el volumen total de tejido, y se determina normalmente sobre una sección transversal de hueso cortical. La porosidad y la mineralización explican el 84% de la variación en la rigidez del hueso cortical¹⁷, e incluso se han encontrado experimentalmente fórmulas que relacionan la mineralización con el módulo de Young, de forma que un aumento de la mineralización implica una disminución del módulo elástico¹⁸.

El grosor y el diámetro del hueso cortical son los principales factores que afectan a su biomecánica. Un aumento de cualquiera de estas características provoca un aumento de la resistencia ósea. Un hueso largo se puede modelar como un cuerpo cilíndrico, y según las leyes básicas de la mecánica la resistencia a la deformación de cualquier cuerpo cilíndrico sometido a una fuerza es directamente proporcional a su diámetro. Por otro lado, el grosor de la región cortical y la cantidad de masa ósea están estrechamente relacionados, de manera que, con masa ósea constante, una variación en su distribución modifica también la resistencia del hueso. La disminución del grosor cortical que se produce con la edad o en algunas enfermedades osteodegenerativas lleva asociado un aumento del riesgo de fractura.

Biomecánica del hueso trabecular o esponjoso

En el caso del hueso trabecular, el análisis mecánico se lleva a cabo también en cubos o cilindros de este subtipo tisular, de las dimensiones suficientes para que el componente microestructural no influya en las propiedades biomecánicas. Las

Tabla 2. Valores de resistencia máxima y módulo elástico del hueso cortical humano para los distintos tipos de ensayos mecánicos¹⁰⁻¹⁴

Ensayos de compresión	Resistencia	167 – 213 MPa
	Módulo de Young	14,7 – 34,3 GPa
Ensayos de tracción	Resistencia	107 – 170 MPa
	Módulo de Young	11,4 – 29,2 GPa
Ensayos de flexión	Resistencia	103 – 238 MPa
	Módulo de Young	9,8 – 15,7 GPa
Ensayos de torsión	Resistencia	65 – 71 MPa
	Módulo de Young	3,1 – 3,7 GPa

propiedades estructurales del hueso trabecular se determinan habitualmente mediante ensayos de compresión, tracción o flexión.

Con los resultados obtenidos en estos distintos ensayos se ha observado que el hueso trabecular, de la misma manera que el cortical, presenta una mayor resistencia ante la carga de compresión que ante cualquier otro tipo¹⁹. La resistencia en ensayos de compresión varía entre 1,5 y 9,3 MPa y el módulo de Young entre 10 y 1.058 MPa, en función de la región del esqueleto. La densidad del hueso trabecular humano es de aproximadamente $0,43 \text{ g/cm}^2$. Experimentalmente se llegó a la conclusión de que tanto la resistencia como el módulo de Young son función del cuadrado de la densidad, de forma que un pequeño aumento en la densidad produce grandes incrementos en los dos parámetros anteriores²⁰.

La relación volumétrica ósea trabecular (cociente entre el volumen de hueso trabecular y el volumen de tejido total, BV/TV) juega un papel muy importante en la resistencia mecánica del hueso. Si la BV/TV disminuye por debajo del 15% peligrará seriamente la integridad estructural del tejido, siendo éste mucho más propenso a la fractura. El número de trabéculas y la conectividad también presentan una importancia muy significativa en el comportamiento biomecánico del hueso esponjoso. Las trabéculas están dispuestas vertical y horizontalmente, siendo esta última disposición de vital importancia a nivel de resistencia. Se puede modelar el tejido esponjoso como un conjunto de vigas (trabéculas horizontales) y pilares (trabéculas verticales), de forma que en las primeras recae la función de conexión y sujeción de la estructura. Un descenso en el número de trabéculas disminuye la resistencia, siendo esta disminución más importante si se trata de trabéculas horizontales. Una resistencia disminuida por un estrechamiento de las trabéculas es reversible con un tratamiento adecuado; sin embargo, si desaparece la conectividad entre trabéculas, la pérdida de resistencia se vuelve irreversible ya que no se puede recuperar su elasticidad original. Por lo tanto, una estructura con mayor número, grosor y conectividad entre trabéculas será más resistente que otra con menor número, menor grosor y mayor separación, aunque ambas presenten la misma masa ósea.

La orientación de las trabéculas define el grado de anisotropía. Existe una correlación entre el riesgo de fractura y la anisotropía del hueso que no depende de la masa trabecular. Las trabéculas se orientan de manera que son más resistentes en la dirección en la que habitualmente soportan la carga, produciendo así una heterogeneidad o anisotropía en su estructura. Por lo tanto, si una región soporta normalmente cargas longitudinales (como, por ejemplo, el cuello femoral) sus trabéculas se dispondrán geoméricamente de la forma que mejor puedan soportar estos esfuerzos, siendo muy resistentes a cargas en esta dirección (cargas de compresión), pero presentando un alto riesgo de fractura ante una carga en otra dirección (por ejemplo, una carga transversal debida a una caída). El hueso cortical también sigue un comportamiento anisotrópico debido a la disposición de los conductos de Havers, pero su relevancia mecánica es mucho menor que en el caso del hueso esponjoso.

Biomecánica de osteonas y trabéculas individuales

El análisis biomecánico a este nivel describe las propiedades materiales del tejido independientemente de su geometría, ya que se realiza sobre muestras lo suficientemente pequeñas para que la arquitectura del hueso no tenga influencia en el resultado. En el caso de hueso cortical, los ensayos se realizarían en un bloque de unas pocas osteonas o incluso solamente en una, mientras que para hueso trabecular se emplearía un paquete de trabéculas sin su típica arquitectura porosa, ya que en un tamaño mayor de muestra la geometría jugaría un importante papel en las propiedades biomecánicas.

El uso de pruebas de nanoindentación para el análisis de las propiedades mecánicas de muestras de tamaño muy reducido se ha ido desarrollando en la última década, permitiendo el análisis en profundidad de estructuras como trabéculas u osteonas individuales²¹. Las técnicas de nanoindentación emplean un indentador rígido con el fin de presionar la superficie del material ensayado, provocando de esta manera una deformación local de dicha superficie. La fuerza aplicada y la profundidad a la que penetra el indentador se registran tanto durante la aplicación de la fuerza como una vez liberada la muestra, generando de este modo una curva carga-desplazamiento de la que se pueden obtener las propiedades materiales (Figura 3).

Los equipos para ensayos de nanoindentación miden normalmente la fuerza por medios electromagnéticos o electrostáticos, y el desplazamiento mediante un sensor capacitivo o un dispositivo láser. Estos métodos permiten medidas de fuerza entre 1 y 500.000 μN , y de desplazamiento entre 0,2 y 20.000 nm^2 .

Para llevar a cabo el análisis de las osteonas deben aislarse primero. Aunque es posible aislar una sola osteona individual, la forma de la misma provoca ensayos mecánicos erróneos e imposibilita la comparación de resultados. Por ello, la mejor opción es obtener mediante un micrófono que

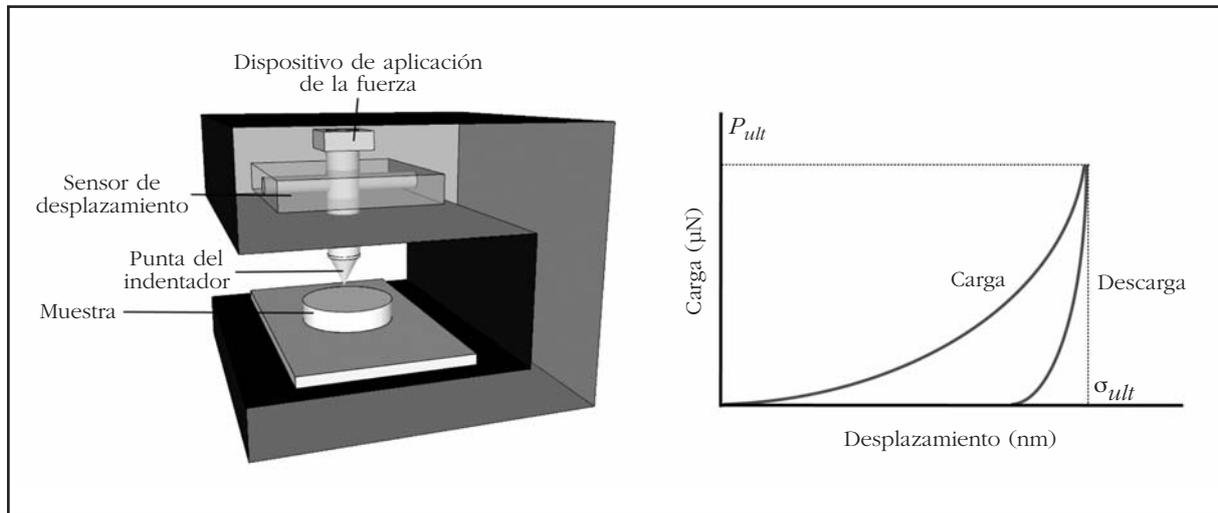
refrigere continuamente el hueso una muestra de forma definida, siendo el cilindro el que mejor representa las propiedades de las osteonas. El aislamiento de las osteonas es un proceso complejo, en el que se tiene en cuenta la orientación de las láminas, la mineralización de las mismas, la distancia entre el canal vascular y la superficie externa, etc.¹⁷.

Las osteonas del hueso humano se pueden clasificar en función de la orientación de las fibras de colágeno de las láminas que las componen. Cuando las fibras de colágeno de todas las láminas que forman la osteona se orientan en sentido longitudinal se habla de osteonas longitudinales. Si las fibras de una lámina se orientan longitudinalmente y las de la lámina adyacente se orientan transversalmente, se habla de osteonas alternas. Mucho menos frecuente es un tercer tipo de osteona en el que las fibras de colágeno de todas las láminas se orientan transversalmente, llamadas osteonas transversales o circulares.

Se han empleado ensayos de compresión, tracción, flexión y torsión para estudiar las propiedades mecánicas de las osteonas, además del denominado *pin test*, empleado comúnmente en mecánica de materiales tubulares. Las láminas longitudinales resisten mejor a la tracción y la torsión, mientras que las láminas transversales ofrecen mayor resistencia a cargas de compresión, flexión y corte. Además, se ha comprobado que la distribución de las láminas en las osteonas de los huesos largos no es aleatoria, sino que hay una alta incidencia de láminas longitudinales en los sectores del hueso que soportan cargas de tracción, y una alta incidencia de láminas transversales en los sectores que soportan principalmente cargas de compresión²³⁻³⁴. No se ha encontrado un efecto de la edad, el género o el índice de masa corporal en el módulo elástico o la dureza de las láminas^{21,31,32,35}, por lo que puede deducirse entonces que el módulo elástico y la dureza de la matriz del hueso es independiente de estas variables, por lo que las reducciones de la integridad mecánica del hueso entero podrían ser debidas a otros factores, como cambios en la masa y la organización del tejido³¹.

La mayoría de estudios que analizan la mecánica de hueso trabecular emplean muestras de dimensiones lo suficientemente grandes para que las propiedades biomecánicas estén influenciadas por la arquitectura trabecular además de por las propiedades materiales del hueso. Tradicionalmente se consideraba el hueso trabecular como hueso cortical más poroso y se asumía que tenían el mismo módulo elástico, pero realmente para conocer la influencia mecánica del tejido trabecular por sí mismo deben realizarse ensayos con trabéculas individuales. Al igual que en el caso de osteonas individuales, el análisis mecánico de las trabéculas es un proceso complicado que requiere, incluso, el diseño de equipos específicos. Se han realizado pruebas de flexión en tres puntos^{36,37} y tracción^{38,39}. En los últimos años, los avances en la microtomografía computarizada han permitido la obtención de modelos de trabéculas individuales que posteriormente se

Figura 3. Representación esquemática de los distintos componentes de un sistema de nanoindentación y de la curva carga-desplazamiento típica obtenida en este tipo de ensayos, en la que se diferencian claramente los ciclos de carga y descarga. P_{ult} corresponde a la carga máxima y σ_{ult} al desplazamiento máximo. De la tangente a la curva de descarga puede obtenerse la rigidez



analizan mediante elementos finitos⁴⁰. Los resultados muestran que el módulo de Young del hueso trabecular de manera independiente es considerablemente menor que el del hueso cortical, probablemente debido al menor grado de organización que presenta el primero. Recientemente, dos grupos de investigación independientes analizaron mediante microtomografía computarizada muestras de hueso trabecular humano procedentes de distintas zonas anatómicas, realizando una descomposición completa de las muestras en placas y tubos individuales y calcularon su contribución al módulo elástico mediante elementos finitos. Los resultados obtenidos mostraron un predominio de placas longitudinales y tubos transversales en las tres zonas anatómicas, y que las cargas axiales del hueso trabecular las sostiene principalmente el volumen trabecular alineado axialmente. Además, se sugiere que las trabéculas en forma de placa dominan las características elásticas totales del hueso trabecular⁴¹⁻⁴⁶.

Biomecánica de los componentes moleculares óseos

El hueso a nivel molecular está compuesto por proteínas, glicoproteínas y minerales; composición que se conoce como matriz extracelular. En este nivel es interesante estudiar las propiedades mecánicas de las fibrillas de colágeno y los componentes minerales. La heterogeneidad de la matriz hace todavía más difícil el análisis biomecánico a este nivel, y la influencia de las variaciones en la estructuración de los componentes no se conoce hoy en día.

En 1997 Luo y colaboradores presentaron un estudio en el que medían la rigidez de moléculas de colágeno obtenidas de precolágeno tipo I (que no forma enlaces intermoleculares) mediante un sistema de pinzas ópticas y bajo microscopio óptico⁴⁷. Casi una década después, mediante un dispositivo electromecánico se presentaban medidas de

la resistencia a la tracción, rigidez, y comportamiento frente a la fatiga de una fibrilla de colágeno, a la vez que se mostraba por primera vez una curva esfuerzo-deformación de la misma⁴⁸. Una nueva técnica experimental mediante microscopía de fuerza atómica y microscopía electrónica de barrido se ha utilizado para manipular y medir las propiedades mecánicas de fibrillas de colágeno mineralizadas individuales de tejido óseo. La curva esfuerzo-deformación de la fibrillas individuales bajo esfuerzos de tracción muestra una región inicial de deformación lineal para todas las fibrillas, seguido por la deformación no homogénea por encima de una deformación crítica. Esta deformación no homogénea sugiere posibles cambios en la composición mineral dentro de cada fibrilla⁴⁹.

Las propiedades mecánicas intrínsecas de los cristales de hidroxiapatita se han determinado mediante técnicas de nanoindentación. Las caras basales de los cristales presentaron mayor dureza y módulo de elasticidad que las caras laterales, pero estas últimas resultaron ser más resistentes. Estos resultados sugieren que los cristales son menos propensos a agrietarse y resisten mejor las microfracturas en las caras laterales, lo cual evidencia la anisotropía de los cristales de hidroxiapatita, que puede tener implicaciones en la anisotropía observada a mayores escalas⁵⁰.

La mecánica del nivel molecular está influenciada por todo tipo de interacciones químicas y desgraciadamente, hasta la fecha no se han podido llevar a cabo ensayos biomecánicos fiables y reproducibles a este nivel. Los métodos de análisis *in situ*, que combinan herramientas de determinación estructural de alta resolución como la difracción de rayos X con ensayos micromecánicos, comienzan a proporcionar información sobre la deformación real que tiene lugar en los niveles molecular y fibrilar de colágeno tanto mineralizado como no mineralizado^{51,52}.

Técnicas biomecánicas alternativas a los ensayos clásicos

Análisis cuantitativo por ultrasonidos (QUS)

Hace ya tiempo que se comenzaron a emplear técnicas de ultrasonidos para la evaluación de las propiedades mecánicas del hueso^{53,54}. Dichas técnicas presentan varias ventajas frente a los ensayos mecánicos clásicos en la determinación de las propiedades elásticas óseas, ya que pueden emplear muestras muy pequeñas y de diversas formas. Aunque el análisis cuantitativo por ultrasonidos no produce una imagen de la estructura del hueso, existe cierta evidencia de que las medidas de QUS pueden proporcionar información relacionada con la organización estructural y las características materiales del tejido⁵⁵. Las ventajas del QUS residen en que no implican exposición a radiación, además de realizarse con sistemas relativamente baratos y portátiles. Por el contrario, su principal inconveniente es la falta de sensibilidad, por lo que actualmente está relegada a utilizarse como herramienta auxiliar en el diagnóstico de osteoporosis, que se confirma posteriormente mediante densitometría ósea (DXA). Sin embargo, resulta muy útil en labores de investigación⁵⁶⁻⁵⁹.

Análisis mediante elementos finitos (FEA)

El análisis mecánico mediante simulación numérica, y en especial el método de elementos finitos, se ha convertido en una herramienta de gran valor a la hora de estudiar las respuestas biomecánicas del hueso ante diversas condiciones de carga. El primer paso para llevar a cabo el análisis mediante elementos finitos es la adquisición de las imágenes de la región anatómica o muestra ósea, normalmente mediante técnicas de tomografía computarizada (CT) o de resonancia magnética nuclear (MRI). Los sets de imágenes obtenidos se procesan mediante complejos algoritmos y sofisticadas técnicas informáticas con el fin de obtener una malla o modelo de elementos finitos del volumen de interés seleccionado. Sobre estos modelos se puede realizar tanto un análisis morfológico de la estructura como un análisis biomecánico simulado que proporcionará datos de la resistencia y el módulo de Young del objeto analizado⁶⁰. El análisis FEA más común es el lineal estático, que calcula la resistencia mecánica a cargas estáticas (que no varían con el tiempo) y que asume que el material es isotrópico y homogéneo. Sin embargo, el desarrollo en los últimos años de tecnologías que permiten la adquisición de imágenes de alta resolución del hueso (micro-CT, HR-MRI, etc.), junto con el uso de nuevos algoritmos que representan la estructura ósea con mayor precisión, ha permitido crear modelos con los que calcular cargas en el tejido y sus propiedades elásticas anisotrópicas⁶¹. El FEA proporciona cada vez datos más exactos, convirtiéndose en una poderosa herramienta para el conocimiento del comportamiento biomecánico del hueso, y en una de las más utilizadas en los últimos años⁶²⁻⁶⁴.

Image-guided failure analysis (IGFA)

En 1998 se presentaba el primer dispositivo para realizar ensayos mecánicos de compresión y trac-

ción en el interior de un equipo de microtomografía computarizada (micro-CT), de forma que el ensayo podía seguirse paso a paso mediante imágenes de alta resolución⁶⁵. Los autores denominaron esta técnica como IGFA (*Image-Guided Failure Analysis*). El IGFA resulta muy útil en el análisis biomecánico de muestras de hueso trabecular, ya que permite observar la progresión de la fractura, monitorizando su inicio y avance, a la vez que determina la influencia de la microarquitectura de la muestra, permitiendo conocer las propiedades microestructurales locales de las regiones fracturadas frente a las que permanecen intactas^{66,67}. Recientemente se ha desarrollado un dispositivo similar para la realización de ensayos de torsión⁶⁸.

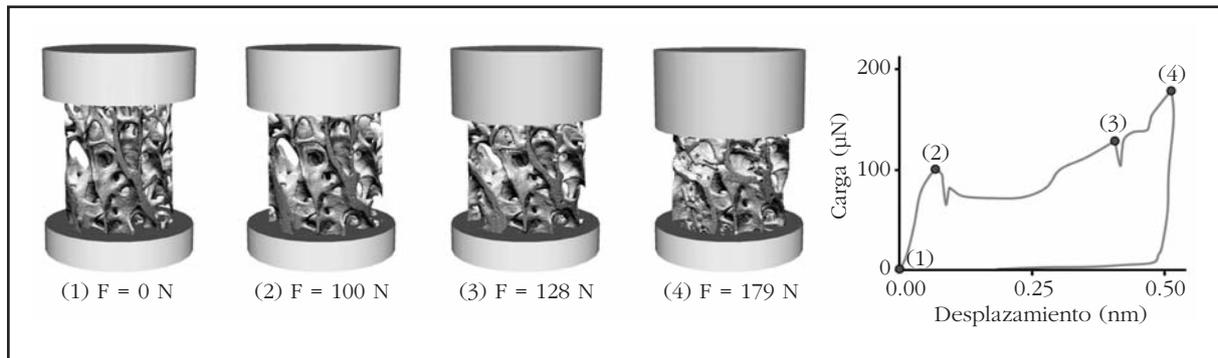
Nazarian y colaboradores⁶⁹ concluyen que el 76% de las muestras de hueso trabecular de vértebra lumbar humana analizadas mediante IGFA presentan valores mínimos de BV/TV, densidad conectiva y anisotropía en las regiones en las que se produce el fracaso mecánico con respecto a las regiones intactas, no observando diferencias significativas para otras variables microestructurales como el número trabecular (Tb.N), el grosor (Tb.Th) y la separación trabecular (Tb.Sp), etc. Por otro lado, nuestro grupo de investigación, en muestras obtenidas de cabezas femorales humanas osteoporóticas⁷⁰, ha encontrado que las regiones de fractura presentan peores valores de todas las variables microestructurales analizadas, excepto para el grado de anisotropía. Esto refleja que la región en la que se produce el fracaso mecánico contiene menos trabéculas, de menor grosor y peor interconectadas que la región que permanece intacta tras el ensayo; aunque en ambas las trabéculas están orientadas de forma similar. Además, en la región de fractura prevalecen las trabéculas en forma de tubo (teóricamente menos resistentes a la fractura) frente a las trabéculas en forma de placa, más abundantes en la región intacta. El grado de correlación entre σ_{ult} y una combinación lineal de variables microestructurales (BV/TV, Tb.Th y factor de patrón trabecular Tb.Pf) mejora significativamente cuando, en vez de utilizar los valores medios de toda la estructura, se emplean los valores de la región en la que se origina la fractura.

Gracias a esta tecnología se han podido observar los distintos mecanismos de fractura. Así, cuando se aplica una fuerza de compresión sobre hueso trabecular, las estructuras en forma de plato fracasan preferentemente en flexión, comenzando en una región del plato ya perforada. En el caso de estructuras en forma de barra, el modo de pandeo (manifestado por significativos desplazamientos transversales a la dirección principal de compresión) es la forma predominante de colapso.

Conclusiones

La compleja matriz orgánica mineralizada que constituye el tejido óseo se encuentra jerarquizada en distintos niveles estructurales que definirán las propiedades mecánicas del hueso. Cada uno de los niveles jerárquicos contribuye de distinta forma y con distinta magnitud al comportamiento

Figura 4. Representación tridimensional del inicio y progreso del fracaso mecánico por compresión de un cilindro de hueso trabecular de cabeza femoral humana osteoporótica, obtenido mediante la técnica IGFA, que permite escaneados de la muestra ensayada con un equipo de micro-CT durante la realización del ensayo mecánico. La curva carga-desplazamiento muestra los puntos de realización de cada uno de los escaneados



mecánico global del hueso, y esto ha de tenerse en cuenta a la hora de estudiar sus propiedades biomecánicas.

Son muchos los estudios que se están llevando a cabo hoy en día en los distintos niveles de estructuración, y cada día se avanza más en el entendimiento del comportamiento de cada una de las estructuras, tanto de manera individual como conjunta en la totalidad del tejido. Las técnicas alternativas a los clásicos ensayos mecánicos están ayudando ampliamente en la consecución de este objetivo. Dentro de estos métodos alternativos, encontramos técnicas no destructivas, como es el caso del FEA y del QUS, que permiten repetir el ensayo tantas veces como sea necesario y cambiando las variables que se consideren oportunas, por lo que abren grandes posibilidades en el campo de la biomecánica.

Bibliografía

- Faulkner KG. Bone matters: Are density increases necessary to reduce fracture risk? *J Bone Miner Res* 2000;15:183-7.
- Guede D, González P, Caeiro JR. Biomecánica y hueso (I): Conceptos básicos y ensayos mecánicos clásicos. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2013;5(1):43-50.
- Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys* 1998;20:92-102.
- Weiner S, Wagner HD. The material bone: Structure mechanical function relations. *Ann Rev Mater Sci* 1998;28:271-98.
- Hoffler CE, McCreadie BR, Smith EA, Goldstein SA. A hierarchical approach to exploring bone mechanical properties. En: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;p.133-49.
- An YH. Mechanical properties of bone. En: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;p.41-63.
- Sharir A, Barak MM, Shahar R. Whole bone mechanics and mechanical testing. *Vet J* 2008;177:8-17.
- Turner CH. Bone strength: Current concepts. *Ann NY Acad Sci* 2006;1068:429-46.
- Schaffler MB, Radin EL, Burr DB. Mechanical and morphological effects of strain rate on fatigue of compact bone. *Bone* 1989;10:207-14.
- Reilly DT, Burnstein AH, Frankel VH. The elastic modulus of bone. *J Biomech* 1974;7:271-2.
- Burnstein AH, Reilly DT, Martens M. Aging of bone tissue: Mechanical properties. *J Bone Joint Surg Am* 1976;58:82-6.
- Cezayirlioglu H, Bahniuk E, Davy DT, Heiple KG. Anisotropic yield behavior of bone under combined axial force and torque. *J Biomech* 1985;18:61-9.
- Keller TS, Mao Z, Spengler DM. Young's modulus, bending strength, and tissue physical properties of human compact bone. *J Orthop Res* 1990;8:592-603.
- Cuppone M, Seedhom BB, Berry E, Ostell AE. The longitudinal Young's modulus of cortical bone in the midshaft of human femur and its correlation with CT scanning data. *Calcif Tissue Int* 2004;74:302-9.
- Sedlin ED, Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthop Scand* 1966;37:29-48.
- Ashman RB. Experimental techniques. En: Cowin SC, editor. *Bone mechanics*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 1989;p.91.
- Currey JD. The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech* 1988;21:439-41.
- Schaffler MB, Burr DB. Stiffness of compact bone: Effects of porosity and density. *J Biomech* 1988;21:13-6.
- Keaveny TM, Wachtel EF, Ford CM, Hayes WC. Differences between the tensile and compressive strengths of bovine tibial trabecular bone depend on modulus. *J Biomech* 1994;27:1137-46.
- Hayes WC, Bouxsein ML. Biomechanics of cortical and trabecular bone: Implications for assessment of fracture risk. En: Mow VC, Hayes WC, editors. *Basic Orthopaedic Biomechanics*. Lippincott-Raven (Philadelphia, USA) 1997.
- Rho JY, Zioupos P, Currey JD, Pharr GM. Variations in the individual thick lamellar properties within osteons by nanoindentation. *Bone* 1999;25:295-300.
- VanLandingham MR. Review of instrumented indentation. *J Res Natl Inst Stand Technol* 2003;108:249-65.
- Ascenzi A, Bonucci E. The tensile properties of single osteons. *Anat Rec* 1967;158:375-86.
- Ascenzi A, Bonucci E. The compressive properties of single osteons. *Anat Rec* 1968;161:377-91.
- Ascenzi A, Bonucci E. The shearing properties of single osteons 1972;172:499-510.
- Ascenzi A, Bonucci E. Relationship between ultrastructure and "pin test" in osteons. *Clin Orthop Relat Res* 1976;121:275-94.
- Frasca P, Harper RA, Katz JL. Strain and frequency dependence of shear storage modulus for human single osteons and cortical bone microsamples: Size and hydration effects. *J Biomech* 1981;14:679-81.
- Ascenzi A, Baschieri P, Benvenuti A. The bending properties of single osteons. *J Biomech* 1990;23:763-71.

29. Lakes R. On the torsional properties of single osteons. *J Biomech* 1995;28:1409-10.
30. Zysset PK, Guo XE, Hoffer CE, Moore KE, Goldstein SA. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. *J Biomech* 1999;32:1005-12.
31. Hoffer CE, Moore KE, Kozloff K, Zysset PK, Goldstein SA. Age, gender, and bone lamellae elastic moduli. *J Orthop Res* 2000;18:432-7.
32. Hoffer CE, Moore KE, Kozloff K, Zysset PK, Brown MB, Goldstein SA. Heterogeneity of bone lamellar-level elastic moduli. *Bone* 2000;26:603-9.
33. Hoffer CE, Guo XE, Zysset PK, Goldstein SA. An application of nanoindentation technique to measure bone tissue lamellae properties. *J Biomech Eng-T Asme* 2005;127:1046-53.
34. Ascenzi MG, di Comite M, Mitov P, Kabo JM. Hysteretic pinching of human secondary osteons subjected to torsion. *J Biomech* 2007;40:2619-27.
35. Rho JY, Zioupos P, Currey JD, Pharr GM. Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nano-indentation. *J Biomech* 2002;35:189-98.
36. Kuhn JL, Goldstein SA, Choi K, London M, Feldkamp LA, Matthews LS. Comparison of the trabecular and cortical tissue moduli from human iliac crests. *J Orthop Res* 1989;7:876-84.
37. Choi K, Kuhn JL, Ciarelli MJ, Goldstein SA. The elastic moduli of human subchondral, trabecular, and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *J Biomech* 1990;23:1103-13.
38. Ryan SD, Williams JL. Tensile testing of rodlike trabeculae excised from bovine femoral bone. *J Biomech* 1989;22:351-5.
39. Rho JY, Ashman RB, Turner CH. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: Ultrasonic and microtensile measurements. *J Biomech* 1993;26:111-9.
40. Muller R, Ruegsegger P. Analysis of mechanical properties of cancellous bone under conditions of simulated bone atrophy. *J Biomech* 1996;29:1053-60.
41. Stauber M, Muller R. Age-related changes in trabecular bone microstructures: Global and local morphometry. *Osteoporos Int* 2006;17:616-26.
42. Stauber M, Muller R. Volumetric spatial decomposition of trabecular bone into rods and plates—a new method for local bone morphometry. *Bone* 2006;38:475-84.
43. Stauber M, Rapillard L, van Lenthe GH, Zysset P, Muller R. Importance of individual rods and plates in the assessment of bone quality and their contribution to bone stiffness. *J Bone Miner Res* 2006;21:586-95.
44. Liu XS, Saha PK, Wehrli FW, Sajda P, Guo XE. A 3D morphological analysis of trabecular bone based on individual trabeculae segmentation. *Trans Orthop Res Soc* 2006;31:1783.
45. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Guo XE. Quantification of the roles of trabecular microarchitecture and trabecular type in determining the elastic modulus of human trabecular bone. *J Bone Miner Res* 2006;21:1608-17.
46. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Bevill G, Keaveny TM, et al. Complete volumetric decomposition of individual trabecular plates and rods and its morphological correlations with anisotropic elastic moduli in human trabecular bone. *J Bone Miner Res* 2008;23:223-35.
47. Luo ZP, Bolander ME, An KN. A method for determination of stiffness of collagen molecules. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;232:251-4.
48. Eppell SJ, Smith BN, Kahn H, Ballarini R. Nano measurements with micro-devices: Mechanical properties of hydrated collagen fibrils. *J R Soc Interface* 2006;3:117-21.
49. Hang F, Barber AH. Nano-mechanical properties of individual mineralized collagen fibrils from bone tissue. *J R Soc Interface* 2011;8:500-5.
50. Saber-Samandari S, Gross KA. Micromechanical properties of single crystal hydroxyapatite by nanoindentation. *Acta Biomaterialia* 2009;5:2206-12.
51. Gupta HS. Nanoscale deformation mechanisms in collagen. In: Fratzl P, ed. *Collagen: Structure and mechanics*. Springer (New York, USA) 2008;pp.155-73.
52. Buehler MJ. Hierarchical nanomechanics of collagen fibrils: Atomistic and molecular modeling. In: Fratzl P, ed. *Collagen: Structure and mechanics*. Springer (New York, USA) 2008;pp.175-247.
53. Yoon HS, Katz JL. Ultrasonic wave propagation in human cortical bone II: Measurements of elastic properties and microhardness. *J Biomech* 1976;9:459-62.
54. Ashman RB, Cowin SC, van Buskirk WC, Rice JC. A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *J Biomech* 1984;17:349-61.
55. Pithioux M, Lasaygues P, Chabrand P. An alternative ultrasonic method for measuring the elastic properties of cortical bone. *J Biomech* 2002;35:961-8.
56. Nicholson PHF, Muller R, Lowet G, Cheng XG, Hildebrand T, Ruegsegger P, et al. Do quantitative ultrasound measurements reflect structure independently of density in human vertebral cancellous bone? *Bone* 1998;23:425-31.
57. Chaffai S, Peyrin F, Nuzzo S, Porcher R, Berger G, Laugier P. Ultrasonic characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements: Relationships to density and microstructure. *Bone* 2002;30:229-37.
58. Padilla F, Akrouf L, Kolta S, Latremouille C, Roux C, Laugier P. In vitro ultrasound measurement at the human femur. *Calcif Tissue Int* 2004;75:421-30.
59. Muller M, Moilanen P, Bossy E, Nicholson P, Kilappa V, Timonen T, et al. Comparison of three ultrasonic axial transmission methods for bone assessment. *Ultrasound Med Biol* 2005;31:633-42.
60. Saxena R, Keller TS. Computer modeling for evaluating trabecular bone biomechanics. En: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;pp.407-36.
61. Ulrich D, van Rietbergen B, Weinans H, Ruegsegger P. Finite element analysis of trabecular bone structure: A comparison of image-based meshing techniques. *J Biomech* 1998;31:1187-92.
62. Bevill G, Eswaran SK, Gupta A, Papadopoulos P, Keaveny TM. Influence of bone volume fraction and architecture on computed large-deformation failure mechanisms in human trabecular bone. *Bone* 2006;39;1218-25.
63. Keaveny TM, Donley DW, Hoffmann PF, Mitlak BH, Glass EV, San Martin JA. Effects of teriparatide and alendronate on vertebral strength as assessed by finite element modeling of QCT scans in women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2007;22:149-57.
64. Schileo E, Taddei F, Malandrino A, Cristofolini L, Viceconti M. Subject-specific finite element models can accurately predict strain levels in long bones. *J Biomech* 2007;40:2982-9.
65. Müller R, Gerber SC, Hayes WC. Micro-compression: a novel technique for the nondestructive assessment of local bone failure. *Technol Health Care* 1998;6:433-44.
66. Nazarian A, Müller R. Time-lapsed microstructural imaging of bone failure behavior. *J Biomech* 2004;37:55-65.
67. Nazarian A, Stauber M, Müller R. Design and implementation of a novel mechanical testing system for cellular solids. *J Biomed Mater Res B - Appl Biomater* 2005;73B:400-11.
68. Nazarian A, Bauernschmitt M, Eberle C, Meier D, Müller R, Snyder BD. Design and validation of a testing system to assess torsional cancellous bone failure in conjunction with time-lapsed micro-computed tomographic imaging. *J Biomech* 2008;41:3496-501.
69. Nazarian A, Stauber M, Zurakowski D, Snyder BD, Müller R. The interaction of microstructure and volume fraction in predicting failure in cancellous bone. *Bone* 2006;39:1196-202.
70. Guede D, Dapía S, Caeiro JR. Relación entre las propiedades biomecánicas y las variaciones locales en la microestructura ósea en cabeza femoral humana osteoporótica. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2010;2(3):11.

Pariente Rodrigo E¹, Olmos Martínez JM², Hernández Hernández JL²

¹ Centro de Salud Camargo-Interior - Muriedas - Cantabria

² Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IFIMAV - Universidad de Cantabria - RETICEF - Santander

Osteoporosis y artrosis: ¿dos enfermedades mutuamente excluyentes o dos entidades relacionadas?

Correspondencia: Emilio Pariente Rodrigo - Centro de Salud Camargo-Interior - Avda. de Bilbao, s/n - 39600 Muriedas - Cantabria (España)

Correo electrónico: emilio.pariente@scsalud.es

Resumen

La posible relación entre la osteoporosis y la artrosis continúa debatiéndose en la actualidad. Durante décadas se consideró que ambas enfermedades eran mutuamente excluyentes debido a las características antropométricas y la diferente masa ósea que con frecuencia presentan los pacientes con osteoporosis y artrosis. Sin embargo, en los últimos años se ha señalado la posibilidad de que ambos procesos coexistan e incluso que guarden una relación directa. En el presente artículo revisamos algunos aspectos de la relación entre estas dos enfermedades siguiendo una perspectiva temporal.

Palabras clave: *enfermedades musculoesqueléticas, artrosis, osteoporosis.*

Osteoporosis and osteoarthritis: two mutually exclusive diseases or two related entities?

Summary

The possible association between osteoporosis and osteoarthritis represents an ongoing matter of debate. It was considered, for decades, that both diseases were mutually exclusive due to the anthropometric characteristics and the difference in bone mass that patients with osteoporosis and osteoarthritis often present. However, in recent years, it was pointed out that both processes can coexist, and even that they may have a direct relationship. In this paper we review some aspects of the association between both diseases from a temporal perspective.

Key words: *musculoskeletal diseases, osteoarthritis, osteoporosis.*

Introducción

La osteoporosis y la artrosis son las dos enfermedades óseas de mayor prevalencia, presentan una considerable morbilidad y son responsables de unos costes sanitarios muy elevados. Además, el progresivo envejecimiento de la población ha determinado un incremento notable de su prevalencia en la población general¹.

La posible relación entre la artrosis y la osteoporosis ha sido objeto de un intenso debate en la últimas cuatro décadas. En 1972, Foss y Byers² señalaron que los pacientes con fractura de cadera raramente presentaban una coxartrosis. Posteriormente, se han publicado numerosos estudios con resultados a menudo contradictorios, así como editoriales y revisiones bibliográficas que han intentado aportar una visión clarificadora, según la evidencia disponible en cada momento. Sin embargo, los distintos estudios difieren sustancialmente en numerosos aspectos metodológicos, lo que dificulta su comparación, así como la elaboración de una síntesis de sus resultados. De hecho, en la actualidad la cuestión planteada no parece tener una única respuesta.

Por todo ello, nos vamos a acercar a este problema desde una perspectiva temporal, analizando los estudios llevados a cabo en tres periodos consecutivos. Consideraremos en primer lugar el período comprendido entre 1972 y 1996. En segundo lugar, el período que va de 1996 a 2006; y, finalmente, desde 2006 hasta el momento actual.

Período 1972-1996

En una revisión publicada en 1996³ se analizaron los 36 trabajos llevados a cabo entre 1972 y 1996. Estos estudios eran en su mayoría de diseño transversal, y partían de dos observaciones. Una de ellas era la impresión clínica generalizada de que no se apreciaban signos de artrosis en las cabezas femorales extraídas durante la cirugía de la fractura de cadera, y que, además, este tipo de fractura era poco frecuente en los pacientes con coxartrosis. La segunda observación consistía en las diferencias fenotípicas que suelen objetivarse en los pacientes con artrosis u osteoporosis. Así, mientras que los pacientes artrósicos tienden a presentar un biotipo endomorfo, los sujetos con osteoporosis suelen tener un biotipo ectomorfo.

En cuanto a los objetivos primarios que se plantearon en este periodo, la mayoría de los estudios se dirigían a examinar el efecto de la artrosis sobre la densidad mineral ósea (DMO). Sin embargo, no había un criterio uniforme para valorar las características de la osteoporosis y de la artrosis. Por ejemplo, en ocasiones la artrosis se evaluó mediante el estudio histológico de la cabeza femoral obtenida durante la cirugía de la fractura de cadera. Otras veces, se valoraba mediante las imágenes radiológicas, utilizando fundamentalmente la escala de Kellgren-Lawrence, aunque en ocasiones también se emplearon otras escalas, como la *Empire Rheumatism Council Criteria*⁴. Finalmente, en algunos estudios, la artrosis era valorada por el propio paciente mediante un cuestionario estructurado ("*self-reported osteoarthritis*")⁵. En cuanto a

la osteoporosis, las mediciones de la densidad mineral ósea se llevaron a cabo con distintos procedimientos: evaluación radiológica de las trabéculas en el fémur proximal según los criterios de Singh⁴, absorciometría fotónica simple⁶, absorciometría fotónica dual⁷, TAC cuantitativo⁸ e histomorfometría⁹.

La gran mayoría de los estudios, como hemos señalado anteriormente, eran de diseño transversal y, en especial los más antiguos, no disponían de un análisis estadístico que permitiera el ajuste por las posibles variables confusoras. De cualquier forma, en la mayoría de los trabajos se apreció un aumento significativo de la masa ósea en los pacientes con artrosis, que alcanzaba el 4-10% en columna y algo menos en el esqueleto apendicular (3-5%). Por otra parte, en los casos aislados en los que coexistían ambos procesos (coxartrosis y fractura de cadera), la edad a la que aparecían las fracturas era mayor de la que se observaba en la población general, lo que apoyaba la idea de que la artrosis podría ejercer un efecto protector sobre la fractura de cadera¹⁰. Por último, algunos estudios hacían especial énfasis en las diferencias antropométricas y clínicas que se observan en ambas poblaciones. El paciente osteoporótico suele ser delgado, tiene una baja masa ósea y presenta una mayor propensión a las fracturas, mientras que el paciente artrósico sería más bien un paciente con sobrepeso, con aumento de la DMO y de la fuerza muscular y un menor número de fracturas¹¹. Por tanto, según estos primeros resultados, parecía confirmarse la existencia de una relación inversa entre la osteoporosis y la artrosis. De hecho, en estos años se planteaba que esta última enfermedad, o algún factor relacionado con ella, podrían ejercer un efecto protector frente a la osteoporosis en general, así como frente a la fractura de cadera en particular.

Período 1996-2006

Tres hechos caracterizan este segundo período de tiempo: el avance en las técnicas de laboratorio, el establecimiento de la densitometría de rayos X de doble nivel de energía (DXA) como patrón-oro para la evaluación de la masa ósea, y la realización de estudios sobre la relación artrosis/osteoporosis con diseños que aportaban una evidencia científica más sólida.

Intuitivamente, la relación entre la artrosis y la osteoporosis se mostraba mucho más compleja de lo que se había supuesto hasta entonces, y se desarrollaron nuevas líneas de investigación, como, por ejemplo, el estudio de los genes implicados en ambas enfermedades, o el posible papel beneficioso de los fármacos antirresortivos en la artrosis. Por otra parte, en diversos estudios se observó la existencia de una inesperada asociación entre la artrosis de las manos y la osteoporosis, así como de la espondiloartrosis con la fractura vertebral. Finalmente, a la luz de las nuevas técnicas histoquímicas y de imagen (en especial la DXA), se reconsideraron los resultados de los estudios iniciales sobre las articulaciones de carga (cadera y rodilla) que habían dado lugar a

la opinión extendida de que la artrosis y la osteoporosis eran enfermedades mutuamente excluyentes.

Masa ósea y artrosis

En la cohorte de Rotterdam, se observó que, a pesar de que los pacientes con coxartrosis tenían una mayor densidad mineral ósea en la cadera que las personas sin artrosis, la pérdida posterior de masa ósea, concretamente en los dos años siguientes a la fractura, era mayor en los pacientes artrósicos¹². Además, la pérdida de hueso no guardaba relación con la edad ni con el grado de incapacidad de estos pacientes.

Por otra parte Arden *et al.*¹³ también observaron que los pacientes con artrosis de cadera tenían una DMO mayor que los controles sin artrosis. Sin embargo, y tras siete años de seguimiento, la incidencia de fracturas vertebrales y no vertebrales fue similar en ambos grupos.

Marcadores del recambio óseo

En líneas generales, la mayoría de los estudios realizados durante estos años, mostraban que los pacientes con artrosis tenían aumentados los marcadores de resorción. Así, Naitou *et al.*¹⁴ comprobaron que las mujeres con gonartrosis o con artrosis generalizada presentaban una excreción urinaria de piridinolina y deoxipiridinolina mayor que la de las mujeres sanas. Asimismo, en otro estudio longitudinal¹⁵ se demostró que las mujeres postmenopáusicas con gonartrosis presentaban un aumento en la excreción urinaria de los telopéptidos amino (NTX) y carboxiterminales (CTX) del colágeno tipo I, que era similar a la que se observaba en las mujeres osteoporóticas de su misma edad. En cuanto a los marcadores de formación, tan sólo hay un trabajo publicado en este período¹⁶, en el que se observó que los valores de osteocalcina sérica eran menores en las mujeres premenopáusicas diagnosticadas de artrosis de manos o de rodilla que en las mujeres sanas de su misma edad.

Fármacos anti-resortivos y hueso subcondral

A pesar de que la artrosis ha sido considerada clásicamente como una enfermedad del cartílago, cabe también la posibilidad de que el hueso subcondral desempeñe algún papel en el inicio y progresión de esta enfermedad¹⁷. Por un lado, la rigidez del hueso subcondral parece favorecer la lesión del cartílago articular y por otro, una vez iniciado, el daño en el cartílago contribuiría a la progresión de la artrosis. Por otra parte, a finales de la década de los noventa se comprobó que el hueso subcondral de las articulaciones artrósicas presentaba un menor contenido mineral. Este fenómeno se asociaba a un aumento del recambio óseo^{15,18}, lo que llevó a sugerir que los fármacos anti-resortivos podrían ser de utilidad en el tratamiento de la artrosis¹⁹, aunque este planteamiento no era compartido por todos los autores²⁰. En cualquier caso, a pesar de que en algunos estudios se describieron resultados favorables en pacientes tratados con risedronato²¹, alendronato o estróge-

nos²², estos resultados no pudieron ser confirmados en otros estudios²³. De hecho, en una revisión publicada en 2006 sobre las estrategias terapéuticas en la artrosis²⁴ se señalaba que se necesitarían más estudios, quizás en pacientes con enfermedad menos avanzada, antes de considerar el uso de bisfosfonatos en el tratamiento de la artrosis.

Artrosis periférica y osteoporosis

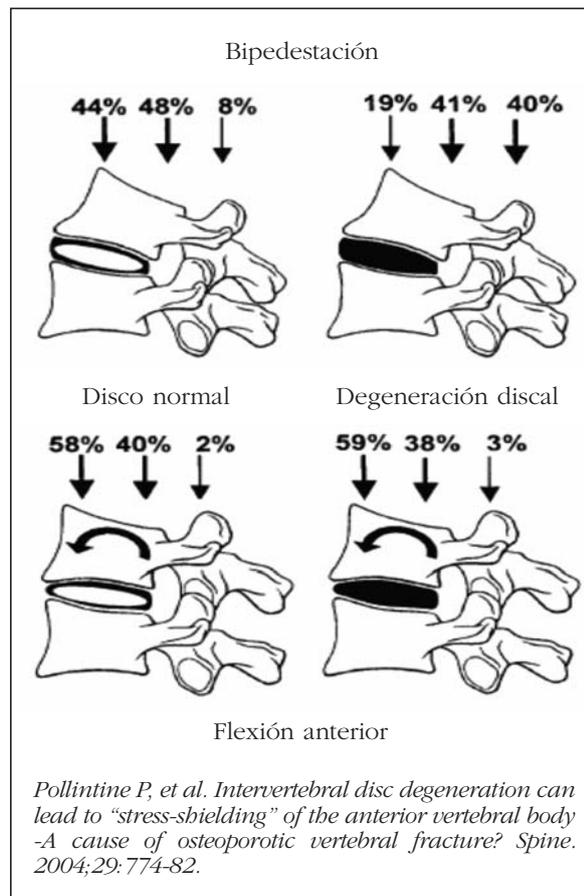
Ya hemos comentado que la artrosis de algunas articulaciones de carga como la cadera y la rodilla se asociaba a una mayor masa ósea. En el caso de la artrosis de las manos se disponía de menos información, aunque los escasos resultados disponibles sugerían una asociación similar²⁵. Sin embargo, en este segundo periodo (1996-2006), se publicaron algunos trabajos que iban en contra de esta posibilidad. Así, en un estudio transversal se observó que las mujeres con artrosis de las manos presentaban una menor masa ósea en la cadera que las mujeres sanas²⁶. En esta misma línea, otros autores observaron que la artrosis erosiva de las manos se asociaba a menores índices T y Z-score en la columna lumbar que los controles²⁷. Por último, Haara *et al.*²⁸ comprobaron que la pérdida de masa ósea a lo largo de 20 años, evaluada mediante ultrasonografía cuantitativa de calcáneo, era más pronunciada en los pacientes con artrosis de las articulaciones interfalángicas.

Espondiloartrosis y fractura vertebral

El hueso trabecular de los cuerpos vertebrales experimenta una serie de cambios en su arquitectura (adelgazamiento trabecular, pérdida de la interconexión, etc.) que guardan relación con la pérdida de masa ósea que acontece con la edad, especialmente en los pacientes con osteoporosis. Por otra parte, los cuerpos vertebrales de los pacientes con artrosis pueden mostrar otros cambios adicionales. Por ejemplo, la mitad posterior de los cuerpos vertebrales suele tener una mayor densidad trabecular que la anterior²⁹, lo que facilitaría la aparición de fracturas vertebrales en los pacientes con espondiloartrosis. A su vez, estos cambios podrían tener relación con la degeneración del disco intervertebral.

Es bien conocido que los discos intervertebrales y las vértebras interactúan de forma biológica y mecánica. De hecho, la relación entre la degeneración discal y el hueso vertebral ha sido demostrada en estudios histológicos y mecánicos sobre segmentos vertebrales de cadáver³⁰⁻³². Para algunos autores, la degeneración del disco reduciría la altura del anillo fibroso atrayendo los arcos neurales, de forma que se desplazaría la presión sobre el arco posterior, mejorando la resistencia a la compresión de la columna vertebral. Sin embargo, la disminución del estímulo mecánico sobre el eje anterior de la columna conllevaría a su vez una disminución del volumen trabecular y un aumento del espacio intertrabecular en el tercio anterior del cuerpo vertebral, ocasionando una disminución importante de su resistencia en comparación con el tercio posterior.

Figura 1. Distribución de las cargas de presión en relación con la posición de la columna vertebral y con el grado de degeneración del disco intervertebral



En condiciones normales, en un movimiento de flexión anterior de la columna vertebral se transfiere más del 50% de la fuerza compresiva sobre la mitad anterior del cuerpo vertebral. En presencia de una degeneración grave del disco, una flexión anterior incrementa la fuerza compresiva aplicada sobre la zona anterior de la vértebra hasta en un 300% (Figura 1). A dicha carga incrementada se añadiría la reducción en la masa ósea y la peor estructura trabecular en el tercio anterior de la vértebra, lo que podría incrementar el riesgo de fractura³¹.

Esta secuencia de acontecimientos podría explicar tanto las variaciones regionales en la DMO del hueso trabecular de la vértebra, como la característica deformidad en cuña del cuerpo vertebral en la osteoporosis.

En línea con estos hallazgos, Arden *et al.*³³, en un estudio de casos y controles, comprobaron que la prevalencia de fracturas vertebrales era mayor en los pacientes con espondiloartrosis torácica. Posteriormente, Sornay-Rendu *et al.*³⁴, en un estudio longitudinal llevado a cabo en 634 mujeres postmenopáusicas de la cohorte OFELY, observaron que la disminución del espacio intervertebral se asociaba con un aumento del riesgo de fractura vertebral. El riesgo era aún mayor cuando se

consideraba la artrosis de columna torácica, y era independiente de otros factores como la edad, la fractura previa o la DMO.

Artrosis en articulaciones de carga (cadera, rodilla) y osteoporosis

En el año 2003, Glowacki *et al.*³⁵, analizaron 68 mujeres postmenopáusicas con coxartrosis avanzada y comprobaron que la cuarta parte de ellas cumplía criterios densitométricos de osteoporosis. En otro estudio en el que participaron 119 pacientes (83 mujeres postmenopáusicas y 35 varones) con artrosis avanzada de cadera o de rodilla, se observó una prevalencia de osteoporosis densitométrica cercana al 30% en las mujeres y al 20% en los hombres³⁶. Además, algo más de la mitad de las mujeres y de la tercera parte de los varones presentaban una baja masa ósea. Por ello, para estos autores, sus resultados irían también en contra de la hipótesis de que la artrosis y la osteoporosis son dos enfermedades mutuamente excluyentes.

Estudios genéticos

Teniendo en cuenta el carácter hereditario poligénico tanto de la osteoporosis como de la artrosis, se planteó la posibilidad de que ambas enfermedades compartieran algunos determinantes genéticos. Por ejemplo, se ha señalado que ciertos polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D se asocian a una mayor degeneración del disco intervertebral³⁷ y a un incremento de la incidencia de la artrosis de rodilla, independientemente de la DMO^{38,39}. También se ha descrito la asociación de la artrosis con algunas variantes alélicas del gen del factor de crecimiento relacionado con la insulina tipo I (IGF-I)⁴⁰. Otros estudios se han centrado en la posible participación de la vía Wnt, que, como es sabido, modula la diferenciación de los precursores pluripotenciales, permitiendo su diferenciación hacia la formación de osteoblastos o la de condrocitos y adipocitos. De cualquier forma, el análisis detallado de estos aspectos excede el objetivo de esta revisión, por lo que no nos vamos a detener en ello.

Período 2006-2012

Entre los aspectos más relevantes de este período, cabe en primer término señalar que se profundiza en una línea de investigación clásica, la relación entre la artrosis y la osteoporosis en la cadera, con las técnicas disponibles en la actualidad. Al igual que había ocurrido anteriormente con los antirresortivos, en este período se llevan a cabo una serie de estudios que analizan el posible papel beneficioso del ranelato de estroncio en la artrosis. Por otro lado, aparecen estudios en modelos animales, en los que se inducía experimentalmente ambas enfermedades de forma independiente, lo que evitaba la interferencia de otros factores confusores.

Artrosis de cadera y osteoporosis

En un estudio realizado en 2007, Mäkinen *et al.*⁴¹ investigaron la presencia de osteoporosis en 61

mujeres con coxartrosis grave, comprobando que casi la tercera parte de ellas tenían osteoporosis, mientras que un 45% presentaban una baja masa ósea. Como cabía esperar, las mujeres osteoporóticas eran mayores y tenían menor peso que las no osteoporóticas. Presentaban, además, un aumento en los marcadores de formación (PINP y osteocalcina) y de resorción (NTx) que se relacionaban inversamente con la masa ósea. Por ello, los autores sugerían que la artrosis no sería capaz de proteger a las mujeres de sufrir una osteoporosis. Sin embargo, al comparar en cada paciente la DMO de ambas caderas, se observó que la DMO del cuello femoral de la cadera artrósica era mayor que la del lado contralateral, lo que podría explicar la menor prevalencia de fractura de cadera que ha sido descrita en los pacientes con coxartrosis¹⁰.

Por otra parte, en un estudio de casos (562 pacientes con fractura de cadera) y controles (803 sujetos sin dicha fractura) se observó que los pacientes con fractura de cadera presentaban un menor riesgo de sufrir coxartrosis, lo que apoyaría la posibilidad de que existiera una relación inversa entre ambos procesos⁴². No obstante, en este estudio no se tuvieron en cuenta algunas variables de confusión, como el índice de masa corporal, la actividad física, el tratamiento estrogénico o el uso de bisfosfonatos.

En un estudio ultraestructural llevado a cabo mediante microscopía electrónica, en 15 mujeres postmenopáusicas (siete con coxartrosis y ocho con osteoporosis) que fueron sometidas a una artroplastia de cadera, se observó que las muestras procedentes de pacientes con artrosis mostraban una mayor formación de hueso nuevo, manteniéndose intacta la estructura trabecular y de las fibras de colágeno⁴³. Por el contrario, en las mujeres con osteoporosis se observó una marcada disminución y adelgazamiento trabecular.

En esta misma línea, Marinović *et al.*⁴⁴, tras analizar las cabezas femorales de 24 pacientes con artrosis avanzada y de 74 pacientes con fractura de cadera, observaron que los pacientes con fractura presentaban una amplia variabilidad en los valores de los distintos parámetros histomorfométricos relacionados con el hueso trabecular (volumen óseo, separación trabecular, grosor trabecular y número de trabéculas), aunque en la mayoría de los casos diferían de los observados en los pacientes con coxartrosis.

Por el contrario, De Pedro *et al.*⁴⁵ llegaron a conclusiones opuestas. Estos autores analizaron 72 cabezas femorales obtenidas tras realizar una artroplastia en 56 pacientes con coxartrosis y en 26 pacientes que habían sufrido una fractura de cadera. El estudio histológico puso de manifiesto los cambios esperables en ambas enfermedades: cambios degenerativos del cartílago, cavidades quísticas y preservación del espesor del tejido trabecular en los pacientes con artrosis, frente a un menor tejido trabecular, trabéculas más delgadas y menor cantidad de tejido osteoide en los sujetos con fractura de cadera. Sin embargo, el análisis histomorfométrico reveló que más de un 40% de los pacientes con

artrosis presentaban una disminución del volumen trabecular, lo que hablaría a favor de la coexistencia entre la osteoporosis y la artrosis.

Finalmente, en fechas recientes Castaño-Betancourt *et al.*⁴⁶ en un estudio llevado a cabo en pacientes con coxartrosis atrófica, caracterizada por la existencia de degradación del cartílago sin formación de osteofitos, comprobaron que los pacientes con este tipo de artrosis presentaban una menor DMO y un mayor riesgo de fractura que los pacientes con las formas habituales de artrosis y que los controles sanos.

Ranelato de estroncio y artrosis

El ranelato de estroncio es un fármaco utilizado en el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica que ha demostrado su eficacia en la reducción de las fracturas vertebrales y no vertebrales^{47,48}. Además, en un estudio *post-hoc* llevado a cabo a partir de los datos agrupados de estos estudios⁴⁹, se observó que el tratamiento con ranelato de estroncio durante tres años conseguía reducir la progresión radiológica de la artrosis de columna vertebral en mujeres con osteoporosis y espondiloartrosis. Este efecto se observaba tanto en las mujeres con fractura vertebral prevalente como en las que no presentaban fracturas.

En este mismo sentido, en un reciente ensayo clínico⁵⁰, se ha señalado que el tratamiento con 1 ó 2 gramos diarios de ranelato de estroncio durante 3 años, disminuye la progresión radiológica de la artrosis de rodilla, evaluada por la altura del compartimento femorotibial interno. Además, con la dosis de 2 gramos diarios se observa una mejoría sintomática.

Estudios en modelos animales

En 2007, Calvo *et al.*⁵¹ publicaron los resultados de un estudio experimental que intentaba analizar el efecto de la osteoporosis y de la artrosis en animales de experimentación. La artrosis se indujo en la rodilla de conejos hembra mediante la sección del ligamento cruzado anterior y la meniscectomía parcial, mientras que la osteoporosis se provocó mediante la ooforectomía bilateral y la administración de glucocorticoides. Estos autores observaron que la osteoporosis aumentó la gravedad de las alteraciones del cartílago en la rodilla. Además, las lesiones del cartílago se correlacionaron negativamente con la DMO lumbar, y con la del hueso subcondral, aunque en este último caso sin llegar a alcanzar la significación estadística. Por ello, sugieren que, al menos en este modelo animal, existiría una asociación directa entre ambas entidades, aunque se desconoce si la aceleración de la artrosis inducida por la osteoporosis es el resultado de la insuficiencia estrogénica, de la alteración en la biomecánica del hueso subcondral, o de ambas a la vez.

Por su parte, Bellido *et al.*⁵² utilizando un modelo similar, llegaron a la conclusión de que el aumento de la resorción que se observa en el hueso subcondral de los animales con osteoporosis alteraría su calidad con lo que se agravaría el daño en el cartílago articular.

Conclusiones

A pesar de que durante décadas se consideró que la osteoporosis y la artrosis eran enfermedades mutuamente excluyentes, en los últimos años se ha señalado la posibilidad de que ambos procesos coexistan e incluso guarden una relación directa. Sin embargo, el análisis de la posible relación entre ambos procesos se ve dificultado por varios factores, algunos de los cuales han sido sugeridos en diferentes estudios^{17,28,35,53,54}. En primer lugar, es posible que existan diferentes patrones de asociación en función de la localización de la artrosis. Así, cuando la artrosis afecta a articulaciones de carga, fundamentalmente cadera y rodilla, se suele encontrar una DMO elevada, que a pesar de ello no parece proteger al paciente artrósico frente al riesgo de fractura. Algo similar ocurre en los pacientes con espondiloartrosis, que presentan un mayor riesgo de fractura vertebral. Por el contrario, en algunos casos de artrosis de articulaciones periféricas, como las de las manos, no es raro encontrar una DMO local o globalmente disminuida.

En segundo lugar, junto a los aspectos metodológicos, hay que tener en cuenta la influencia de ciertas variables de confusión como la raza, el peso corporal, la actividad física o el consumo de alcohol, que podrían explicar por sí mismas la relación inversa que se ha descrito entre ambas entidades.

En tercer lugar, en ocasiones pueden estar presentes algunas circunstancias que influyan en ambos procesos, como, por ejemplo, la deficiencia estrogénica -factor de riesgo bien conocido de osteoporosis-, que parece contribuir también a la degeneración del cartílago articular en algunos modelos experimentales, o el dolor en la artrosis de cadera, que puede disminuir la actividad física y aumentar el balanceo durante la marcha, con la consiguiente disminución de la masa ósea y una mayor propensión a las caídas.

Por último, aunque no ha sido el objeto de esta revisión, cabría considerar la posible interacción entre los factores ambientales y genéticos, lo que podría condicionar diferentes niveles de expresión de la susceptibilidad genética a padecer una u otra enfermedad.

Bibliografía

- World Health Organization Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. World Health Organ Tech Rep Ser 1994;843:1-129.
- Foss M, Byers P. Bone density, osteoarthritis of the hip and fracture of the upper end of the femur. *Ann Rheum Dis* 1972;31:259-64.
- Dequecker J, Boonen S, Aerssens J, Westhovens R. Inverse relationship osteoarthritis-osteoporosis. What is the evidence? What are the consequences? *Br J Rheumatol* 1996;35:813-20.
- Cooper C, Cook PL, Osmond C, Fisher L, Cawley MI. Osteoarthritis of the hip and osteoporosis of the proximal femur. *Ann Rheum Dis* 1991;50:540-2.
- Cumming RG, Klineberg RJ. Epidemiological study of the relation between arthritis of the hip and hip fractures. *Ann Rheum Dis* 1993;52:707-10.
- Carlsson A, Nilsson BE, Westlin NE. Bone mass in primary coxarthrosis. *Acta Orthop Scand* 1979;50:187-9.
- Hannan MT, Anderson JJ, Zhang Y, Levy D, Felson DT. Bone mineral density and knee osteoarthritis in elderly men and women. The Framingham Study. *Arthritis Rheum* 1993;12:1671-80.
- Price T, Hesp R, Mitchell R. Bone density in generalized osteoarthritis. *J Rheumatol* 1987;14:560-2.
- Schnitzler CM, Mesquita JM, Wane L. Bone histomorphometry of the iliac crest and spinal fracture prevalence in atrophic and hypertrophic osteoarthritis of the hip. *Osteoporos Int* 1992;2:186-94.
- Dequecker J, Johnell O. Osteoarthritis protects against femoral neck fracture: the MEDOS study experience. *Bone* 1993;14:S51-6.
- Dequecker J, Goris P, Uytterhoeven R. Osteoporosis and osteoarthritis (osteoarthritis). Anthropometric distinctions. *JAMA* 1983;249:1448-51.
- Burger H, van Daele PL, Odding E, Valkenburg HA, Hofman A, Grobbee DE, et al. Association of radiographically evident osteoarthritis with higher bone mineral density and increased bone loss with age. The Rotterdam Study. *Arthritis Rheum* 1996;39:81-6.
- Arden NK, Nevitt MC, Lane NE, Gore R, Hochberg MC, Scott JC, et al. Osteoarthritis and risk of falls, rates of bone loss and osteoporotic fractures. *Arthritis Rheum* 1999;42:1378-85.
- Naitou K, Kusida K, Takahashi M, Ohishi T, Inoue T. Bone mineral density and bone turnover in patients with knee osteoarthritis compared with generalized osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 2000;66:325-9.
- Bettica P, Cline G, Hart DJ, Meyer J, Spector TD. Evidence for increased bone resorption in patients with progressive knee osteoarthritis. Longitudinal results from the Chingford Study. *Arthritis Rheum* 2002;46:3178-84.
- Sowers M, Lachance L, Jamadar D, Hochberg MC, Hollis B, Crutchfield M, et al. The associations of bone mineral density and bone turnover markers with osteoarthritis of the hand and knee in pre- and perimenopausal women. *Arthritis Rheum* 1999;42:483-9.
- Herrero-Beaumont G, Castañeda Sanz S. Importancia del hueso subcondral y la membrana sinovial en la patogenia y tratamiento de la artrosis. *Reumatología* 2006;22:79-80.
- Li B, Aspden RM. Mechanical and material properties of the subchondral bone plate from the femoral neck of patients with osteoarthritis or osteoporosis. *Ann Rheum Dis* 1997;56:247-54.
- Spector TD. Bisphosphonates: potential therapeutic agents for disease modification in osteoarthritis. *Aging Clin Exp Res* 2003;15:413-8.
- Dequecker J, Aerssens J, Luyten FP. Osteoarthritis and osteoporosis: clinical and research evidence of inverse relationship. *Aging Clin Exp Res* 2003;15:426-39.
- Spector TD, Conaghan PG, Buckland-Wright JC, Garner P, Cline GA, Beary JF, Valent DJ, Meyer JM. Effect of risedronate on joint structure and symptoms of knee osteoarthritis: results of the BRISK randomized, controlled trial. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R625-33.
- Carbone LD, Nevitt MC, Wildy K, Barrow KD, Harris F, Felson D, et al., for the Health, Aging and Body Composition Study. The relationship of antiresorptive use to structural findings and symptoms of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:3516-25.
- Bingham CO, Buckland-Wright JC, Garner P, Cohen S, Dougados M, Adami S, et al. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms or slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee: results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study. *Arthritis Rheum* 2006;54:3494-507.
- Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Raynauld JP. Most recent developments in strategies to reduce the progression of structural changes in osteoarthritis: today and tomorrow (Review) *Arthritis Res Ther* 2006;8:206-20.

25. Marcelli C, Favier F, Kotzki PO, Ferrazzi V, Picot M-C, Simon L. The relationship between osteoarthritis of the hands, bone mineral density and osteoporotic fractures in elderly women. *Osteoporos Int* 1995;5:382-8.
26. Schneider DL, Bartlett-Connor E, Morton DJ, Weisman M. Bone mineral density and clinical hand osteoarthritis in elderly men and women: the Rancho Bernardo study. *J Rheumatol* 2002;29:1467-72.
27. Zoli A, Lizzio MM, Capuano A, Massafra U, Barini A, Ferraccioli G. Osteoporosis and bone metabolism in postmenopausal women with osteoarthritis of the hand. *Menopause* 2006;13:462-6.
28. Haara MM, Arokoski JPA, Kröger H, Kärkkäinen A, Manninen P, Knetk P, et al. Association of radiological hand osteoarthritis with bone mineral mass: a population study. *Rheumatology* 2005;44:1549-54.
29. Banse X, Devogelaer JP, Munting E, Delloye C, Cornu O, Grynpass M. Inhomogeneity of human vertebral cancellous bone: Systematic density and structure patterns inside the vertebral body. *Bone* 2001;28:563-71.
30. Simpson EK, Parkinson IH, Manthey B, Fazzalari NL. Intervertebral disc disorganization is related to trabecular bone architecture in the lumbar spine. *J Bone Miner Res* 2001;16:681-7.
31. Pollintine P, Dolan P, Tobias JH, Adams MA. Intervertebral disc degeneration can lead to "stress-shielding" of the anterior vertebral body -A cause of osteoporotic vertebral fracture? *Spine* 2004;29:774-82.
32. Adams MA, Pollintine P, Tobias JH, Wackley GK, Dolan P. Intervertebral disc degeneration can predispose to anterior vertebral fractures in the thoracolumbar spine. *J Bone Miner Res* 2006;21:1409-16.
33. Arden NK, Griffiths GO, Hart DJ, Doyle DV, Spector TD. The association between osteoarthritis and osteoporotic fracture: The Chingford Study. *Br J Rheumatol* 1996;35:1299-304.
34. Sornay-Rendu E, Allard Ch, Munoz F, Duboeuf F, Delmas PD. Disc Space narrowing as a new factor for vertebral fracture: the OFELY study. *Arthritis Rheum* 2006;54:1262-9.
35. Glowacki J, Hurwitz S, Thornhill TS, Kelly M, LeBoff MS. Osteoporosis and vitamin-D deficiency among postmenopausal women with osteoarthritis undergoing total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A(12):2371-7.
36. Drees P, Decking J, Ghezal-Ahmadi V, Delank KS, Wilhelm B, Eckardt A. The common occurrence of osteoarthritis and osteoporosis and the value of markers of bone turnover. *Z Rheumatol* 2005;64:488-98.
37. Videman T, Leppavuori J, Kaprio J, Battié MC, Gibbons LE, Peltonen L, et al. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. *Spine* 1998;23:2477-85.
38. Keen RW, Hart DJ, Lanchbury JS, Spector TD. Association of early osteoarthritis of the knee with a Taq 1 polymorphisms of the vitamin D receptor gene. *Arthritis Rheum* 1997;40:1444-9.
39. Uitterlinden AG, Burger H, Huang Q, Odling E, Duijn CM, Hofman A, et al. Vitamin D receptor genotype is associated with radiographic osteoarthritis at the knee. *J Clin Invest* 1997;100:259-63.
40. Meulenbelt I, Bijkerk C, Miedema HS, Breedveld FC, Hofman A, Valkenburg HA, et al. A genetic association study of the IGF-1 gene and radiological osteoarthritis in a population based cohort study (the Rotterdam study). *Ann Rheum Dis* 1998;57:371-4.
41. Mäkinen TJ, Alm JJ, Laine H, Svedström E, Aro HT. The incidence of osteopenia and osteoporosis in women with hip osteoarthritis scheduled for cementless total joint replacement. *Bone* 2007;40:1041-7.
42. Franklin J, Englund M, Ingvarsson T, Lohmander S. The association between hip fracture and hip osteoarthritis: A case-control study. *BMC Musc Dis* 2010;11:274. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/11/274>.
43. Shen Y, Zhang ZM, Jiang SD, Jiang LS, Dai LY. Postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis show different ultrastructural characteristics of trabecular bone of the femoral head. *BMC Musc Dis* 2009;10:35. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/10/35>.
44. Marinović M, Bazdulj E, Celi T, Cicvari T, Bobinac D. Histomorphometric analysis of subchondral bone of the femoral head in osteoarthritis and osteoporosis. *Coll Antropol* 2011;35(Suppl.2):19-23.
45. De Pedro JA, Martín AP, Blanco JF, Salvado M, Pérez MA, Cardoso A, et al. Histomorphometric study of femoral heads in hip osteoarthritis and osteoporosis. *Histol Histopathol* 2007;22:1091-7.
46. Castaño-Betancourt MC, Rivadeneira F, Bierma-Zeinstra S, Kerkhof HJ, Hofman A, Uitterlinden AG, et al. Bone parameters across different types of hip osteoarthritis and its relation to osteoporotic fracture risk. *Arthritis Rheum* 2012 Nov 30. doi: 10.1002/art.37792 [Epub ahead of print].
47. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004;350:459-68.
48. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2816-22.
49. Bruyere O, Delferriere D, Roux C, Wark JD, Spector T, Devogelaer J-P, Brixen K, Adami S, Fechtenbaum J, Kolta S, Reginster J-Y. Effects of strontium ranelate on spinal osteoarthritis progression. *Ann Rheum Dis* 2008;67:335-9.
50. Reginster J-Y, Badurski J, Bellamy N, Bensen W, Chapurlat R, Chevalier X, et al. Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2013;72:179-86.
51. Calvo E, Castañeda S, Largo R, Fernández-Valle ME, Rodríguez-Salvanes F, Herrero-Beaumont G. Osteoporosis increases the severity of cartilage damage in an experimental model of osteoarthritis in rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:69-77.
52. Bellido M, Lugo L, Roman-Blas JA, Castañeda S, Caeiro JR, Dapia S, et al. Subchondral bone microstructural damage by increased remodelling aggravates experimental osteoarthritis preceded by osteoporosis. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R152. doi: 10.1186/ar3103.
53. Stewart A, Black AJ. Bone mineral density in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000;13:464-7.
54. Shreyasee A. Osteoarthritis and bone mineral density: What is the relation and why does it matter? *J Rheumatol* 2002;29:1467-72.

Normas de publicación: Información para los autores

1) INFORMACIÓN GENERAL. POLÍTICA EDITORIAL

La Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral (Rev Osteoporosis Metab Miner; www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.es) es el órgano oficial de expresión científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM). Su periodicidad es trimestral (4 números al año: invierno, primavera, verano y otoño), con un número variable de monografías extraordinarias. El tercer número del año, verano, está destinado a la publicación de las comunicaciones del Congreso anual de la SEIOMM.

La Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral publica trabajos en español, que serán traducidos al inglés en su formato electrónico, y se ofrece libre y gratuitamente por medio de su página Web. El acceso es completo a todos los artículos, en ambos idiomas, sin período de carencia o embargo y sin necesidad de registro. La versión en papel se publica exclusivamente en español, y se distribuye por correo a los socios de la SEIOMM y a los suscriptores de la revista.

Los manuscritos serán considerados por el Comité de Dirección de la Revista. Todos los originales serán evaluados por al menos dos revisores, expertos en esta materia, que realizarán su valoración de forma ciega.

El Comité de Expertos lo constituye un grupo de colaboradores especializados en diferentes campos del metabolismo mineral óseo y que realizan la valoración de los manuscritos a solicitud del Comité de Dirección de la Revista. En la página Web de la Revista y en todos los números de la Revista se publica la relación de colaboradores que forman el Comité de Expertos. Asimismo, en el primer número de cada año se publican los nombres de los revisores que han colaborado activamente con la Revista en el año finalizado. Los autores, si lo desean, podrán proponer al menos 3 posibles revisores externos, de quienes, además del nombre y apellidos, se deberá incluir su correo electrónico y las razones por la que consideran que pueden evaluar objetivamente el artículo. También podrán indicar aquellos revisores que no deseen que evalúen el manuscrito, debiendo justificar también este dato, si bien su manejo será absolutamente confidencial por parte del equipo directivo de la Revista.

Los juicios y opiniones expresados en los artículos publicados en la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral son del autor o autores, y no necesariamente del Comité de Dirección. Tanto el Comité de Dirección como la SEIOMM declinan cualquier responsabilidad al respecto. Ni el Comité de Dirección ni la SEIOMM garantizan o apoyan ningún producto que se anuncie en la Revista, ni garantizan las afirmaciones realizadas por el fabricante sobre dicho producto o servicio.

2) ELABORACIÓN Y ENVÍO DE LOS MANUSCRITOS

Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas, disponibles en:

<http://www.icmje.org>, y enviarse por correo electrónico a la dirección revistadeosteoporosisymetabolismomineral@iba-nezypalaza.com.

La Editorial de la Revista dará acuse de recibo inmediatamente, también por correo electrónico, y la Redacción iniciará el proceso de revisión, que habitualmente se completa en menos de 3 meses.

2.1. Carta de presentación

Todos los manuscritos deben ir acompañados necesariamente de una carta de presentación que indique: 1) la sección de la revista en la que se desea publicar; 2) una breve expli-

cación de cuál es la aportación original y la relevancia del trabajo en el campo de la patología metabólica ósea; 3) la declaración de que el manuscrito es original y no se ha remitido simultáneamente para evaluación a ninguna otra revista; y 4) que se han observado las presentes "instrucciones para los autores".

2.2. Manuscritos

El texto completo del manuscrito, desde la página del título hasta las referencias, debe incluirse en un archivo escrito en Word, con letra tipo Arial de tamaño 12, interlineado a 1,5 líneas y justificado a la izquierda. Se numerarán las páginas correlativamente en el margen superior derecha y se deberá dejar un margen de 3 cm en los 4 bordes de la página (que será tamaño A4).

Se deben utilizar únicamente abreviaturas comunes en el campo de la Medicina y evitarse el uso de abreviaturas en el título y en el resumen del trabajo. La primera vez que aparezca una abreviatura deberá estar precedida por el término completo al que se refiere, excepto en el caso de unidades de medidas comunes, que se expresarán en Unidades del Sistema Internacional.

Los trabajos deberán incluir la información requerida a continuación, ordenándose las secciones de la siguiente manera: página del título y autores, página del resumen y palabras clave, texto principal (introducción, material y método, resultados, discusión y bibliografía), tablas y figuras. Si es necesario, se podrán incluir las tablas y figuras en otro archivo adjunto, con sus respectivos títulos y numeración.

2.3. Apartados de los manuscritos

2.3.1. Página del título y autores:

Constará de la siguiente información:

- El título, que debe describir adecuadamente el contenido del trabajo. Debe ser breve, claro e informativo. Se debe incluir el nombre completo y el primer apellido de los autores, o los dos apellidos separados o unidos mediante guión, dependiendo de cómo prefieran los autores que aparezcan en las publicaciones.

- El nombre del (los) departamento(s) o servicio(s) y la(s) institución(es) a los que el trabajo debe ser atribuido. No es necesario incluir el cargo académico o profesional de los autores. Constará el reconocimiento de cualquier beca o ayuda económica, así como la declaración de la existencia o no de conflictos de intereses de cada uno de los autores. Aparte se incluirá el nombre completo, el correo electrónico (si se dispone) y la dirección postal completa del autor al que se dirija la correspondencia, que será el responsable de la corrección de las pruebas.

2.3.2. Resumen y palabras clave

El resumen estructurado deberá aparecer en la segunda página del manuscrito y tendrá un máximo de 250 palabras en el caso de los originales y de 150 en las notas clínicas. Contará con los siguientes encabezamientos: Objetivos, señalando el propósito fundamental del trabajo; Material y métodos, explicando el diseño del estudio, los criterios de valoración de las pruebas diagnósticas y la dirección temporal (retrospectivo o prospectivo). Se mencionará el procedimiento de selección de los pacientes, los criterios de inclusión y/o exclusión, y el número de los pacientes que comienzan y terminan el estudio. Si es un trabajo experimental, se indicará el número y tipo de animales utilizados; Resultados, donde se hará constar los resultados más relevantes y significativos del estudio, así como su valoración estadística; y Conclusiones, donde se mencionarán las que se sustentan directamente en los datos, junto con su aplica-

bilidad clínica. Habrá que otorgar el mismo énfasis a los hallazgos positivos y a los negativos con similar interés científico.

A continuación del resumen se incluirán las palabras clave, de 3 a 10 en total, con el objetivo de complementar la información contenida en el título y ayudar a identificar el trabajo en las bases de datos bibliográficas. Para las palabras clave se deben emplear términos equivalentes a los obtenidos de la lista de descriptores en Ciencias de la Salud (Medical Subjects Headings, MeSH) del Index Medicus (disponibles en: www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html).

Importante: No es necesario enviar el resumen ni las palabras clave en inglés. Esto será realizado por el traductor de la Revista.

2.3.3. Introducción

Deben mencionarse claramente los objetivos del trabajo y resumir el fundamento del mismo, sin revisar extensamente el tema y eliminando recuerdos históricos. Citar sólo aquellas referencias estrictamente necesarias.

2.3.4. Material y métodos

En este apartado se ha de especificar el lugar, el tiempo y la población del estudio. Los autores deben incluir información sobre cómo se realizó el diseño, cómo fueron los sujetos seleccionados; sobre todas las técnicas, determinaciones analíticas y otras pruebas o mediciones realizadas. Todo ello con suficiente detalle como para que otros investigadores puedan reproducir el estudio sin dificultades.

Al final de este apartado, se debe indicar cuál ha sido el tipo de análisis estadístico utilizado, precisando el intervalo de confianza. Los estudios contarán con los correspondientes experimentos o grupos control; en caso contrario, se explicarán las medidas utilizadas para evitar los sesgos y se comentará su posible efecto sobre las conclusiones del estudio. Si se trata de una metodología original, se explicarán las razones que han conducido a su empleo y se describirán sus posibles limitaciones.

No deben mostrarse los nombres de los pacientes ni incluir ningún dato que pueda conducir a su identificación. Con respecto a los fármacos, se utilizará el nombre genérico de los fármacos utilizados en el estudio evitando sus nombres comerciales, y detallando al máximo la dosis prescrita, la vía de administración y el tiempo de administración.

Asimismo, se indicarán las normas éticas seguidas por los investigadores, tanto en estudios en seres humanos como en animales. Los estudios en seres humanos deben contar con la aprobación expresa del Comité Local de Ética y de Ensayos Clínicos. Los autores deben mencionar que los procedimientos utilizados en los pacientes y controles han sido realizados tras obtención de un consentimiento informado.

2.3.5. Resultados

Se deben presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica y concordante en el texto y en las tablas y figuras. Los datos se pueden mostrar en tablas o figuras, pero no simultáneamente en ambas. En el texto se deben destacar las observaciones importantes, sin repetir todos los datos que se presenten en las tablas o figuras. No se debe mezclar la presentación de los resultados con su discusión.

2.3.6. Discusión

Se trata de una discusión de los resultados obtenidos en este trabajo y no de una revisión del tema en general. Los autores deben destacar los aspectos nuevos e importantes que aporta su trabajo y las conclusiones que se propone a partir de ellos. No se debe repetir detalladamente datos que aparecen en el apartado de resultados. En la discusión, los autores deben incidir en las concordancias o discordancias de sus hallazgos y sus limitaciones, comparándolas con otros estudios relevantes, identificados mediante las referencias bibliográficas respectivas. Al final, se debe relacionar las conclusiones obtenidas con el o los objetivos del estudio, tal y como se recogió en la introducción. Se debe

evitar formular conclusiones que no estén respaldadas por los hallazgos, así como apoyar estas conclusiones en otros trabajos aún no terminados. Si es necesario, los autores pueden plantear nuevas hipótesis, pero éstas deben ser claramente identificadas como tales. Cuando sea apropiado, los autores pueden proponer sus recomendaciones.

2.3.7. Bibliografía

Se incluirán únicamente aquellas citas que se consideren importantes y hayan sido leídas por los autores. Todas las referencias deben estar citadas en el texto de forma consecutiva según el orden de aparición, e identificadas mediante llamada en números arábigos en superíndice. Las referencias que se citan solamente en las tablas o leyendas deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto de las tablas o figuras.

Al indicar las páginas inicial y final de una cita se deben mostrar en la página final sólo los dígitos que difieran de la página inicial (ejemplos: 23-9, y no 23-29; 247-51, y no 247-251). En todo momento deben seguirse las normas de los "Requerimientos Uniformes para Manuscritos Remitidos a las Revistas Biomédicas", que pueden obtenerse en el New England Journal of Medicine (N Engl J Med 1997;336:309-15) y que también están disponibles en <http://www.icmje.org/>.

Las abreviaturas de los títulos de revistas se obtendrán de los formatos empleados por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos de Norteamérica, en el Index Medicus (disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/jrbrowser.cgi>).

Deben evitarse las referencias del estilo: "observaciones no publicadas", "comunicación personal" o similares. Los originales aceptados y no publicados en el momento de ser citados pueden incluirse como citas "En prensa".

2.3.8. Tablas

Se numerarán con números arábigos de manera correlativa en el mismo orden de aparición en el texto, y se incluirán en el manuscrito, al final del mismo, después de la bibliografía. Se prepararán a espacio y medio, como el resto del manuscrito, y no debe cambiarse el tipo de letra. Se identificarán con la numeración correspondiente y un título breve pero suficientemente explicativo en su parte superior. La leyenda de la tabla debe permitir comprender su contenido, sin que el lector tenga que acudir al texto para su comprensión. Cada columna de la tabla ha de contener un breve encabezado. Se deben incluir las necesarias notas explicativas a pie de tabla y utilizar llamadas en forma de letras minúsculas en superíndice y en orden alfabético (a, b, c). En las tablas se deben incluir las medidas estadísticas de variación, como la desviación estándar y el error estándar de la media. Solo se emplearán los decimales con significado clínico; por ejemplo, la glucemia de 89,67 deberá expresarse como 89,7.

2.3.9. Figuras

Todos los gráficos, fotografías y dibujos se consideran figuras. Las figuras se identificarán con números arábigos que coincidan con su orden de aparición en el texto. Los pies de las figuras se prepararán a espacio y medio en páginas separadas. Las leyendas y los pies de las figuras deberán contener información suficiente para poder interpretar los datos presentados sin necesidad de recurrir al texto. Para las notas explicativas a pie de figura se utilizarán llamadas en forma de letras minúsculas en superíndice, tal y como se indicó anteriormente en las tablas. En las fotografías de preparaciones histológicas deberá figurar el tipo de tinción y el aumento. La resolución mínima de las imágenes deberá ser de 300 ppp (puntos por pulgada).

3) PROCESO DE REVISIÓN DE LOS MANUSCRITOS

3.1. Recepción de manuscritos

Una vez que los manuscritos sean recibidos (lo que se confirmará mediante acuse de recibo por la Editorial), se les

asignará un número de referencia y serán registrados en la Redacción de la Revista, notificándose al autor responsable de la correspondencia el inicio del proceso de revisión.

3.2. Primera evaluación

El manuscrito será inicialmente evaluado por un miembro del Comité Editorial, quien valorará la adecuación del mismo al contenido de la Revista, y realizará una primera evaluación sobre el cumplimiento de las normas de publicación por parte de los autores. En el caso de importante incumplimiento de las mismas, el manuscrito se devolverá a los autores antes de continuar con el proceso de revisión, solicitándoles que subsanen los errores detectados.

3.3. Revisión por pares

En el caso de que el manuscrito sea adecuado para revisión, o una vez subsanados los errores indicados en el punto anterior, el Comité Editorial solicitará la revisión del manuscrito a dos revisores externos, anónimos, y especialistas reconocidos en la materia sobre la que versa el trabajo. Los manuscritos serán remitidos a los revisores sin incluir los datos de los autores. Por lo tanto, la revisión se hará a doble ciego: ni los dos revisores externos conocerán la identidad de los autores ni éstos conocerán qué revisores han evaluado el manuscrito. La Revista garantizará el cumplimiento estricto del doble anonimato en este proceso.

3.4. Duración del proceso de revisión

La duración del proceso de revisión dependerá del tiempo que tarden los revisores en enviar sus informes. Se solicitará que sean remitidos en el período máximo de 3 semanas. Una vez recibidos los informes, el Comité Editorial valorará los informes de los revisores y los reenviará a los autores, solicitando que observen las sugerencias y que remitan de nuevo el trabajo, con un informe detallado del cumplimiento de las sugerencias en un folio aparte, en el plazo máximo de 15 días.

Una vez recibido el manuscrito con las correcciones efectuadas, se remitirá a los revisores de nuevo para que informen del cumplimiento o no de las sugerencias. Este último paso se solicitará que se realice en el plazo de 72 horas.

3.5. Avance on line

Con el VºBº de los revisores, el manuscrito pasará por una corrección de estilo por parte de la Redacción para proceder a la maquetación por parte de la Editorial, galerada que se enviará al autor de correspondencia para su VºBº final, previo a su publicación como "avance on line" en la web de la Revista. El plazo a los autores para esta última revisión se limitará a 48 horas.

De los manuscritos publicados como "avance on line" el Comité Editorial decidirá cuáles y en qué momento se publicarán en los distintos números de la Revista, según las necesidades. La Revista se encarga de la traducción al inglés de todos los manuscritos.

Por lo general, el proceso de revisión y publicación se completará en 3 meses, dependiendo, obviamente, del cumplimiento de los plazos marcados por parte tanto de los revisores como de los autores.

4) NORMAS ESPECÍFICAS DE CADA SECCIÓN

4.1. Originales

Se considerarán originales aquellos trabajos clínicos o experimentales de cualquier tipo relacionados con el metabolismo mineral óseo.

Deberán estructurarse en Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Bibliografía. Tendrán una extensión máxima de 16 páginas, y se admitirán hasta 5 tablas o figuras. No deberán sobrepasar las 40 citas bibliográficas. Incluirán un resumen estructurado de 250 palabras como máximo. Dicho resumen será organizado en los siguientes apartados: Fundamentos, Objetivos, Material y Método, Resultados y Conclusiones.

4.2. Notas clínicas

Descripción de uno o más casos clínicos de excepcional observación que supongan una aportación importante al conocimiento del metabolismo mineral óseo. Deberán acompañarse de un resumen y una introducción breves (máximo, 150 palabras cada uno) y previos a la descripción del caso. La extensión máxima del texto ser de 5 páginas (1.750 palabras, 10.650 caracteres con espacios). Se admitirán hasta dos figuras y dos tablas. Es aconsejable que el número de firmantes no sea superior a seis y que no se incluya más de 20 referencias bibliográficas.

4.3. Cartas al Editor

En esta sección se publicarán aquellas cartas que hagan referencia a trabajos publicados en la revista anteriormente y aquéllas que aporten opiniones, observaciones o experiencias que por sus características puedan ser resumidas en un breve texto. La extensión máxima será de 60 líneas y se admitirán una figura o una tabla y diez referencias bibliográficas como máximo. El número de firmantes no debe exceder de cuatro.

4.4. Otras secciones

La Revista incluye otras secciones (Editoriales, Revisiones y Documentos o Artículos Especiales), las cuales serán encargadas por el Comité de Redacción. Los autores que espontáneamente deseen colaborar en alguna de estas secciones deberán consultar previamente al Director de la Revista.

4.4.1. Revisiones

Se presentarán con una extensión de 12 páginas (4.200 palabras, 25.560 caracteres con espacios) y un máximo de 60 citas. Se admitirán un máximo de 4 figuras y 5 tablas que deberán contribuir de manera evidente a la mejor comprensión del texto. Las revisiones se acompañarán de un resumen en español y tendrán un último apartado de conclusiones de aproximadamente un folio de extensión.

4.4.2. Editoriales

Tendrán una extensión máxima de 4 páginas (2.100 palabras, 12.780 caracteres con espacios), sin tablas ni figuras, y un máximo de 30 citas bibliográficas.

4.4.3. Documentos especiales

Se incluirá en este apartado todos aquellos documentos y artículos que pudieran realizar alguna aportación científica al campo del metabolismo mineral óseo y que posea unas características que no permitan su inclusión en alguno de los apartados anteriores de la revista. El Comité Editorial decidirá la manera de publicar estos documentos, y se reserva el derecho de modificarlos para adecuarlos al formato de la Revista.

5) TRANSMISIÓN DE LOS DERECHOS DE AUTOR

5.1. Garantías del autor y responsabilidad

Al enviar el trabajo por correo electrónico, el autor garantiza que todo el material que remite a la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral para su publicación es original, y que el mismo no ha sido publicado con anterioridad ni remitido simultáneamente a ninguna otra Revista para su publicación.

Asimismo, el autor garantiza que el trabajo que remite cumple la Ley de Protección de Datos y que ha obtenido el consentimiento previo y escrito de los pacientes o sus familiares para su publicación.

5.2. Cesión de derechos de explotación

El autor cede en exclusiva a la SEIOMM, con facultad de cesión a terceros, todos los derechos de explotación que deriven de los manuscritos que sean seleccionados para su publicación en la Revista, y en particular los de reproducción, distribución y comunicación pública en todas sus formas.

El autor no podrá publicar ni difundir los trabajos que sean seleccionados para su publicación en Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral ni total ni parcialmente, ni tampoco autorizar su publicación a terceros, sin la preceptiva previa autorización expresa, otorgada por escrito, de la SEIOMM.