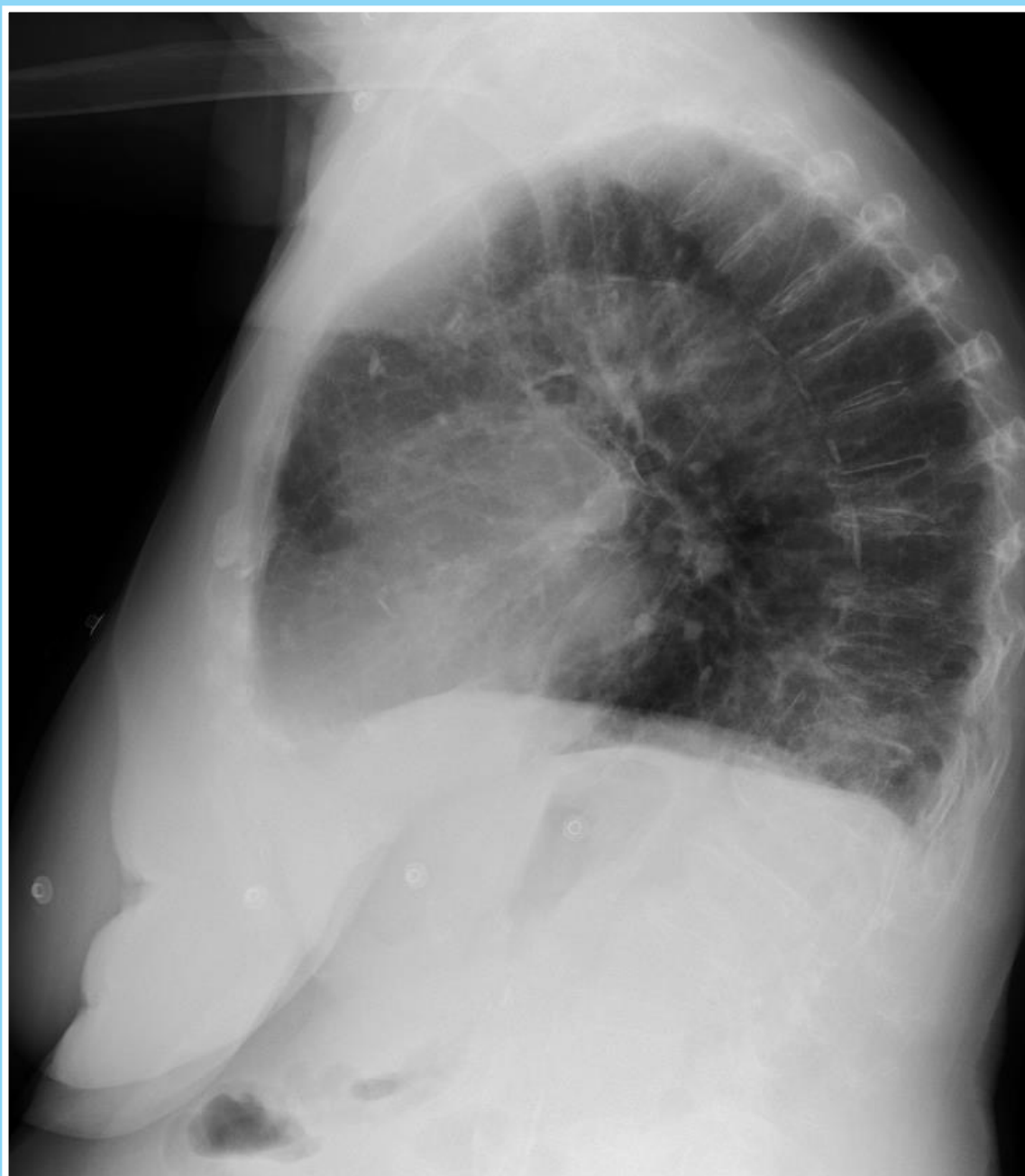




Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com





Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

© Copyright 2025. SEIOMM y © ARÁN EDICIONES, S.L.

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.
Publicación trimestral con 4 números al año

Esta publicación se encuentra incluida en Scopus, Web of Science, Scielo, DOAJ, ERIHPLUS, Redalyc, IBECs, Embase, Open J-Gate, Free Medical Journals, Sociedad Americana de Investigación Científica (SIIC), Google Academic, Medes, ÄZ3, e-revist@s, WorldCat, Latindex, EBSCO, Medic Latina, Dialnet, Safetylit, Mosby's, Emcare, Academic Keys, CRUE, Hinari, REDIB, Emerging Sources Citation Index, British Library y ROAD.
Factor de impacto (JCR 2023): 0,8 / Q4

La *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* es una revista *open access*, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de *open access*.

Esta revista se publica bajo licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).



La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas.

ISSN (versión papel): 1889-836X. ISSN: (versión electrónica): 2173-2345
Depósito Legal: M-8158-2023

ARÁN EDICIONES, S.L.

C/ Orense, 11, 4.º - 28020 Madrid - Tel. 91 782 00 30 - Fax: 91 561 57 87
e-mail: osteoporosis@grupoaran.com
www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com
www.grupoaran.com



Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

Órgano Oficial de Expresión Científica de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)
y de la Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral (SIBOMM)

DIRECTORAS

Dra. Arancha Rodríguez de Gortázar
(Co-directora)

Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Facultad de Medicina. Universidad San Pablo CEU. Madrid (España)

Correo electrónico: argortazar@ceu.es

Dra. Marta Martín Millán
(Co-directora)

Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. Santander (España)

Correo electrónico: marta.martinm@scsalud.es

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Rosa María Arboiro Pinel

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

Correo electrónico: RMArboiro@quironsalud.es

Dra. Teresita Bellido

Directora del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Arkansas para Ciencias Médicas. Departamento de Medicina. División de Endocrinología y Metabolismo y Departamento de Ortopedia.

Investigadora en el Sistema de Atención Médica de Veteranos de Arkansas Central-John L. McClellan Memorial Hospital. Little Rock, Arkansas (Estados Unidos)

Correo electrónico: tmbellido@uams.edu

Dr. Enrique Casado Burgos

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

Correo electrónico: ecasado@tauli.cat

Dr. Jesús Delgado Calle

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

Correo electrónico: JDeldagocalle@uams.edu

Dr. Manuel Díaz Curiel

Ex-Director de la Cátedra de Enfermedades Metabólicas Óseas. Universidad Autónoma Madrid. Consultor de Enfermedades Metabólicas Óseas. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. Presidente Honorífico de la Fundación

Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO) (España)

Correo electrónico: mdcuriel@fjd.es

Dr. Adolfo Díez Pérez

Instituto Hospital del Mar de Investigación Médica (IMIM) y Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario del Mar. Universidad Autónoma de Barcelona.

CIBER en Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Instituto Carlos III. Barcelona (España)

Correo electrónico: Adiez@parcdesalutmar.cat

Dr. Luis Fernández de Castro

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

Correo electrónico: luis.fernandezdecastro@nih.gov

Dra. Laia Gigre Sala

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

Correo electrónico: lgigre.germanstrias@gencat.cat

Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero

Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla. Sevilla (España). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: mjgtr@us.es

Dr. Oswaldo Daniel Messina

Jefe de Reumatología. Hospital Argerich de Buenos Aires (Argentina). Profesor Asociado de Reumatología y Director de la carrera de postgrado en Reumatología.

Universidad de Buenos Aires (Argentina). Director Médico de Investigaciones Reumatológicas y Osteológicas de Buenos Aires (IRO SRL) (Argentina). Miembro del Board y del Comité de Asesores Científicos de la International Osteoporosis Foundation (IOF)

Correo electrónico: drosvaldodanielmessina@gmail.com

Dr. Manuel Naves Díaz

Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo óseo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). REDinREN del ISCIII. Universidad de Oviedo. Oviedo (España)

Correo electrónico: mnaves.huca@gmail.com

Dra. Lilian I. Plotkin

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

Correo electrónico: lplotkin@iupui.edu

Dr. José Antonio Riancho Moral

Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Santander (España)

Correo electrónico: rianchoj@unican.es

Dr. Manuel Sosa Henríquez

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Unidad Metabólica ósea. Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Correo electrónico: manuel.sosa@ulpgc.es



Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral



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

Presidente

Guillermo Martínez Díaz-Guerra

Vicepresidente

Mercedes Giner García

Secretaría

Marta Martín Millán

Tesorero

Manel Ciria Recasens

Vocales

Enric Duaso Magaña
María Pilar Aguado Acín



Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral

Sumario

Vol. 17 ■ Abril-Junio ■ N.º 2

Originales

- Estudio del comportamiento de biomarcadores de recambio óseo durante el primer año postrasplante renal**
M. J. Lloret, C. Canal, R. Montañés, S. Di Gregorio, L. Fayos de Arizón, A. Tinoco, A. Laiz, D. Montolio, C. Facundo, L. Guirado, J. Bover 57
- Impacto de la PTHrP en la proliferación y polarización de macrófagos RAW 264.7**
J. Pizarro-Gómez, I. Tirado-Cabrera, E. Martín-Guerrero, S. Heredero-Jiménez, A. R. Gortázar, J. A. Ardura 66
- Evaluación de la ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas tratadas con suplementos en atención primaria**
I. Roig Grau, A. López Cortiña, R. Rodríguez Roig, M. Subirana Font, N. Guillén Arcos, N. Busquet Solé, P. Roura Poch 74
- Bone mineral density and trabecular bone score in Spanish postmenopausal osteoporosis-free women: correlation with demographic factors**
M. Díaz-Curiel, J. L. Neyro, M. Andrade-Poveda, I. Mahillo-Fernández 84

Revisión

- Stem cells, PRP, and bioprinting — Advancements in regenerative medicine for orthopedic disorders**
K. Eskandar 90

Imagen de portada:

Radiografía lateral de tórax. Una oportunidad de diagnóstico
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

Original

Estudio del comportamiento de biomarcadores de recambio óseo durante el primer año postrasplante renal

Maria Jesús Lloret¹, Cristina Canal², Rosario Montañés³, Silvana Di Gregorio⁴, Leonor Fayos de Arizón¹, Adria Tinoco¹, Ana Laiz⁵, Daniel Montolio⁶, Carme Facundo¹, Lluís Guirado¹, Jordi Bover⁷

¹Servicio de Nefrología, ²Unidad de Apoyo a la Investigación y ³Servicio de Laboratorio. Fundació IR SANTPAU. Barcelona. ⁴CETIR Ascires. Barcelona.

⁵Servicio de Medicina Interna. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ⁶Departamento de Economía. Universitat de Barcelona. Barcelona.

⁷Servicio de Nefrología. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona, Barcelona

Resumen

Introducción: el trasplante renal (TR) supone una situación de riesgo para la disminución de la resistencia ósea, sobre todo durante el primer año postrasplante renal cuando la dosis de corticoides usada es mayor. El objetivo del estudio es analizar el comportamiento de los biomarcadores de formación y resorción ósea durante el primer año post-TR.

Material y métodos: estudio observacional, prospectivo y unicéntrico donde se incluyeron 123 pacientes que ingresaron para recibir un TR. Se determinaron parámetros habituales relacionados con el metabolismo mineral y en un subgrupo de pacientes, biomarcadores de formación (fosfatasa alcalina ósea [FAO] y propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 [PINP]) y resorción (fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b [TRAP5b]) ósea peritrasplante, a los 6 y 12 meses.

Resultados: la hormona paratiroidea (PTH) disminuyó significativamente y de forma marcada durante el primer semestre (239 ± 124 vs 91 ± 40 ng/L) manteniéndose estable durante el segundo semestre (92 ± 40 ng/L). Se objetivó un aumento de FAO ($9,03 \pm 3,95$ vs $11,18 \pm 4,71$ µg/l; $p < 0,001$) y PINP ($48,4 \pm 35,7$ vs $64,6 \pm 42,6$ µg/l; $p < 0,001$) a los 12 meses del TR. No se observaron cambios significativos en TRAP 5b. Los pacientes que recibieron tratamiento antirresortivo frente a los no tratados, presentaron niveles significativamente menores de FAO ($9,39$ vs $11,87$ µg/l), PINP ($37,6$ vs $70,3$ µg/l) y TRAP5b ($2,59$ vs 4 U/l) a los 12 meses.

Conclusión: durante el primer año de TR se produce un aumento de los biomarcadores de formación ósea, a pesar de una disminución de los niveles de PTH. Los niveles de biomarcadores de recambio óseo al año del TR son menores en pacientes tratados con antirresortivos.

Palabras clave:
Marcadores de
recambio óseo.
Trasplante renal.
Tratamiento
antirresortivo.

Recibido: 25/09/2024 • Aceptado: 09/03/2025

Financiación: este trabajo ha sido financiado por la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM) a través de una beca de la Fundación Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (FEIOMM) para investigación clínica

Conflictos de interés: M. J. L. declara conflictos de interés con Sanofi, C. S. L. - Vifor y Rubió. C. C, R. M, S. D. G, L. F. A., A. T., D. M., C. F. y L. G. declaran que no presentan conflictos de interés. A. L. declara conflictos de interés con Novartis, Abbvie, Amgen, Janssen, Biogen, MSD, Pfizer y UCB. J. B. declara conflictos de interés con Amgen, Abbvie, Sanofi, C. S.L. - Vifor, Astra-Zeneca, Rubió y Bayer.

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

Lloret MJ, Canal C, Montañés R, Di Gregorio S, Fayos de Arizón L, Tinoco A, Laiz A, Montolio D, Facundo C, Guirado L, Bover J. Estudio del comportamiento de biomarcadores de recambio óseo durante el primer año postrasplante renal. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(2):57-65

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00063

Correspondencia:

Maria Jesús Lloret. Servicio de Nefrología.
Fundació Puigvert. C/ Cartagena, 340-350.
08025, Barcelona
e-mail: mjlloret@fundacio-puigvert.es

INTRODUCCIÓN

El trasplante renal (TR) supone una situación de riesgo adicional para la patología ósea y la osteoporosis que conllevará a un aumento en la morbilidad. El 7-10 % de los pacientes trasplantados renales van a sufrir como mínimo una fractura a lo largo de su vida (1,2). El fenotipo óseo post-TR se establece por la combinación de varios factores: a) las alteraciones del metabolismo mineral durante la fase de enfermedad renal crónica (ERC) avanzada que pueden persistir post-TR, especialmente el hiperparatiroidismo; b) los efectos de los inmunosupresores, principalmente los glucocorticoides; y c) factores de riesgo tradicionales de osteoporosis tales como el estado nutricional, fenómenos hormono-dependientes o relacionados con el envejecimiento (3,4). La última actualización de las guías nefrológicas sobre el complejo CKD-MBD (*chronic kidney disease-mineral and bone disorder*) sugieren la valoración del riesgo de fractura en cualquier estadio de ERC G1-5T a través de la medición de la densidad mineral ósea (DMO) (4,5). DEXA (*dual-emission X-ray absorptiometry*) es el método estándar para valorar el riesgo de fractura no solo en población general, sino también en la ERC (6,7), sin embargo, presenta algunas limitaciones. El primer inconveniente es que proporciona información únicamente sobre cantidad ósea, sin evaluar su calidad, lo que representa una limitación particularmente significativa en el contexto de osteoporosis secundaria a enfermedades metabólicas. En la ERC diversos factores, como el ambiente urémico, el uso prolongado de corticoides y las comorbilidades, como la diabetes *mellitus*, junto con la osteodistrofia renal marcada por las anomalías en el recambio óseo, afectarán de manera considerable a la calidad ósea. La segunda limitación importante de la DEXA es que no permite detectar cambios en el hueso de forma precoz tras el inicio de un tratamiento antifractura. En este sentido, los marcadores de recambio óseo (MRO) podrían mitigar estas limitaciones. Aunque los MRO no son útiles para el diagnóstico de osteoporosis, podrían complementar a la DEXA en la identificación de pacientes con alto riesgo de fractura. Las guías de la SEIOMM (8) recomiendan especialmente su uso (evidencia B) para evaluar de forma precoz la respuesta al tratamiento antiosteoporótico (evidencia 2a) y para monitorizar la adherencia al mismo, ya que se pueden determinar de forma iterativa sin irradiar al paciente.

Los biomarcadores se dividen en aquellos factores circulantes que afectan al recambio óseo (p.ej. hormona paratiroidea [PTH]) y los marcadores de recambio óseo que reflejan el número y/o la actividad de las células óseas. Estos últimos se dividen en 2 categorías: marcadores de formación [fosfatasa alcalina ósea (FAO), péptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 (P1NP)] y de resorción ósea [fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b (TRAP5b)]. Los MRO no solo permitirían mejorar la monitorización y la eficacia terapéutica de forma rá-

pida y dinámica, sino que también pueden informar sobre el tipo de osteodistrofia renal. Los biomarcadores de recambio óseo presentan un alto valor predictivo negativo en relación con el recambio óseo en la ERC, por lo que serán útiles para descartar la presencia de un alto o bajo recambio óseo (9). Las guías KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) sugieren medir PTH o FAO ya que valores extremos podrían orientar sobre el recambio óseo (5). La experiencia sobre el comportamiento de otros MRO, como por ejemplo P1NP o TRAP5b en el paciente renal es escasa, por lo que es necesaria nueva evidencia sobre su comportamiento para poder recomendar un uso más liberal. El uso de los MRO en el futuro es prometedor, ya que, podría ayudar a estratificar mejor el riesgo de fractura en el paciente renal, individualizar el tratamiento y monitorizar de una forma más precoz la respuesta terapéutica. El objetivo de este estudio es analizar el comportamiento de los biomarcadores de formación y resorción ósea durante el primer año post-TR, así como la influencia del tratamiento antirresortivo en la evolución de los biomarcadores.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO Y POBLACIÓN A ESTUDIO

Este es un subestudio del “Estudio de la resistencia ósea medida *in vivo* por microindentación por impacto en el postrasplante renal” en una cohorte de pacientes mayores de 18 años, que ingresaron para TR de donante vivo o de cadáver en la Fundació Puigvert en el periodo de mayo 2019 hasta agosto 2022. Es un estudio prospectivo, observacional y unicéntrico donde los pacientes se valoraron peritrasplante, a los 6 meses y al año del TR. El estudio fue aprobado por el CEIm (Comité Ético de Investigación con medicamentos) de Fundació Puigvert. Se incluyeron pacientes adultos que ingresaron para recibir un TR. Los criterios de exclusión fueron: antecedentes de tratamiento reciente (menos de 1 año) con denosumab, bifosfonatos o teriparatida; negativa a firmar consentimiento informado.

VARIABLES

Se recogieron, a partir de la historia clínica de los pacientes, datos demográficos, comorbilidades y datos relacionados con el tratamiento. Además, en un subgrupo de pacientes se realizó un análisis de biomarcadores de formación (FAO, P1NP) y resorción (TRAP 5b) ósea.

PROTOCOLO DE INMUNOSUPRESIÓN Y METABOLISMO MINERAL

Los pacientes fueron tratados con un régimen de inmunosupresión individualizado con corticoides, anticalcineurínico, micofenolato y suero linfocitario policlonal (timoglobulina) según protocolo clínico del centro. La dosis de corticoides fue: 200 mg de metilprednisolona endovenosa el día del TR, 1 mg/kg/día de prednisona oral a las 24 horas y disminución progresiva en los siguientes 3 meses hasta una dosis de mantenimiento de 5 mg/día. El tratamiento para los parámetros del metabolismo mineral fue suspendido en el post-TR inmediato y reiniciado posteriormente a discreción del médico tratante. Según protocolo, basado en las guías de práctica clínica (8,10), se recomendó o no el inicio de tratamiento antirresortivo con denosumab 60 µcg/semestral o bisfosfonatos orales (habitualmente ácido alendronico 70 mg/semanal). Se recomendó inicio de tratamiento en aquellas mujeres posmenopáusicas y hombres > 40 años con una escala T < -1,5 DE o antecedentes de fractura por fragilidad. En las mujeres premenopáusicas y hombres < 40 años se sugirió tratamiento cuando la escala Z < -3 DE o habían presentado fractura por fragilidad.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para llevar a cabo este estudio, se creó un protocolo que fue aprobado por el Comité Ético de Investigación con medicamentos (CEIm Fundació Puigvert IUNA) el 5 de junio de 2020, con el número de referencia C2019/21). Todos los participantes firmaron un consentimiento informado para participar en el estudio. Se elaboró una hoja de información al paciente específica para los participantes en el estudio. Ambos documentos han sido preparados para su evaluación y aprobación por las autoridades Competentes. Todos los datos han sido tratados de acuerdo con el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, de Protección de Datos (GDPR), y la correspondiente Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de protección de datos personales y garantía de los derechos digitales. Los investigadores se comprometieron a realizar este estudio de acuerdo con las directrices de Buena Práctica Clínica y la Declaración de Helsinki.

ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Las muestras de sangre fueron obtenidas por la mañana en condiciones de ayuno entre las 8:00 y las 10:00 a.m. Se realizó, según práctica clínica habitual, la medida de la concentración sérica de calcio, fosfato, magnesio, PTH, fosfatasa alcalina y calcidiol (25-OH-vi-

tamina D) en un analizador Cobas 6000 (Roche Diagnostics) en un tiempo máximo de 3 meses pre-TR. La determinación post-TR inmediato de los MRO (FAL ósea, P1NP y TRAP5b) se realizó a los $2,2 \pm 1,83$ días del TR. La muestra se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos, se alicuotó y se congelaron las alícuotas a -80 °C hasta su procesamiento.

El P1NP monomérico se midió mediante un inmunoensayo automatizado de electroquimioluminiscencia (ECLIA) en el analizador Cobas 6000 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). El coeficiente de variación interensayo fue del 2,6 y 1,9 % para una concentración de 30 y 158 ng/mL, respectivamente. La FAO se analizó mediante inmunoensayo automatizado de quimioluminiscencia con partículas paramagnéticas (Access Ostase®) en un analizador Beckman-Coulter Access (Beckman_Coulter; Brea, CA, USA) con coeficiente de variación interensayo de 4,8 y 5,3 % para concentraciones de 10 y 47 µg/L, respectivamente. Finalmente, TRAP-5b se analizó mediante un método cinético basado en la hidrólisis del sustrato α -naftilfosfato a α -naftol, con reactivos de Spinreact, adaptado a un analizador Cobas Mira Plus (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). El coeficiente de variación interensayo fue de 5,8 y 3,9 % para concentraciones de 29 y 63 U/L, respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cualitativas se describieron con frecuencias absolutas y porcentajes. La descripción de variables cuantitativas se realizó utilizando la media, la desviación estándar (DE), la mediana y cuartiles. Se utilizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov para evaluar la normalidad de las distribuciones. Para el análisis de la evolución de los niveles de los biomarcadores en toda la cohorte de pacientes, se utilizó la prueba de Wilcoxon. Se compararon los resultados en función del tratamiento mediante el test U Mann Whitney. Se compararon las características de los pacientes tratados y no tratados mediante la prueba de Chi-cuadrado (o prueba de Fisher para frecuencias < 5) para la comparación de variables categóricas o U Mann Whitney en el caso de las de tipo cuantitativo.

Finalmente, se desarrollaron modelos multivariados de regresión lineal para evaluar los cambios en FAO y P1NP/ TRAP 5b (12 meses vs post-TR inmediato), ajustando por el valor post-TR inmediato del biomarcador, edad, sexo, diabetes mellitus, función renal, dosis de corticoides y PTH. Los resultados se expresaron como coeficiente beta (β), intervalos de confianza 95 % y p valor. Para todas las pruebas, los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Se utilizó el paquete estadístico R Studio (versión 2.5.1) para los análisis.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASALES Y TRATAMIENTO DEL METABOLISMO MINERAL

La edad media de los pacientes fue de 55 ± 11 años, 69,9 % fueron varones y el índice de masa corporal (IMC) medio fue de $25,8 \pm 3,8$ kg/m². En el momento del trasplante el 52,8 % y 15,4 % estaban en programa crónico de hemodiálisis y diálisis peritoneal, respectivamente, y el 30,9 % estaban en situación de prediálisis. El tiempo medio en diálisis pretrasplante fue de 24 ± 15 meses. Las causas de ERC fueron: 20,5 % glomerular, 9,8 % urológica, 19,7 % enfermedad poliquística, 9 % nefropatía intersticial crónica, 8,2 % nefropatía diabética, 4,1 % de origen vascular, y el 28,7 % no filiadas. El 22,8 % de los pacientes eran diabéticos y el 10,8 % tenían antecedentes de fractura. El tiempo medio de seguimiento fue de $12,5 \pm 2,9$ meses. La dosis acumulada de corticoides fue de $2,7 \pm 0,3$ gr al año del TR. Un total de 15 (13,4 %) pacientes presentaron rechazo del injerto durante el primer año. Todos los pacientes fueron dados de alta tras recibir el TR con aportes de calcio oral y suplementos de vitamina D, manteniéndose el tratamiento a los 12 meses en el 66,4 % (dosis media: 433 ± 346 mg/día) y 75 % (dosis media: 798 ± 588 UI/día) respectivamente.

PARÁMETROS DE LABORATORIO DE METABOLISMO MINERAL

La tabla I muestra los parámetros de metabolismo mineral previo al TR, a los 6 y 12 meses. Globalmente los cambios fueron significativos, especialmente durante los primeros 6 meses, estabilizándose durante el segundo semestre. La PTH disminuyó significativamente, y de forma marcada, durante el primer semestre (239 ± 124 vs 91 ± 40 ng/L; $p < 0,0001$), manteniéndose estable durante el segundo periodo de observación (92 ± 40 ng/L). Los niveles séricos de fosfato disminuyeron significativamente a los 12 meses del TR ($1,75 \pm 0,5$ vs $1,13 \pm 0,22$ mmol/l; $p < 0,0001$), en cambio los niveles de calcio aumentaron ($2,25 \pm 0,18$ vs $2,4 \pm 0,11$ mmol/l; $p < 0,0001$) durante el primer año. El magnesio sin embargo disminuyó ($1,03 \pm 0,16$ vs $0,72 \pm 0,11$ mmol/L). Los niveles de calcidiol aumentaron significativamente durante el primer año de TR ($19,3 \pm 10$ vs $29,3 \pm 9$ ng/mL).

BIOMARCADORES DE RECAMBIO ÓSEO

La evolución de los biomarcadores de formación y resorción ósea se muestran en la tabla II y figura 1. Los valores de P1NP, FAO y TRAP5b determinados en el post-TR inmediato fueron de $48,4 \pm 35,7$ µg/L,

Tabla I. Evolución de los parámetros analíticos relacionados con el metabolismo óseo-mineral

	Missing (n)	Basal	6 meses	12 meses	p valor entre basal y 6 m	p valor entre 6m y 12 m	p valor entre basal y 12 meses
Fosfato (mmol/l)	4/2/13	$1,75 \pm 0,5$	$1,08 \pm 0,20$	$1,13 \pm 0,22$	$< 0,0001$	$< 0,01$	$< 0,0001$
Calcio (mmol/l)	8/3/13	$2,25 \pm 0,18$	$2,41 \pm 0,11$	$2,40 \pm 0,11$	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$
Magnesio (mmol/L)	31/31/37	$1,03 \pm 0,16$	$0,68 \pm 0,11$	$0,72 \pm 0,11$	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$
PTH (ng/L)	7/24/29	239 ± 124	91 ± 40	92 ± 40	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$
25 (OH) D ₃ (ng/mL)	13/16/24	$19,3 \pm 10$	$30,8 \pm 11$	$29,3 \pm 9$	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$
Creatinina (µmol/l)	9/6/18	516 ± 163	145 ± 52	141 ± 47	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$
FGe CKD-EPI (ml/min/1,73 m ²)	3/3/12	$9,5 \pm 3,5$	$46,3 \pm 18,8$	$45,7 \pm 19,4$	$< 0,0001$	ns	$< 0,0001$

Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar o mediana (IQR). PTH: hormona paratiroidea; FGe: filtrado glomerular estimado; 25 (OH)D₃: 25-hidroxi vitamina D. ns: no significativo. Missing: número de pacientes con el dato no disponible en el momento basal/6 meses/12 meses postrasplante.

Tabla II. Evolución de los biomarcadores de recambio óseo

	n	Post-TR inmediato	6 m	12 m	p valor
FAO (µg/L)	67/55/65	$9,03 \pm 3,95$	$11,96 \pm 4,46$	$11,18 \pm 4,71$	$< 0,001$
P1NP (µg/L)	65/56/66	$48,4 \pm 35,7$	$86,2 \pm 50,4$	$64,6 \pm 42,6$	$< 0,001$
TRAP5b (U/L)	70/59/68	$4,25 \pm 2,52$	$3,40 \pm 2,23$	$3,61 \pm 2,01$	0,085

FAO: fosfatasa alcalina ósea (valores normales para hombres: < 20 µg/L, mujeres premenopáusicas < 14 µg/L y mujeres posmenopáusicas < 22 µg/L) (25); P1NP: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 (valores normales para hombres $23-95$ µg/L, mujeres premenopáusicas $15-59$ µg/L y mujeres posmenopáusicas $20-76$ µg/L); TRAP 5b: fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b (valor normal $< 6,5$ U/L) (26).

9,03 ± 3,95 µg/L y 4,25 ± 2,52 U/L respectivamente. La dosis media estimada de prednisona recibida en ese momento fue de 303 ± 150 mg. Los niveles de P1NP se correlacionaron de manera inversa con la dosis de corticoides acumulada en el post-TR inmediato ($r = -0,32$; $p = 0,007$).

Se objetivó un aumento significativo de FAO y P1NP a los 12 meses del TR respecto al post-TR inmediato, siendo el aumento más pronunciado durante los primeros 6 meses. No se observaron cambios significativos en TRAP 5b a los 12 meses. Los niveles de FAO y P1NP, respecto al momento post-TR inmediato, aumentaron respectivamente un 23 % y 118 % a los 6 meses, y un 28 % y 62 % a los 12 meses. TRAP5b solo aumentó un 3,3 % a los 6 meses y un 33 % a los 12 meses.

Diferencias entre pacientes tratados frente a no tratados con antirresortivos

Un total de 32 pacientes (26,2 %) recibió tratamiento con antirresortivos (6 denosumab, 26 bisfosfonatos) a los 65 ± 42 días del TR. Las principales características clínicas y analíticas se muestran en la tabla III. La edad media de los pacientes tratados fue de 60 años, el 47 % eran mujeres y el 15,6 % eran diabéticos. El comportamiento de los biomarcadores de formación y resorción ósea fue diferente en los pacientes tratados con antirresortivos respecto a los no-tratados (Fig. 2). A diferencia del grupo no tratado, los pacientes trata-

dos no mostraron un incremento de FAO y P1NP a los 12 meses. Los niveles de FAO y P1NP fueron significativamente menores en el grupo tratado a los 12 meses, mientras que no se observaron diferencias entre grupos en el momento post-TR inmediato (pretratamiento). Los niveles de TRAP 5b a los 12 meses también fueron significativamente menores en el grupo tratado. No obstante, no se observaron diferencias significativas en su evolución al comparar ambos grupos.

En el grupo de pacientes tratados respecto a no tratados, el porcentaje de mujeres fue mayor y presentaban un IMC menor. No se observaron diferencias significativas en el filtrado glomerular estimado (FGe), así como tampoco en la edad, tiempo de diálisis o tratamiento con calcio o vitamina D.

Análisis multivariante

Los modelos multivariados muestran que los cambios observados a los 12 meses en FAO y P1NP con respecto al momento post-TR inmediato se mantienen de manera independiente de la edad, sexo, diabetes, dosis de corticoides, FGe y PTH basal. Sin embargo, un mayor valor post-TR inmediato de FAO (beta: -0,80; $p < 0,001$) y P1NP (beta: -0,99; $p = 0,001$) se relaciona con un menor cambio a los 12 meses en ambos marcadores. En la misma línea, los pacientes que han recibido tratamiento presentan un menor cambio en ambos casos (β : -2,83; $p = 0,049$) y (β : -20,33; $p = 0,049$) respectivamente.

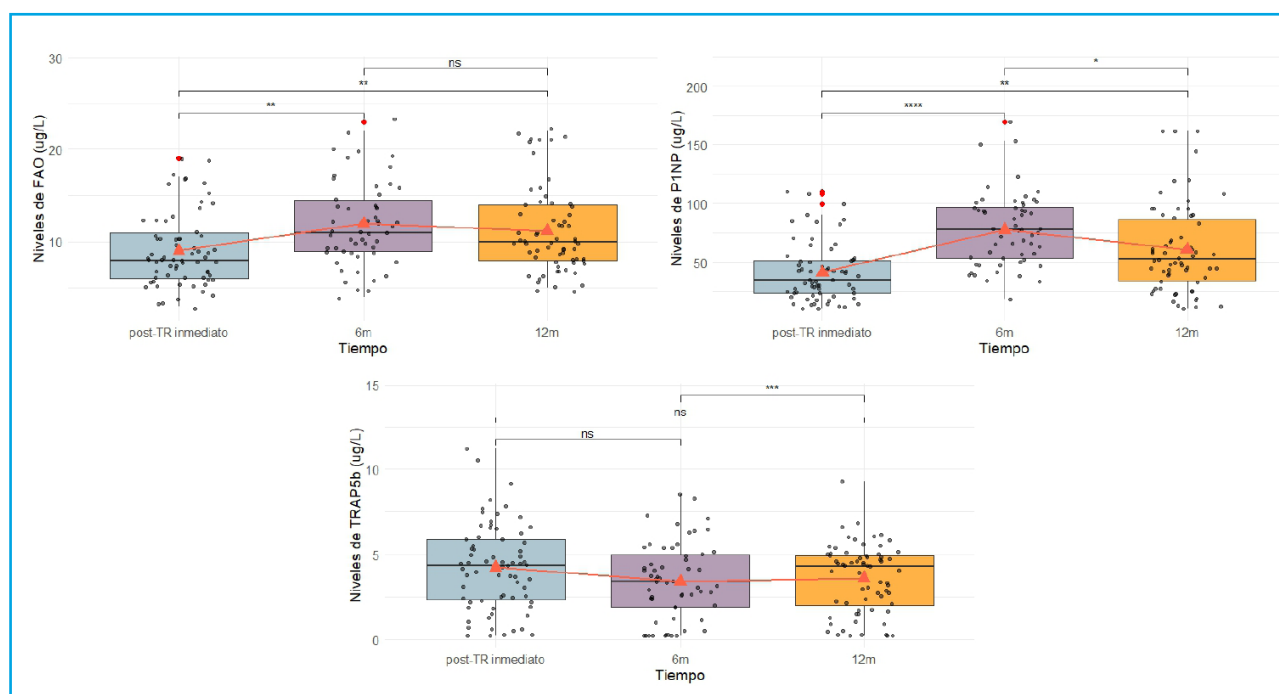


Figura 1. Evolutivo de los MRO durante el primer año postrasplante (n.s.: no significativo; **** $p < 0,00001$; *** $p < 0,0001$; ** $p < 0,001$; * $p < 0,01$).

Tabla III. Características de los pacientes tratados y no tratados

	Todos <i>n</i> = 122	Sin tratamiento anti-OP <i>n</i> = 90	Tratamiento anti-OP <i>n</i> = 32	<i>p</i> valor
Edad (años)	58 ± 13	57 ± 12,3	60 ± 13	0,886
Sexo femenino (<i>n</i> , %)	37 (30,1 %)	22 (24,4 %)	15 (46,9 %)	0,032
IMC (kg/m ²)	25,6 ± 3,8	26,1 ± 4	24,2 ± 2,6	0,006
DM (<i>n</i> , %)	28 (22,8 %)	22 (24,4 %)	5 (15,6 %)	0,433
ERC HD (<i>n</i> , %)	65 (52,8 %)	47 (52,2 %)	17 (53,1 %)	0,574
Tiempo en diálisis (meses)	25,3 ± 15,9	23,6 ± 14,4	24 ± 14,8	0,836
Antecedente fractura fragilidad (<i>n</i> , %)	13 (10,7 %)	5 (38,5)	8 (61,5)	0,04
Escala T columna lumbar (DE)	-0,7 ± 1,9	-0,2 ± 1,8	-1,6 ± 1,5	< 0,001
Osteoporosis lumbar (<i>n</i> , %)	17 (15,2 %)	7 (8,6 %)	10 (32,3 %)	0,006
Escala T cuello femoral (DE)	-1,5 ± 1,2	-1,1 ± 1,0	-2,4 ± 1,2	< 0,001
Osteoporosis cuello femoral (<i>n</i> , %)	25 (22,7 %)	13 (16 %)	12 (41,4 %)	< 0,001
Escala T cadera total (DE)	-1,3 ± 1,3	-0,8 ± 1,1	-2,2 ± 1,0	< 0,001
Osteoporosis cadera total (<i>n</i> , %)	17 (15,3 %)	9 (11,1 %)	8 (26,7 %)	< 0,001
FGe CKD-EPI basal (ml/min/1,73 m ²)	9,5 ± 3,5	9,6 ± 3,5	9,03 (3,55)	0,474
FGe CKD-EPI 12 meses (ml/min/1,73 m ²)	45,7 ± 19,4	45,2 ± 19,4	46,9 ± 19,4	0,904
Calcio basal (mmol/l)	2,25 ± 0,18	2,23 ± 0,17	2,31 ± 0,19	0,017
Calcio 12 meses (mmol/l)	2,40 ± 0,11	2,40 ± 0,11	2,41 ± 0,09	0,271
25 (OH) D ₃ basal (ng/mL)	19,65	19,40	20,55	0,473
25 (OH) D ₃ 12 meses (ng/mL)	29,3 ± 9	28,6 ± 9,7	31,1 ± 7	0,230
PTH basal (ng/L)	239 ± 124	241 ± 126	239 ± 119	0,997
PTH 12 meses (ng/L)	92 ± 40	94 ± 43	85 ± 31	0,541
Tratamiento a los 12 meses <i>n</i>, %				
Vitamina D nativa*	85 (69,1 %)	63 (70,0 %)	22 (68,8 %)	0,447
Calcio	75 (61,0 %)	55 (61,1 %)	20 (62,5 %)	0,744
Cinacalcet	12 (9,8 %)	5 (5,6 %)	12 (37,5 %)	0,04
Dosis acumulada de corticoides (g)	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,3	0,642

Los datos se expresan como media ± desviación estándar o mediana (IQR). Se ha excluido 1 paciente por no disponer del registro sobre el tratamiento anti-irresortivo. IMC: índice de masa corporal; DM: diabetes mellitus; ERC: enfermedad renal crónica; HD: hemodiálisis; FGe: filtrado glomerular estimado, 25(OH) D₃: 25-hidroxi vitamina D; PTH: hormona paratiroidea; OP: osteoporosis. *Calcidiol o ergocalciferol.

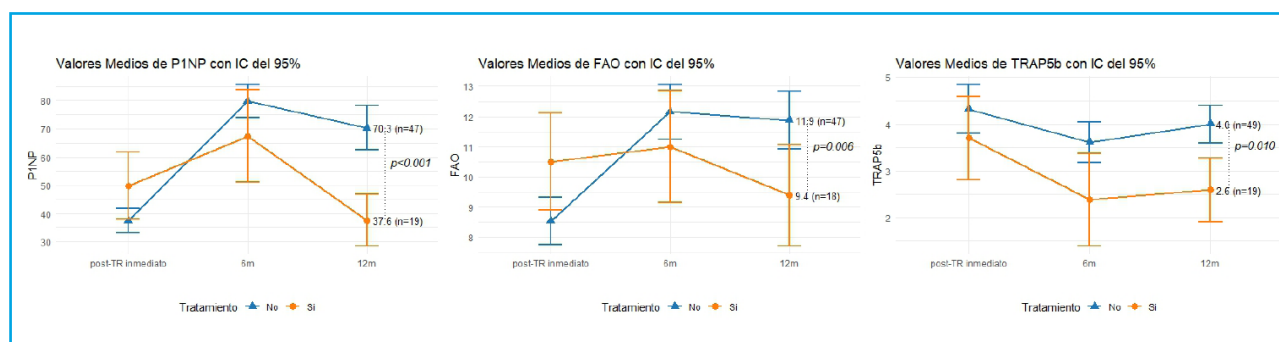


Figura 2. Comparación entre la evolución de los MRO en pacientes tratados con antirresortivos frente a no tratados. En el grupo de pacientes no tratados, se objetivó un aumento significativo a los 12 meses en los niveles de FAO ($p < 0,001$) y P1NP ($p < 0,0001$), así como una disminución significativa de TRAP5b ($p < 0,001$). En el grupo de pacientes tratados los cambios no fueron significativos.

DISCUSIÓN

El resultado principal del estudio es que los biomarcadores de formación, FAO y P1NP, aumentan durante el primer año post-TR, sobre todo durante los primeros 6 meses, sin cambios significativos en TRAP5b. La PTH, sin embargo, presenta una disminución significativa durante el primer semestre para mantenerse estable durante el segundo. El tratamiento antirresortivo disminuyó los MRO a los 12 meses del TR.

La disminución abrupta de los niveles de PTH que observamos durante los primeros 6 meses post-TR es debida a la resolución del hiperparatiroidismo por una mejoría en la producción de calcitriol al restaurar la masa renal (aumentando la actividad de la 1-alfa hidroxilasa y disminución del FGF-23). Nuestros resultados son consistentes con los hallazgos en cohortes previas que muestran una evolución similar de la PTH durante el primer año post-TR (11,12). Evenepoel y cols. observaron una disminución del 59,5 % en los valores de PTH, muy similar a la reducción que nosotros observamos (61,6 %) (11). La persistencia de un hiperparatiroidismo post-TR se ha asociado a un deterioro de la cortical ósea que podría explicar los altos ratios de fractura en esqueleto periférico en esta población (13). De la misma manera, mayores descensos en los niveles de PTH se han asociado con una mejoría de la DMO durante el primer año post-TR (14).

La FAO es liberada por los osteoblastos durante el proceso de mineralización, y P1NP es un fragmento liberado cuando el colágeno se deposita en la matriz ósea, por lo que ambos son considerados marcadores de formación ósea. TRAP5 b es una enzima originada en los osteoclastos y es muy específica de resorción ósea. En nuestro estudio observamos un aumento global de los marcadores de formación ósea al año del TR, siendo este incremento particularmente notable durante los primeros 6 meses. Sin embargo, no observamos grandes diferencias en TRAP5b. El comportamiento de los MRO observado no coincide con otras series publicadas previamente donde se observa una disminución de los biomarcadores de recambio óseo durante el primer año post-TR (11,15). La diferencia que observamos respecto a los otros estudios puede ser debida al efecto de los corticoides. La determinación inicial de los MRO en nuestro estudio se realizó a las 48 h post-TR donde los pacientes ya habían recibido una dosis media estimada de corticoides de 300 mg, mientras que en el estudio belga se realizaron pre-TR o el mismo día de la intervención, cuando todavía no habían recibido corticoides. El principal mecanismo por el cual la terapia con corticoides se asocia a un elevado riesgo de fractura es por la supresión de la formación ósea. La disminución de la formación ósea se inicia el primer día de administración del fármaco y es dosis dependiente, siendo máxima durante la primera semana, sin embargo, no se observan cambios en la resorción ósea dando lugar un desbalance en el remodelado (16,17). El efec-

to de los corticoides sobre la expresión de los MRO de formación pudo haber influido en los niveles de FAO y P1NP, siendo menores en nuestro estudio respecto a otras series (FAO: 9 vs 20,9 µg/l, P1NP: 48,4 vs 79 µg/l) (15). En cambio, los valores a los 12 meses, cuando la dosis acumulada de corticoides se iguala en ambas series, ya no difirieron tanto, siendo: 11,2 vs 17,4 µg/l para FAO y 64,6 vs 64,3 µg/l para P1NP (15). Por otro lado, en el estudio de Bonani y cols., donde se analizó P1NP y FAO 15 días después del TR (cuando el 100 % de los pacientes ya estaba en tratamiento con corticoides), los valores observados fueron más similares a los encontrados en nuestro estudio (18). En la misma línea, Tada y cols. en el estudio TOMORROW, demostraron que la reducción de la dosis de glucocorticoides en pacientes con artritis reumatoide mejoraba los niveles de osteocalcina (marcador de formación ósea), pero no de NTX-1 (telopéptido aminoterminal del colágeno I) (marcador de resorción ósea) (19). Podemos concluir que los corticoides posiblemente disminuyeron de forma temprana y significativa los MRO, sobre todo los de formación ósea.

La evolución de los MRO en el grupo de pacientes tratados con antirresortivos fue diferente al grupo de pacientes no tratados. En los pacientes tratados, los marcadores de formación y resorción ósea no mostraron un aumento durante el periodo de seguimiento y fueron significativamente más bajos respecto a los pacientes no tratados a los 12 meses. Los 2 grupos estaban balanceados para edad, nivel de PTH y función renal. Un estudio previo que evaluó la eficacia de dosis bajas de pamidronato en el post-TR inmediato, observó como los niveles de P1NP normalizaron al tercer mes del tratamiento manteniéndose estables al año, comparado con un grupo placebo que recuperó niveles aumentando marcadamente durante el segundo semestre (20). Bonani y cols. también analizaron el efecto del tratamiento antirresortivo al año, pero solo con denosumab ($n = 46$) en pacientes TR *de novo*, en un estudio randomizado y controlado con placebo ($n = 44$). En el grupo de tratamiento, los biomarcadores de formación (P1NP, FAO) y resorción (CTX) también disminuyeron comparado con el grupo control (18). Los tratamientos antirresortivos inhiben la actividad osteoclástica y reducen la resorción ósea, restaurando el balance en el remodelado óseo. El *cross-talk* entre osteoblastos y osteoclastos (21) explicaría por qué durante el tratamiento antirresortivo la formación ósea, reflejada en una disminución de los biomarcadores FAO y P1NP, también disminuye. Los osteoclastos reclutan osteoprogenitores a través de factores como SIP (*sphingosine kinase*) o BMP6 (*bone morphogenetic protein-6*) que estimularán la formación ósea (21). La disminución en la resorción ósea provocará una rápida reducción en la formación ósea debido a una menor liberación de estos factores (SIP, BMP6). El aumento de DMO durante el tratamiento antirresortivo se podría producir por una disminución de la resorción más acusada que la disminución en la formación ósea, y esta

supresión del recambio óseo aumentaría también el tiempo para la mineralización favoreciendo el aumento de densidad (22). La disminución en la expresión de MRO se ha relacionado con un aumento de DMO. En la mujer posmenopáusica en tratamiento con alendronato, cuanto mayor es la disminución de los MRO a corto plazo, mayor es el aumento de DMO a largo plazo (23). En el ámbito nefrológico, Jørgensen y cols. analizaron una cohorte de 209 pacientes TR *de novo* sin tratamiento antirresortivo y observaron que los pacientes que a los 12 meses del TR perdían más DMO, presentaban niveles de FAO, P1NP y TRAP5b más elevados respecto a los que habían mantenido una DMO estable (15). La determinación de biomarcadores al inicio del tratamiento antirresortivo podría predecir la respuesta terapéutica.

Una de las fortalezas del estudio es la determinación de MRO sin aclaramiento renal como la FAO o el TRAP5b, sin embargo, P1NP se determinó en su forma monomérica. P1NP es un fragmento del colágeno que se libera cuando este se deposita en la matriz ósea. Los fragmentos monoméricos de P1NP se acumulan en la ERC por lo que es recomendable en estos casos medir la forma trimétrica o intacta que no se modifica con el aclaramiento renal. Los pacientes de nuestro estudio, no obstante, presentaron una recuperación de la función renal siendo el FGe de 46 ± 19 ml/min/1,73 m² a los 6 meses del TR, por lo que el acúmulo debería ser menor, y en cualquier caso, el FGe no fue diferente entre el grupo de pacientes tratados y no tratados.

No existe mucha experiencia en el uso de biomarcadores en el paciente trasplantado renal, y menos sobre su comportamiento tras el inicio de tratamiento antirresortivo (18,20). En el área nefrológica, emergen como una potencial alternativa a la biopsia ósea para la evaluación de la osteodistrofia renal, siendo útiles en práctica clínica para descartar una enfermedad de alto o bajo recambio óseo (9). Recientemente, se ha publicado un documento de consenso europeo para el diagnóstico y manejo de la osteoporosis en la ERC 4-5D en la que los autores sugieren usar biomarcadores óseos para el diagnóstico y la monitorización del tratamiento en pacientes con ERC, particularmente con aquellos que no presentan aclaramiento renal como FAO, P1NP en su forma trimétrica y TRAP5b (24). Nuestro estudio es el primero que evalúa la evolución de los biomarcadores en un subgrupo de pacientes tratados mayoritariamente con bisfosfonatos orales, aunque la principal limitación es el pequeño tamaño muestral. La muestra basal de los MRO se recogió unos días después del TR, a diferencia de otras series en las que se obtuvo previamente. Debido al efecto de los corticoides, el momento basal en nuestro estudio no sería directamente comparable con el de otros estudios. Sin embargo, esto nos permite observar el efecto de los corticoides sobre la expresión de los MRO. Otra limitación es que se ha analizado el valor de cambio de los MRO sin considerar el mínimo cambio significativo,

por lo que no se puede descartar que la variabilidad en la expresión de los MRO haya influido en los resultados. La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio fueron varones (70 %), sin embargo, a pesar de la alta tasa de hipogonadismo en la ERC y tratados con corticoides, no disponemos de ese dato, que supone otra limitación para el estudio. El porcentaje de pacientes candidatos a tratamiento antiosteoporótico en nuestra población, se estimaría que fuera mucho mayor. Sin embargo, en el ámbito nefrológico y concretamente en el trasplante renal, el inicio de tratamiento anti-fractura puede estar limitado por una serie de factores (especialmente durante los primeros meses post-TR) como el retraso en el funcionamiento del injerto, la concurrencia de otras patologías agudas, el hiperparatiroidismo persistente, el riesgo de hipocalcemia asociada al inicio de denosumab o la falta de adherencia terapéutica asociada a la polifarmacia.

En conclusión, durante el primer año de TR, los biomarcadores de formación aumentan, especialmente durante el primer semestre, teniendo en cuenta que partimos de un nivel basal reducido por el efecto de la dosis elevada inicial de corticoides. La PTH presenta una disminución significativa durante el primer semestre para mantenerse estable durante el segundo semestre. El tratamiento antirresortivo disminuye los MRO (formación y resorción) al año del TR, sin observar cambios en el FGe o PTH frente a los no tratados. Los MRO aportan información sobre el efecto del tratamiento antirresortivo durante el primer año del TR, así como sobre la posible influencia del tratamiento corticoideo a corto plazo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vautour LM, Melton LJ 3rd, Clarke BL, Achenbach SJ, Oberg AL, McCarthy JT. Long-term fracture risk following renal transplantation: a population-based study. *Osteoporos Int* 2004;15(2):160-7. DOI: 10.1007/s00198-003-1532-y
2. Nikkel LE, Hollenbeak CS, Fox EJ, Uemura T, Ghahramani N. Risk of fractures after renal transplantation in the United States. *Transplantation* 2009;87(12):1846-51. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181a6bbda
3. Khairallah P, Nickolas TL. Bone and Mineral Disease in Kidney Transplant Recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2022;17(1):121-30. DOI: 10.2215/CJN.03410321
4. Torregrosa JV, Bover J, Rodríguez Portillo M, González Parra E, Dolores Arenas M, Caravaca F, et al. Recommendations of the Spanish Society of Nephrology for the management of mineral and bone metabolism disorders in patients with chronic kidney disease: 2021 (SEN-MM). *Nefrologia (Engl Ed)* 2023;43 Suppl 1:1-36. DOI: 10.1016/j.nefro.2023.03.003
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-

- MBD). *Kidney Int Suppl* (2011) 2017;7(1):1-59. DOI: 10.1016/j.kisu.2017.04.001
6. Iimori S, Mori Y, Akita W, Kuyama T, Takada S, Asai T, et al. Diagnostic usefulness of bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in predicting fracture in CKD stage 5D patients—a single-center cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27(1):345-51. DOI: 10.1093/ndt/gfr317
 7. Yenchek RH, Ix JH, Shlipak MG, Bauer DC, Rianon NJ, Kritchevsky SB, et al.; Health, Aging, and Body Composition Study. Bone mineral density and fracture risk in older individuals with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7(7):1130-6. DOI: 10.2215/CJN.12871211
 8. Castañeda S, Moro-Álvarez MJ. Update of the osteoporosis guidelines of SEIOMM. *Rev Clin Esp (Barc)* 2022;222(7):412-3. DOI: 10.1016/j.rceng.2022.06.002
 9. Jørgensen HS, Behets G, Viaene L, Bammens B, Claes K, Meijers B, et al. Diagnostic Accuracy of Noninvasive Bone Turnover Markers in Renal Osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 2022;79(5):667-676.e1. DOI: 10.1053/j.ajkd.2021.07.027
 10. Naranjo Hernández A, Díaz Del Campo Fontecha P, Aguado Acín MP, Arboleya Rodríguez L, Casado Burgos E, Castañeda S, et al. Recommendations by the Spanish Society of Rheumatology on Osteoporosis. *Reumatol Clin (Engl Ed)* 2019;15(4):188-210. English, Spanish. DOI: 10.1016/j.reuma.2018.09.004
 11. Evenepoel P, Claes K, Meijers B, Laurent MR, Bammens B, Naesens M, et al. Natural history of mineral metabolism, bone turnover and bone mineral density in de novo renal transplant recipients treated with a steroid minimization immunosuppressive protocol. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35(4):697-705. DOI: 10.1093/ndt/gfy306
 12. Evenepoel P, Meijers BK, de Jonge H, Naesens M, Bammens B, Claes K, et al. Recovery of hyperphosphatemia and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(6):1829-36. DOI: 10.2215/CJN.01310308
 13. Iyer SP, Nikkel LE, Nishiyama KK, Dworakowski E, Cremers S, Zhang C, et al. Kidney transplantation with early corticosteroid withdrawal: paradoxical effects at the central and peripheral skeleton. *J Am Soc Nephrol* 2014;25(6):1331-41. DOI: 10.1681/ASN.2013080851
 14. Park WY, Han S, Choi BS, Park CW, Yang CW, Kim YS, et al. Progression of Osteoporosis After Kidney Transplantation in Patients With End-Stage Renal Disease. *Transplant Proc* 2017;49(5):1033-7. DOI: 10.1016/j.transproceed.2017.03.038
 15. Jørgensen HS, Claes K, Smout D, Naesens M, Kuypers D, D'Haese P, et al. Associations of Changes in Bone Turnover Markers with Change in Bone Mineral Density in Kidney Transplant Patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2024;19(4):483-93. DOI: 10.2215/CJN.0000000000000368
 16. Kauh E, Mixson L, Malice MP, Mesens S, Ramael S, Burke J, et al. Prednisone affects inflammation, glucose tolerance, and bone turnover within hours of treatment in healthy individuals. *Eur J Endocrinol* 2012;166(3):459-67. DOI: 10.1530/EJE-11-0751
 17. Eastell R, Szulc P. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5(11):908-23. DOI: 10.1016/S2213-8587(17)30184-5
 18. Bonani M, Frey D, Brockmann J, Fehr T, Mueller TF, Saleh L, et al. Effect of Twice-Yearly Denosumab on Prevention of Bone Mineral Density Loss in De Novo Kidney Transplant Recipients: A Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant* 2016;16(6):1882-91. DOI: 10.1111/ajt.13692
 19. Tada M, Inui K, Sugioka Y, Mamoto K, Okano T, Koike T, et al. Reducing glucocorticoid dosage improves serum osteocalcin in patients with rheumatoid arthritis—results from the TOMORROW study. *Osteoporos Int* 2016;27(2):729-35. DOI: 10.1007/s00198-015-3291-y
 20. Torregrosa JV, Fuster D, Monegal A, Gentil MA, Bravo J, Guirado L, et al. Efficacy of low doses of pamidronate in osteopenic patients administered in the early post-renal transplant. *Osteoporos Int* 2011;22(1):281-7. DOI: 10.1007/s00198-010-1197-2
 21. Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, Khosla S, Oursler MJ. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(52):20764-9. DOI: 10.1073/pnas.0805133106
 22. Boivin G, Farlay D, Bala Y, Doublier A, Meunier PJ, Delmas PD. Influence of remodeling on the mineralization of bone tissue. *Osteoporos Int* 2009;20(6):1023-6. DOI: 10.1007/s00198-009-0861-x
 23. Ravn P, Hosking D, Thompson D, Cizza G, Wasnich RD, McClung M, et al. Monitoring of alendronate treatment and prediction of effect on bone mass by biochemical markers in the early postmenopausal intervention cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(7):2363-8. DOI: 10.1210/jcem.84.7.5847
 24. Evenepoel P, Cunningham J, Ferrari S, Haarhaus M, Javadi MK, Lafage-Proust MH, et al.; European Renal Osteodystrophy (EU-ROD) workgroup, an initiative of the CKD-MBD working group of the ERA-EDTA, and the committee of Scientific Advisors and National Societies of the IOF. European Consensus Statement on the diagnosis and management of osteoporosis in chronic kidney disease stages G4-G5D. *Nephrol Dial Transplant* 2021;36(1):42-59. DOI: 10.1093/ndt/gfaa192
 25. Broyles DL, Nielsen RG, Bussett EM, Lu WD, Mizrahi IA, Nunnally PA, et al. Analytical and clinical performance characteristics of Tandem-MP Ostase, a new immunoassay for serum bone alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1998;44(10):2139-47.
 26. Jung K. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. 4th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders, 2006. p. 2448.

Original

Impacto de la PTHrP en la proliferación y polarización de macrófagos RAW 264.7

Joan Pizarro-Gómez, Irene Tirado-Cabrera, Eduardo Martín-Guerrero, Sara Heredero-Jiménez, Arancha R. Gortázar, Juan A. Ardura

Laboratorio de Fisiopatología Ósea. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA)-Nemesio Díez. Alcorcón, Madrid. Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Facultad de Medicina. Universidad San Pablo-CEU. CEU Universities. Alcorcón, Madrid

Resumen

Introducción: el hueso, un tejido conectivo mineralizado, está en constante remodelación gracias a la acción de los osteoclastos (resorción ósea) y los osteoblastos (formación ósea) en un proceso regulado por osteocitos, que actúan como mecanosensores. Además, el sistema inmune juega un papel esencial en la regeneración ósea, destacando la importancia de la interacción entre las células óseas y las células inmunitarias. En particular, los macrófagos pueden polarizarse hacia un fenotipo proinflamatorio M1 o antiinflamatorio o regenerativo M2, siendo estos relevantes en la reparación de tejidos.

Material y métodos: en este contexto, se ha observado que la PTHrP actúa como una citoquina que regula la proliferación y diferenciación celular, especialmente en células involucradas en la regulación ósea. En este estudio, se ha investigado como la PTHrP (1-37) afecta a la proliferación y polarización de los macrófagos RAW 264.7 hacia un fenotipo M1 o M2, así como su impacto en la expresión del receptor PTH1R y en marcadores osteoclásticos.

Resultados y conclusión: los resultados muestran que PTHrP no modifica la proliferación ni la polarización de los macrófagos, pero reduce la expresión de PTH1R en el fenotipo M2 y la de ciertos marcadores osteoclásticos. Esto sugiere un rol modulador de PTHrP en la capacidad osteoclástica de los precursores, indicando un posible impacto en la remodelación ósea y en la regulación inmune.

Palabras clave:

PTHrP. Macrófagos.
Polarización.
Proliferación.
Osteoclastogénesis.
PTH1R.

Recibido: 30/11/2024 • Aceptado: 15/04/2025

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

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

Pizarro-Gómez J, Tirado-Cabrera I, Martín-Guerrero E, Heredero-Jiménez S, Gortázar AR, Ardura JA. Impacto de la PTHrP en la proliferación y polarización de macrófagos RAW 264.7. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(2):66-73

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00068

Correspondencia:

Joan Pizarro-Gómez. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA)-Nemesio Díez. Universidad San Pablo-CEU. Campus Montepríncipe. Alcorcón, Madrid
e-mail: joan.pizarrogomez@usp.ceu.es

INTRODUCCIÓN

El hueso es un tejido conectivo mineralizado que presenta cuatro tipos celulares principales: osteoblastos, células de revestimiento óseo, osteocitos y osteoclastos (1). Desempeña funciones muy importantes en el organismo, como la locomoción, el soporte y la protección de los tejidos blandos, la hematopoyesis y el almacenamiento de calcio y fosfato (2). A pesar de su apariencia inerte, el hueso es un tejido dinámico y metabólicamente activo que está constantemente en remodelación, sufriendo resorción ósea por los osteoclastos y formación ósea por los osteoblastos (3). Además, hay evidencias de que los osteocitos actúan como mecanosensores que regulan este proceso (4).

Las células óseas e inmunitarias coexisten en la cavidad de la médula ósea y comparte diversas moléculas reguladoras. Además, el sistema inmunitario desempeña un papel importante en la reparación y regeneración de los tejidos, determinando así la capacidad del tejido óseo para regenerarse. De ahí la importancia de la comunicación de los osteocitos con todo su microambiente óseo, incluyendo monocitos, osteoclastos, precursores osteoblásticos y linfocitos T (5).

Los macrófagos son células inmunitarias que participan en diversos procesos fisiológicos y patológicos como el desarrollo de órganos, la inflamación aguda y crónica, y la homeostasis y remodelación de tejidos (6). Los macrófagos pueden polarizarse fenotípicamente en función del estímulo recibido en dos grandes grupos: los macrófagos activados de forma clásica (M1), con efectos proinflamatorios; y los macrófagos activados de forma alternativa (M2), con efectos en la regulación inmunitaria y en la remodelación tisular (7-9).

Los macrófagos tipo I (M1) son inducidos principalmente por ligandos de receptores de tipo Toll (TLR) como el lipopolisacárido bacteriano (LPS), produciendo citoquinas inflamatorias y presentando altos niveles de TNF- α e iNOS (10); mientras que la polarización a macrófagos M2 es inducida por citoquinas como la IL-4 e IL-13, produciendo citoquinas que promueven el anabolismo de los tejidos y presentando altos niveles de CD206 (9,11).

Los osteoclastos son células multinucleadas que derivan de células mononucleares del linaje hematopoyético (monocitos/macrófagos), cuya diferenciación es inducida por diversos factores, entre ellos el factor estimulante de macrófagos (M-CSF), producido por células mesenquimales osteoprogenitoras y osteoblastos (12), y RANKL, secretado por osteoblastos, osteocitos y células estromales (13). La interacción RANK/RANKL estimula la expresión de factores clave en la osteoclastogénesis, como el factor nuclear de células T activadas (NFATc1) y la proteína transmembrana siete expresada por dendrocitos (DC-STAMP). NFATc1, en colaboración con los factores de transcripción PU.1, c-FOS y MITF, re-

gula la expresión de genes específicos de los osteoclastos, como catepsina K y la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), esenciales para la actividad osteoclástica (14). Es importante destacar que macrófagos y osteoclastos comparten un origen común, procediendo ambos de un mismo precursor hematopoyético (15).

La proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) es una citoquina con funciones paracrinas y/o autocrinas, entre las que se encuentran el control del desarrollo de tejidos y órganos, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular mediante su interacción con el receptor tipo I de la PTH/PTHrP (PTH1R) (16,17). Se ha demostrado que células involucradas en la regulación ósea como son los osteoprogenitores, osteoblastos, osteocitos, células T y macrófagos expresan PTH1R, por lo que son sensibles a la estimulación con PTHrP (18-20). Aunque el papel del sistema PTHrP/PTH1R en células de la estirpe monocito/macrófago no está esclarecido, la presencia del receptor en estas células (21,22), sugiere un papel en la regulación del sistema inmunitario, pudiendo modular las respuestas inflamatorias, la inflamación y la migración (20).

En numerosos estudios se ha demostrado la importancia de los macrófagos en la reparación tisular y, especialmente en hueso, la polarización M1 y M2 es crucial para la regeneración (6,23). Además, los monocitos son precursores osteoclásticos cruciales para la resorción ósea (24). En base a estos antecedentes, se quiso analizar si PTHrP (1-37) afecta a la proliferación de los macrófagos, a la polarización M1 y M2 de los macrófagos, así como a la expresión del receptor PTH1R y de marcadores osteoclásticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

CULTIVOS CELULARES

Los macrófagos murinos RAW 264.7 se cultivaron en medio DMEM (41966-029, Gibco) suplementado con un 10 % de suero fetal bovino (SFB), penicilina (100 unidades/mL) y estreptomycin (100 μ g/mL) en un incubador con humedad al 5 % de CO₂ a 37 °C. Para el ensayo de viabilidad y proliferación, las células RAW 264.7 se sembraron a una densidad de 25.000 células/cm² en placas de cultivos convencionales. Una vez sembradas las células, se realizó de manera simultánea la estimulación con 100 nM del péptido PTHrP (1-37) y con 100 ng/mL de LPS o 20 ng/mL de IL-4. Tras el tratamiento, las células se mantuvieron en cultivo durante 24, 48 y 72 horas. Para el ensayo de expresión génica, las células se sembraron a una densidad de 30.000 células/cm² en placas de cultivos convencionales. Las células se mantuvieron en cultivo hasta que estuvieron casi totalmente confluentes, momento en el que se realizó la estimulación durante 24 horas con 100 ng/mL de LPS

o 20 ng/mL de IL-4 para inducir la polarización de los macrófagos a un fenotipo M1 o M2, respectivamente. A continuación, antes de que finalizara la polarización M1 o M2, se llevó a cabo el tratamiento con PTHrP (1-37) (Bachem, Bubendorf, Suiza) a una concentración de 100 nM durante 6 horas, finalizando ambos tratamientos de manera simultánea. Transcurrido ese tiempo, se procedió a realizar la extracción de ARN con trizol (Ambion, Life Technologies).

ENSAYOS DE VIABILIDAD Y PROLIFERACIÓN CELULAR

Transcurridos los periodos de tiempo descritos en el apartado de "Cultivos celulares", se rasparon las células con un *scraper* y se recogieron en un tubo tanto las células adheridas como las no adheridas y se resuspendieron en medio de cultivo para su posterior tinción con azul de tripano. A continuación, se contó con una cámara de Neubauer el número de células vivas (no son capaces de captar el azul de tripano porque tienen la membrana intacta), obteniendo una curva de proliferación celular.

PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL (RT-qPCR)

Se llevó a cabo la extracción de ARN total con el método de separación tiocianato de guanidinio-fenol-cloroformo. A continuación, se cuantificó la cantidad de ARN obtenido con el NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific), y se llevó a cabo la retrotranscripción (a partir de 2 µg de ARN) para la obtención del ADN complementario (ADNc) utilizando el kit *high capacity cDNA reverse transcription* (Applied Biosystem, Grand Island, NY) en un termociclador Eppendorf Mastercycler (Eppendorf, Hamburgo, Alemania) siguiendo las indicaciones del fabricante. A continuación, se realizó la qPCR en la QuantStudio™ 5 384-Well Block (ThermoFisher Scientific) usando SYBR Premix ex Taq (Takara, Otsu, Japón) y cebadores específicos para *Tnf* (TNF-α), *Nos2* (iNOS), *Mrc1* (CD206), *Pth1r* (PTH1R), *Acp5* (TRAP), *Nfatc1* (NFATc1) y *Tnfrsf11a* (RANK), utilizando como gen constitutivo el *18S* (18S). El protocolo utilizado consistió en una reacción inicial de 10 minutos a 95 °C, seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95 °C, 15 segundos a 60 °C y 15 segundos a 72 °C; a continuación, para obtener la curva de disociación de los cebadores, la temperatura aumentaba a 95 °C, bajaba a 65 °C durante 15 segundos y volvía a subir a 95 °C. Finalmente, la temperatura disminuía a 40 °C durante 30 segundos. Los cambios en la expresión génica se han representado como niveles de expresión del gen diana respecto a su control. Para ello, se empleó el método de cuantificación relativa comparando

los ciclos en los que se produce la amplificación mediante el $\Delta\Delta C_t$ (25). Esta metodología considera un 100 % de eficiencia de amplificación durante el qPCR y una misma eficiencia para ambos genes. Las secuencias de los cebadores empleados se muestran en la tabla I.

Tabla I. Cebadores utilizados en la RT-qPCR

Gen	Sentido 5'-3'	Antisentido 5'-3'
<i>18S</i>	ATGCTCTAGCTGAGGTGCCCG	ATTCCTAGCTGCGGTATCCAGG
<i>Tnf</i>	AGGCACTCCCCAAAGATG	TGAGGGTCTGGGCCATAGAA
<i>Nos2</i>	CCTGTTTGTGCGAAGTGTC	CCCTTTGTCTGGGAGTCAT
<i>Mrc1</i>	CCACAGCATTGAGGAGTTTG	ACAGCTCATCTTTGGTCA
<i>Pth1r</i>	TGAAGGACGCTGTGCTTACTC	AGTAGAGGAAGAAGGTACGGC
<i>Acp5</i>	CACGAGAGTCCTGCTTGTC	AGTTGGTGTGGGCATCTTC
<i>Nfatc1</i>	TCATCCTGTCCAACACAAA	TCACCTGGTGTCTTCTCTC
<i>Rank</i>	GGACAACGGAATCAGATGTGGTC	CCACAGAGATGAAGAGGAGCAG

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos están expresados como las medias $\pm$ desviaciones estándar (DE) y los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa GraphPad Prism versión 9.1.0. Para el análisis de la expresión génica se buscaron diferencias significativas en cada uno de los tratamientos. Estas diferencias se analizaron mediante análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) seguido de la prueba de Mann-Whitney. La $p < 0,05$ se consideró significativa. En el caso del mapa de calor o *heatmap*, se ha aplicado el método lineal en dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli para controlar la FDR (tasa de detección de falsos positivos con un q-valor menor a 0,1).

RESULTADOS

PROLIFERACIÓN CELULAR

Se quiso comprobar cómo afecta a la proliferación de los macrófagos murinos RAW 264.7 el tratamiento para inducir la polarización hacia un fenotipo M1 o un fenotipo M2, con LPS e IL-4 respectivamente. Utilizando el colorante vital azul de tripano, se observó que el LPS indujo un aumento significativo de la proliferación en comparación con el control; sin embargo, la IL-4 no modificó la proliferación de las células RAW 264.7 (Fig. 1A). También se estudió si el tratamiento con PTHrP (1-37) afectaba a la proliferación celular en sinergia con el LPS y la IL-4. En ausencia de factores de polarización, PTHrP (1-37) no indujo cambios significativos en el número de células vivas que proliferan en el periodo de tiempo estudiado (Fig. 1B). En macrófagos estimulados

con LPS o con IL-4, PTHrP (1-37) no indujo cambios en el número de células vivas en comparación con su estímulo con LPS e IL-4, respectivamente (Fig. 1 C y D).

EFEECTO DE PTHrP (1-37) EN LA POLARIZACIÓN M1 Y M2

Se verificó que el LPS y la IL-4 indujeran una polarización a un fenotipo M1 y M2 en las células RAW 264.7, respectivamente. El tratamiento con LPS estimuló la producción de TNF- α e iNOS (marcadores M1), mientras que disminuyó la expresión de CD206 (marcador M2). Por el contrario, la estimulación con IL-4 incrementó la expresión de CD206; mientras que la expresión de TNF- α disminuyó. El tratamiento con PTHrP (1-37) no afectó de manera significativa a la polarización M1 o M2, sin embargo, redujo significativamente la expresión de CD206 en células no tratadas con LPS o IL-4 (Fig. 2 A-C).

A continuación, se evaluó como afectaba la polarización de los macrófagos y el tratamiento con PTHrP (1-37) a la expresión del receptor PTH1R. Se observó que la polarización M1 y M2 produjo un descenso de la expresión de PTH1R. Sin embargo, la disminución en el fenotipo M1 fue más acusada (hasta 4 veces). Además, la PTHrP (1-37) indujo un descenso en la expresión del receptor, tanto en condiciones basales como en el fenotipo M2, pero no afectó a la expresión en el fenotipo M1 (Fig. 2D).

Seguidamente, se analizaron los efectos de la polarización y del tratamiento con PTHrP (1-37) en la expresión de los marcadores osteoclásticos TRAP, NFATc1 y RANK. La polarización de las células hacia un fenotipo M1 disminuyó la expresión de los marcadores osteoclásticos. En cambio, la polarización hacia un fenotipo M2 aumentó la expresión de TRAP sin afectar significativamente a la expresión de NFATc1 y reduciendo ligeramente la expresión de RANK. Además, el tratamiento con PTHrP (1-37) disminuyó la expresión de los marcadores osteoclásticos NFATc1 y RANK en los macrófagos M2 sin afectar en los macrófagos M1 (Fig. 2 E-G).

También generamos un gráfico de tipo *heatmap* en el que la correlación en la expresión de los genes estudiados se representa por colores (correlación positiva 0 a 1 [azul] o negativa 0 a -1 [rojo]) (Fig. 3). Se observa que existe una correlación positiva entre los marcadores osteoclásticos con el fenotipo M2 de macrófagos, mientras que hay una correlación negativa con el fenotipo M1. Además, también existe una correlación negativa en la expresión del PTH1R con el fenotipo M1, pero positiva con el fenotipo M2. Por último, en el caso de los marcadores osteoclásticos, estos correlacionan positivamente con la expresión del receptor, por lo que, cuando aumenta la expresión de PTH1R se produce un incremento en la expresión de los marcadores osteoclásticos.

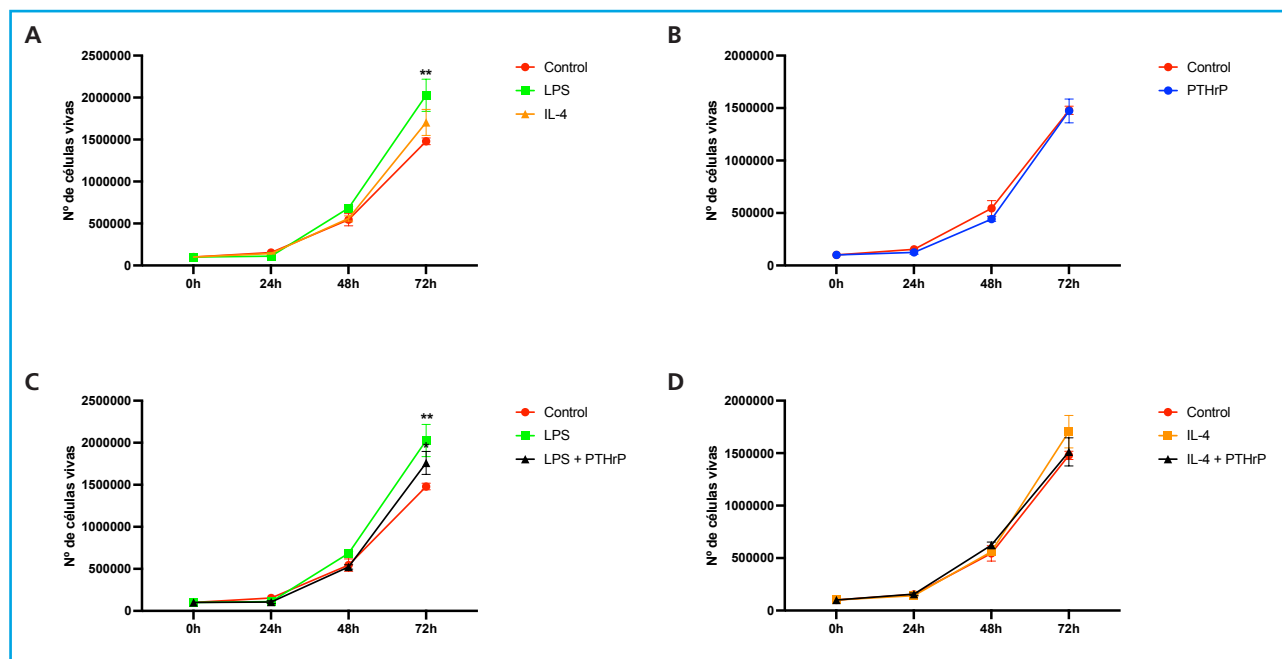


Figura 1. La PTHrP (1-37) no induce cambios significativos en la proliferación celular de los macrófagos M1 y M2. Número de células vivas en condiciones control, tratamiento con LPS y tratamiento con IL-4 A. Número de células vivas en condiciones control y tratamiento con PTHrP (1-37). B. Número de células vivas en condiciones control, tratamiento con LPS y tratamiento con LPS + PTHrP (1-37). C. Número de células vivas en condiciones control, tratamiento con IL-4 y tratamiento con IL-4 + PTHrP (1-37). D. Los resultados son las medias $\pm$ DE de triplicados de tres experimentos diferentes. * $p < 0,05$ vs. control; ** $p < 0,01$ vs. control.

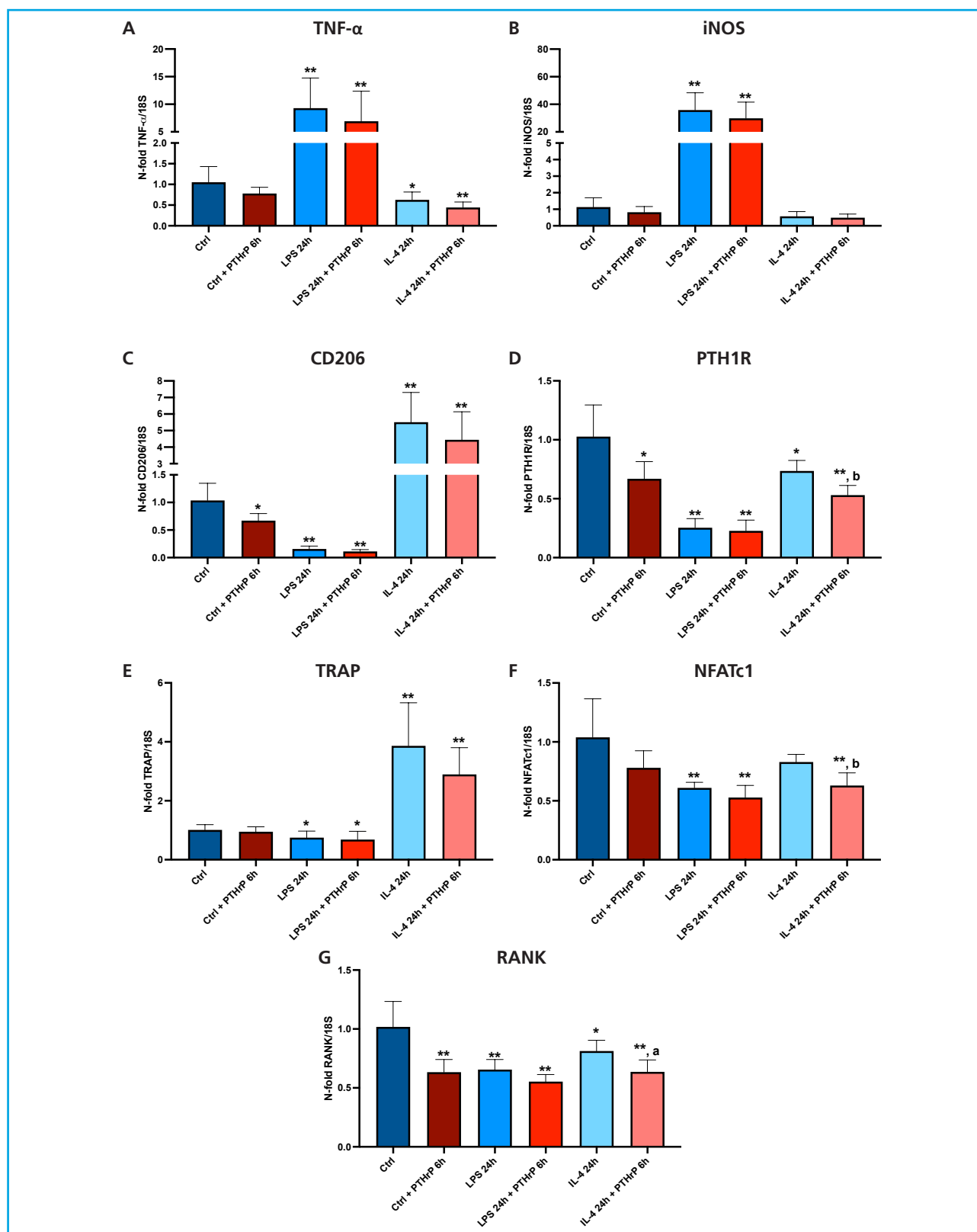


Figura 2. Expresión relativa de TNF- α (A), iNOS (B), CD206 (C), PTH1R (D), TRAP (E), NFATc1 (F) y RANK (G). Las células se trataron con LPS e IL-4 (100 ng/mL y 20 ng/mL, respectivamente) durante 24 horas y, las 6 últimas horas, se estimularon con PTHrP (1-37) 100 nM. Los resultados son las medias $\pm$ DE de triplicados de dos experimentos diferentes. * $p < 0,05$ vs. control; ** $p < 0,01$ vs. control; *** $p < 0,001$ vs. control; ^a $p < 0,05$ vs. estímulo; ^b $p < 0,01$ vs. estímulo.

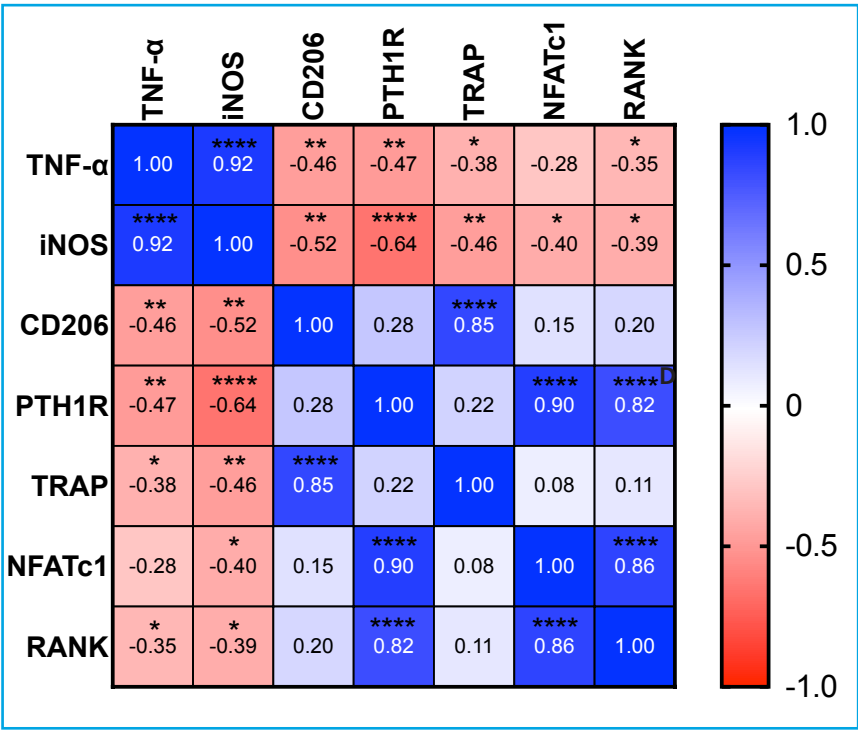


Figura 3. Heatmap de la correlación positiva o negativa entre la expresión de TNF-α, iNOS, CD206, PTH1R, TRAP, NFATc1 y RANK. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$. Se ha aplicado el método lineal en dos etapas de Benjamini, Krieger y Yekutieli para controlar la FDR (tasa de detección de falsos positivos) con un q -valor menor a 0,1.

DISCUSIÓN

El hueso es un órgano dinámico que sufre un proceso de remodelación dirigido por los osteoclastos, los osteoblastos y los osteocitos. Durante la remodelación ósea, el hueso dañado es eliminado por los osteoclastos y reemplazado por los osteoblastos. Este proceso de remodelación implica la formación de los osteoclastos a partir de sus precursores del linaje monocito-macrófago (3).

El receptor PTH1R se expresa en osteoblastos, osteocitos (26,27) y en otras células presentes en la médula ósea como los monocitos y las células T (21,28). En el presente trabajo demostramos que la línea de macrófagos RAW 264.7 expresa el receptor PTH1R, y que tras su estimulación por su ligando PTHrP (1-37), se modula la expresión de genes relacionados con la polarización y diferenciación osteoclástica sin afectar a la proliferación celular. Nuestros resultados indican que la estimulación con LPS induce un aumento significativo en la proliferación de las RAW 264.7. En el estudio llevado a cabo por Jiao y cols., en 2016, se demuestra que el LPS estimula la proliferación de monocitos/macrófagos a través de la regulación de la proteína TDAG51, que juega un papel esencial en la progresión del ciclo celular (29); y, además, se ha demostrado que la IL-4 aumenta la supervivencia de los basófilos de ratón diferenciados *in vitro* mediante una señalización independiente de la transcripción de fosfo inositol 3 quinaasa (PI3K) (30), por lo que podría tener la misma función en el linaje monocito/macrófago.

Los resultados señalan, además, que la polarización de estas células hacia un fenotipo regenerativo M2 induce a su vez la expresión de marcadores osteoclasticos. Se observa que en los macrófagos polarizados a un fenotipo M2, existe una correlación positiva en la expresión génica del marcador M2 CD206 con los marcadores osteoclasticos TRAP, NFATc1 y RANK. Sin embargo, en los M1 la correlación con los marcadores osteoclasticos es negativa. El estudio presentado por Yu y cols., en 2009, muestra que la IL-4 es capaz de aumentar por sí sola la expresión génica de TRAP en células RAW 264.7 (31). Además, los macrófagos sinoviales F4/80*CD206* M2 presentes en la artritis reumatoide pueden ser nuevos precursores osteoclasticos y contribuir significativamente a los cambios óseos, ya que se ha demostrado que expresan altamente RANK y pueden ser activados por RANKL y M-CSF para adquirir marcadores de osteoclastos y función de resorción ósea (32). Los osteoclastos son células multinucleadas del linaje de monocitos/macrófagos que requieren de M-CSF y RANKL para su diferenciación. Existen algunos estudios que sugieren que los macrófagos M2 pueden influir en la expresión de marcadores osteoclasticos como TRAP. Por ejemplo, en un estudio sobre la regeneración de alvéolos dentales después de una extracción, se observó que los M2 promovían la diferenciación de células osteoprogenitoras a través de la secreción de TGF-β y, en las etapas tardías, se detectaron osteoclastos positivos para TRAP (33), lo que sugiere una conexión entre los macrófagos M2 y la formación de osteoclastos. Además, existen otras evidencias

que sugieren la posible fusión de macrófagos M2 con osteoclastos, lo que podría promover la secreción de citoquinas osteogénicas, estimulando así la diferenciación osteogénica y la formación ósea en materiales osteoinductores (34). Por lo tanto, podría existir una relación entre el aumento de expresión de TRAP y la polarización M2 de los macrófagos. Sin embargo, es importante destacar que otros estudios indican que la secreción de TNF- α e IL-1 β por los macrófagos M1 es capaz de madurar los precursores osteoclásticos para la formación de osteoclastos (35); mientras que los macrófagos M2 podrían inhibir el desarrollo de osteoclastos mediante la secreción de IL-4 e IL-10 (36). Esto podría sugerir que, aunque los macrófagos M2 derivados de las células RAW 264.7 expresen altos niveles de TRAP no se diferencien totalmente a un osteoclasto.

Por último, la PTHrP (1-37) induce un descenso significativo en la expresión de PTH1R en la línea de macrófagos RAW 264.7, lo que podría mostrar una regulación negativa inducida por el exceso de agonista del receptor.

Nuestros hallazgos sugieren que el estímulo con LPS e IL-4 puede afectar a la proliferación de los macrófagos M1 y M2, así como a la expresión de marcadores osteoclásticos modificando así la capacidad osteoclastogénica de estos precursores. Sin embargo, PTHrP (1-37) no modula la proliferación de las RAW 264.7, aunque sí tiene efectos en la expresión de los marcadores característicos de osteoclastos. Por todo ello, son necesarios más estudios que aborden el papel del PTH1R en estas células para esclarecer los posibles efectos de sus ligandos PTH y PTHrP en el linaje monocito-macrófago.

BIBLIOGRAFÍA

- Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther* 2006;86(1):77-91. DOI: 10.1093/ptj/86.1.77
- Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol* 2008;61(5):577-87. DOI: 10.1136/jcp.2007.048868
- Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C. Genetic control of bone formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2009;25:629-48. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.042308.113308
- Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011;26(2):229-38. DOI: 10.1002/jbmr.320
- Zhang W, Gao R, Rong X, Zhu S, Cui Y, Liu H, et al. Immunoporosis: Role of immune system in the pathophysiology of different types of osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;13:965258. DOI: 10.3389/fendo.2022.965258
- Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone* 2018;106:78-89. DOI: 10.1016/j.bone.2015.10.019
- Wang C, Ma C, Gong L, Guo Y, Fu K, Zhang Y, et al. Macrophage Polarization and Its Role in Liver Disease. *Front Immunol* 2021;12:803037. DOI: 10.3389/fimmu.2021.803037
- Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 2008;8(12):958-69. DOI: 10.1038/nri2448. Erratum in: *Nat Rev Immunol* 2010;10(6):460.
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004;25(12):677-86. DOI: 10.1016/j.it.2004.09.015
- Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaili SA, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol* 2018;233(9):6425-6440. DOI: 10.1002/jcp.26429
- Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity* 2016;44(3):450-62. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.015
- Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Lab Invest* 1999;79(2):83-94
- Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos Int* 2011;22(1):1-20. DOI: 10.1007/s00198-010-1272-8
- Matsumoto M, Kogawa M, Wada S, Takayanagi H, Tsujimoto M, Katayama S, et al. Essential role of p38 mitogen-activated protein kinase in cathepsin K gene expression during osteoclastogenesis through association of NFATc1 and PU.1. *J Biol Chem* 2004;279(44):45969-79. DOI: 10.1074/jbc.M408795200
- Ardura JA, Rackov G, Izquierdo E, Alonso V, Gortazar AR, Escribese MM. Targeting Macrophages: Friends or Foes in Disease? *Front Pharmacol* 2019;10:1255. DOI: 10.3389/fphar.2019.01255
- Philbrick WM, Wysolmerski JJ, Galbraith S, Holt E, Orloff JJ, Yang KH, et al. Defining the roles of parathyroid hormone-related protein in normal physiology. *Physiol Rev* 1996;76(1):127-73. DOI: 10.1152/physrev.1996.76.1.127
- Fiaschi-Taesch NM, Stewart AF. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor--trafficking mechanisms and functional consequences. *Endocrinology* 2003;144(2):407-11. DOI: 10.1210/en.2002-220818
- Li JY, D'Amelio P, Robinson J, Walker LD, Vaccaro C, Luo T, et al. IL-17A Is Increased in Humans with Primary Hyperparathyroidism and Mediates PTH-Induced Bone Loss in Mice. *Cell Metab* 2015;22(5):799-810. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.09.012
- Chen T, Wang Y, Hao Z, Hu Y, Li J. Parathyroid hormone and its related peptides in bone metabolism. *Biochem Pharmacol* 2021;192:114669. DOI: 10.1016/j.bcp.2021.114669
- Rámila D, Ardura JA, Esteban V, Ortega A, Ruiz-Ortega M, Bosch RJ, et al. Parathyroid hormone-related protein promotes inflammation in the kidney with an obstructed ureter. *Kidney Int* 2008;73(7):835-47. DOI: 10.1038/sj.ki.5002775
- Dempster DW, Hughes-Begos CE, Plavetic-Chee K, Brandao-Burch A, Cosman F, Nieves J, et al. Normal human osteoclasts formed from peripheral blood monocytes express PTH type 1 receptors and are stimulated by PTH in the absence of osteoblasts. *J Cell Biochem* 2005;95(1):139-48. DOI: 10.1002/jcb.20388
- Gay CV, Zheng B, Gilman VR. Co-detection of PTH/PTHrP receptor and tartrate resistant acid phosphatase in osteoclasts. *J Cell Biochem* 2003;89(5):902-8. DOI: 10.1002/jcb.10579

23. Schlundt C, Fischer H, Bucher CH, Rendenbach C, Duda GN, Schmidt-Bleek K. The multifaceted roles of macrophages in bone regeneration: A story of polarization, activation and time. *Acta Biomater* 2021;133:46-57. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.04.052
24. Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, Kuliwaba JS, Fazzalari NL, Schroder K, et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol* 2008;181(2):1232-44. DOI: 10.4049/jimmunol.181.2.1232
25. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001;25(4):402-8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
26. Bellido T, Saini V, Pajevic PD. Effects of PTH on osteocyte function. *Bone* 2013;54(2):250-7. DOI: 10.1016/j.bone.2012.09.016
27. Maycas M, Ardura JA, de Castro LF, Bravo B, Gortázar AR, Esbrit P. Role of the Parathyroid Hormone Type 1 Receptor (PTH1R) as a Mechanosensor in Osteocyte Survival. *J Bone Miner Res* 2015;30(7):1231-44. DOI: 10.1002/jbmr.2439
28. Pacifici R. Role of T cells in the modulation of PTH action: Physiological and clinical significance. *Endocrine* 2013;14.
29. Pacifici R. Role of T cells in the modulation of PTH action: physiological and clinical significance. *Endocrine* 2013;44(3):576-82. DOI: 10.1007/s12020-013-9960-8
30. Reinhart R, Kaufmann T. IL-4 enhances survival of in vitro-differentiated mouse basophils through transcription-independent signaling downstream of PI3K. *Cell Death Dis* 2018;9(7):713. DOI: 10.1038/s41419-018-0754-z
31. Yu M, Moreno JL, Stains JP, Keegan AD. Complex regulation of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) expression by interleukin 4 (IL-4): IL-4 indirectly suppresses receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL)-mediated TRAP expression but modestly induces its expression directly. *J Biol Chem* 2009;284(47):32968-79. DOI: 10.1074/jbc.M109.001016
32. Zhang H, Huang Y, Wang S, Fu R, Guo C, Wang H, et al. Myeloid-derived suppressor cells contribute to bone erosion in collagen-induced arthritis by differentiating to osteoclasts. *J Autoimmun* 2015;65:82-9. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.08.010
33. Horibe K, Hara M, Nakamura H. M2-like macrophage infiltration and transforming growth factor- β secretion during socket healing process in mice. *Arch Oral Biol* 2021;123:105042. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2021.105042
34. Nie Z, Hu Z, Guo X, Xiao Y, Liu X, de Bruijn JD, et al. Genesis of osteoclasts on calcium phosphate ceramics and their role in material-induced bone formation. *Acta Biomater* 2023;157:625-38. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.11.005
35. Zha L, He L, Liang Y, Qin H, Yu B, Chang L, et al. TNF- α contributes to postmenopausal osteoporosis by synergistically promoting RANKL-induced osteoclast formation. *Biomed Pharmacother*.2018;102:369-374. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.080
36. Hu K, Shang Z, Yang X, Zhang Y, Cao L. Macrophage Polarization and the Regulation of Bone Immunity in Bone Homeostasis. *J Inflamm Res* 2023;16:3563-80. DOI: 10.2147/JIR.S423819

Original

Evaluación de la ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas tratadas con suplementos en atención primaria

Isabel Roig Grau¹, Adrián López Cortiña², Ramón Rodríguez Roig³, Mercè Subirana Font¹, Naila Guillén Arcos⁴, Núria Busquet Solé⁴, Pere Roura Poch⁵

¹Medicina de Familia. CAP Sagrada Família. Manresa, Barcelona. ²Farmacia y ³Odontología. EAP Sallent. Sallent, Barcelona. ⁴Dietética-Nutrición. CAP Sagrada Família. Manresa, Barcelona. ⁵Servicio de Epidemiología. Consorci Hospitalari de Vic. Vic, Barcelona. ¹⁻⁴Gerencia de Atención Primaria y Comunitaria de Cataluña Central. Instituto Catalán de la Salud. ⁵Consorci Hospitalari de Vic. Vic, Barcelona

Resumen

Introducción: los requerimientos de calcio y vitamina D en mujeres posmenopáusicas son de 1000-1200 mg/día de calcio y 800-1200 UI/día de vitamina D, preferiblemente a través de la dieta. Los suplementos se indican cuando la ingesta dietética no cubre sus necesidades.

Objetivo: evaluar la ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas que toman suplementos de calcio, determinando si su prescripción es adecuada.

Material y métodos: estudio observacional, descriptivo y transversal en mujeres de 50 o más años que toman suplementos de calcio, excluyendo aquellas que llevan más de 6 meses sin recogerlos. Mediante encuestas se evaluó la ingesta de calcio utilizando la tabla de alimentos de Cosman, centrándose en el consumo de lácteos. Se realiza una descripción uni- y biviada. Los intervalos de confianza se calculan al 95 % y los contrastes se aceptan cuando la probabilidad del error alfa es inferior al 5 % (valor $p < 0,05$).

Resultados y conclusiones: de una muestra de 616 mujeres participan 357. El consumo medio de calcio ingerido a través de la dieta en las mujeres posmenopáusicas ha sido de 872 mg/día. Un 27 % toman suplementos de forma innecesaria, ya que su dieta cubre las necesidades de calcio. Se ha puesto en evidencia una baja adherencia a los suplementos. Alrededor de la mitad de las mujeres no toman o no siguen el tratamiento correctamente. Es fundamental evaluar la ingesta dietética antes de prescribir suplementos y concienciar a las pacientes sobre los beneficios del tratamiento y los riesgos de un mal seguimiento.

Palabras clave:
Suplementos de calcio. Ingesta de calcio. Mujer. Menopausia.

Recibido: 16/12/2024 • Aceptado: 01/04/2025

Consideraciones éticas: los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés y no se ha recibido ninguna ayuda ni financiación.

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

Roig Grau I, López Cortiña A, Rodríguez Roig R, Subirana Font M, Guillén Arcos N, Busquet Solé N, Roura Poch P. Evaluación de la ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas tratadas con suplementos en atención primaria. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(2):74-83

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00070

Correspondencia:

Isabel Roig Grau. CAP Sagrada Família. Manresa, Barcelona
e-mail: isabelroiggrau@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La importancia de la ingesta de calcio viene dada por su papel en la prevención de la osteoporosis, considerada un problema de salud pública con una carga social y económica cada vez mayor que justifica la vigilancia en atención primaria. Los requerimientos específicos de calcio y vitamina D varían a lo largo de la vida y según la evidencia actual en la última versión (2022) de las *Guías de Osteoporosis* de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM) y a través de metaanálisis consultados se recomienda en mujeres posmenopáusicas una ingesta de 1000-1200 mg/día de calcio y 800-1200 UI/día de vitamina D (o equivalente), preferiblemente a través de la dieta (1). El tratamiento con estos suplementos estaría justificado siempre que no se alcance una ingesta adecuada a través de la dieta, ya sea para tratar una deficiencia o para alcanzar los requerimientos recomendados.

Actualmente, las presentaciones de suplementos de calcio que tenemos a nuestra disposición son mayoritariamente sales tipo carbonato para administración oral asociadas o no a la vitamina D. Su absorción intestinal mejora con la ingesta de alimentos (2) y se reduce con la administración concomitante de los inhibidores de la bomba de protones (IBP) (3). El citrato de calcio es otra sal menos pautaada que no necesita un pH ácido para su absorción ni administrar con los alimentos. El calcio elemento es la cantidad real que presenta el suplemento. El carbonato de calcio contiene un 40 % de calcio elemento por lo que 1250 mg representa 500 mg de calcio elemento. El citrato tiene un 21 %. En base a la evidencia revisada, cantidades excesivas en la ingesta de calcio definida como superior a 2000 mg/día, puede ser potencialmente perjudicial (6) y las dosis superiores a 500 mg/día deben administrarse divididas. Dosis superiores se asocian con una meseta en la absorción de calcio que puede impedir el equilibrio positivo de este alimento (2).

Existen varias revisiones sistemáticas que sugieren que, administrados de forma aislada, los suplementos de calcio con o sin vitamina D ayudan a reducir la pérdida de masa ósea, pero su impacto en la prevención de fracturas es limitado o incierto para la mayoría de la población general. El único grupo poblacional con clara evidencia de eficacia en la prevención de fracturas (reduciendo el riesgo de fractura no vertebral y de forma más marginal de fractura de cadera) es la población mayor de 65 años institucionalizada y con alta prevalencia de hipovitaminosis D y baja ingesta de calcio (4). El beneficio es menos claro para las personas mayores que viven en la comunidad y en la población general sana, es decir, sin osteoporosis establecida, donde según la evidencia de este metaanálisis es muy difícil justificar una intervención a gran escala con suplementos de calcio (5).

Los suplementos, además de los eventos adversos conocidos y mencionados en la ficha técnica, principal-

mente alteraciones gastrointestinales (6), también se relacionan con la posibilidad de aparición de otros efectos no deseados muy controvertidos como la nefrolitiasis y los eventos cardiovasculares. Hasta el momento no hay una clara evidencia que asocie los suplementos de calcio con un mayor riesgo de desarrollo de litiasis renal, aunque hay que ser prudente a la hora de valorar resultados ya que la verdadera incidencia puede estar infraestimada, dado que no se ha encontrado un sistema homogéneo para valorar los eventos ni ha sido la variable principal a estudio. El estudio de Taylor (7) informa que un mayor consumo de calcio en la dieta se asocia de forma independiente con un menor riesgo de cálculos renales, por contrapartida, el ensayo clínico aleatorizado (8) de la Iniciativa de Salud de la Mujer (WHI) no confirma esta relación y encontró un exceso del 17 % en la incidencia de cálculos renales en el grupo que recibió el suplemento. Sin embargo, el trabajo de Harris y cols. (9) informó que una hidratación adecuada puede ayudar a reducir este riesgo.

La sugerencia inicial que generó el debate del probable riesgo cardiovascular fue a partir de un metaanálisis realizado por Bolland y cols. en 2010 que encontró un aumento del 27 % en el riesgo de infarto de miocardio en mujeres que tomaban suplementos de calcio (10). A partir de ahí, el tema ha suscitado la realización de múltiples revisiones con resultados contradictorios. Un metaanálisis de Myung y cols. (11) encontró que el uso de suplementos de calcio se asoció significativamente con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular y enfermedad coronaria en un 15 %, en mujeres posmenopáusicas sanas, en cambio los metaanálisis de Chung (12) y Sim Ming Gin y cols. (13) publicaron resultados en sentido contrario donde informaban que los suplementos de calcio no se asocian con ningún riesgo significativo de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular o mortalidad por todas las causas. La controversia no está zanjada ya que se han planteado deficiencias metodológicas y las discrepancias de estos resultados sigue siendo un tema controvertido por lo que se descartan conclusiones firmes del papel que juegan los suplementos sobre el riesgo cardiovascular.

La plausibilidad biológica de estos hallazgos se argumenta en que el uso de suplementos de calcio aumenta de forma brusca los niveles de calcio circulante y puede contribuir a la calcificación vascular y a otros procesos fisiopatológicos que ocurren a nivel de la superficie de los vasos sanguíneos (14), mientras que la ingesta de alimentos ricos en calcio por el contenido de grasas y proteínas que conllevan asociados da lugar a un tránsito intestinal más lento que provoca cambios menores en los niveles séricos de calcio.

El objetivo de este estudio es identificar cuál es la ingesta de calcio en la dieta de las mujeres posmenopáusicas que están tomando suplementos y analizar si la indicación es adecuada según las recomendaciones.

Hipótesis: existe una tendencia a la prescripción de suplementos de calcio y calcio/vitamina D en mujeres en edad posmenopáusica que ya toman una correcta ingesta alimentaria y no presentan factores de riesgo que les hagan beneficiar de esta suplementación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal.

Ámbito de estudio: un centro de atención primaria de la comarca del Bages (Barcelona).

Periodo de estudio: un año completo de enero a diciembre de 2023.

Criterios de inclusión y reclutamiento: se han incluido todas las mujeres mayores de 50 años registradas en el Centro de Atención Primaria (CAP) que estén tomando suplementos y que firmen el correspondiente consentimiento informado.

Criterios de exclusión: mujeres que lleven más de 6 meses sin acudir a la farmacia para recoger el suplemento de calcio, las que no puedan entender la naturaleza del estudio o las que no acepten participar en el estudio.

Medida de la muestra: muestreo no probabilístico o de conveniencia. La población femenina adscrita al CAP es de 12 598 mujeres, de las que 5126 (40,69 %) tienen una edad ≥ 50 años y de estas, 616 mujeres tienen pautados suplementos de calcio con o sin vitamina D.

Población y cálculo muestral: para un nivel de confianza del 95 %, del subgrupo poblacional de 616 mujeres con una heterogeneidad del 50 %, un margen de error del 50 % y un nivel de confianza del 95 % es necesaria una muestra mínima de 237 mujeres.

Recogida de datos y fuente de información: para cada una de las pacientes que han cumplido los criterios de inclusión y que han firmado por escrito el consentimiento informado, el equipo investigador les ha realizado una encuesta presencial o telefónica sobre su ingesta dietética de calcio. Se ha utilizado el listado de alimentos lácteos como principal fuente de calcio para averiguar la cantidad y frecuencia en que se toman, tal y como se detalla en la tabla núm. 1 del apartado dedicado a las variables del estudio.

Tanto los datos de ingesta de calcio como el resto de variables del estudio se han obtenido a través de la encuesta a la paciente y la revisión de su historia clínica. Para la recogida de datos se ha utilizado un cuestionario incluido en un documento Forms del Microsoft 365 al que solo han tenido acceso los miembros del equipo investigador.

Aplicabilidad: conocer la situación actual del consumo de calcio en mujeres posmenopáusicas nos permitirá introducir los cambios necesarios, ya que es evidente que alcanzar los requerimientos recomendados de calcio contribuye a mejorar la densidad mineral ósea y reducir el riesgo de fractura (Tabla I).

Variable principal: ingesta diaria de calcio en la dieta (mg/día) en la que las encuestadas informan, siguiendo el modelo de la encuesta de Cosman, de las raciones por día que toman de cada uno de los lácteos.

Variables secundarias: edad (años); institucionalizada (sí, no); tiempo (en meses) que lleva tomando los suplementos; profesional que ha iniciado la prescripción de los suplementos de calcio: médico de familia, Reumatología, Traumatología, Ginecología, privado, otros (Oncología, Medicina Interna); posibles efectos secundarios relacionados con los suplementos de calcio (flatulencia, estreñimiento, náuseas y/o vómitos, malestar), osteoporosis u osteopenia confirmada con densitometría ósea y tratamiento osteoporótico con-

Tabla I. Modelo de encuesta sobre el consumo de productos lácteos*

Producto	mg/calcio estimado/ración	N.º raciones/día	Calcio (mg) diario
Leche (1 vaso 200 ml)	250	-	-
Leche con calcio (1 vaso 200 ml)	320	-	-
Yogurt natural entero (125 ml)	225	-	-
Yogurt con calcio	400	-	-
Flan, natillas, arroz con leche	120	-	-
Queso fresco (100 g)	200	-	-
Queso curado (2 lonchas o 50 g)	400	-	-
Calcio contenido en alimentos no lácteos	250 mg calcio/día		
		Total diario (mg calcio)	-

*Adaptado de Cosman et al. Osteoporos Int 2004.

comitante (alendronato, ibandronato, risendronato, ácido etidróico, denosumab, teriparatide, raloxifeno, bazodoxifeno).

ANÁLISIS DE DATOS

Se ha realizado una descripción univariada y bivariada de las variables.

Las variables cuantitativas se describen con la media aritmética y la desviación típica y las variables cualitativas con sus frecuencias absolutas y relativas.

Los contrastes bivariados se han realizado con la prueba t de Student o la prueba de Mann-Whitney en función de su distribución cuando se trate de variables cuantitativas con una cualitativa dicotómica, siempre que la cuantitativa tenga una distribución normal.

Por las variables cuantitativas se ha utilizado la χ^2 de Pearson con la corrección de Fisher.

Se ha utilizado el programa de análisis estadístico SPSS v 29.0 para el análisis de los datos. Los intervalos de confianza de los parámetros se han calculado al 95 % y se han considerado como estadísticamente significativos las diferencias que alcancen un valor de $p < 0,05$.

CONFLICTO DE INTERESES

Este proyecto tiene la acreditación del Comité Ético de Investigación con medicamentos (CEIm) del IDIAP Jordi Gol con el código 22/166-P en sesión del 26/10/2022.

Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos con seres humanos ni animales y se ha obtenido el consentimiento informado de los pacientes.

En este artículo no aparecen datos de pacientes.

No hay ningún conflicto de intereses y no se ha recibido ninguna ayuda.

RESULTADOS

La muestra estuvo compuesta por un total de 357 mujeres y la figura núm. 1 muestra el flujo de las pacientes de la identificación de las candidatas a su participación. La edad media de todas ellas fue de 73,0 años (DS 10,2). Veintiuna residían en una institución (5,9 %) y su edad era significativamente mayor (media de 79,5 años; DS 11,3) (prueba t Student, $p < 0,05$) (Fig. 1).

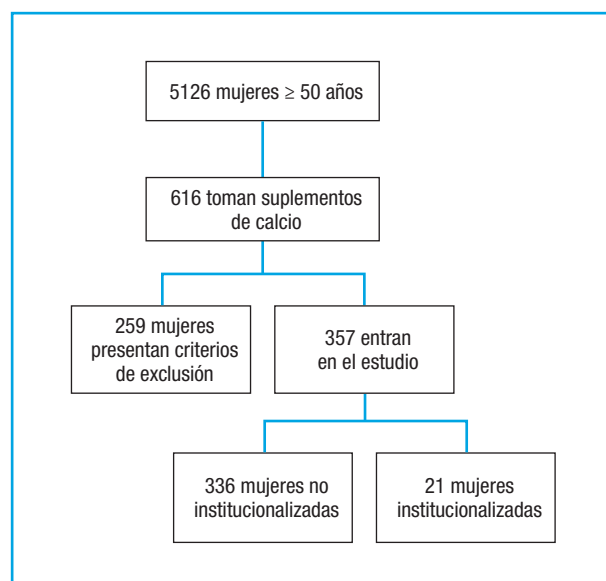


Figura 1. Diagrama de flujo.

Una tercera parte (33,9 %) de las participantes pertenecían al grupo de 70 a 79 años, al grupo de 80 a 89 años pertenecían el 24,6 % y al grupo de 60 a 69 años el 25,5 %. Un 10,9 % pertenecían al grupo de 50 a 59 años y un 5,0 % al grupo de 80 a 89 años de edad.

En cuanto al consumo de calcio, las participantes declararon un promedio de 872 mg de calcio por día (DS de 325) y en la figura 2 se presenta el consumo de calcio dietético por grupos de edad donde el contraste (prueba H de Kruskal-Wallis) no alcanza la significación estadística ($p > 0,05$). Así, pese a las oscilaciones absolutas que se observan en la figura (media del consumo por grupos de edad), el consumo no es distinto. Hay un grupo de 262 mujeres (73,4 %) que toman menos de 1000 mg y por tanto 95 mujeres que representan el 26,6 % que toman más de 1000 mg de calcio (Fig. 3).

En cuanto a las fuentes lácteas de calcio (Tabla II), la leche con el 76,3 % de mujeres que la consumen, es el lácteo más consumido. Así, se ve como las mujeres que consumen leche, leche suplementada con calcio o yogures naturales enteros tienen un consumo significativamente mayor (prueba t Student, $p < 0,05$) de calcio que las mujeres que no los consumen. Y, consumir otras especialidades lácteas no comporta una ingesta superior en comparación con las que no las consumen.

Un 26,61 % de las participantes del estudio (95) informan una ingesta de calcio por encima de los 1000 mg/día. Si desglosamos los resultados según el lugar de residencia, observamos que en mujeres institucionalizadas el porcentaje que alcanza los requerimientos a través de la dieta es del 23,8 % (5). No se obtienen diferencias estadísticamente significativas entre la ingesta dietética de calcio y el lugar de residencia (χ^2 , $p \geq 0,05$).

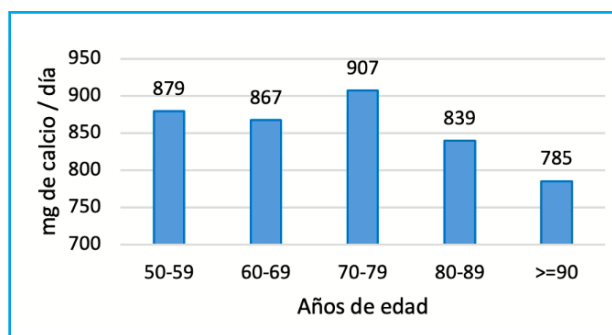


Figura 2. Consumo promedio de calcio dietético por grupos de edad.

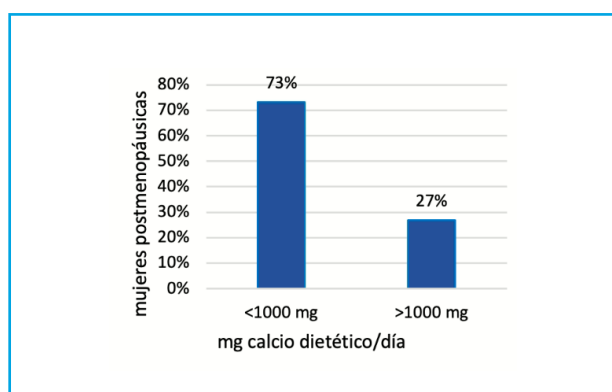


Figura 3. Consumo de calcio dietético en mujeres posmenopáusicas.

En cuanto a los efectos secundarios de la dieta y el calcio, un 10,4 % de las mujeres incluidas expresan malestar inespecífico, un 8,68 % estreñimiento y un 8,40 % flatulencia (Tabla III). Presentar náuseas y/o vómitos se observa en un 3,36 % de las mujeres incluidas y, son estas 12 mujeres, las que consumen significativamente más calcio que las que no las presentan (prueba t Student, $p < 0,05$). Las que manifiestan flatulencia (30 mujeres), estreñimiento (31) o malestar inespecífico (37) no aportan diferencias significativas en la ingesta diaria de calcio.

El consumo de calcio por resultado de la densitometría se presenta en la tabla IV y no se identifican diferencias significativas en el consumo de calcio por el resultado de la densitometría.

En la tabla V se describe que mayoritariamente las mujeres no reciben ningún tratamiento concomitante y las que lo reciben el más prescrito (Tabla VI) ha sido el alendronato un 17,1 %, seguido del denosumab un 8,12 %.

Se puede observar, pues, que un 44 % de los suplementos de calcio indicados son prescritos por especialistas y, entre ellos, destacan los reumatólogos con un 17,6 %. En la comparación a médicos de familia y a todos los demás no existen diferencias significativas en la ingesta de calcio y los porcentajes de las mujeres posmenopáusicas que toman más de 1000 mg de calcio por especialista no son distintas ($\chi^2 > 0,05$).

Tabla II. Miligramos de calcio de la dieta diaria según el consumo de fuentes lácteas

		Total de mg calcio/día		p-valor
		Media	SD	
Tomar leche	No	675,73	329,16	< 0,001
	Sí	931,03	300,33	
Tomar leche con calcio	No	855,67	324	0,003
	Sí	1025,15	300,93	
Tomar yogur natural entero	No	751,52	350,23	< 0,001
	Sí	914,38	293,18	
Tomar yogur natural con calcio	No	737,66	349,68	0,063
	Sí	1003,33	274,35	
Tomar flan, natillas, arroz con leche	No	725,94	354,86	0,121
	Sí	885,62	246,08	
Tomar queso fresco	No	699,9	431,76	0,443
	Sí	753,57	250,54	
Tomar queso manchego semicurado	No	716,5	473,37	0,498
	Sí	644,58	255,91	

Tabla III. Análisis de los efectos secundarios en relación al consumo diario de calcio

		Total de mg calcio/día		<i>p</i> -valor
		Media	SD	
Flatulencia	No	875,03	328,92	0,466
	Sí	834,33	285,64	
Estreñimiento	No	872,43	318,97	0,892
	Sí	862,58	390,67	
Náuseas y/o vómitos	No	868,04	329,72	0,017
	Sí	971,25	121,11	
Malestar inespecífico	No	873,47	331,24	0,709
	Sí	855,27	272,68	

Tabla IV. Distribución de los resultados de la densitometría de acuerdo con el consumo diario de calcio

	Hasta 1000 mg/día de calcio	Más de 1000 mg/día de calcio
Normal o no realizada	125	48
Osteopenia	44	13
Osteoporosis	93	34
Total	262	95

χ^2 , $p > 0,05$ ($p = 0,764$).

Tabla V. Distribución del tratamiento antiosteoporótico concomitante

	Muestra global	<i>n</i>
Tratamiento antiosteoporótico concomitante		357
Alendronato	61 (17,1 %)	
Bazodoxifeno	1 (0,28 %)	
Ninguno	257 (72,0 %)	
Denosumab	29 (8,12 %)	
Ibandronato	1 (0,28 %)	
Raloxifeno	1 (0,28 %)	
Risedronato	2 (0,56 %)	
Romozosumab	2 (0,56 %)	
Teriparatide	3 (0,84 %)	

Tabla VI. Profesional que inicia la prescripción de los suplementos de calcio con receta médica

	<i>n</i>	%	Hasta 1000 mg calcio/día	Más 1000 mg calcio/día
Médico de familia	200	56,0 %	155 (77,5 %)	45 (22,5 %)
Reumatología	63	17,6 %	45 (71,4 %)	18 (28,6 %)
Traumatología	31	8,7 %	-	-
Ginecología	11	3,1 %	62 (66 %)	32 (34 %)
Otros (Onco, Med. Int.)	48	13,4 %	-	-
Privado	4	1,1 %	-	-
Total	357	100 %	262 (73,4 %)	95 (26,6 %)

χ^2 , $p > 0,05$ ($p = 0,105$).

DISCUSIÓN

La ingesta diaria de calcio se ha estimado utilizando la tabla simplificada de Cosman y cols., (15) validada como herramienta práctica y orientativa y ampliamente utilizada en estudios poblacionales. Es fácil de usar y permite una estimación rápida de la ingesta de calcio a partir de las raciones de alimentos ricos en calcio consumidos a diario. Cuando un alimento se consume con una frecuencia menor a una vez al día se hace necesario estimar el aporte promedio diario dividiendo el contenido de calcio entre los días de la semana.

La literatura muestra una variabilidad considerable de resultados en la ingesta dietética de calcio, pero la mayoría de la población en riesgo de osteoporosis y similar a nuestros datos presenta una ingesta deficiente y no alcanza los 1000-1200 mg/día recomendados. En este sentido el estudio epidemiológico ANIBES (*Anthropometry, Intake and Energy Balance in Spain*) (16) publicado en 2017, y realizado a través de encuestas sobre hábitos nutricionales de la ingesta dietética declarada de tres días en más de 2000 individuos hombres y mujeres de un rango de edades amplísimo en nuestro país, estimó que las cantidades medias de calcio diarias ingeridas a través de la alimentación de mujeres mayores de 65 años fue de 662 mg/día. De manera similar el estudio de Serra y cols. (17) evaluó la ingesta dietética mediante dos recordatorios de 24 horas en días no consecutivos y señala una ingesta de 782,7 mg/día de calcio en mujeres catalanas de 18 a 64 años. En esta línea un estudio de Arriaza y cols. (18) realizado con 250 mujeres españolas entre 45 y 65 años evaluó la ingesta dietética declarada de tres días y solo el 14 % tenían una ingesta superior a 1000 mg/día. Como inconveniente el método de 24 horas puede subestimar o sobreestimar el consumo si el día en cuestión no es representativo de los hábitos generales. Se trata de un método similar al que utilizamos en nuestro estudio que nos basamos en raciones diarias solo de productos lácteos.

Encontramos resultados contrarios a lo reportado en nuestro medio en el estudio de Tao y cols. (19) donde las participantes eran mujeres posmenopáusicas españolas con osteoporosis y como método utilizaron la encuesta telefónica, el Cuestionario Español de Frecuencia Alimentaria (FFQ) y una breve encuesta sobre la ingesta de calcio y vitamina D. Las posibles respuestas incluyeron "nunca", "anual", "mensual", "semanal" o "diario". La ingesta media de calcio en la dieta fue de 1239 mg/día, en general, suficiente en términos de la ingesta diaria recomendada. Bruyère y cols. (20) en mujeres españolas posmenopáusicas con osteoporosis sin especificar el tipo de encuesta, informaron una ingesta dietética de calcio de 1074 mg/día, también superior a nuestros hallazgos. Los estudios en que la ingesta de calcio está por debajo de los requerimientos están realizados en población general, sin embargo, los estudios con una ingesta superior a las nece-

sidades se realizaron en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis. Probablemente en ambos estudios su consumo fue más elevado por una mayor motivación.

Nuestros resultados reflejan que la leche en todas sus versiones fue el lácteo más consumido, seguido de los lácteos fermentados yogur y queso. La evidencia científica actual (21) señala que la ingesta total de productos lácteos, tanto desnatados como en su versión entera se asocia de forma neutra o incluso beneficiosa sobre el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular.

La importancia de aumentar el consumo de productos lácteos al llegar a la menopausia es especialmente evidente en relación con la cobertura de las indicaciones recomendadas, concretamente en el estudio de Ortega-Anta (22) se constata que la ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas que toman las 3 raciones de lácteos aconsejadas por día (como el que hemos utilizado en nuestro estudio) es significativamente superior ($1346 \pm 310,3$ mg/día) a la de mujeres posmenopáusicas con menor consumo de productos lácteos ($874,1 \pm 259,9$ mg/día). Un 9,52 % de mujeres consumen leche suplementada con calcio y un 5,22 % yogures naturales enriquecidos con calcio. De forma paralela a la dificultad de conseguir las indicaciones recomendadas de calcio están proliferando en el mercado actual alimentos enriquecidos con calcio para aportar más calcio a la dieta, no solo en los lácteos sino en otros nutrientes (23) con serias dudas sobre su biodisponibilidad (19). Siguiendo en esta línea y a pesar de no constar esta variable en el estudio, muchas de las pacientes verbalizaban el consumo de leches vegetales en sustitución de la leche de origen animal.

La falta de cumplimiento es un fenómeno bastante extendido y nuestro estudio también ha puesto de manifiesto la falta de adherencia de las pacientes a tomar los suplementos. La gran mayoría de las pacientes fueron excluidas por no recoger el suplemento hacía más de 6 meses representando aproximadamente una de cada dos mujeres posmenopáusicas y un gran número de las que entraron en el estudio verbalizaban un cumplimiento autoinformado errático de la ingesta de los suplementos. Porcentajes muy similares a los nuestros han sido reportados por otros autores como Sanfeliu-Genovés y cols. (24) en una publicación que realizó en España donde estimó que el cumplimiento de la toma de suplementos de calcio y/o vitamina D se situaba en torno al 50 %. Una revisión sistemática (25) de la literatura encontró una tasa de adherencia del 67 % durante el primer año de tratamiento, con una persistencia media de 180 días/año de tratamiento (la revisión no incluyó ningún estudio realizado en España). En la misma línea el análisis del grado de cumplimiento terapéutico analizado por Carbonell y cols. (26) muestra que según el test de cumplimiento autocomunicado de Haynes-Sackett el 68,7 % de las pacientes fueron incumplidoras y según

el test de Morisky- Green un 11,2 %. En consonancia con otras revisiones (27) existe unanimidad en cuanto a los factores determinantes de la mala adherencia a los suplementos que describieron las mujeres. A pesar de no constar esta variable en el estudio, manifestaron problemas de tolerancia, escasa palatabilidad y falta de motivación más frecuente en pacientes polimedicadas.

En relación a los posibles efectos secundarios de los suplementos existen pocas investigaciones que los hayan explorado, en nuestro trabajo han sido poco frecuentes, destacamos por su frecuencia el estreñimiento seguido de molestias dispépticas en forma de flatulencia y malestar (28).

En nuestra investigación un 36,4 % de las mujeres presentaron osteoporosis confirmada por densitometría (DMO) DEXA y un 21 % osteopenia, porcentajes invertidos respecto a la evidencia proporcionada por el estudio transversal de la Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición (NHANES) (29) que recopiló los datos de 4012 mujeres posmenopáusicas donde la prevalencia de osteoporosis determinada por DMO (DEXA) alcanzó el 9,2 % y la de osteopenia el 59,6 % en los 5 ciclos que duró el estudio desde 2005 a 2018. Una posible explicación a estas diferencias es que en nuestro estudio todas las mujeres tomaban suplementos.

Nuestros resultados indican que de forma mayoritaria el suplemento de calcio no se acompaña de ningún fármaco antirresortivo ni agentes de formación ósea. En caso de prescribirse y en línea con el artículo de Langdahl y cols. (30) observamos que los bifosfonatos orales particularmente el alendronato es el tratamiento de primera línea y junto con el denosumab son las terapias antirresortivas más utilizadas.

Más de la mitad de los suplementos de calcio han sido pautados por el médico de familia. Nos llama la atención, sin embargo, la publicación de Ensrud y cols. (31) donde se constata que el tratamiento de la osteoporosis y las estrategias de prevención de fracturas a menudo no son abordadas por los médicos de atención primaria, incluso en pacientes mayores con fracturas recientes y en consonancia con otros autores (28) apela a maximizar esfuerzos desde la atención primaria para mejorar las tasas de diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. El 17,64 % de los suplementos han sido prescritos por el reumatólogo en mujeres mayoritariamente seguidas en este servicio por osteoporosis y a pesar de ello no se ha observado una mayor ingesta dietética de calcio. Un porcentaje no despreciable (13,4 %) han sido recomendados por Oncología en pacientes diagnosticadas de cáncer de mama con receptores de estrógenos positivos en tratamiento adyuvante con inhibidores de la aromatasa que se ha correlacionado con un mayor riesgo de pérdida ósea y fracturas (la pérdida anual en

estas mujeres al cabo de un año es del 2,6 % a nivel lumbar y del 1,7 % a nivel femoral) (32). Los servicios menos prescriptores fueron los de Traumatología y Ginecología. En este último caso la muestra es pequeña, pero el estudio de Arriaza y cols. (18) concluye que la mitad de los ginecólogos prescribe el calcio de forma profiláctica a las mujeres de entre 45 y 65 años.

La fortaleza de este estudio viene dada por haber utilizado como sistema de evaluación de la ingesta de calcio la tabla simplificada de Cosman, fácil y práctica con una estimación rápida y una precisión razonable para realizar las recomendaciones pertinentes. Tiene la ventaja de adaptarse a nuestra clínica habitual y, por tanto, aproximarse más a las condiciones reales de trabajo de un médico de familia.

El tamaño muestral nos ha permitido tener una seguridad razonable respecto a la confianza en los resultados, así como las conclusiones que de él se han derivado.

Como limitaciones de esta investigación no disponemos de ningún biomarcador que proporcione el cálculo de la ingesta de calcio. La ingesta ha sido autoinformada, lo que puede llevar un sesgo de recuerdo, errores en la variabilidad intrapersonal que puede subestimar o sobreestimar el consumo y otros factores subjetivos por parte de las pacientes.

CONCLUSIONES

Tras el análisis de nuestro estudio se desprende que la ingesta dietética de calcio en el 73 % de las mujeres posmenopáusicas que toman suplementos es insuficiente (872 mg/día) y se sitúa un 13 % por debajo de las indicaciones recomendadas. Identificamos así mismo un 27 % de mujeres posmenopáusicas que toman suplementos de forma innecesaria dado que la dieta ya cubre los requerimientos. Se ha puesto en valor la observación de una alta tasa de falta de adherencia a la toma de suplementos de calcio.

Como perspectivas y propuestas de mejora, estos resultados apoyan la necesidad de fomentar una mayor promoción de la ingesta dietética de calcio para cubrir las necesidades (una manera ágil es recomendar tres raciones de lácteos al día). Para realizar una adecuada prescripción facultativa y evitar la suplementación innecesaria, es imprescindible evaluar el consumo dietético de calcio y solo prescribir los suplementos si no se alcanzan los requerimientos. Por otro lado, para corregir esta tendencia de falta de adherencia, se resalta la necesidad de explicar a la paciente la importancia y los beneficios de la toma de los suplementos, así como los riesgos sobre la salud ósea relacionados con un seguimiento inadecuado.

PUNTOS CLAVE

- La ingesta de calcio en mujeres posmenopáusicas que toman suplementos es insuficiente y no alcanza la dosis diaria recomendada de 1000-1200 mg/día.
- Casi una tercera parte de las mujeres posmenopáusicas está suplementada innecesariamente dado que la ingesta dietética de calcio ya cubre los requerimientos necesarios.
- Una manera ágil en atención primaria de aumentar la ingesta de calcio es recomendar tres raciones de productos lácteos al día.
- La adherencia a los suplementos es muy baja y su cumplimiento muy errático por falta de motivación y efectos secundarios.
- Es necesario evaluar la ingesta de calcio dietético antes de pautar suplementos y si se prescriben informar a las pacientes de los beneficios de tomarlos y los riesgos del mal seguimiento.

AGRADECIMIENTOS

A los compañeros del Centro de Salud por su colaboración.

Al Dr. Basilio Rodríguez. Adjunto del Servicio de Reumatología. Althaia. Red Asistencial Universitaria de Manresa. Vocal CEIm IRIS-CC por sus aportaciones en el estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Riancho J, Peris P, González-Macías J, Pérez-Castrillón J. Executive summary clinical practice guideline of postmenopausal, glucocorticoid-induced, and male osteoporosis. *SEIOMM Rev Osteoporos Metab Miner* 2022;14(1):14-33. DOI: 10.4321/S1889-836X2022000100002
- Aguilera JR, Garza Ríos P, Sánchez Zepeda A. Calcio y vitamina D en la paciente climática. *Calcium and Vitamin D in postmenopausal women*. *Perinatol Reprod Hum* 2015;29(2):83-87
- O'Connell MB, Madden DM, Murray AM, Heaney RP, Kerzner LJ. Effects of proton pump inhibitors on calcium carbonate absorption in women: a randomized crossover trial. *Am J Med* 2005;118(7):778-81. DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.02.007
- Avenell A, Mak JC, O'Connell D. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures in post-menopausal women and older men. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;2014(4):CD000227. DOI: 10.1002/14651858.CD000227.pub4
- Zhao JG, Zeng XT, Wang J, Liu L. Association between calcium or vitamin D supplementation and fracture incidence in community-dwelling older adults: A systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2017;318:2466-82. DOI: 10.1001/jama.2017.19344
- Li K, Wang XF, Li DY, Chen YC, Zhao LJ, Liu XG, et al. The good, the bad, and the ugly of calcium supplementation: a review of calcium intake on human health. *Clin Interv Aging* 2018;13:2443-52. DOI: 10.2147/CIA.S157523
- Taylor EN, Curhan GC. Dietary calcium from dairy and non-dairy sources, and risk of symptomatic kidney stones. *J Urol* 2013;190(4):1255-9. DOI: 10.1016/j.juro.2013.03.074
- Wallace RB, Wactawski-Wende J, O'Sullivan MJ, Larson JC, Cochrane B, Gass M, et al. Urinary tract stone occurrence in the Women's Health Initiative (WHI) randomized clinical trial of calcium and vitamin D supplements. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):270-7. DOI: 10.3945/ajcn.110.003350
- Harris SS, Dawson-Hughes B. Effects of Hydration and Calcium Supplementation on Urine Calcium Concentration in Healthy Postmenopausal Women. *J Am Coll Nutr* 2015;34(4):340-6. DOI: 10.1080/07315724.2014.959207
- Bolland MJ, Avenell A, Baron JA, Grey A, MacLennan GS, Gamble GD, Reid IR. Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *BMJ* 2010;341:c3691. DOI: 10.1136/bmj.c3691
- Myung SK, Kim HB, Lee YJ, Choi YJ, Oh SW. Calcium Supplements and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Clinical Trials. *Nutrients* 2021;13(2):368. DOI: 10.3390/nu13020368
- Chung M, Tang AM, Fu Z, Wang DD, Newberry SJ. Calcium Intake and Cardiovascular Disease Risk: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2016;165(12):856-66. DOI: 10.7326/M16-1165. Erratum in: *Ann Intern Med* 2017;166(9):687. DOI: 10.7326/L16-0570
- Sim MG, Teo YN, Teo YH, Syn NL, Li TYW, Yeo LLL, et al. Association Between Calcium Supplementation and the Risk of Cardiovascular Disease and Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Heart Lung Circ* 2023;32(10):1230-9. DOI: 10.1016/j.hlc.2023.07.008
- Cano A, Chedraui P, Goulis DG, Lopes P, Mishra G, Mueck A, et al. Calcium in the prevention of postmenopausal osteoporosis: EMAS clinical guide. *Maturitas* 2018;107:7-12. DOI: 10.1016/j.maturitas.2017.10.004
- Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al.; National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporos Int* 2014;25(10):2359-81. DOI: 10.1007/s00198-014-2794-2
- Olza J, Aranceta-Bartrina J, González-Gross M, Ortega RM, Serra-Majem L, Varela-Moreiras G, et al. reported dietary intake, disparity between the reported consumption and the level needed for adequacy and food sources of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin d in the Spanish population: findings from the ANIBES Study. *Nutrients* 2017;9(2):232. DOI: 10.3390/nu9020168
- Serra-Majem L, Ribas-Barba L, Salvador G, Jover L, Raidó B, Ngo J, et al. Trends in energy and nutrient intake and risk of inadequate intakes in Catalonia, Spain (1992-2003). *Public Health Nutr* 2007;10(11A):1354-67. DOI: 10.1017/S1368980007000961
- Arriaza E, Arévalo MC, Grandas MA, Rebollo J, Olleros T. Consumo de calcio por la mujer española de entre 45 y 65 años. Calcium intake in Spanish women aged between 45 and 65 years old. *Prog Obstet Ginecol* 2005;48(7):338-44. DOI: 10.1016/S0304-5013(05)72408-0
- Fan T, Nocea G, Modi A, Stokes L, Sen SS. Calcium and vitamin D intake by postmenopausal women with osteoporosis in Spain: an observational calcium and vitamin D intake (CaVIT) study. *Clin Interv Aging* 2013;8:689-96.

20. Bruyère O, Malaise O, Neuprez A, Collette J, Reginster JY. Prevalence of vitamin D inadequacy in European postmenopausal women. *Current Medical Research and Opinion* 2007;23(8):1939-44. DOI: 10.1185/030079907X219562
21. Salas-Salvado J, Babio N, Juárez-Iglesias M, Picó C, Ros E, Moreno Aznar LA. (2018). Importancia de los alimentos lácteos en la salud cardiovascular: ¿enteros o desnatados? *Nutr Hosp* 2018;35(6):1479-90. DOI: 10.20960/nh.2353
22. Ortega Anta RM, González Rodríguez LG, Navia Lombán B, Perea Sánchez JM, Aparicio Vizuete A, López Sobaler AM; grupo de investigación n.º 920030. Ingesta de calcio y vitamina D en una muestra representativa de mujeres españolas; problemática específica en menopausia. *Nutr Hosp* 2013;28(2):306-13. DOI: 10.3305/nh.2013.28.2.6286
23. Huertas JR, Rodríguez Lara A, González Acevedo O, Mesa-García MD. Leche y productos lácteos como vehículos de calcio y vitamina D: papel de las leches enriquecidas. *Nutr Hosp* 2019;36(4):962-73. DOI: 10.20960/nh.02570
24. Sanfelix-Genovés J, Gil-Guillén VF, Orozco-Beltrán D, Giner-Ruiz V, Pertusa-Martínez S, Reig-Moya B, et al. Determinant factors of osteoporosis patients' reported therapeutic adherence to calcium and/or vitamin D supplements: a cross-sectional, observational study of postmenopausal women. *Drugs Aging* 2009;26(10):861-9. DOI: 10.2165/11317070-000000000-00000
25. Imaz I, Zegarra P, González-Enríquez J, Rubio B, Alcazar R, Amate JM. Poor bisphosphonate adherence for treatment of osteoporosis increases fracture risk: systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int* 2010;21(11):1943-51. DOI: 10.1007/s00198-009-1134-4
26. Carbonell Abella C, Guañabens Gay N, Regadera Anechina L, Marín Rives JA, Taverna Llauro E, Ayechu Redín MP; ADHE-POR. Análisis del cumplimiento terapéutico en mujeres con osteoporosis. *Reumatol Clin* 2011;7(5):299-304. DOI: 10.1016/j.reuma.2010.12.003
27. Yeam CT, Chia S, Tan HCC, Kwan YH, Fong W, Seng JJB. A systematic review of factors affecting medication adherence among patients with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2018;29(12):2623-37. DOI: 10.1007/s00198-018-4759-3
28. Alyousif Z, Ford AL, Dahl WJ. Calcium Supplementation Does Not Contribute to Constipation in Healthy Women. *Can J Diet Pract Res* 2016;77(2):103-5. DOI: 10.3148/cjdp-2015-043
29. Zhang X, Wang Z, Zhang D, Ye D, Zhou Y, Qin J, et al. The prevalence and treatment rate trends of osteoporosis in postmenopausal women. *PLoS One* 2023;18(9):e0290289. DOI: 10.1371/journal.pone.0290289
30. Langdahl B. Treatment of postmenopausal osteoporosis with bone-forming and antiresorptive treatments: Combined and sequential approaches. *Bone* 2020;139:115516. DOI: 10.1016/j.bone.2020.115516.
31. Ensrud KE, Crandall CJ. Osteoporosis. *Ann Intern Med* 2017;167(3):ITC17-ITC32. DOI: 10.7326/AITC201708010. Erratum in: *Ann Intern Med* 2017;167(7):528. DOI: 10.7326/L17-0539
32. Pineda-Moncusí M, García-Giralt N, Díez-Pérez A, Servitja S, Tusquets I, Prieto Alhambra D, et al. Increased fracture risk in women treated with aromatase inhibitors versus tamoxifen: beneficial effect of bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 2020;35(2):291-7. DOI: 10.1002/jbmr.3886

Original

Bone mineral density and trabecular bone score in Spanish postmenopausal osteoporosis-free women: correlation with demographic factors

Manuel Díaz-Curiel¹, José Luis Neyro², Marjorie Andrade-Poveda¹, Ignacio Mahílllo-Fernández³

¹Bone Metabolic Unit. IIS-FJD, UAM. Health Research Institute Fundación Jiménez Díaz. Madrid, Spain. ²Obstetrics and Gynecologic Service. Hospital Universitario de Cruces. Universidad del País Vasco. Bilbao, Spain. ³Biostatistics and Epidemiology Unit. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid, Spain

Abstract

Background: trabecular bone score (TBS) is a validated index of microarchitecture, calculated from dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). The aims of this study were to determine lumbar spine TBS and bone mineral density in healthy postmenopausal Spanish women and investigate associations with body mass index (BMI), age and years since menopause.

Methods: we conducted a retrospective observational study including all outpatient postmenopausal women referred to the Department of Densitometry of one hospital in a period of 12 months. Patients with densitometric osteoporosis (T-score ≤ -2.5) were excluded from the analysis. Demographic characteristics (age, BMI and number of years since menopause) and patient health history were all collected from the hospital records. The final sample size comprised 245 postmenopausal women. The study was conducted based on the principles of the Declaration of Helsinki and approved by the Research Ethics Committees of Fundación Jiménez Díaz and Instituto Investigación Fundación Jiménez Díaz.

Results: the mean lumbar spine BMD was 0.945 ($\pm$ 0.133) g/cm², and the mean TBS was 1.354 ($\pm$ 0.107). There were small correlations between TBS and age ($r = -0.31$, 95 % CI, -0.42, -0.20; $p < 0.001$), years since menopause ($r = -0.28$, 95 % CI, -0.39, -0.15; $p < 0.001$), BMI ($r = -0.30$, 95 % CI, -0.41, -0.10; $p < 0.001$) and BMD ($r = 0.29$, 95 % CI, 0.17, 0.40; $p < 0.001$).

Conclusions: TBS in postmenopausal women was negatively correlated with age, years since menopause, and BMI.

Keywords:

Trabecular bone score. Bone mineral density. Body mass index. Postmenopausal women.

Received: 01/09/2025 • Accepted: 02/17/2025

Authors' contribution: All authors approved the final content of this manuscript. M. D. C. takes full responsibility for the integrity of the data analysis.

Ethical approval: The protocol for the current study was approved by the Ethics Committee of Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz.

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

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

Díaz-Curiel M, Neyro JL, Andrade-Poveda M, Mahílllo-Fernández I. Bone mineral density and trabecular bone score in Spanish postmenopausal osteoporosis-free women: correlation with demographic factors. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(2):84-89

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00073

Correspondence:

Manuel Díaz-Curiel. IIS-FJD, UAM. Health Research Institute Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos 2, 28040 Madrid, Spain
e-mail: mdcuriel@fjd.es
ORCID: 0000-0002-7762-9368

INTRODUCTION

Osteoporosis is characterized by microarchitectural changes in bone tissue and a reduction in bone mass. Postmenopausal osteoporosis, resulting from estrogen deficiency and the most common type of osteoporosis, affects nearly 1 in 3 women in Spain (1). Estrogen deficiency results in an increase in bone turnover owing to effects on all types of bone cells. Imbalance in bone formation and resorption has effects on trabecular bone and cortical bone leading to increased rates of bone fractures that affect quality of life: pain, inability to perform daily activities and increased mortality (2,3). Although important efforts have been made to precisely identify those at increased risk of osteoporosis-related bone fractures, there is still a high degree of uncertainty regarding the accuracy of the current tools as determinants of bone strength (2,3).

Bone mineral density (BMD) assesses only one of many factors contributing to bone strength and the risk of fracture. Therefore, information on trabecular bone microarchitecture provided by trabecular bone score (TBS) can improve the accuracy and sensitivity of the assessment of the risk of fragility fractures and the effects of some drugs used vs osteoporosis (4-7). TBS is not a direct measure of bone architecture or trabecular discontinuity; rather, it is an indirect index of trabecular microarchitecture that reflects the trabecular counts, trabecular connections and space between trabeculae that is noninvasive and radiation-free (8).

Former studies have shown positive correlations between the body mass index (BMI) and BMD (9,10). Currently, however, there are limited data on the associations among the TBS, BMI and age. Furthermore, the relationships among other demographic parameters (e.g., years since menopause) and the TBS and BMD remain unclear.

The aims of this study were to investigate the mean TBS and BMD values in a cohort of healthy postmenopausal Spanish women and the overall associations among the TBS, BMD and demographic features.

METHODS

STUDY SAMPLE

We conducted a retrospective cross-sectional study that included all postmenopausal women who were referred from January 1st through December 31st, 2011 to the Densitometry Service of Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz (Madrid, Spain).

DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS

The demographic characteristics and health history of all subjects were collected from the hospital records.

The subjects included in this study were healthy postmenopausal women. Menopause was defined as the permanent cessation of menstrual periods for, at least, 12 months in the absence of any pathological etiology. The population of this study was healthy postmenopausal women. Exclusion criteria included osteoporosis diagnosed on DXA (T-score < -2.5), fragility fractures, patients with a diagnosis of endocrine diseases and other hormonal disorders, orthopedic diseases or osteoarthritis affecting the lumbar spine, cancers, and the use of drugs or agents that can affect bone metabolism. The protocol for the current study was approved by Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz research ethics committee. The height and weight of subjects were measured using a KERN stadiometer and electronic scale, respectively, and then BMI was calculated with a BMI calculator using the height (in meters) and weight (in kilograms).

ASSESSMENT OF BMD AND TBS

Bone mineral density (BMD) measurements were performed with the HOLOGIC QDR-4500 C system on the L1-L4 vertebrae. All DXA studies were performed by the same experienced operator. TBS measurement was performed retrospectively using the lumbar spine DXA files of the patients included in this study. The TBS measurement was performed with a recent version of the TBS iNsight software (version 3.0.; Medimaps Group, Merignac, France) applied to the same region of the spine in which BMD was measured (therefore, vertebrae excluded from the BMD analysis were also excluded in the TBS measurement).

Coefficient of variation for DXA was 1%, and the coefficient of variation for TBS was 1.8%. Reference values were as follows: TBS ≥ 1.350 is considered normal, TBS of 1.350 to 1.200 indicates a partially degraded microarchitecture, and TBS ≤ 1.200 represents a degraded microarchitecture (8).

STATISTICAL ANALYSIS

Quantitative variables were expressed as means and standard deviations, and qualitative variables as absolute and relative frequencies.

Relations with the TBS were assessed using Pearson's correlation coefficient and simple linear regression.

Except for age, variables did not adhere to a normal distribution or passed the Kolmogorov-Smirnov normality test. However, Pearson's correlation coefficient was still used because all variables had fairly symmetrical distributions. This degree of symmetry results in the mean and median values being essentially the same. In addition, the sample size, which was not small, ensures

compliance with the central limit theorem, which states that the distribution of the sample means approaches normality as the sample size increases; this is the assumption upon which parametric methods are based.

Results are reported as scatter plots, with the regression line, the correlation coefficient (r), its 95% confidence interval (95 % CI), the p -value (p), and the R squared value.

The explanatory variables included in the models were age, BMI and years since menopause. No step-wise procedures or any other procedures were used to construct the multivariate model because all three variables of interest were included.

To study the effects of age, BMI and the number of years since menopause on the TBS, multivariable linear regression models were used to adjust for confounders. These models are summarized as the coefficients (b), 95 % CIs, and p -values. Significance level was set at 0.05. Statistical analyses were performed using R 4.0.0.

RESULTS

In this retrospective cross-sectional study, we included a total of 245 postmenopausal women (age, 60.6 (7.87); range, 35-86 years; BMI, 29.40 (4.71) kg/m²). Of the 245 participants, 134 (54.7%) had a normal BMI, 85 (34.7%) were overweight, 19 (7.8%) had type I obesity, 2 had types II and III obesity (0.08%), and 5 were slightly underweight (2.0%). The mean BMD at the lumbar spine and the TBS were 0.945 (0.133) g/cm² and 1.354 (0.107), respectively. A total of 107 women had normal TBS, 120 women had partially degraded TBS and 17 women had degraded TBS.

In our patients, we found weak negative correlations between the TBS and the selected demographic characteristics (age, $r = -0.31$, 95 % CI, (-0.42, -0.20), $p < 0.001$; years since menopause: $r = -0.28$, 95 % CI, (-0.39, -0.15), $p < 0.001$; BMI: $r = -0.30$, 95 % CI, (-0.41, -0.10), $p < 0.001$) and a weak positive correlation with BMD ($r = 0.29$, 95 % CI, (0.17, 0.40), $p < 0.001$) (Figs. 1-4).

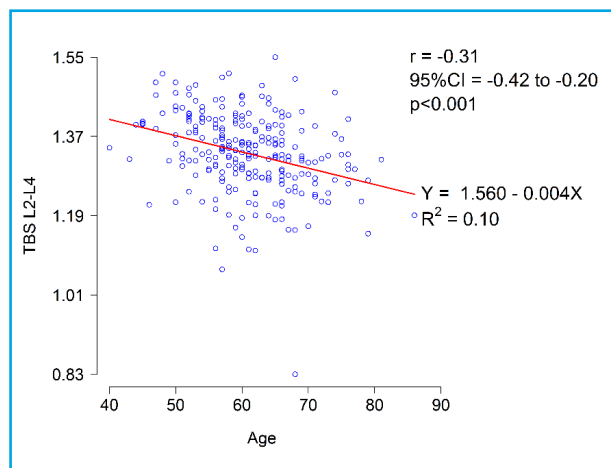


Figure 1. Correlation between TBS and age.

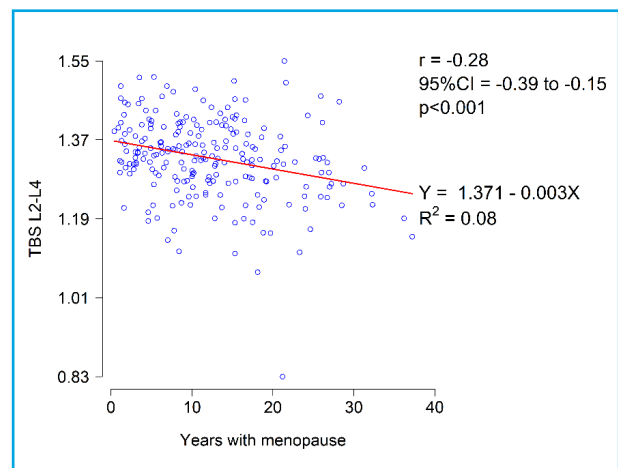


Figure 2. Correlation between years since menopause and TBS.

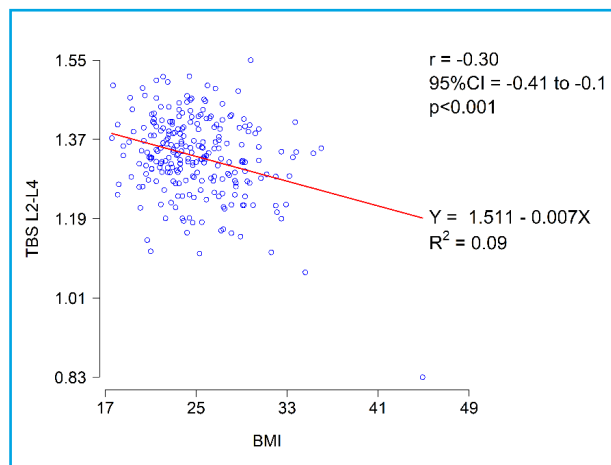


Figure 3. Correlation between TBS and BMI.

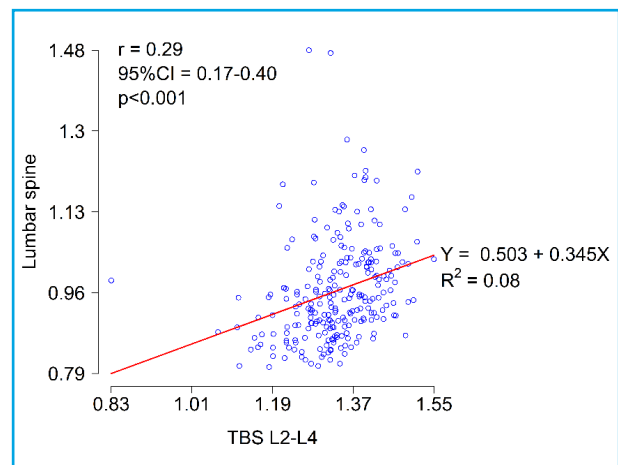


Figure 4. Correlation between BMD at lumbar spine and TBS.

Table I. Adjusted linear regression models between BMD at lumbar spine and TBS with demographic characteristics (age, years from menopause and BMI)

Response	Predictor	Coef.	(95 % CI)	p	R ²
Lumbar spine	Age BMI	0.001	(-0.002, 0.004)	0.367	0.023
	Years menopause	0.005	(0.001, 0.009)	0.008	
		-0.002	(-0.005, 0.001)	0.213	
TBS	Age	-0.002	(-0.005, 0.000)	0.059	0.149
BMI		-0.006	(-0.009, -0.003)	< 0.001	
Years with menopause		-0.001	(-0.003, 0.001)	0.404	

Additionally, although we found a weak correlation between BMD and BMI ($r = 0.17$, $p = 0.008$), we did not find a statistically significant correlation between BMD and age ($r = -0.02$, $p = 0.703$) or years since menopause ($r = -0.03$, $p = 0.605$).

Multivariable linear regression showed a statistically significant effect of BMI on the TBS ($b = -0.006$, 95 % CI, (-0.009, -0.003), $p < 0.001$) (Table I).

DISCUSSION

In this study, we investigated the correlations among BMD, the TBS and a few demographic characteristics (age, BMI and number of years since menopause) in a group of healthy postmenopausal Spanish women.

Kim et al. (11) found a significantly negative correlation between the TBS and BMI in all women in his study ($n = 2,555$, osteopenia [$n = 822$], osteoporosis [$n = 126$], healthy [$n = 1,597$]). Our study excluded women with osteoporosis. The study by Kim et al. had a larger sample size than the present study; furthermore, unlike in our study, they compared TBS measurements derived from Hologic densitometer images with those derived from GE Lunar densitometer images.

Torgutalp et al. reported a negative correlation between TBS and BMI in a study of 53 healthy postmenopausal women ($r = -0.33$, $p = 0.05$) (12). This negative correlation was also reported by Bonaccorsi et al. ($r = -0.12$, $p = 0.03$) (13).

In a similar study, Looker et al. (9) investigated the TBS, BMD, and body size variables in the U.S. population. They reported a correlation between the TBS and BMI ($r = -0.33$) that was stronger than those reported in previous studies (range = -0.13 to -0.19) (14-16). One possible reason for this inconsistency could be the use of different versions of the iNsite software, which would result in the differences in the strengths of the correlations among the studies. Another explanation

for this difference might be the use of different DXA instruments, as the data used for the TBS were collected using different instruments during the period from 2005 through 2008.

In a different study, Mazzetti et al. (17) evaluated correlations among BMD, the TBS, and BMI in 2,730 Canadian subjects. Consistent with our results, they found a significant negative correlation between the TBS and BMI ($r = -0.33$) and a significant positive correlation between BMD and BMI ($r = 0.26$); these findings were similar only when they used the Hologic densitometers but not when they used the GE Lunar densitometers. This finding has implications for clinical and research applications of the TBS, especially when TBS is measured sequentially on DXA densitometers from different manufacturers or when results from different machines are pooled for analysis. Additionally, data were collected from different centers in the period from 2005 through 2007, which may have caused the differences in the reported correlations. In addition, there was an important difference in the exclusion criteria between our study and their study. They did not exclude subjects with endocrine diseases and other hormonal disorders, orthopedic diseases, cancers, and diseases that affect the bones, nor did they exclude those who took vitamin D and other drugs or agents that can affect bone metabolism.

In 1,054 postmenopausal women, Azin Shayganfar et al. found a statistically significant negative correlation between TBS and BMI in patients with osteoporosis and low bone mass. In patients with normal T-scores, BMI was not significantly correlated to TBS ($p > 0.05$) and concluded that higher BMI was associated with a lower TBS in patients with an abnormal T-score. However, BMI did not have a significant effect on TBS in patients with normal T-scores (18).

In a study of 1,450 postmenopausal women, Olmos et al. (19) evaluated TBS and analyzed its relationship with bone mineral density (BMD), age and BMI. Mean TBS of postmenopausal women in these women was 1.341 ± 0.111 . Nearly 50% of them had normal val-

ues. Only 11% had scores compatible with a clearly degraded microarchitecture. TBS decreased with age, and correlated negatively with BMI. A weak association was observed between TBS and BMD.

It is even difficult to compare our results with those of other studies. In fact, the inconsistent correlations of BMI with the TBS and BMD may, in part, be clarified by differences in the yet unknown mechanisms underlying the effects of BMI on the microarchitecture of the trabecular bone and BMD. Our study group included healthy women. Moreover, although there have been some studies on the correlation between BMI and BMD or the correlation between BMI and the TBS, there have been very few studies investigating these correlations simultaneously.

In our study, as in the study by Torgutalp et al. (12), we showed different correlations of BMI with BMD and the TBS. These differences can be explained by the fact that BMI is not an adequate indicator of the distribution of fat tissue and cannot differentiate fat from muscle.

Some potential confounders, including physical activity and diet, were not considered in this study.

This article suggests the potential clinical value of using the TBS in the evaluation of bone status in postmenopausal women.

CONCLUSIONS

1. Overall, in our group of healthy postmenopausal Spanish women, we found a significant positive correlation between BMD and the TBS.
2. Additionally, we detected significant negative correlations of age, years since menopause, and BMI with the TBS.
3. In our multiple linear regression analysis including age, years since menopause and BMI, BMI had the most significance and is therefore the best predictor of the TBS.

REFERENCES

1. Díaz Curiel M, García JJ, Carrasco JL, Honorato J, Pérez Cano R, Rapado A, et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2001;116:86-8.
2. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001;285(6):785-95. DOI: 10.1001/jama.285.6.785
3. Silva BC, Broy SB, Boutroy S, Schousboe JT, Shepherd JA, Leslie WD. Fracture Risk Prediction by Non-BMD DXA Measures: the 2015 ISCD Official Positions Part 2: Trabecular Bone Score. *J Clin Densitom* 2015;18(3):309-30. DOI: 10.1016/j.jocd.2015.06.008
4. Briot K, Paternotte S, Kolta S, Eastell R, Reid DM, Felsenberg D, et al. Added value of trabecular bone score to bone mineral density for prediction of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the OPUS study. *Bone* 2013;57(1):232-6. DOI: 10.1016/j.bone.2013.07.040
5. Binkley N, Morin SN, Martineau P, Lix LM, Hans D, Leslie WD. Frequency of normal bone measurement in postmenopausal women with fracture: a registry-based cohort study. *Osteoporos Int* 2020; 31(12):2337-2344. DOI: 10.1007/s00198-020-05576-w
6. Leslie WD, Shevroja E, Johansson H, McCloskey EV, Harvey NC, Kanis JA, et al. Risk-equivalent T-score adjustment for using lumbar spine trabecular bone score (TBS): the Manitoba BMD registry. *Osteoporos Int* 2018; 29(3):751-8. DOI: 10.1007/s00198-018-4405-0
7. Arboiro Pinel R, Bravo Martín N, Moro Álvarez M, Andrade Poveda M, Mahillo Fernández I, Díaz Curiel M. Cambios en el TBS (trabecular bone score) y DMO (densidad mineral ósea) en pacientes tratadas con denosumab. En: Comunicaciones. XXIV Congreso SEIOMM. *Rev Osteopor Metab Min* 2019;11(3):19. Disponible en: http://revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/pdf/numeros/11_3.pdf 4
8. Silva BC, Leslie WD, Resch H, Lamy O, Lesnyak O, Binkley N, et al. Trabecular Bone Score: A Noninvasive Analytical Method Based Upon the DXA Image. *J Bone Miner Res* 2014;29:518-30. DOI: 10.1002/jbmr.2176
9. Looker AC, Sarafrazi Isfahani N, Fan B, Shepherd JA. Trabecular bone scores and lumbar spine bone mineral density of US adults: comparison of relationships with demographic and body size variables. *Osteoporos Int* 2016;27(8):2467-75. DOI: 10.1007/s00198-016-3550-6
10. McCloskey EV, Odén A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, et al. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *J Bone Miner Res* 2016;31(5):940-8. DOI: 10.1002/jbmr.2734
11. Kim YS, Han JJ, Lee J, Choi HS, Kim JH, Lee T. The correlation between bone mineral density/trabecular bone score and body mass index, height, and weight. *Osteoporos Sarcopenia* 2017;3(2):98-103. DOI: 10.1016/j.afos.2017.02.001
12. Torgutalp ŞŞ, Babayeva N, Kara ÖS, Özkan Ö, Dönmez G, Korkusuz F. Trabecular bone score of postmenopausal women is positively correlated with bone mineral density and negatively correlated with age and body mass index. *Menopause* 2019;26(10):1166-70. DOI: 10.1097/GME.0000000000001375
13. Bonaccorsi G, Cafarelli FP, Cervellati C, De Guio F, Greco P, Giganti M, et al. A new corrective model to evaluate TBS in obese post-menopausal women: a cross-sectional study. *Aging Clin Exp Res* 2020;32(7):1303-8. DOI: 10.1007/s40520-019-01317-0
14. Dufour R, Winzenrieth R, Heraud A, Hans D, Mehse N. Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women. *Osteoporos Int* 2013;24(11):2837-46. DOI: 10.1007/s00198-013-2384-8
15. Iki M, Tamaki J, Sato Y, Winzenrieth R, Kagamimori S, Kagawa Y, et al. Age-related normative values of trabecular bone score (TBS) for Japanese women: the Japanese Population-based Os-

- teoporosis (JPOS) study. *Osteoporos Int* 2015;26(1):245-52. DOI: 10.1007/s00198-014-2856-5
16. Leslie WD, Krieg MA, Hans D; Manitoba Bone Density Program. Clinical factors associated with trabecular bone score. *J Clin Densitom* 2013;16(3):374-9. DOI: 10.1016/j.jocd.2013.01.006
17. Mazzetti G, Berger C, Leslie WD, Hans D, Langsetmo L, Hanley DA, et al. Densitometer-Specific Differences in the Correlation Between Body Mass Index and Lumbar Spine Trabecular Bone Score. *J Clin Densitom* 2017;20(2):233-8. DOI: 10.1016/j.jocd.2016.11.003
18. Shayganfar A, Farrokhi M, Shayganfar S, Ebrahimian S. Associations between bone mineral density, trabecular bone score, and body mass index in postmenopausal females. *Osteoporos Sarcopenia* 2020;6(3):111-4. DOI: 10.1016/j.afos.2020.08.002
19. Olmos JM, Hernández JL, Pariente E, Martínez J, Valero C, González-Macías J. Trabecular bone score and bone quantitative ultrasound in Spanish postmenopausal women. The Camargo Cohort Study. *Maturitas* 2020;132:24-9. DOI: 10.1016/j.maturitas.2019.11.008

Revisión

Stem cells, PRP, and bioprinting — Advancements in regenerative medicine for orthopedic disorders

Kirolos Eskandar

Faculty of Medicine and Surgery, Helwan University, Egypt

Abstract

Orthopedic disorders, including osteoarthritis, fractures, and tendon injuries, represent a significant health care burden, often leading to chronic pain and disability. Advances in regenerative medicine have revolutionized the treatment landscape, offering novel solutions to enhance tissue repair and restore function. This review explores 3 transformative approaches in regenerative medicine: stem cell therapy, platelet-rich plasma (PRP), and bioprinting. Stem cells, particularly mesenchymal stem cells, show immense potential for cartilage regeneration, bone healing, and tendon repair through their differentiation and immunomodulatory properties. PRP, rich in growth factors, has gained prominence for accelerating healing in osteoarthritis and soft tissue injuries, though standardization remains a challenge. Bioprinting, an emerging frontier, enables the manufacturing of personalized implants and tissue scaffolds, pushing the boundaries of orthopedic care. This article highlights the mechanisms, clinical applications, comparative effectiveness, and challenges of these therapies while emphasizing their synergistic potential and future innovations. Regenerative medicine holds the promise of transforming orthopedic treatments, bridging gaps in current care, and paving the way for personalized, sustainable health care solutions.

Keywords:

Regenerative medicine. Orthopedic disorders. Stem cell therapy. Platelet-rich plasma (PRP). Bioprinting.

Received: 01/27/2025 • Accepted: 04/21/2025

Availability of data and material: Data sharing not applicable to this article as no data-sets were generated or analyzed during the current study.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

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

Eskandar K. Stem cells, PRP, and bioprinting — Advancements in regenerative medicine for orthopedic disorders. Rev Osteoporos Metab Miner 2025;17(2):90-100

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00078

Correspondence:

Kirolos Eskandar. Faculty of Medicine and Surgery, Helwan University, Egypt
e-mail: kiroloss.eskandar@gmail.com

INTRODUCTION

Orthopedic disorders include a wide range of conditions affecting the musculoskeletal system, including bones, joints, muscles, tendons, and ligaments. These ailments, such as osteoarthritis, rheumatoid arthritis, fractures, and tendinopathies, are prevalent across various populations and significantly contribute to morbidity and health care utilization (1,2). For instance, osteoarthritis alone affects millions globally, leading to pain, reduced mobility, and diminished quality of life.

Traditional treatments for these conditions often involve pharmacological interventions, physical therapy, and surgical procedures. While these approaches can alleviate symptoms and restore function, they may not address the underlying tissue damage or halt disease progression (3). Moreover, surgical procedures carry inherent risks and may not be suitable for all patients. These limitations underscore the need for innovative therapies capable of promoting tissue regeneration and offering more definitive solutions (4).

Regenerative medicine has emerged as a promising field aiming to repair or replace damaged tissues and organs, thereby restoring normal function. In orthopedics, regenerative approaches such as stem cell therapy, platelet-rich plasma (PRP) injections, and bioprinting are being explored to overcome the shortcomings of conventional therapies (5). Stem cells have the potential to differentiate into various musculoskeletal tissues, offering possibilities for cartilage and bone regeneration. PRP, derived from the patient's own blood, is rich in growth factors that can enhance healing processes. Bioprinting, an innovative technology, allows for the creation of customized tissue constructs that can be used to repair or replace damaged structures (6).

This article aims to provide a comprehensive review of these advancements in regenerative medicine as applied to orthopedic disorders. We will be examining the underlying mechanisms, current clinical applications, and challenges associated with stem cell therapy, PRP, and bioprinting. By evaluating the latest research and clinical outcomes, this review seeks to elucidate the potential of these therapies to transform orthopedic care and improve patient outcomes.

METHODOLOGY

We conducted review systematically to ensure a comprehensive and unbiased analysis of advances in regenerative medicine for orthopedic disorders. The methodology fully complied with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Anal-

yses (PRISMA) guidelines, which are widely accepted for enhancing transparency and reproducibility in systematic reviews.

SEARCH STRATEGY

A structured and thorough literature search was performed across 4 major databases: PubMed, Google Scholar, Scopus, and Web of Science from 2015 through 2025. Specific search terms and Boolean operators were used to capture a broad range of relevant studies, including the following terms:

- “Regenerative medicine AND orthopedic disorders”.
- “Stem cell therapy AND cartilage regeneration”.
- “Platelet-rich plasma AND tendon healing”.
- “Bioprinting AND bone repair”.
- “Musculoskeletal injuries AND tissue engineering”.

The search strategy added variations in terminology (eg, synonyms and related terms) to account for differences in nomenclature across studies. Filters for publication year, language (English), and peer-reviewed articles were applied to refine the results.

INCLUSION AND EXCLUSION CRITERIA

The following criteria were established to guide the selection of studies:

Inclusion criteria

1. Peer-reviewed articles published in English.
2. Studies specifically addressing regenerative medicine applications in orthopedic disorders.
3. Research focusing on stem cells, PRP, and bioprinting as primary interventions.
4. Clinical trials, meta-analyses, and systematic reviews.
5. Articles on mechanisms of action, clinical outcomes, or comparative analyses of these therapies.

Exclusion criteria

1. Non-peer-reviewed articles, editorials, and opinion pieces.
2. Studies on regenerative medicine outside the orthopedic domain.
3. Preclinical studies without clear translational relevance to human orthopedic conditions.
4. Studies requiring payment for access were excluded due to funding limitations.

STUDY SELECTION PROCESS

An initial pool of 166 articles was identified from database searches. Duplicates were removed, resulting in a total of 120 unique studies. Titles and abstracts were independently screened by 2 reviewers to ensure relevance. A total of 94 of these articles underwent full-text review for eligibility based on the inclusion and exclusion criteria, resulting in a total of 82 studies included in the final analysis. All selected articles met the specified inclusion criteria, and non-qualifying studies, including books and articles outside the search period were excluded.

DATA EXTRACTION AND SYNTHESIS

A standardized data extraction form was developed to ensure consistency in capturing study details. The following information was extracted:

- 1. Study design (eg, randomized controlled trials, observational studies).
- 2. Participant characteristics (eg, sample size, demographics).
- 3. Intervention details (eg, stem cell source, PRP preparation method, bioprinting technique).

- 4. Outcomes measured (eg, cartilage regeneration, pain reduction, functional recovery).
- 5. Key findings and limitations.

Data synthesis involved qualitative analysis, categorizing studies based on the type of intervention and orthopedic application. Comparisons across therapies (eg, stem cell therapy vs. PRP) were also drawn to identify relative strengths, limitations, and emerging trends.

QUALITY ASSESSMENT

Quality and risk of bias of the included studies were evaluated using appropriate tools (Table I):

- *Cochrane Risk of Bias Tool* for randomized controlled trials.
- *Newcastle-Ottawa Scale* for observational studies.
- *AMSTAR 2* (A Measurement Tool to Assess Systematic Reviews) for systematic reviews.

To ensure adherence to PRISMA guidelines, a PRISMA checklist (Table II) is included, with the key methodological aspects followed in this review. The study selection process is illustrated in a PRISMA flow diagram (Fig. 1) showing the number of records identified, screened, excluded, and ultimately included, along with reasons for exclusions.

Table I. Summary of risk of bias assessment		
Study type	Assessment tool	Risk of bias summary
Randomized controlled trials	Cochrane Risk of Bias Tool	Low-to-moderate
Observational studies	Newcastle-Ottawa Scale	Moderate
Systematic reviews	AMSTAR 2	Moderate-to-high

PRISMA flow diagram.

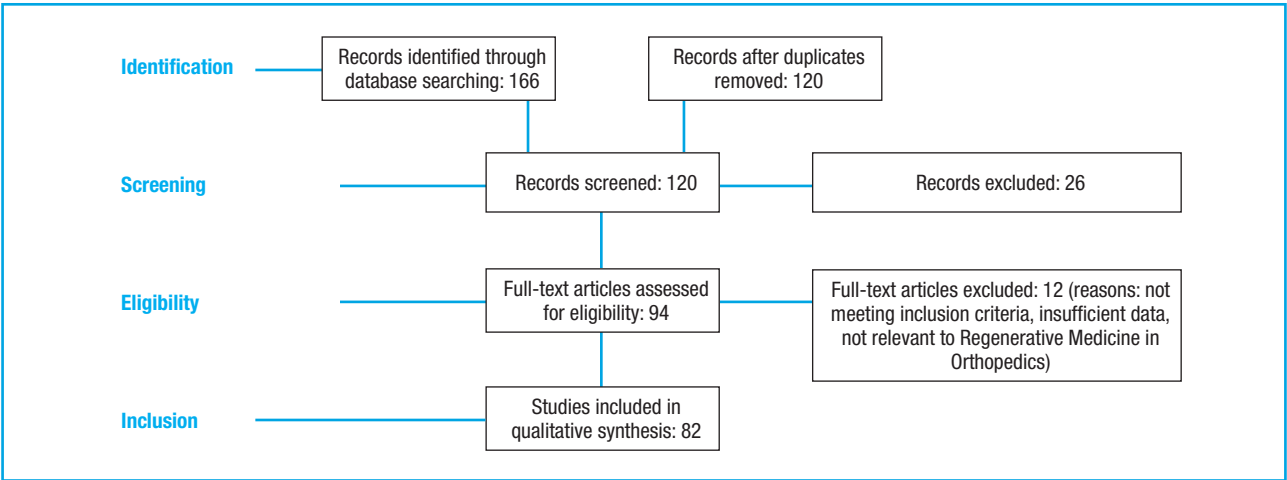


Figure 1. PRISMA flow diagram.

OVERVIEW OF REGENERATIVE MEDICINE IN ORTHOPEDICS

Regenerative medicine represents a transformative approach in orthopedics, focusing on harnessing the body's intrinsic healing mechanisms to repair or replace damaged musculoskeletal tissues (7). This field uses biologic therapies, often derived from the patient's own cells or tissues to promote regeneration and restore function. By leveraging natural processes, regenerative medicine aims to enhance healing outcomes and potentially reduce the need for more invasive interventions (8).

A variety of orthopedic conditions have been targeted with regenerative approaches. Osteoarthritis, characterized by the degeneration of joint cartilage, has been a primary focus, with treatments such as platelet-rich plasma (PRP) injections being explored to alleviate symptoms and slow disease progression (9). Fractures, especially those that exhibit delayed healing or non-union, have been treated with stem cell therapies to stimulate bone regeneration. Cartilage injuries, which traditionally have limited healing capacity, are being addressed through techniques such as autologous chondrocyte implantation and emerging bioprinting methods to restore cartilage integrity (10). Tendinopathies, including conditions like tennis elbow and Achilles tendinitis, have also seen the application of regenerative treatments aimed at enhancing tendon repair and function (11).

The advantages of regenerative medicine over conventional therapies are notable. Traditional approaches often focus on symptom management and may not effectively address the underlying causes of tissue damage (12). In contrast, regenerative therapies aim to repair and regenerate damaged tissues, offering the potential for more durable and natural restoration of function. Additionally, since many regenerative treatments utilize autologous cells or tissues, the risk of immune rejection is minimized, and procedures tend to be less invasive, leading to shorter recovery times and fewer complications being reported (13). This paradigm shift not only holds promise for improved patient outcomes but also represents a movement towards more personalized and biologically attuned medical care.

STEM CELLS IN ORTHOPEDIC REGENERATION

Stem cell-based therapies have garnered significant attention in orthopedic regeneration due to their potential to repair and restore damaged musculoskeletal tissues. Among the various types of stem cells being

explored, mesenchymal stem cells (MSCs) are particularly prominent (14). MSCs are multipotent stromal cells capable of differentiating into osteoblasts, chondrocytes, and tenocytes, making them suitable for bone, cartilage, and tendon repair. These cells can be isolated from multiple sources, including bone marrow and adipose tissue (15). Bone marrow-derived MSCs have been extensively studied for their regenerative capabilities, while adipose-derived MSCs offer the advantage of being more abundant and easier to harvest (16).

Induced pluripotent stem cells (iPSCs) represent another avenue in orthopedic research. iPSCs are generated by reprogramming adult somatic cells to a pluripotent state, enabling them to differentiate into various cell types, including those relevant to musculoskeletal repair (17). The use of iPSCs circumvents ethical concerns associated with embryonic stem cells and provides a patient-specific source for tissue engineering. However, challenges such as potential tumorigenicity and the need for precise control of differentiation pathways remain (18).

Embryonic stem cells (ESCs), derived from early-stage embryos, possess the ability to differentiate into any cell type, including musculoskeletal lineages. Despite their high differentiation potential, the use of ESCs in clinical applications is limited due to ethical considerations and the risk of immune rejection (19). These concerns have led researchers to explore alternative sources, such as MSCs and iPSCs, which offer more practical and ethically acceptable solutions for orthopedic regeneration (20).

The therapeutic potential of stem cells in orthopedics is largely attributed to their mechanisms of action. Primarily, stem cells can differentiate into specific cell types necessary for tissue repair, such as chondrocytes for cartilage, osteoblasts for bone, and tenocytes for tendons (21). Additionally, stem cells exhibit immunomodulatory and anti-inflammatory effects, secreting cytokines and growth factors that modulate the local environment, reduce inflammation, and promote healing. These paracrine effects are crucial in creating a conducive environment for tissue regeneration (22).

Clinically, stem cell therapies have been applied to various orthopedic conditions. In cartilage repair, particularly for osteoarthritis, MSCs have been studied for their ability to regenerate damaged cartilage and improve joint function (23). Studies have shown that intra-articular injections of MSCs can lead to symptomatic relief and structural improvements in cartilage. For bone healing, stem cells have been utilized to enhance the repair of fractures and address non-union cases (24). The osteogenic potential of MSCs contributes to the formation of new bone tissue, thus speeding up the healing process. In tendon and ligament injuries, stem cell therapies aim to restore the integrity and

functionality of these structures. Research indicates that stem cell application can improve tendon healing by promoting collagen production and reducing scar tissue formation (25).

Despite the promising applications, several challenges impede the widespread adoption of stem cell therapies in orthopedics. One significant concern is the variability in stem cell quality and potency, which can affect therapeutic outcomes. Standardizing cell isolation, expansion, and delivery methods is essential to ensure consistency and efficacy (20). Additionally, the long-term safety profile of stem cell therapies is still under the microscope, particularly regarding the risks of aberrant differentiation or tumor formation. Regulatory hurdles also pose challenges, as the approval processes for stem cell-based treatments can be complex and stringent (26). Future directions in this field involve optimizing stem cell sources, enhancing delivery techniques, and conducting rigorous clinical trials to establish safety and efficacy profiles. Advancements in genetic engineering and biomaterials may further augment the therapeutic potential of stem cells, paving the way for more effective and personalized orthopedic treatments (27).

PLATELET-RICH PLASMA (PRP) THERAPY

Platelet-rich plasma (PRP) therapy has garnered significant attention in regenerative medicine, particularly within orthopedics, due to its potential to enhance tissue repair and healing processes. PRP is an autologous blood product characterized by a higher concentration of platelets than that found in normal blood. These platelets are rich in growth factors and cytokines that play crucial roles in tissue regeneration (28,29).

The preparation of PRP involves collecting the patient's blood, followed by centrifugation to separate its components. This process concentrates the platelets within the plasma fraction. Various preparation techniques exist, leading to different PRP formulations (30). Leukocyte-rich PRP contains a higher concentration of white blood cells, which can influence the inflammatory response, while leukocyte-poor PRP has reduced leukocyte content, potentially minimizing inflammation. The choice between these formulations depends on the specific clinical application and desired outcomes (31).

The therapeutic effects of PRP are primarily attributed to the release of growth factors upon platelet activation. Key growth factors include vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor-beta (TGF- β), and platelet-derived growth factor (PDGF) (32). VEGF promotes angiogenesis, enhancing blood supply to the injured area. TGF- β is involved in cell dif-

ferentiation and matrix production, crucial for tissue regeneration. PDGF stimulates cell proliferation and recruitment to the injury site, facilitating repair processes (33).

Clinically, PRP has been applied in various orthopedic conditions. In osteoarthritis, intra-articular PRP injections aim to reduce pain and improve joint function by modulating the inflammatory environment and promoting cartilage repair (34). For tendinopathies, PRP is used to enhance tendon healing through the stimulation of collagen synthesis and reduction of inflammation. In muscle injuries, PRP application seeks to accelerate muscle regeneration and reduce scar tissue formation (35).

When comparing PRP to other regenerative therapies, such as stem cell treatments, PRP offers certain advantages, including ease of preparation, autologous nature reducing the risk of immune rejection, and cost-effectiveness (36). However, its efficacy profile can vary depending on the condition being treated and the specific PRP formulation used. Some studies suggest that combining PRP with other regenerative approaches, such as stem cells, may enhance therapeutic outcomes, though further research is needed to establish optimal protocols (37).

Despite promising, PRP therapy faces limitations and challenges, particularly concerning standardization. Variations in preparation methods, platelet concentrations, and activation protocols can lead to inconsistent clinical results (38). The lack of standardized protocols complicates the comparison of study outcomes and hinders the establishment of universally accepted treatment guidelines. Addressing these issues requires rigorous research to determine the most effective PRP formulations and application techniques for specific clinical scenarios (39).

BIOPRINTING AND TISSUE ENGINEERING

Three-dimensional (3D) bioprinting has emerged as a transformative technology in tissue engineering, offering innovative solutions for orthopedic applications. This additive manufacturing process enables the precise layer-by-layer deposition of bioinks to create complex, functional tissue constructs (40).

Several 3D bioprinting techniques have been developed, each with unique advantages. Inkjet bioprinting utilizes droplets of bioink ejected through a nozzle, allowing for high-resolution patterns. Extrusion-based bioprinting involves the continuous deposition of bioink through a syringe-like mechanism, suitable for printing viscous materials and larger structures (41). Laser-assisted bioprinting employs laser pulses to pro-

pel bioink onto a substrate, achieving high precision without nozzle clogging. These techniques facilitate the manufacture of intricate tissue architectures essential for orthopedic applications (42).

Bioinks, the materials used in bioprinting, are typically composed of cells suspended in biocompatible hydrogels that provide structural support and a conducive environment for cell growth. In orthopedic applications, bioinks often incorporate natural polymers like gelatin, alginate, and collagen, which mimic the extracellular matrix of bone and cartilage tissues (43). Synthetic polymers such as polycaprolactone (PCL) are also used to enhance mechanical properties. Scaffolds created from these bioinks serve as templates for tissue regeneration, guiding cell proliferation and differentiation (44).

The application of 3D bioprinting in orthopedics has shown promise in building cartilage, bone, and ligament tissues. For instance, bioprinted cartilage constructs have been explored for repairing knee menisci and intervertebral discs, aiming to restore function and alleviate pain (45). In bone tissue engineering, bioprinting enables the creation of patient-specific implants that conform precisely to defect sites, promoting osteointegration and reducing recovery times. Similarly, ligament and tendon repairs benefit from bioprinted scaffolds that replicate the native tissue mechanical properties, supporting effective regeneration (46).

Personalized implants and prosthetics represent a significant advancement in orthopedic care. 3D bioprinting allows for the customization of implants tailored to an individual's anatomy, improving fit and function (47). This personalization enhances patient outcomes by reducing the risk of implant rejection and wear. Moreover, bioprinted prosthetics can be designed to match the mechanical properties of native tissues, offering a more natural feel and performance (48).

Recent advances have focused on integrating bioprinted constructs into clinical practice and scaling up tissue regeneration efforts. Researchers are developing bioprinted bone grafts with enhanced vascularization to improve integration and functionality (49). Efforts are also underway to bioprint large-scale tissue constructs suitable for treating extensive bone defects, with a focus on ensuring structural integrity and biological viability (50).

However, several challenges remain. Scalability remains a significant hurdle, as producing large, clinically relevant tissue constructs without compromising structural and functional integrity is complex (51). Achieving adequate vascularization within bioprinted tissues is critical for nutrient delivery and waste removal yet remains difficult. Additionally, regulatory approval processes for bioprinted prod-

ucts are still evolving, necessitating comprehensive studies to demonstrate safety, efficacy, and long-term performance (52).

COMPARATIVE ANALYSIS OF REGENERATIVE THERAPIES

In the realm of regenerative medicine for orthopedic disorders, stem cell therapy, PRP therapy, and bioprinting represent three innovative approaches, each with distinct mechanisms, applications, and considerations (29).

Stem cell therapy involves the use of mesenchymal stem cells (MSCs) derived from sources such as bone marrow or adipose tissue. These cells possess the ability to differentiate into various musculoskeletal tissues, including bone, cartilage, and tendon, thereby facilitating tissue regeneration (53). Clinical applications of stem cell therapy encompass the treatment of osteoarthritis, tendon injuries, and fracture non-unions. However, the complexity of harvesting and preparing stem cells contributes to higher costs compared to other regenerative therapies (54). Additionally, while preliminary studies indicate promising outcomes, the evidence base is still evolving, requiring further research to establish standardized protocols and long-term efficacy.

PRP therapy utilizes autologous blood products enriched with platelets to harness the body's natural healing processes. The preparation involves centrifugation of the patient's blood to concentrate platelets, which release growth factors that promote tissue repair (55). PRP has been applied in the management of osteoarthritis, tendinopathies, and muscle injuries. Compared with stem cell therapy, PRP is generally more cost-effective and less invasive, given its reliance on a simple blood draw and minimal processing (56). However, PRP primarily enhances the healing environment rather than directly regenerating tissue, which may limit its efficacy in more severe or degenerative conditions (57).

Bioprinting is a cutting-edge approach within regenerative medicine, utilizing 3D printing technologies to build complex tissue constructs. In orthopedic applications, bioprinting has been explored for the creation of bone, cartilage, and ligament tissues, as well as personalized implants and prosthetics (58). This technology offers the potential for patient-specific solutions and the ability to replicate intricate tissue architectures. However, bioprinting is still largely in the experimental stage, with challenges related to scalability, vascularization of printed tissues, and regulatory approval hindering widespread clinical adoption (59).

Comparative analyses of these regenerative therapies reveal that each modality offers unique advantages and limitations (Table II). Stem cell therapy provides direct regenerative potential but is associated with higher costs and procedural complexity (60). PRP therapy is more accessible and cost-effective, serving to augment the body’s natural healing processes, though it may be less effective in advanced degenerative conditions (61). Bioprinting holds promise for creating customized tissue constructs but remains in the developmental phase, with significant hurdles to overcome before routine clinical implementation (62).

Emerging evidence suggests that combining regenerative approaches may enhance therapeutic outcomes. For instance, the use of PRP in conjunction with stem cell therapy has been investigated to improve the efficacy of treatments for orthopedic conditions (63). The growth factors present in PRP can support the survival and differentiation of transplanted stem cells, potentially leading to more robust tissue regeneration. However, further research is needed to optimize combination strategies and determine the most effective protocols for various clinical scenarios (64).

CHALLENGES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

The advancement of regenerative therapies in orthopedics is no stranger to several challenges and ethical considerations that must be addressed to ensure a safe and effective clinical application (65).

Regulatory hurdles present significant obstacles in the clinical translation of regenerative therapies. The complex regulatory framework governing these therapies often leads to difficulties in navigating approval processes, resulting in delays in bringing treatments to market (66). Uncertainty over the appropriate regulatory pathway for emerging technologies further complicates this landscape. Additionally, staffing shortages at regulatory agencies can impede the timely evaluation of new therapies, thus contributing to prolonged development timelines (67).

Long-term safety and efficacy concerns are of paramount importance in the deployment of regenerative therapies. For instance, the transplantation of undifferentiated embryonic stem cells (ESCs) carries the risk of teratoma formation, requiring thorough assessment of tumorigenicity and toxicity for all stem cell-based products, especially those that are genetically modified (68). Ensuring the long-term safety and efficacy profile of these therapies requires rigorous preclinical and clinical testing to identify potential adverse effects and to establish durable therapeutic benefits (69).

Ethical debates on stem cell use, particularly obtaining ESCs from human embryos, remain a contentious issue. The process of extracting stem cells from embryos results in their destruction, raising moral and political controversies related to the onset of human personhood and the ethical implications of embryo utilization (70). These ethical concerns require careful consideration and the development of clinical practice guidelines to balance scientific advancement with respect for moral values (71).

The standardization of protocols and commercialization of regenerative therapies also pose significant challenges. The inherent complexity of cellular products complicates the establishment of standardized manufacturing processes, leading to scalability issues and increased production costs (72). Regulatory uncertainty further exacerbates these challenges, hindering the efficient translation of research into commercially viable therapies. Addressing these issues requires collaborative efforts to develop clear regulatory guidelines and robust manufacturing standards that ensure product consistency and quality (73).

FUTURE DIRECTIONS AND INNOVATIONS

The landscape of orthopedic regenerative medicine is rapidly evolving, driven by innovations such as gene editing, advanced bioinks, and artificial intelligence (AI) in bioprinting (74). Gene editing technologies, particularly CRISPR-Cas9, have enabled precise modifications of genetic material, facilitating the develop-

Table II. Comparative clinical outcomes of stem cell therapy, PRP, and bioprinting					
Therapy type	Primary applications	Effectiveness (%)	Recovery time	Cost	Procedural complexity
Stem cell therapy	Osteoarthritis, tendon injuries, fracture repair	70%-85 % improvement in function and pain reduction	6-12 months	High	High (requires cell harvesting, culturing)
PRP therapy	Osteoarthritis, tendinopathies, muscle injuries	60%-75 % improvement in pain and mobility	4-12 weeks	Moderate	Low (simple blood draw, centrifugation)
Bioprinting	Bone, cartilage, ligament reconstruction	Experimental phase, limited clinical trials	Varies (depends on integration success)	Very High	Very high (requires advanced lab setup)

ment of tissue-engineered constructs with enhanced regenerative capabilities (75). By correcting genetic defects or enhancing specific cellular functions, gene editing holds promise for improving the efficacy of bioprinted tissues in orthopedic applications (76).

Advanced bioinks have been developed to more closely mimic the native extracellular matrix, providing a supportive environment for cell growth and differentiation (77). These bioinks often incorporate natural polymers, growth factors, and nanoparticles to enhance their biological and mechanical properties, thereby improving the functionality of bioprinted tissues (78).

Artificial intelligence has been integrated into the bioprinting process to optimize design and fabrication. AI algorithms can analyze complex biological data to inform the development of tissue constructs, predict outcomes, and refine printing parameters in real-time, leading to more accurate and efficient bioprinting processes (79).

The convergence of nanotechnology with regenerative therapies has opened new avenues for enhancing tissue engineering outcomes. Nanomaterials can be incorporated into scaffolds to provide structural support, deliver bioactive molecules, and promote cell adhesion and proliferation. In orthopedic applications, nanocomposites have been used to strengthen bioprinted bone constructs and facilitate the integration of implants with native tissue (80,81).

Individualized medicine approaches in orthopedics are being advanced through the use of patient-specific data to tailor treatments. 3D bioprinting enables the fabrication of custom implants and tissue constructs that match an individual's anatomy, improving the fit and function of orthopedic interventions (82). This personalization enhances patient outcomes by reducing the risk of implant rejection and wear.

CONCLUSIONS

Regenerative medicine is redefining orthopedic treatments by addressing the shortcomings of traditional therapies and providing groundbreaking solutions for cartilage repair, bone regeneration, and tendon healing. Among the various regenerative approaches, stem cell therapy emerges as the most promising, given its ability to differentiate into musculoskeletal tissues and modulate immune responses, promoting long-term healing. Clinical studies suggest that stem cell therapy demonstrates superior efficacy in conditions such as osteoarthritis and fracture repair, making it a leading candidate for future standard-of-care treatments.

PRP therapy, while not directly regenerative, remains a cost-effective and accessible option for enhancing the healing environment in orthopedic conditions such as tendinopathies and mild-to-moderate osteoarthritis. Its ease of application and relatively quick recovery periods make it a practical alternative, though its effectiveness can vary based on formulation and patient-specific factors. Bioprinting, still in its experimental stages, has shown immense potential in creating patient-specific tissue constructs and implants. As advancements in bioinks, AI, and vascularization techniques progress, bioprinting could revolutionize orthopedic surgery by providing fully functional, personalized tissue replacements.

Despite promising, significant challenges remain, including standardization of protocols, long-term safety concerns, and regulatory hurdles. Addressing these issues will be crucial for the widespread clinical adoption of regenerative therapies. Future advancements, particularly in gene editing, nanotechnology, and AI-driven tissue engineering, will likely enhance the therapeutic potential of these regenerative approaches. The integration of multi-modal regenerative strategies, such as combining PRP with stem cells or utilizing bioprinting for complex reconstructions, may offer synergistic benefits, optimizing patient outcomes.

In conclusion, stem cell therapy currently stands as the most effective and promising regenerative treatment for orthopedic disorders, while PRP therapy provides a practical and widely available solution, and bioprinting holds the key to the next frontier in personalized musculoskeletal medicine. Continued research and technological advancements will determine how these therapies evolve and reshape the future of orthopedic care.

REFERENCES

1. El-Tallawy SN, Nalamasu R, Salem GI, LeQuang JAK, Pergolizzi JV, Christo PJ. Management of Musculoskeletal Pain: An Update with Emphasis on Chronic Musculoskeletal Pain. *Pain Ther* 2021;10(1):181-209. DOI: 10.1007/s40122-021-00235-2
2. National Academies Press (US). Musculoskeletal disorders. Selected Health Conditions and Likelihood of Improvement With Treatment - NCBI Bookshelf. 2020 Apr 21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559512/>
3. Hsu H, Siwiec RM. Knee osteoarthritis. *StatPearls* - NCBI Bookshelf. 2023 Jun 26. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507884/>
4. Hussain AK, Kakakhel MM, Ashraf MF, Shahab M, Ahmad F, Luqman F, et al. Innovative Approaches to Safe Surgery: A Narrative Synthesis of Best Practices. *Cureus* 2023;15(11):e49723. DOI: 10.7759/cureus.49723
5. Ramaswamy Reddy SH, Reddy R, Babu NC, Ashok GN. Stem-cell therapy and platelet-rich plasma in regenerative medicines: A

- review on pros and cons of the technologies. *J Oral Maxillofac Pathol* 2018;22(3):367-74. DOI: 10.4103/jomfp.JOMFP_93_18
6. Park S, Rahaman KA, Kim Y, Jeon H, Han H. Fostering tissue engineering and regenerative medicine to treat musculoskeletal disorders in bone and muscle. *Bioact Mater* 2024;40:345-65. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2024.06.022
 7. Islam MT, Bulut D, Sharabidze Z. Regenerative Medicine in Orthopaedic Surgery: Pioneering advances and their applications. *EMJ Innov* 2024. DOI: 10.33590/emjinnov/fgds3814
 8. Moritz CT, Ambrosio F. Regenerative Rehabilitation: Combining Stem Cell Therapies and Activity-Dependent Stimulation. *Pediatr Phys Ther* 2017;29(Suppl 3):S10-S15. DOI: 10.1097/PEP.0000000000000378
 9. Kennedy MI, Whitney K, Evans T, LaPrade RF. Platelet-Rich plasma and cartilage repair. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2018;11(4):573-82. DOI: 10.1007/s12178-018-9516-x
 10. Ho-Shui-Ling A, Bolander J, Rustom LE, Johnson AW, Luyten FP, Picart C. Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. *Biomaterials* 2018;180:143-62. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.017
 11. Morya VK, Shahid H, Lang J, Kwak MK, Park SH, Noh KC. Advancements in Therapeutic Approaches for Degenerative Tendinopathy: Evaluating Efficacy and Challenges. *Int J Mol Sci* 2024;25(21):11846. DOI: 10.3390/ijms252111846
 12. Mao AS, Mooney DJ. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(47):14452-9. DOI: 10.1073/pnas.1508520112
 13. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells* 2019;8(8):886. DOI: 10.3390/cells8080886
 14. Brown PT, Handorf AM, Jeon WB, Li W. Stem cell-based tissue engineering approaches for musculoskeletal regeneration. *Curr Pharm Des* 2013;19(19):3429-45. DOI: 10.2174/13816128113199990350
 15. Greben AI, Eremin PS, Byalik JV, Kostromina EY, Parsadanyan GK, Markov PA, et al. Regenerative medicine and orthobiological drugs possibilities in upper limb diseases treatment: Literature review. *N N Priorov J Traumatol Orthop* 2023;30(1):111-26. DOI: 10.17816/vto322818
 16. Mohamed-Ahmed S, Fristad I, Lie SA, Suliman S, Mustafa K, Vindenes H, et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: a donor-matched comparison. *Stem Cell Res Ther* 2018;9(1):168. DOI: 10.1186/s13287-018-0914-1
 17. Sanjurjo-Rodríguez C, Castro-Viñuelas R, Piñeiro-Ramil M, Rodríguez-Fernández S, Fuentes-Boquete I, Blanco FJ, et al. Versatility of induced pluripotent stem cells (iPSCs) for improving the knowledge on musculoskeletal diseases. *Int J Mol Sci* 2020;21(17):6124. DOI: 10.3390/ijms21176124
 18. Aboul-Soud MAM, Alzahrani AJ, Mahmoud A. Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs)-Roles in Regenerative Therapies, Disease Modelling and Drug Screening. *Cells* 2021;10(9):2319. DOI: 10.3390/cells10092319
 19. Deb KD, Sarda K. Human embryonic stem cells: preclinical perspectives. *J Transl Med* 2008;6:7. DOI: 10.1186/1479-5876-6-7
 20. Wei L, Yan W, Shah W, Zhang Z, Wang M, Liu B, et al. Advancements and challenges in stem cell transplantation for regenerative medicine. *Heliyon* 2024;10(16):e35836. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e35836
 21. Maniar HH, Tawari AA, Suk M, Horwitz DS. The Current Role of Stem Cells in Orthopaedic Surgery. *Malays Orthop J* 2015;9(3):1-7. DOI: 10.5704/MOJ.1511.016
 22. Li X, Guan Y, Li C, Zhang T, Meng F, Zhang J, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in peripheral nerve injury. *Stem Cell Res Ther* 2022;13(1):18. DOI: 10.1186/s13287-021-02690-2
 23. Zhu C, Wu W, Qu X. Mesenchymal stem cells in osteoarthritis therapy: a review. *Am J Transl Res* 2021;13(2):448-61.
 24. Trapana J, Weinerman J, Lee D, Sedani A, Constantinescu D, Best TM, et al. Cell-based therapy in the treatment of musculoskeletal diseases. *Stem Cells Transl Med* 2024;13(10):959-78. DOI: 10.1093/stcltm/szae049
 25. Zhu Y, Yan J, Zhang H, Cui G. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes: A novel therapeutic agent for tendon-bone healing (Review). *Int J Mol Med* 2023;52(6):121. DOI: 10.3892/ijmm.2023.5324
 26. Hussien BM, Taheri M, Yashooa RK, Abdullah GH, Abdullah SR, Kheder RK, et al. Revolutionizing medicine: recent developments and future prospects in stem-cell therapy. *Int J Surg* 2024;110(12):8002-24. DOI: 10.1097/JS9.0000000000002109
 27. Aswini R, Angelin RR, Saranya B, Elumalai K. Nano delivery systems in stem cell therapy: Transforming regenerative medicine and overcoming clinical challenges. *Nano TransMed* 2024;100069. DOI: 10.1016/j.ntm.2024.100069
 28. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020. *Int J Mol Sci* 2020;21(20):7794. DOI: 10.3390/ijms21207794
 29. Zhu L, Li P, Qin Y, Xiao B, Li J, Xu W, et al. Platelet-rich plasma in orthopedics: Bridging innovation and clinical applications for bone repair. *J Orthop Surg* 2024;32(1): 10225536231224952. DOI: 10.1177/10225536231224952
 30. Emami A, Namdari H, Parvizpour F, Arabpour Z. Challenges in osteoarthritis treatment. *Tissue Cell*. 2022;80:101992. DOI: 10.1016/j.tice.2022.101992
 31. Jayaram P, Mitchell PJT, Shybut TB, Moseley BJ, Lee B. Leukocyte-Rich Platelet-Rich Plasma Is Predominantly Anti-inflammatory Compared With Leukocyte-Poor Platelet-Rich Plasma in Patients With Mild-Moderate Knee Osteoarthritis: A Prospective, Descriptive Laboratory Study. *Am J Sports Med* 2023;51(8):2133-40. DOI: 10.1177/03635465231170394
 32. Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Stojanovic P. Platelet Rich Plasma: a short overview of certain bioactive components. *Open Med (Wars)* 2016;11(1):242-7. DOI: 10.1515/med-2016-0048
 33. Wang J, Song Y, Xie W, Zhao J, Wang Y, Yu W. Therapeutic angiogenesis based on injectable hydrogel for protein delivery in ischemic heart disease. *iScience* 2023;26(5):106577. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106577
 34. Rodríguez-Merchán EC. Intra-Articular Platelet-Rich Plasma Injections in Knee Osteoarthritis: A Review of Their Current Molecular Mechanisms of Action and Their Degree of Efficacy. *Int J Mol Sci* 2022;23(3):1301. DOI: 10.3390/ijms23031301
 35. Zhou Y, Wang JH. PRP Treatment Efficacy for Tendinopathy: A Review of Basic Science Studies. *Biomed Res Int* 2016;2016:9103792. DOI: 10.1155/2016/9103792
 36. Pineda-Cortel MR, Suarez C, Cabrera JT, Daya M, Bernardo-Bueno MM, Vergara RC, et al. Biotherapeutic Applications of Platelet-Rich Plasma in Regenerative Medicine. *Tissue Eng Regen Med* 2023;20(6):811-28. DOI: 10.1007/s13770-023-00560-x

37. Popescu MN, Iliescu MG, Beiu C, Popa LG, Mihai MM, Berteau M, et al. Autologous Platelet-Rich Plasma efficacy in the field of regenerative Medicine: product and quality control. *Biomed Res Int* 2021;2021:1-6. DOI: 10.1155/2021/4672959
38. Asubiaro J, Avajah F. Platelet-Rich Plasma in Aesthetic Dermatology: Current Evidence and Future Directions. *Cureus* 2024;16(8):e66734. DOI: 10.7759/cureus.66734
39. Gharpinde MR, Pundkar A, Shrivastava S, Patel H, Chandanwale R. A Comprehensive Review of Platelet-Rich Plasma and Its Emerging Role in Accelerating Bone Healing. *Cureus* 2024;16(2):e54122. DOI: 10.7759/cureus.54122
40. Stanco D, Urbán P, Tirendi S, Ciardelli G, Barrero J. 3D bioprinting for orthopaedic applications: Current advances, challenges and regulatory considerations. *Bioprinting* 2020;20:e00103. DOI: 10.1016/j.bprint.2020.e00103
41. Mathur V, Agarwal P, Kasturi M, Srinivasan V, Seetharam RN, Vasanthan KS. Innovative bioinks for 3D bioprinting: Exploring technological potential and regulatory challenges. *J Tissue Eng* 2025;16:20417314241308022. DOI: 10.1177/20417314241308022
42. Chang J, Sun X. Laser-induced forward transfer based laser bioprinting in biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol* 2023;11:1255782. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1255782
43. Fang W, Yang M, Wang L, Li W, Liu M, Jin Y, et al. Hydrogels for 3D bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine: Current progress and challenges. *Int J Bioprint* 2023;9(5):759. DOI: 10.18063/ijb.759
44. Koch F, Thaden O, Conrad S, Tröndle K, Finkenzeller G, Zengerle R, et al. Mechanical properties of polycaprolactone (PCL) scaffolds for hybrid 3D-bioprinting with alginate-gelatin hydrogel. *J Mech Behav Biomed Mater* 2022;130:105219. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2022.105219
45. Perera K, Ivone R, Natekin E, Wilga CA, Shen J, Menon JU. 3D Bioprinted Implants for Cartilage Repair in Intervertebral Discs and Knee Menisci. *Front Bioeng Biotechnol* 2021;9:754113. DOI: 10.3389/fbioe.2021.754113
46. Yazdanpanah Z, Johnston JD, Cooper DM, Chen X. 3D Bioprinted Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State-Of-The-Art and Emerging Technologies. *Front Bioeng Biotechnol* 2022;10:824156. DOI: 10.3389/fbioe.2022.824156
47. Meng M, Wang J, Huang H, Liu X, Zhang J, Li Z. 3D printing metal implants in orthopedic surgery: Methods, applications and future prospects. *J Orthop Transl* 2023;42:94-112. DOI: 10.1016/j.jot.2023.08.004
48. Pathak K, Saikia R, Das A, Das D, Islam MA, Pramanik P, et al. 3D printing in biomedicine: advancing personalized care through additive manufacturing. *Explor Med* 2023;1135-67. DOI: 10.37349/emed.2023.00200
49. Agarwal T, Fortunato GM, Hann SY, Ayan B, Vajanthri KY, Presutti D, et al. Recent advances in bioprinting technologies for engineering cardiac tissue. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2021;124:112057. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112057
50. Jain P, Kathuria H, Dubey N. Advances in 3D bioprinting of tissues/organs for regenerative medicine and in-vitro models. *Biomaterials* 2022;287:121639. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121639
51. Ma Y, Deng B, He R, Huang P. Advancements of 3D bioprinting in regenerative medicine: Exploring cell sources for organ fabrication. *Heliyon* 2024;10(3):e24593. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e24593
52. Chen EP, Toksoy Z, Davis BA, Geibel JP. 3D Bioprinting of Vascularized Tissues for in vitro and in vivo Applications. *Front Bioeng Biotechnol* 2021;9:664188. DOI: 10.3389/fbioe.2021.664188
53. Kangari P, Talaei-Khozani T, Razeghian-Jahromi I, Razmkhah M. Mesenchymal stem cells: amazing remedies for bone and cartilage defects. *Stem Cell Res Ther* 2020;11(1):492. DOI: 10.1186/s13287-020-02001-1
54. Hwang JJ, Rim YA, Nam Y, Ju JH. Recent Developments in Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis. *Front Immunol* 2021;12:631291. DOI: 10.3389/fimmu.2021.631291
55. Patel H, Pundkar A, Shrivastava S, Chandanwale R, Jaiswal AM. A Comprehensive Review on Platelet-Rich Plasma Activation: A Key Player in Accelerating Skin Wound Healing. *Cureus* 2023;15(11):e48943. DOI: 10.7759/cureus.48943
56. Murali A, Khan I, Tiwari S. Navigating the treatment landscape: Choosing between platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) for knee osteoarthritis management - A narrative review. *J Orthop Rep* 2023;3(1):100248. DOI: 10.1016/j.jo-rep.2023.100248
57. Singh CV, Jain S. The Role of Platelet-Rich Plasma in the Management of Sensorineural Hearing Loss: Current Evidence and Emerging Trends. *Cureus* 2024;16(9):e68646. DOI: 10.7759/cureus.68646
58. Halper J. Narrative Review and Guide: State of the Art and Emerging Opportunities of Bioprinting in tissue regeneration and Medical Instrumentation. *Bioengineering* 2025;12(1):71. DOI: 10.3390/bioengineering12010071
59. Mirshafiei M, Rashedi H, Yazdian F, Rahdar A, Baino F. Advancements in tissue and organ 3D bioprinting: Current techniques, applications, and future perspectives. *Mater Des* 2024;240:112853. DOI: 10.1016/j.matdes.2024.112853
60. El-Kadiry AE, Rafei M, Shammaa R. Cell Therapy: Types, Regulation, and Clinical Benefits. *Front Med* 2021;8:756029. DOI: 10.3389/fmed.2021.756029
61. Cole BJ, Seroyer ST, Filardo G, Bajaj S, Fortier LA. Platelet-rich plasma: where are we now and where are we going?. *Sports Health* 2010;2(3):203-10. DOI: 10.1177/1941738110366385
62. Liang K. Tissue Bioprinting: Promise and Challenges. *Bioengineering (Basel)* 2023;10(12):1400. DOI: 10.3390/bioengineering10121400
63. Schneider N, Sinnott M, Patel N, Joseph R. The Use of Platelet-Rich Plasma and Stem Cell Injections in Musculoskeletal Injuries. *Cureus* 2024;16(5):e59970. DOI: 10.7759/cureus.59970
64. Qian Y, Han Q, Chen W, Song J, Zhao X, Ouyang Y, et al. Platelet-Rich Plasma Derived Growth Factors Contribute to Stem Cell Differentiation in Musculoskeletal Regeneration. *Front Chem* 2017;5:89. DOI: 10.3389/fchem.2017.00089
65. Ntege EH, Sunami H, Shimizu Y. Advances in regenerative therapy: A review of the literature and future directions. *Regen Ther* 2020;14:136-53. DOI: 10.1016/j.reth.2020.01.004
66. Kleiderman E, Boily A, Hasilo C, Knoppers BM. Overcoming barriers to facilitate the regulation of multi-centre regenerative medicine clinical trials. *Stem Cell Res Ther* 2018;9(1):307. DOI: 10.1186/s13287-018-1055-2
67. Roca JB, Vaishnav P, Morgan M, Mendonça J, Fuchs E. When risks cannot be seen: Regulating uncertainty in emerging technologies. *Res Policy* 2017;46(7):1215-33. DOI: 10.1016/j.respol.2017.05.010

68. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1):68. DOI: 10.1186/s13287-019-1165-5
69. Kandi V, Vadakedath S. Clinical Trials and Clinical Research: A Comprehensive Review. *Cureus* 2023;15(2):e35077. DOI: 10.7759/cureus.35077
70. Volarevic V, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic A, Jovicic N, Arsenijevic N, et al. Ethical and Safety Issues of Stem Cell-Based Therapy. *Int J Med Sci* 2018;15(1):36-45. DOI: 10.7150/ijms.21666
71. Goyal Y. The Moral Implications of Genetic Engineering. *Int J Adv Res* 2023;11(08):1094-8. DOI: 10.21474/ijar01/17495
72. Beheshtizadeh N, Gharibshahian M, Pazhouhnia Z, Rostami M, Zangi AR, Maleki R, et al. Commercialization and regulation of regenerative medicine products: Promises, advances and challenges. *Biomed Pharmacother* 2022;153:113431. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113431
73. Devi K, Joga R, Srivastava S, Nagpal K, Dhamija I, Grover P, et al. Regulatory landscape and challenges in CAR-T cell therapy development in the US, EU, Japan, and India. *Eur J Pharm Biopharm* 2024;201:114361. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114361
74. Chiticaru EA, Ioniță M. Commercially available bioinks and state-of-the-art lab-made formulations for bone tissue engineering: a comprehensive review. *Mater Today Bio* 2024;29:101341. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101341
75. Ansori AN, Antonius Y, Susilo RJ, Hayaza S, Kharisma VD, Parikesit AA, et al. Application of CRISPR-Cas9 genome editing technology in various fields: A review. *Narra J* 2023;3(2):e184. DOI: 10.52225/narra.v3i2.184
76. Farag VE, Devey EA, Leong KW. The Interface of Gene Editing with Regenerative Medicine. *Engineering* 2024. DOI: 10.1016/j.eng.2024.10.019
77. Wang H, Yu H, Zhou X, Zhang J, Zhou H, Hao H, et al. An Overview of Extracellular Matrix-Based Bioinks for 3D Bioprinting. *Front Bioeng Biotechnol* 2022;10:905438. DOI: 10.3389/fbioe.2022.905438
78. Gungor-Ozkerim PS, Inci I, Zhang YS, Khademhosseini A, Dokmeci MR. Bioinks for 3D bioprinting: an overview. *Biomater Sci* 2018;6(5):915-946. DOI: 10.1039/c7bm00765e
79. Zhang Z, Zhou X, Fang Y, Xiong Z, Zhang T. AI-driven 3D bioprinting for regenerative medicine: From bench to bedside. *Bioact Mater* 2024;45:201-30. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2024.11.021
80. Zhang S, Chen X, Shan M, Hao Z, Zhang X, Meng L, et al. Convergence of 3D bioprinting and nanotechnology in tissue engineering scaffolds. *Biomimetics* 2023;8(1):94. DOI: 10.3390/biomimetics8010094
81. Hasan A, Morshed M, Memic A, Hassan S, Webster TJ, Marei HE. Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects. *Int J Nanomedicine* 2018;13:5637-55. DOI: 10.2147/IJN.S153758
82. Alzoubi L, Aljabali AA, Tambuwala MM. Empowering Precision Medicine: The impact of 3D printing on personalized Therapeutic. *AAPS PharmSciTech* 2023;24(8):228. DOI: 10.1208/s12249-023-02682-w