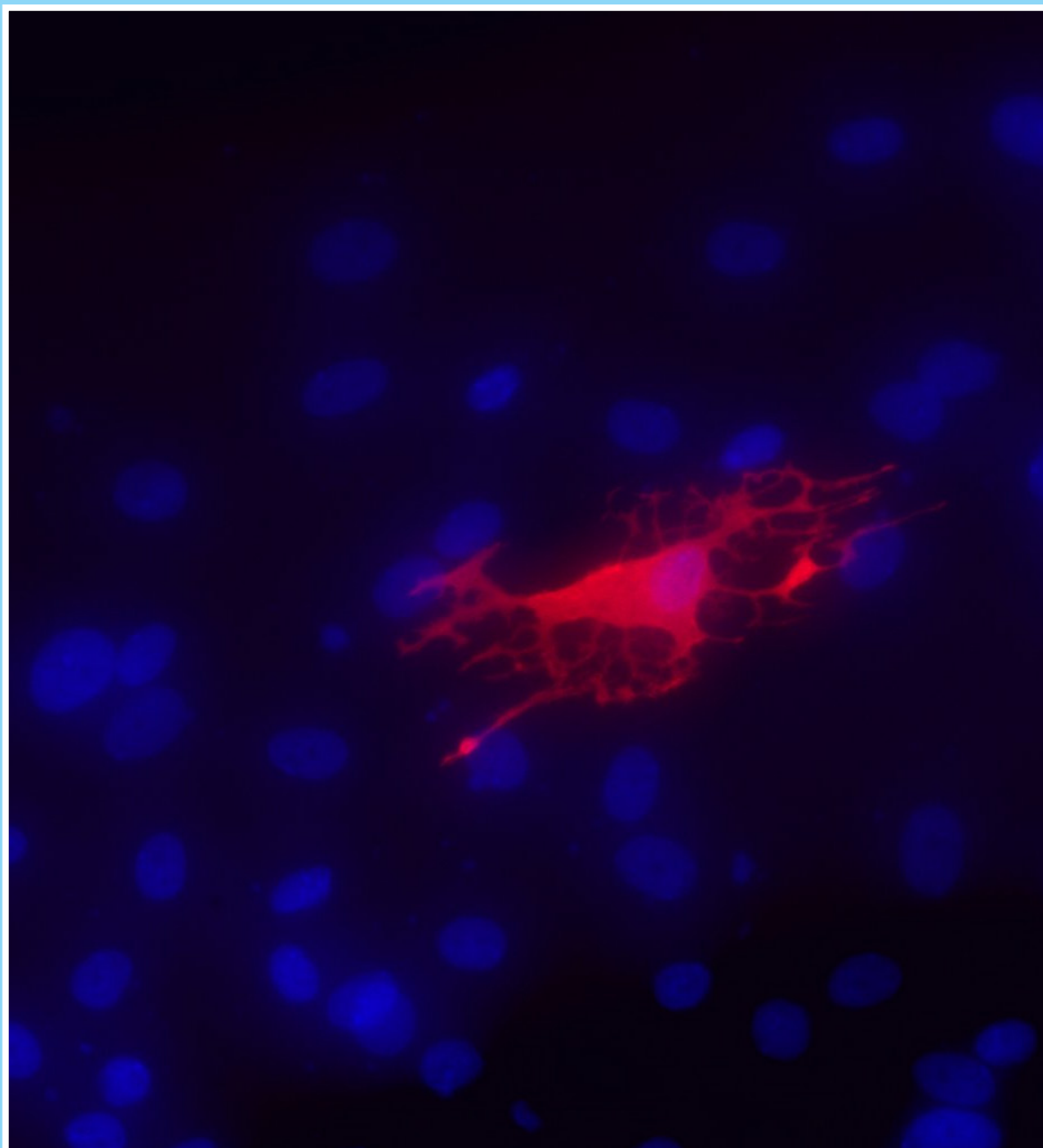




Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral

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 2026. 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 2025): 0,1 / 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: JDelgadocalle@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 Gifre Sala

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

Correo electrónico: lgifre.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 A. 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**

Presidenta

Cristina Carbonell Abella

Vicepresidenta

Laia Gifre Sala

Secretario

Íñigo Etxebarria Foronda

Tesorera

Àngels Martínez Ferrer

Vocales

Beatriz García Fontana
Jesús Mora Fernández



Revista de Osteoporosis
y Metabolismo Mineral

Sumario

Vol. 18 ■ Julio-Septiembre ■ N.º 3

Originales

- Prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes con factores de riesgo: estudio observacional, multicéntrico y transversal (proyecto PREVIFAC)**
C. Valdés Llorca 79
- Cultural adaptation and validation of the Indonesian version of QUALEFFO-41 in patients with osteoporosis**
P. W. Nurikhwana, Z. Noor 89
- Modulación osteogénica mediante estimulación eléctrica: estudio *in vitro* en osteoblastos humanos**
E. Fernández-Díaz, J. Bocío, D. Martín, M. Á. Vázquez, P. Chacón, M. Colmenero, M. Á. Rico, A. Yufera, M. J. Montoya-García, M. Giner 101
- Failure of the mechanical response as a cell-intrinsic effect in osteoblastic cell lines with *GBA1* mutations used as models of Gaucher bone disease**
S. Heredero-Jiménez, J. D. Patiño-Salazar, E. Martín-Guerrero, N. Martínez-Gil, M. Cozar, D. Ovejero, X. Nogués, L. Cinque, A. R. Gortázar, D. Grinberg, S. Balcells, N. García-Giralt, R. Rabionet, J. A. Ardura 110

Revisión

- Narrative literature review of ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region following a case detected by ¹⁸F-FCH PET/CT**
N. Ortega Beltrá, J. Izquierdo Luzón, V. F. Gil Guillén, J. J. Mira Solves, F. J. Cerdán Baeza 118

Nota Clínica

- Fracturas de sacro por insuficiencia ósea: diagnóstico olvidado en el dolor lumbar del adulto mayor**
D. Ionescu Lupsa, N. Bravo Martín, M. J. Moro-Álvarez, J. Atance García de la Santa, L. de Pablo Zurdo 126

Imagen de portada:

Osteoblastos humanos sometidos a electroestimulación (500 mV, 100 Hz). Células aisladas a partir de una biopsia de paciente sometido a artroplastia de rodilla (rojo: hOB mCherry célula transfectada; azul: núcleos).

E. Fernández-Díaz, J. Bocío, D. Martín, M. Á. Vázquez, P. Chacón, M. Colmenero, M. Á. Rico, A. Yufera, M. J. Montoya-García, M. Giner. Modulación osteogénica mediante estimulación eléctrica: estudio in vitro en osteoblastos humanos. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):101-109. DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00118

Original

Prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes con factores de riesgo: estudio observacional, multicéntrico y transversal (proyecto PREVIFAC)

Carmen Valdés Llorca

Centro de Salud Fuencarral. Madrid

Resumen

Introducción: el déficit de vitamina D puede ser la causa o el factor predisponente en muchas enfermedades.**Objetivo:** determinar la prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes con presencia de factores de riesgo.**Material y métodos:** estudio observacional multicéntrico y transversal, en el que investigadores de todo el territorio nacional seleccionaron a los 3 primeros pacientes con factores de riesgo de déficit de vitamina D durante 3 días consecutivos. En la consulta se realizaba el test de autodiagnóstico Vitamin D Test® (PRIMA Home Test) para clasificar el nivel de vitamina D en "excesivo", "suficiente", "insuficiente" y "deficiente".**Resultados:** un total de 261 investigadores seleccionaron a 771 pacientes (76,3 % mujeres) con una edad media de $62,0 \pm 15,6$ años y un índice de masa corporal (IMC) de $27,7 \pm 5,3$ kg/m². El 70,8 % de los pacientes presentaban unos niveles de vitamina D clasificados como "insuficientes" o "deficientes". Los factores de riesgo significativos en el análisis bivariante incluían: aporte alimentario insuficiente, escasa exposición a la luz solar, osteoporosis, obesidad, insuficiencia renal crónica e hiperparatiroidismo. En el análisis multivariante, los factores de riesgo independientes fueron la osteomalacia (odds ratio [OR] 4,12), la escasa exposición solar (OR 2,49), la osteoporosis (OR 1,97) y la obesidad (IMC > 30 kg/m²) (OR 1,65).**Conclusiones:** se ha detectado una alta prevalencia del déficit de vitamina D (71 %) mediante un test de cribado, así como la osteomalacia, la escasa exposición a la luz solar, la osteoporosis y la obesidad como factores asociados a niveles deficientes-insuficientes de vitamina D.

Palabras clave:

Déficit de vitamina D. Factores de riesgo. Obesidad. Osteoporosis. Prevalencia. Exposición solar.

Recibido: 30/09/2025 • Aceptado: 01/06/2025

Agradecimientos: la autora agradece el apoyo de Saned from Medscape en el desarrollo del proyecto y coordinación del estudio y a la Dra. Marta Pulido por su colaboración en la redacción del manuscrito y soporte editorial.

Financiación: este estudio ha sido financiado por Ferrer Internacional, S.A., sin participar en modo alguno en el diseño, implementación o interpretación de los resultados.

Aspectos éticos: este estudio ha sido desarrollado cumpliendo con la Declaración de Helsinki. Todos los participantes dieron su consentimiento informado antes de su participación en el estudio.

Conflictos de interés: la autora declara no tener conflictos de interés.

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

Valdés Llorca C. Prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes con factores de riesgo: estudio observacional, multicéntrico y transversal (proyecto PREVIFAC). Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):79-88

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00100

Correspondencia:

Carmen Valdés Llorca. Centro de Salud Fuencarral. Calle de la Isla de Java, 53. 28034 Madrid
e-mail: mamenvll@icloud.com

INTRODUCCIÓN

La vitamina D es una vitamina liposoluble esencial para la homeostasis del calcio y la mineralización ósea; el aporte dietético y especialmente la síntesis cutánea por la luz solar son las principales fuentes de colecalciferol (vitamina D₃) (1-4). La medición de la concentración plasmática de 25-hidroxivitamina D, abreviada 25(OH)D, es el método estándar para determinar el estado corporal de la vitamina D, aunque existen ciertas discrepancias respecto a los niveles mínimos de normalidad establecidos para la población general (>20 o 30-50 ng/ml) (5-7), así como para los criterios de hipovitaminosis (20-30 ng/ml), insuficiencia (10-20 ng/ml) y deficiencia (< 10 ng/ml) de dicha vitamina (8).

La relevancia del déficit de vitamina D como factor causal o asociado a numerosas enfermedades crónicas ha sido un foco de creciente interés, dado el aumento de su prevalencia en las últimas décadas, que afecta a diferentes grupos de edad e incrementa notablemente la carga global de las enfermedades a escala mundial (9,10). Los datos de estudios observacionales indican que aproximadamente un 40 % de la población europea presenta hipovitaminosis D y un 13 % déficit grave de esta vitamina (11). En España, 4 de cada 10 habitantes menores de 65 años, y 8 de cada 10 personas mayores de 65 años presentan insuficiencia o deficiencia de vitamina D (12). Además de la importancia crítica de la vitamina D en el metabolismo del calcio y la salud musculoesquelética, es un nutriente esencial para la regulación del crecimiento celular, el sistema cardiovascular y la inmunomodulación innata o adquirida, y se ha identificado el receptor nuclear de la vitamina D en casi todas las células del organismo (13). La falta de vitamina D estimula la secreción de la hormona paratiroidea (PTH), incrementa el remodelado óseo, la pérdida de densidad mineral y la calidad ósea, y aumenta por ello el riesgo de osteoporosis, la fragilidad ósea y las fracturas osteoporóticas. En un metaanálisis de 86 estudios con una muestra poblacional de más de 103 millones de personas de edades entre los 15 y 105 años, la prevalencia global de osteoporosis era del 18,3 % y aumentaba al 23,1 % en las mujeres frente al 11,7 % en los varones (14). La incidencia global de fracturas osteoporóticas varía entre 500 y 1000 por 100 000 personas-año en adultos de más de 50 años, aumenta con la edad y es más frecuente en las mujeres (15). Por todo ello, la osteoporosis con déficit de vitamina D representa un grave problema de salud con importantes repercusiones en la calidad de vida de los pacientes y en la carga económica de los sistemas sanitarios (16,17).

Los factores de riesgo para el déficit de vitamina D son numerosos, incluyendo la baja exposición solar, la edad avanzada, la piel oscura, el índice de masa corporal (IMC), la reducción del aporte dietético o de la absorción de la vitamina (por ejemplo, enfermedad celíaca), la disminución de la síntesis endógena por cirrosis hepática, insuficiencia renal o hipoparatiroidismo, y el aumento del catabolismo hepático por el uso de al-

gunos fármacos que afectan a las enzimas hepáticas del citocromo P450 acelerando la degradación de la vitamina D en metabolitos inactivos (18-21).

Si bien los factores de riesgo del déficit de vitamina D en general han sido ampliamente estudiados, la evidencia del déficit de vitamina D en sujetos con factores de riesgo es limitada. Por ello, se ha efectuado un estudio basado en datos de la vida real para determinar la prevalencia del déficit de vitamina D en España en pacientes que presentan factores de riesgo o asociados a hipovitaminosis D.

MÉTODOS

DISEÑO Y PARTICIPANTES

Se diseñó un estudio observacional, transversal y multicéntrico que incluía todo el territorio español (proyecto PREVIFAC, acrónimo de prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes con factores de riesgo) en el marco de las consultas médicas de diferentes especialidades, incluyendo Medicina Familiar y Comunitaria / Atención Primaria, Endocrinología y Nutrición, Medicina Interna / General, Reumatología y Geriátrica, entre otras, que corresponden a profesionales que en su práctica habitual atendían a pacientes con factores de riesgo para el déficit de vitamina D. El objetivo principal del estudio era determinar la prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes que presentaban factores de riesgo. Los objetivos secundarios eran evaluar las características sociodemográficas y clínicas del paciente con déficit de vitamina D, identificar los factores de riesgo predominantes para la hipovitaminosis D y analizar la relación entre los factores de riesgo y la deficiencia de vitamina D.

Los criterios de inclusión de los pacientes eran los siguientes: edad mayor de 18 años y presencia de al menos uno de los siguientes factores de riesgo o asociados al déficit de vitamina D: raquitismo, osteomalacia, osteoporosis, enfermedad renal crónica, síndromes de malabsorción intestinal, enfermedad celíaca, obesidad (IMC > 30 kg/m²); baja exposición solar (menos de 2 minutos/día sin protección solar), edad avanzada (más de 65 años), población no caucásica, uso de fármacos que pudieran afectar el nivel de 25(OH)D (anticonvulsivantes, glucocorticoides, antifúngicos, colestiramina y antirretrovirales empleados frente al VIH), hipertiroidismo, enfermedades granulomatosas (tuberculosis, coccidiomicosis, etc.), ancianos con historia de caídas o fracturas no traumáticas (al menos dos caídas o fracturas no traumáticas en el último año), embarazo y lactancia, así como firma del consentimiento informado. Los criterios de exclusión eran pacientes menores de 18 años de edad, pacientes institucionalizados y aquellos que se negaron a firmar el consentimiento.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital Clínico San Carlos (código 22/698-E, aprobado el 23 de diciembre de 2022) de Madrid (España). Todos los pacientes firmaron por escrito el consentimiento informado.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Se seleccionaron 136 centros médicos para participar en el estudio, en los que como mínimo hubiera un especialista que ejerciera su actividad profesional en cada uno de ellos. A fin de asegurar una participación representativa a nivel nacional, al menos uno de los centros debía pertenecer a cada una de las comunidades autónomas del país. La participación de los médicos era anónima y voluntaria. Cada investigador, tras dar su consentimiento, reclutaba a 3 pacientes que cumplieran los criterios de inclusión y firmaban el consentimiento informado. A fin de que la selección de los pacientes fuera lo más aleatoria posible, se estableció el criterio de incluir al primer paciente elegible que acudía a la consulta durante 3 días consecutivos.

Durante la consulta y para cada paciente incluido en el estudio se recogieron datos sociodemográficos (sexo, edad, estado civil, convivencia, nivel de estudios, ocupación); variables clínicas y estilo de vida (datos antropométricos, hábito tabáquico, consumo de alcohol y consumo de cafeína); y factores de riesgo o factores asociados al déficit de vitamina D que coincidían con las variables establecidas en los criterios de inclusión (raquitismo, osteomalacia, osteoporosis, etc.). Asimismo, se efectuó un cribado de la deficiencia de la vitamina D utilizando el *kit* Vitamin D Test® (PRIMA Home Test, PRIMA Lab, S.A., Balerna, Suiza) (<https://primalabsa.ch/en/home/check-up/vitamin-d-test/>). Se trata de un test de autodiagnóstico rápido y de fácil ejecución que precisa una gota de sangre por punción digital. El test es un inmunoensayo basado en el principio de unión competitiva a proteínas que permite clasificar el nivel de vitamina D en “excesivo”, “suficiente”, “insuficiente” y “deficiente”, con un rango de medición de 10 a 100 ng/ml y una precisión de 94,4 % (intervalo de confianza [IC] del 95 %: 87,6-97,6 %). Los valores de vitamina D corresponden a > 100 ng/ml para “excesivo”, de 30 a 100 ng/ml para “suficiente”, de 10 a 30 ng/ml para “insuficiente” y de 0 a 10 ng/ml para “deficiente” de acuerdo con los datos proporcionados por el fabricante.

El estudio se desarrolló durante un periodo de 20 meses (mayo de 2023 a diciembre de 2024). El díptico de presentación del proyecto PREVIFAC contenía la URL en la que estaban disponibles los materiales del estudio y una contraseña de acceso personalizada. Además de la información correspondiente a los pacientes (Tabla suplementaria I - <https://www.revista-deosteoporosisymetabolismomineral.com/files/535/ADMA1-00100-03.pdf>), también se recogían datos de

los investigadores (edad y sexo, especialidad, años de ejercicio, participación en programas de formación o proyectos de investigación sobre vitamina D).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el objetivo de obtener un estimador no sesgado de la distribución de los resultados del Vitamin D Test® en la población cuando la variable de respuesta es discreta, y asumiendo muestreo aleatorio simple en la zona en estudio, se calculó un tamaño muestral de 822 participantes, considerando un margen de error del 3 %, para un nivel de confianza del 95 % y con una heterogeneidad del 50 %. Las variables categóricas se expresan en frecuencias y porcentajes, y las variables continuas en medias y desviación estándar ($\pm$ DE) con los IC del 95 %. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para la comparación de las variables cualitativas y la prueba de la *t* de Student o el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para las variables cuantitativas o las pruebas no paramétricas de la *U* de Mann-Whitney o de Kruskal-Wallis en función de las condiciones de aplicación. En el análisis bivariado se analizó la asociación de cada uno de los factores de riesgo con el déficit de vitamina D, combinando las categorías de “insuficiente” y “deficiente”, expresándose los resultados mediante la *odds ratio* (OR) y los IC del 95 %. Los factores de riesgo con una $p > 0,1$ en el análisis bivariado se incluyeron en un modelo de regresión logística para identificar las variables independientes asociadas con un déficit de vitamina D. Se aceptó un nivel de significación estadística del 0,05. Todos los cálculos se realizaron mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis Systems, SAS Institute, Cary, NC, USA) versión 9,4.

RESULTADOS

DATOS DE LOS INVESTIGADORES

En este estudio participaron un total de 261 investigadores de todo el territorio nacional, 179 varones y 82 mujeres, con una edad media de $54,5 \pm 10,9$ años. Las principales especialidades con mayor participación fueron Medicina Familiar y Comunitaria incluyendo Atención Primaria (43,3 %), Medicina General / Interna (26,8 %), Endocrinología y Nutrición (18,4 %), Reumatología (6,1 %), Cirugía Ortopédica y Traumatología (1,1 %) y Obstetricia y Ginecología (1,1 %). Respecto a los años de experiencia en su práctica profesional, el 86,7 % tenían más de 10 años, el 8 % entre 5 y 10 años y el 5 % menos de 5 años. Asimismo, en los últimos 12 meses, el 38,7 % de los participantes indicó que había participado en algún programa de formación sobre vitamina D, pero solamente un 5,4 % había participado en algún proyecto de investigación sobre vitamina D, además de este estudio.

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Se incluyeron en el estudio un total de 771 pacientes (76,3 % mujeres) con una edad media de $62,0 \pm 15,6$ años

(IC del 95 % 60,9-63,1) y un IMC de $27,7 \pm 5,3$ kg/m². Los principales datos sociodemográficos, clínicos y de estilo de vida se describen en la tabla I. La mayoría de los pacientes estaban casados o en pareja (62,0 %), vivían

Tabla I. Características sociodemográficas, clínicas y estilo de vida de los 771 pacientes incluidos en el estudio

Variables	Número (%)
Sexo	
Varón	183 (23,7)
Mujer	588 (76,3)
Edad, años, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$62,0 \pm 15,6$ (60,9-63,1)
Estado civil	
Casado / en pareja	478 (62,0)
Viudo	148 (19,2)
Soltero	91 (11,8)
Separado / divorciado	54 (7,0)
Convivencia	
Con pareja o familia propia	532 (69,0)
Solo / sola	175 (22,7)
Con familia de origen	64 (8,3)
Nivel de estudios	
Estudios primarios, EGB o similar finalizados	190 (24,6)
Estudios secundarios, BUP, FP grado medio	129 (16,7)
FP grado superior/bachillerato finalizado o COU	130 (16,9)
Estudios universitarios finalizados	284 (36,8)
Sin estudios	38 (4,9)
Ocupación	
Incapacidad laboral	9 (1,2)
Baja laboral	13 (1,7)
Parado, sin incapacidad laboral	28 (3,6)
En activo / estudiante / ama de casa	367 (47,6)
Jubilado	354 (45,9)
Índice de masa corporal (ICM), kg/m ² , media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$27,7 \pm 5,3$ (27,3-28,1)
Hábito tabáquico	
Fumador	94 (12,2)
¿Cuántos años tenía cuando empezó a fumar?, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$20,2 \pm 7,6$ (18,6-21,7)
Exfumador	160 (20,7)
¿Cuántos años hace que dejó de fumar?, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$15,0 \pm 19,3$ (13,4-16,6)
¿Durante cuántos años fumó?, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$23,2 \pm 11,7$ (21,4-25,0)
No fumador	517 (67,1)
Consumo de alcohol a diario	
No	671 (87,0)
Sí	100 (13,0)
¿Cuántas unidades (UBE) consume?, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$2,4 \pm 1,6$ (2,1-2,7)
Consumo de cafeína a diario	
No	279 (36,2)
Sí	492 (63,8)
Tazas de café, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$2,2 \pm 1,1$ (2,1-2,3)
Vasos de bebidas que contienen cafeína, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$0,7 \pm 1,2$ (0,6-0,8)
Suma de ambos, media $\pm$ DE (IC del 95 %)	$2,9 \pm 1,7$ (2,7-3,0)

DE: desviación estándar; IC: intervalo de confianza; EGB: enseñanza general básica; BUP: bachillerato unificado polivalente; FP: formación profesional; COU: curso de orientación universitaria; UBE: unidad de bebida estándar equivale a 10 g de alcohol. Datos expresados como frecuencias y porcentajes a menos que se indique otra expresión.

con pareja o familia propia (69,0 %), habían finalizado estudios universitarios (36,8 %), laboralmente estaban en activo (47,6 %) o estaban jubilados (45,9 %), eran no fumadores (67,1 %) y no consumían alcohol diariamente (87,0 %). Un 12,2 % de los participantes eran fumadores activos y un 20,7 % exfumadores. Los fumadores habían empezado a fumar a la edad de $20,2 \pm 7,6$ años y los exfumadores hacía $15,0 \pm 19,3$ años que habían dejado de fumar. En el 13,0 % de los pacientes que consumían bebidas alcohólicas a diario, la media de unidades de bebida estándar (UBE) era de $2,4 \pm 1,6$. Finalmente, la mayoría de los pacientes (63,8 %) consumían cafeína a diario con una media de tazas de café y bebidas con cafeína de $2,9 \pm 1,7$.

CRIBADO DEL DÉFICIT DE VITAMINA D Y FACTORES DE RIESGO

De acuerdo con los resultados del Vitamin D Test®, el 70,8 % de los pacientes presentaban unos niveles de vitamina D que correspondían a las categorías de “in-

suficiente” o “deficiente” y solamente un 28,5 % tenía niveles “suficiente” (Fig. 1).

La distribución de los factores de riesgo de déficit de vitamina D en la población de estudio se muestran en la tabla II. Los factores más frecuentes fueron la escasa exposición a la luz solar (66,5 %), edad avanzada (> 65 años) (50,8 %), uso de cremas con filtro (factor de protección > 8) (49,7 %), osteoporosis (42,0 %), obesidad (IMC > 30 kg/m²) (34,0 %), aporte alimentario insuficiente en términos generales (22,1 %), insuficiencia renal crónica (14,4 %), historia de caídas o fracturas no traumáticas en el anciano (14,1 %) y tratamiento con glucocorticoides (10,5 %). En el análisis bivariado, los factores de riesgo que mostraron una asociación estadísticamente significativa con el déficit de vitamina D fueron la presencia de hiperparatiroidismo (OR 3,13), escasa exposición a la luz solar (OR 2,43), aporte alimentario insuficiente (OR 1,89), osteoporosis (OR 1,81), insuficiencia renal crónica (OR 1,78) y obesidad (OR 1,52) (Tabla III). En el análisis multivariado, los factores de riesgo independientes del déficit de vitamina D eran la osteomalacia (OR 4,12), la escasa exposición a la luz solar (OR 2,49), la osteoporosis (OR 1,97) y la obesidad (OR 1,65) (Tabla IV).

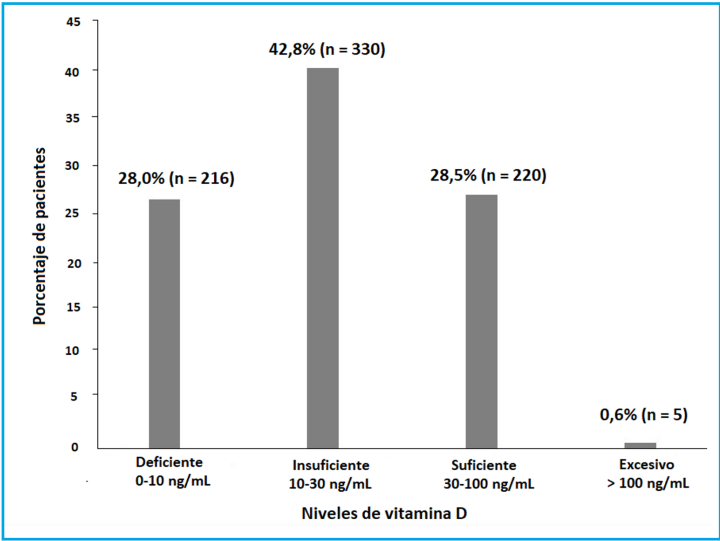


Figura 1. Distribución de los pacientes en función de los resultados del Vitamin D Test® (PRIMA Home Test).

Tabla II. Distribución de los factores de riesgo o asociados al déficit de vitamina D en la población de estudio	
Factor de riesgo	Número (%)
Escasa exposición a la luz solar (menos de unos minutos al día sin protección) (n = 770)	512 (66,5)
Edad avanzada (> 65 años) (n = 770)	391 (50,8)
Uso de cremas con filtro de radiaciones ultravioletas (factor de protección > 8) (n = 726)	361 (49,7)
Osteoporosis (n = 742)	312 (42,0)
Obesidad (IMC > 30 kg/m²) (n = 768)	261 (34,0)
Alimentación insuficiente (n = 728)	161 (22,1)

(Continúa en página siguiente)

Tabla II (cont). Distribución de los factores de riesgo o asociados al déficit de vitamina D en la población de estudio

Factor de riesgo	Número (%)
Insuficiencia renal crónica (n = 765)	110 (14,4)
Anciano con historia de caídas o fracturas no traumáticas (al menos 2 caídas o fracturas no traumáticas en el último año) (n = 767)	108 (14,1)
Tratamiento con glucocorticoides (n = 764)	80 (10,5)
Enfermedades intestinales y cirugía digestiva (n = 764)	72 (9,4)
Población no caucásica (n = 763)	63 (8,3)
Hipertiroidismo (n = 765)	50 (6,5)
Embarazo y lactancia (n = 765)	43 (5,6)
Hiperparatiroidismo (n = 760)	41 (5,4)
Colestasis crónica y cirrosis biliar primaria (n = 763)	40 (5,2 %)
Osteomalacia (n = 757)	36 (4,8)
Síndrome nefrótico (n = 765)	23 (3,0)
Hipoparatiroidismo (n = 759)	22 (2,9)
Tratamiento con anticonvulsivantes (n = 762)	21 (2,8)
Hepatopatía crónica grave / cirrosis hepática (n = 766)	20 (2,6)
Cirrosis biliar primaria (n = 763)	18 (2,4)
Tratamiento con antifúngicos (n = 761)	16 (2,1)
Tratamiento con colestiramina (n = 763)	15 (2,0)
Insuficiencia pancreática (p.ej., fibrosis quística) (n = 763)	14 (1,8)
Tratamiento con antirretrovirales para el VIH (n = 764)	12 (1,6)
Pseudohiperparatiroidismo (n = 760)	12 (1,6)
Raquitismo (n = 762)	12 (1,6)
Enfermedad de Paget ósea (n = 764)	12 (1,6)
Tratamiento con tuberculostáticos (n = 765)	11 (1,4)
Enfermedades granulomatosas crónicas (n = 766)	11 (1,4)

IMC: índice de masa corporal; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. Número de pacientes para cada factor de riesgo entre paréntesis.

Tabla III. Factores de riesgo asociados con un déficit de vitamina D

Factores de riesgo	Categorías "deficiente-insuficiente" (Vitamin D Test®)	
	Odds ratio (IC del 95 %)	Valor de la p
Hiperparatiroidismo (sí vs. no)	3,13 (1,21-8,09)	< 0,05
Escasa exposición a la luz solar (menos de unos minutos al día sin protección) (sí vs. no)	2,43 (1,76-3,35)	< 0,05
Aporte alimentario insuficiente (sí vs. no)	1,89 (1,24-2,88)	< 0,05
Osteoporosis (sí vs. no)	1,81 (1,30-2,53)	< 0,05
Insuficiencia renal crónica (sí vs. no)	1,78 (1,09-2,93)	< 0,05
Obesidad (IMC > 30 kg/m ²) (sí vs. no)	1,52 (1,08-2,14)	< 0,05

IC: intervalo de confianza; IMC: índice de masa corporal.

Tabla IV. Resultados del análisis multivariado: probabilidad de presentar un déficit de vitamina D en función de la presencia de factores de riesgo

Factor de riesgo	χ^2 Wald test (grados de libertad)	Odds ratio (IC del 95)	Valor de la p
Osteomalacia (sí vs. no)	5,05 (1)	4,12 (1,20-14,18)	0,0246
Escasa exposición a la luz solar (menos de unos minutos al día sin protección) (sí vs. no)	26,37 (1)	2,49 (1,76-3,52)	< 0,001
Osteoporosis (sí vs. no)	13,38 (1)	1,97 (1,37-2,82)	0,0003
Obesidad (IMC > 30 kg/m ²) (sí vs. no)	6,60 (1)	1,65 (1,13-2,42)	0,010

IC: intervalo de confianza; IMC: índice de masa corporal. *Test de Hosmer-Lemeshow*, $p = 0,8429$ para el ajuste global del modelo. Se ha analizado la relación entre los factores del modelo final y no se ha detectado ninguna relación estadísticamente significativa entre ellos.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio evidencian que el 71 % de la muestra de población española con factores de riesgo presenta déficit de vitamina D. Los factores de riesgo o factores asociados al déficit de vitamina D con significación estadística eran la escasa exposición a la luz solar, la osteoporosis, la osteomalacia, el aporte dietético insuficiente de vitamina D, la obesidad, la insuficiencia renal crónica y el hiperparatiroidismo. Estos hallazgos coinciden con los datos de otros estudios que han evaluado el déficit de vitamina D en poblaciones con factores de riesgo específicos.

La escasa exposición a la luz solar, definida como menos de unos minutos al día sin protección, era un factor de riesgo en el 66,5 % de los pacientes, y destaca como uno de los factores de riesgo predominantes. Asimismo, la presencia de este factor incrementaba 2,49 veces las probabilidades del déficit de la vitamina D. En la mayoría de las personas, la producción de vitamina D por exposición a la radiación ultravioleta B (UVB) del sol representa más del 80 % del total de vitamina D. Además de la duración de la exposición solar, el color de la piel, la localización geográfica, la estación del año y la latitud y altitud impactan notablemente en la síntesis cutánea de vitamina D (22-24). Por otra parte, la vitamina D podría intervenir en el posible efecto preventivo de la exposición a la luz solar para algunos tipos de cáncer (próstata, mama, colorrectal) (25). Para la población general caucásica, se recomienda una exposición solar diaria de aproximadamente 15 minutos en cara y brazos entre los meses de marzo y octubre, con factor de protección entre 15 y 30, según la latitud y la intensidad de la radiación (26).

Respecto a algunas enfermedades determinadas, la osteomalacia y la osteoporosis han demostrado una fuerte asociación con el déficit de vitamina D, especialmente la osteomalacia (OR 4,12), lo que coincide la evidencia sólida de la relación entre los niveles de 25(OH)D y la mineralización ósea (27-32). El confina-

miento debido a la edad, a hábitos culturales o al clima, o la hiperpigmentación cutánea son factores que se han relacionado con una síntesis cutánea insuficiente y con el desarrollo de osteomalacia. En un estudio de inmigrantes asiáticos residentes en Inglaterra se ha descrito una prevalencia de osteomalacia del 13,5 %, que se ha relacionado con la dieta vegetariana estricta y el uso de indumentarias que cubren la mayor parte del cuerpo, especialmente en las mujeres (31). La depleción de vitamina D es muy frecuente en la enfermedad celíaca y algunas series confirman el desarrollo de osteomalacia hasta en el 50 % de estos pacientes (32). Por otra parte, las hepatopatías crónicas graves, la insuficiencia renal crónica, el aumento del catabolismo de la vitamina D o la disminución de la reabsorción tubular de fosfatos se han descrito como causas de osteomalacia (33). En pacientes con osteomalacia es necesario determinar los niveles de vitamina D y establecer el tratamiento adecuado.

La osteoporosis estaba presente en un 42 % de los pacientes. La osteoporosis, la fragilidad ósea y las fracturas osteoporóticas representan un problema de salud de gran magnitud a escala mundial, no solo por la complejidad multifactorial de esta patología, con un aumento del riesgo de muerte y discapacidad e impacto en el coste sanitario, sino por la frecuencia del infradiagnóstico y el infratratamiento. De hecho, hasta el 75 % de las mujeres y el 90 % de los varones con alta probabilidad de sufrir osteoporosis no se someten a ninguna prueba para establecer al diagnóstico y más del 75 % de los pacientes con osteoporosis no reciben un tratamiento adecuado, a pesar de las recomendaciones y la evidencia de la notable eficacia y seguridad del uso de bisfosfonatos y otros tratamientos farmacológicos en monoterapia o combinados con vitamina D (35-37). En nuestro país, según el último estudio de la Sociedad Española de Reumatología (SER) sobre la epidemiología de la osteoporosis en la población española realizado en 1522 sujetos —proyecto OsteoSER—, el 54,4 % de las personas mayores de 50 años presentaron disminución de la densidad mineral ósea (DMO)

y un 10,7 % osteoporosis, que era más frecuente en las mujeres (18,6 %) que en los varones (2,6 %) (38). En las mujeres mayores de 65 años que constituyen el grupo con mayor riesgo de fractura, el 24,9 % tenía osteoporosis. Según datos actualizados a 1 de enero de 2023 del Instituto Nacional de Estadística, la cifra absoluta ascendería a 1300 021 mujeres españolas con alto riesgo de fractura, lo que refuerza la importancia de adquirir hábitos saludables para prevenir la osteoporosis, como la práctica de ejercicio físico, incorporar una dieta mediterránea que incluya un consumo adecuado de calcio y vitamina D, así como evitar el tabaquismo y el consumo excesivo de alcohol, entre otros factores (39). En un estudio reciente basado en la metodología Delphi sobre el manejo de la osteoporosis en Atención Primaria, los panelistas coincidieron en la necesidad de identificar adecuadamente a los pacientes según su riesgo de fractura y también se hizo hincapié en la importancia del ejercicio y la nutrición (40).

La obesidad ($\text{IMC} > 30 \text{ kg/m}^2$) estaba presente en un 34 % de los pacientes y era un factor de riesgo independiente asociado estadísticamente con el déficit de vitamina D. Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes en la asociación de la hipovitaminosis D con la obesidad incluyen el secuestro en el tejido adiposo, dilución volumétrica, alteraciones en la hidroxilación hepática y renal, y la exposición limitada a la luz solar (41,42). Además, la hipovitaminosis D en pacientes obesos es un factor de riesgo para desarrollar diabetes de tipo 2 y resistencia a la insulina (43). Sin embargo, la pérdida de peso tiene escasa influencia en la mejoría de los niveles de vitamina D (42). El riesgo aumentado de déficit de vitamina D también se ha descrito en poblaciones pediátricas y adolescentes con obesidad (44).

Los especialistas que reclutaron a los participantes estaban distribuidos en todo el territorio nacional, mayoritariamente ejercían en el ámbito de la Atención Primaria y tenían más de 10 años de experiencia profesional, pero su participación en programas de formación sobre vitamina D, especialmente en proyectos de investigación sobre el tema, era limitada. Por otra parte, cabría insistir en la necesidad de extender el cribado sistemático de las concentraciones plasmáticas de 25(OH)D en pacientes con síntomas o signos de deficiencia, en sujetos con factores de riesgo y en presencia de alteraciones analíticas y/o radiográficas que sugieran un déficit de vitamina D. Aunque el déficit de vitamina D tiene una alta prevalencia, la determinación universal de la 25(OH)D no es costo-efectiva y el cribado poblacional no está recomendado (45).

El Vitamin D Test® (PRIMA Home Test) es un ensayo inmunocromatográfico sencillo y claro, capaz de detectar los niveles de 25(OH)D en una muestra de sangre y resaltar su concentración gracias a la intensidad de la línea de prueba (T) obtenida. El resultado, visible a los 10 minutos, permite determinar si los niveles son suficientes, deficientes, insuficientes o excesivos,

lo que es de interés como herramienta de cribado de la deficiencia de vitamina D. Asimismo, el fabricante del Vitamin D Test® (PRIMA Home Test) no proporciona desgloses de sensibilidad, especificidad o curvas de concordancia frente a LC MS/MS o inmunoensayo, por lo que no se puede atribuir ninguna equivalencia clínica entre el test rápido y los métodos analíticos estándar. Por consiguiente, frente al resultado analítico orientativo del Vitamin D Test® sería necesario confirmar los valores obtenidos mediante un método analítico secundario de mayor precisión. Además, el propio test utiliza un punto de corte fijo de 30 ng/ml, con un margen de variabilidad estimado de $\pm 4 \text{ ng/ml}$, lo que puede influir en la clasificación de algunos participantes, especialmente aquellos con concentraciones próximas al umbral. Como ocurre con cualquier prueba diagnóstica, la interpretación de los resultados debe integrarse con el resto de la información clínica disponible. Por ello, en casos en los que los valores sean dudosos o se consideren no concordantes con el contexto clínico, se recomienda realizar determinaciones adicionales mediante métodos estandarizados.

Los resultados del presente estudio deben interpretarse teniendo en cuenta sus limitaciones, incluyendo el diseño transversal, la selección no aleatorizada de los pacientes y el uso de un test semicuantitativo que no es equivalente al método estándar de la determinación de los niveles de 25(OH)D. Tanto el método de selección (3 pacientes consecutivos en 3 días), no libre de sesgo, como el uso de Vitamin D Test® han facilitado la logística del estudio con el propósito de obtener una aproximación a la detección del déficit de vitamina D mediante una prueba de cribado y factores de riesgo en condiciones de vida real. Finalmente, el estudio se llevó a cabo entre mayo de 2023 y diciembre de 2024, pero los datos referentes a las regiones y latitudes correspondientes a la población de estudio no se han recogido. Por otra parte, los datos no se han ajustado por edad y sexo.

CONCLUSIONES

Como conclusiones cabe destacar la alta prevalencia del déficit de vitamina D (71 %) detectada en la población española estudiada mediante un test de cribado, así como la identificación de la osteomalacia, la escasa exposición a la luz solar, la osteoporosis y la obesidad como factores de riesgo independientes asociados estadísticamente a niveles deficientes-insuficientes de vitamina D.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benedik E. Sources of vitamin D for humans. *Int J Vitam Nutr Res* 2022;92(2):118-25. DOI: 10.1024/0300-9831/a000733

2. Engelsen O. The relationship between ultraviolet radiation exposure and vitamin D status. *Nutrients* 2010;2(5):482-95. DOI: 10.3390/nu2050482
3. Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An update on vitamin D metabolism. *Int J Mol Sci* 2020;21(18):6573. DOI: 10.3390/ijms21186573
4. Bikle DD. Vitamin D: newer concepts of its metabolism and function at the basic and clinical level. *J Endocr Soc* 2020;4(2):bvz038. DOI: 10.1210/jendso/bvz038
5. Varsavsky M, Rozas Moreno P, Becerra Fernández A, Luque Fernández I, Quesada Gómez JM, Ávila Rubio V, et al. Recommended vitamin D levels in the general population. *Endocrinol Diabetes Nutr* 2017;64(Suppl 1):7-14. DOI: 10.1016/j.endinu.2016.11.002
6. Demay MB, Pittas AG, Bikle DD, Diab DL, Kiely ME, Lazaretti-Castro M, et al. Vitamin D for the prevention of disease: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2024;109(8):1907-47. DOI: 10.1210/clinem/dgae290
7. Casado E, Blanch-Rubió J, Peris P, Neyro JL, Giner M, Del Pino J, et al. Recomendaciones de la SEIOMM en la prevención y tratamiento del déficit de Vitamina D. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2021;13(2):84-97. DOI: 10.4321/S1889-836X2021000200007
8. Gómez-Alonso C, Naves Díaz M, Rodríguez García M, Fernández Martín JL, Cannata Andía JB. Revisión del concepto de "suficiencia e insuficiencia" de Vitamina D. *Nefrología* 2003;23(Suppl 2):73-7.
9. Quraishi SA, Camargo CA Jr, Manson JE. Low vitamin D status in Europe: moving from evidence to sound public health policies. *Am J Clin Nutr* 2016;103(4):957-8. DOI: 10.3945/ajcn.116.132274
10. Cui A, Zhang T, Xiao P, Fan Z, Wang H, Zhuang Y. Global and regional prevalence of vitamin D deficiency in population-based studies from 2000 to 2022: A pooled analysis of 7.9 million participants. *Front Nutr* 2023;10:1070808. DOI: 10.3389/fnut.2023.1070808
11. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Gonzalez-Gross M, Valtuena J, De Henauw S, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr* 2016;103(4):1033-44. DOI: 10.3945/ajcn.115.120873
12. Fundación de Ciencias del Medicamento y Productos Sanitarios (Fundamed). Grupo de Trabajo LA HORMONA D EN 2021. Retos y estrategias ante el déficit generalizado en la población. Disponible en: <https://www.fundacionfundamed.org/GT-Informe-Hormona-D-2021.aspx> (consultado el 8 de julio de 2025).
13. Navarro Valverde C, Quesada Gómez JM. Deficiencia de Vitamina D en España: ¿realidad o mito? *Rev Osteoporos Metab Miner* 2014;6 (Suppl 1):S5-10. DOI: 10.4321/S1889-836X2014000500002
14. Salari N, Ghasemi H, Mohammadi L, Behzadi MH, Rabieenia E, Shohaimi S, et al. The global prevalence of osteoporosis in the world: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res* 2021;16(1):609. DOI: 10.1186/s13018-021-02772-0
15. Chandran M, Brind'Amour K, Fujiwara S, Ha YC, Tang H, Hwang JS, et al. Prevalence of osteoporosis and incidence of related fractures in developed economies in the Asia Pacific region: a systematic review. *Osteoporos Int* 2023;34(6):1037-53. DOI: 10.1007/s00198-022-06657-8
16. Lips P, van Schoor NM. Quality of life in patients with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2005;16(5):447-55. DOI: 10.1007/s00198-004-1762-7
17. Keen RW. Burden of osteoporosis and fractures. *Curr Osteoporos Rep* 2003;1(2):66-70. DOI: 10.1007/s11914-003-0011-x
18. Parva NR, Tadepalli S, Singh P, Qian A, Joshi R, Kandala H, Nookala VK, Cheriya P. Prevalence of vitamin D deficiency and associated risk factors in the US population (2011-2012). *Cureus* 2018;10(6):e2741. DOI: 10.7759/cureus.2741
19. Kaur J, Khare S, Sizar O, Givler A. Vitamin D Deficiency. [Updated 2025 Feb 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532266/> (consultado el 8 de julio de 2025).
20. Shi S, Feng J, Zhou L, Li Y, Shi H. Risk Factors for vitamin D deficiency in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Turk J Gastroenterol* 2021;32(6):508-18. DOI: 10.5152/tjg.2021.20614
21. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009;20(11):1807-20. DOI: 10.1007/s00198-009-0954-6
22. Raymond-Lezman JR, Riskin SI. Benefits and risks of sun exposure to maintain adequate vitamin d levels. *Cureus* 2023;15(5):e38578. DOI: 10.7759/cureus.38578
23. Oliver SL, Santana KV, Ribeiro H. The Effect of sunlight exposure on vitamin d status in countries of low and high latitudes: a systematic literature review. *Curr Nutr Rep* 2023;12(1):1-13. DOI: 10.1007/s13668-022-00443-y
24. Leary PF, Zamfirova I, Au J, McCracken WH. Effect of latitude on vitamin D levels. *J Am Osteopath Assoc* 2017;117(7):433-9. DOI: 10.7556/jaoa.2017.089
25. Van der Rhee H, Coebergh JW, de Vries E. Is prevention of cancer by sun exposure more than just the effect of vitamin D? A systematic review of epidemiological studies. *Eur J Cancer* 2013;49(6):1422-36. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.001
26. Asociación Española contra el Cáncer. Vitamina D y sol: ¿qué relación existe? Disponible en: <https://blog.contraelcancer.es/vitamina-d-sol/> (consultado el 11 de julio de 2025).
27. Bhan A, Rao AD, Rao DS. Osteomalacia as a result of vitamin D deficiency. *Rheum Dis Clin North Am* 2012;38(1):81-91, viii-ix. DOI: 10.1016/j.rdc.2012.03.008
28. Minisola S, Colangelo L, Pepe J, Diacinti D, Cipriani C, Rao SD. Osteomalacia and Vitamin D status: a clinical update 2020. *JBM R Plus* 2020;5(1):e10447. DOI: 10.1002/jbm4.10447
29. Segheto KJ, Pereira M, Silva DCGD, Carvalho CJ, Massardi FR, Kakehasi AM, et al. Vitamin D and bone health in adults: a systematic review and meta-analysis. *Cien Saude Colet* 2021;26(8):3221-44. DOI: 10.1590/1413-81232021268.15012020
30. Cianferotti L. Osteomalacia is not a single disease. *Int J Mol Sci* 2022;23(23):14896. DOI: 10.3390/ijms232314896
31. Finch PJ, Ang L, Eastwood JB, Maxwell JD. Clinical and histological spectrum of osteomalacia among Asians in south London. *Q J Med* 1992;83(302):439-48
32. Peris P. Diagnóstico y tratamiento de la osteomalacia por el reumatólogo. *Reumatología Clínica* 2011;7(S2):22-27. DOI: 10.1016/j.reuma.2011.05.005
33. Arboleya L, Braña I, Pardo E, Loredó M, Queiro R. Osteomalacia in adults: a practical insight for clinicians. *J Clin Med* 2023;12(7):2714. DOI: 10.3390/jcm12072714
34. Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Osteoporosis: underreported, underdiagnosed and undertreated. *Med J Aust*

- 2004;180(S5):S18-22. DOI: 10.5694/j.1326-5377.2004.tb05908.x
35. Nayak S, Greenspan SL. Osteoporosis treatment efficacy for men: a systematic review and meta-analysis. *J Am Geriatr Soc* 2017;65(3):490-5. DOI: 10.1111/jgs.14668
 36. Ayers C, Kansagara D, Lazur B, Fu R, Kwon A, Harrod C. Effectiveness and safety of treatments to prevent fractures in people with low bone mass or primary osteoporosis: a living systematic review and network meta-analysis for the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2023;176(2):182-95. DOI: 10.7326/M22-0684
 37. Yang Y, Yang M, Su X, Xie F. Efficacy of combination therapy of vitamin D and bisphosphonates in the treatment of postmenopausal osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol* 2024;15:1422062. DOI: 10.3389/fphar.2024.1422062
 38. Gómez-Vaquero C, Domínguez-Álvaro M, Seoane-Mato D, Bernal PP, Castañeda S, Kanterewicz Binstock E, et al. An update in bone mineral density status in Spain: the OsteoSER study. *Arch Osteoporos* 2025;20(1):37. DOI: 10.1007/s11657-025-01520-9
 39. Fundación Española de Reumatología. El 20 de octubre se celebra el Día Mundial de la Osteoporosis. Disponible en: <https://infoeuma.com/en-espana-el-544-de-los-mayores-de-50-anos-sufren-osteopenia-y-el-107-osteoporosis/> (consultado el 12 de julio de 2025).
 40. Carbonell-Abella C, Micó-Pérez RM, Vargas Negrín F, Bastida-Calvo JC, Aguado Acín P. Consenso Delphi sobre el manejo de pacientes con osteoporosis en atención primaria. *Rev Osteoporos Metab Mineral* 2025;17(1):42-55. DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00074
 41. Pourshahidi LK. Vitamin D and obesity: current perspectives and future directions. *Proc Nutr Soc* 2015;74(2):115-24. DOI: 10.1017/S0029665114001578
 42. Karampela I, Sakelliou A, Vallianou N, Christodoulatos GS, Magkos F, Dalamaga M. Vitamin D and obesity: current evidence and controversies. *Curr Obes Rep* 2021;10(2):162-80. DOI: 10.1007/s13679-021-00433-1
 43. Greco EA, Lenzi A, Migliaccio S. Role of hypovitaminosis D in the pathogenesis of obesity-induced insulin resistance. *Nutrients* 2019;11(7):1506. DOI: 10.3390/nu11071506
 44. Fiamenghi VI, Mello ED. Vitamin D deficiency in children and adolescents with obesity: a meta-analysis. *J Pediatr (Rio J)* 2021;97(3):273-9. DOI: 10.1016/j.jped.2020.08.006
 45. Kennel KA, Drake MT, Hurley DL. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clin Proc* 2010;85(8):752-7; quiz 757-8. DOI: 10.4065/mcp.2010.0138

Original

Cultural adaptation and validation of the Indonesian version of QUALEFFO-41 in patients with osteoporosis

Pandji Winata Nurikhwan¹, Zairin Noor²

¹General Physician. Faculty of Medicine and Health Sciences. Lambung Mangkurat University. ²Department of Orthopaedic and Traumatology. Faculty of Medicine and Health Sciences. Lambung Mangkurat University - Ulin General Hospital. Kalimantan Selatan, Indonesia

Abstract

Background: osteoporosis represents a growing public health concern in Indonesia and contributes substantially to morbidity through pain, functional decline, and vertebral and nonvertebral fractures. Despite the widespread international use of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41), a fully validated Indonesian version has not previously been available. This study aimed to conduct a rigorous cultural adaptation and psychometric validation of the Indonesian version of the QUALEFFO-41.

Methods: we conducted a cross-sectional study among 204 Indonesian-speaking patients diagnosed with osteoporosis or osteopenia. Cross-cultural adaptation followed the standardized guidelines proposed by Beaton et al., including forward and backward translation, expert panel review, and cognitive debriefing. Psychometric evaluation included internal consistency (Cronbach α), test-retest reliability (intraclass correlation coefficient [ICC]), convergent validity (average variance extracted [AVE] and composite reliability [CR]), and construct validity using confirmatory factor analysis (CFA).

Results: internal consistency was excellent for pain ($\alpha = 0.93$) and physical function ($\alpha = 0.90$), acceptable for social function ($\alpha = 0.73$), moderate for mental function ($\alpha = 0.79$), and marginal for general health perception ($\alpha = 0.65$). Test-retest reliability demonstrated good to excellent ICC values across domains (0.66-0.87), with an exceptionally high ICC for the total score (0.999). Convergent validity was satisfactory across all domains (AVE > 0.50; CR > 0.70). CFA showed perfect model fit for general health perception, marginal fit for activities of daily living and household work, and poorer fit for pain, mobility, social function, and mental function.

Conclusions: the Indonesian QUALEFFO-41 demonstrates robust reliability and satisfactory validity, supporting its use as a culturally relevant instrument for assessing quality of life in Indonesian patients with osteoporosis. Although several domains showed suboptimal CFA fit, likely reflecting cultural and linguistic influences, the instrument remains psychometrically sound for clinical practice and research. Further longitudinal and multigroup analyses are recommended to refine the factor structure and evaluate responsiveness across diverse Indonesian populations.

Keywords:
Osteoporosis.
Quality of life.
QUALEFFO-41.
Reliability.
Validation.

Received: 12/05/2025 • Accepted: 05/05/2026

Consent to participate: Written informed consent was obtained from all participants before data collection.

Ethical approval: This study was approved by the Ethics Committee of the University.

Data availability: The datasets generated and analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

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

Artificial intelligence: The authors declare that no generative artificial intelligence (AI) or AI-assisted technologies were used in the writing or preparation of this manuscript.

Nurikhwan PW, Noor Z. Cultural adaptation and validation of the Indonesian version of QUALEFFO-41 in patients with osteoporosis. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):89-100

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00111

Correspondence:

Pandji Winata Nurikhwan. Faculty of Medicine and Health Sciences. Lambung Mangkurat University. Kalimantan Selatan, Indonesia
e-mail: pandji.winata@gmail.com

INTRODUCTION

Osteoporosis is a major and growing public health concern in Indonesia. The progressive loss of bone mass and deterioration of bone microarchitecture characteristic of osteoporosis lead to increased bone fragility and fracture risk, imposing substantial clinical, social, and economic burdens. Early Indonesian studies have reported osteoporosis prevalence rates of 28.8 % in men and 32.3 % in women (1). In addition, the prevalence of vertebral fractures among Indonesian women has been estimated at approximately 9 % (2). Given the rapid growth of the aging population and the projected increase in fracture incidence, with predictions that half of all osteoporotic hip fractures will occur in Asia by 2050 (3), the burden of osteoporosis in Indonesia is expected to continue increasing.

Within this context, measuring health-related quality of life (HRQoL) in patients with osteoporosis is critically important. Conventional clinical parameters such as bone mineral density (BMD) and fracture counts capture structural changes but often fail to reflect the broader impact of osteoporosis on pain, functional limitations, social participation, and psychological well-being. Disease-specific patient-reported outcome measures (PROMs) therefore play a crucial role in assessing the subjective burden of osteoporosis, evaluating treatment effects, and monitoring longitudinal changes. However, the use of PROMs in Indonesia has been constrained by the lack of validated, culturally adapted instruments. Although generic HRQoL instruments are available, disease-specific, locally validated measures remain limited in the Indonesian linguistic and cultural context.

One of the most widely used osteoporosis-specific PROMs is the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41). Developed by the European Foundation for Osteoporosis (now the International Osteoporosis Foundation), the QUALEFFO-41 consists of 41 items across five domains: pain, physical function, social function, general health perception, and mental function (4,5). The questionnaire has been translated into numerous languages and has demonstrated clinical utility in populations with vertebral fractures and osteoporosis (6).

A recent systematic review assessing the measurement properties of the QUALEFFO-41 found that the quality of evidence supporting structural validity, reliability, responsiveness, and cross-cultural validity ranged from very low to moderate (6). Despite the availability of a Bahasa Indonesia version in certain instrument repositories, no peer-reviewed publication has documented a complete psychometric validation of the Indonesian QUALEFFO-41, including appropriate translation and adaptation procedures, evaluation of factor structure, reliability testing, construct validity, measurement er-

ror, and responsiveness. This methodological gap limits confidence in the use of the QUALEFFO-41 in clinical practice and research in Indonesia.

Therefore, the aim of the present study was to conduct a comprehensive cultural adaptation and psychometric validation of the QUALEFFO-41 in Bahasa Indonesia for use among Indonesian patients with osteoporosis, with or without vertebral fractures. By adhering to internationally accepted methodological guidelines for cross-cultural adaptation (7) and applying rigorous psychometric evaluation, this study aimed to produce a validated Indonesian QUALEFFO-41 capable of reliably assessing HRQoL among Indonesian patients with osteoporosis.

METHODS

STUDY DESIGN

This cross-sectional study was designed to translate, culturally adapt, and psychometrically validate the Indonesian version of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41). The study followed the cross-cultural adaptation process recommended by Beaton et al. (2000) and the psychometric evaluation guidelines proposed by Nunnally and Bernstein (1994) and Hair et al. (2019).

PARTICIPANTS

A total of 204 participants diagnosed with osteoporosis or osteopenia were recruited from outpatient clinics and community health centers in Indonesia. Participants were aged 61-77 years and were able to read and understand Indonesian.

INSTRUMENT

The QUALEFFO-41 is a disease-specific quality-of-life questionnaire originally developed by the European Foundation for Osteoporosis to assess health-related quality of life in patients with vertebral fractures and osteoporosis. It comprises 41 items grouped into 5 domains:

1. Pain.
2. Physical function.
3. Social function.
4. Mental function.
5. General health perception.

Each item is scored on a 5-point Likert scale, with higher scores indicating poorer quality of life.

TRANSLATION AND CROSS-CULTURAL ADAPTATION

Translation and cultural adaptation of the QUALEFFO-41 into Indonesian were conducted according to the standard six-step process described by Beaton et al. (7):

1. *Forward translation*: Two independent bilingual translators translated the original English version into Indonesian.
2. *Synthesis*: The 2 translated versions were compared and synthesized into a single reconciled version following discussion among the translators and researchers.
3. *Backward translation*: Two additional translators who were blinded to the original instrument translated the Indonesian version back into English to assess conceptual equivalence.
4. *Expert committee review*: A multidisciplinary committee comprising methodologists, clinicians, and linguists reviewed all versions to evaluate semantic, idiomatic, experiential, and conceptual equivalence and produced a prefinal version.
5. *Pretesting*: The prefinal version was administered to patients to evaluate clarity, relevance, and cultural appropriateness through cognitive debriefing interviews.
6. *Final version*: Minor linguistic adjustments were made based on the feedback received, and the final Indonesian version was approved by the instrument developer, the International Osteoporosis Foundation (IOF).

CROSS-CULTURAL ADAPTATION AND LINGUISTIC VALIDATION

The cross-cultural adaptation of the QUALEFFO-41 questionnaire into Indonesian was conducted in accordance with internationally accepted guidelines for the adaptation of health-related quality-of-life instruments. Two independent bilingual translators whose native language was Indonesian performed forward translations of the original English version into Indonesian. One translator had a medical background, whereas the other had no clinical background, thereby ensuring both conceptual and lay-language equivalence. The 2 translated versions were then synthesized into a single reconciled Indonesian draft following discussion and consensus among the translators and research team. Subsequently, backward translation was performed by 2 independent professional translators who were blinded to the original instrument and had no prior knowledge of the QUALEFFO-41. The purpose of backward translation was to ensure semantic and conceptual equivalence with the original version.

The expert committee evaluated semantic, idiomatic, experiential, and conceptual equivalence and produced the prefinal Indonesian version. Cognitive debriefing (pilot testing) was conducted among patients

with osteoporosis to assess clarity, comprehensibility, and cultural relevance. Minor wording adjustments were made based on participant feedback.

During the validation phase, participants completed only the Indonesian version of the QUALEFFO-41 questionnaire. No dual-language administration involving both the English and Indonesian versions was performed, and the same respondents did not complete both language versions. This approach was chosen to reflect real-world clinical use in the Indonesian population.

DATA COLLECTION PROCEDURE

Data were collected in Indonesia. Participants completed the Indonesian QUALEFFO-41 during routine clinical visits, either independently or with minimal assistance from trained research staff. To evaluate test-retest reliability, a subsample of 60 participants completed the questionnaire again after a 2-week interval, during which no clinical changes were expected. Sociodemographic data were also collected. The Indonesian-language version of the Qualeffo-41 questionnaire used in this study is publicly available through the International Osteoporosis Foundation (IOF) and can be accessed at: Indonesian version of the Qualeffo-41 questionnaire (<https://www.osteoporosis.foundation/sites/iofbonehealth/files/2021-10/IOF-Qualeffo41-questionnaire-Indonesian.pdf>).

STATISTICAL ANALYSIS

Psychometric analyses were conducted to assess the reliability and validity of the Indonesian QUALEFFO-41. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics, version 26.0; SmartPLS, version 4.0; and AMOS, version 24.0.

RELIABILITY

Internal consistency reliability was assessed using Cronbach α . Coefficients of $\alpha \geq 0.70$ were considered acceptable, $\alpha \geq 0.80$ were considered good, and $\alpha \geq 0.90$ were considered excellent. Test-retest reliability was assessed using the intraclass correlation coefficient (ICC) based on a 2-way mixed-effects model with absolute agreement. ICC values ≥ 0.75 indicated good reliability, whereas values ≥ 0.90 indicated excellent reliability.

CONVERGENT VALIDITY

Convergent validity was evaluated using factor loadings, average variance extracted (AVE), and composite reliability (CR). Values of AVE ≥ 0.50 and CR ≥ 0.70 were considered satisfactory evidence of convergent validity.

CONSTRUCT VALIDITY

Construct validity was examined using confirmatory factor analysis (CFA) with maximum likelihood estimation in AMOS. Model fit was assessed using χ^2/df , comparative fit index (CFI), Tucker-Lewis index (TLI), goodness-of-fit index (GFI), adjusted goodness-of-fit index (AGFI), and root mean square error of approximation (RMSEA). Model fit was considered acceptable when $\chi^2/df < 3.0$, CFI and TLI ≥ 0.90 , GFI ≥ 0.85 , and RMSEA ≤ 0.08 .

RESULTS

SOCIODEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF PARTICIPANTS (TABLE I)

Characteristic	Category	Frequency (n)	Percentage (%)
Participant group	Prevalidation study	50	24.5
	Control	88	43.1
	Case	66	32.4
Current age (years)	60-64	13	6.4
	65-69	112	54.9
	70-74	57	27.9
	≥ 75	22	10.8
Age at osteoporosis onset (years)	≤ 59	7	3.4
	60-62	89	43.7
	63-65	81	39.7
	≥ 66	27	13.2
Body mass index (kg/m ²)	< 18.5 (underweight)	0	0.0
	18.5-22.9 (normal weight)	98	48.0
	23.0-24.9 (overweight)	77	37.7
	≥ 25 (obesity)	29	14.2
Educational level	No formal education	42	20.6
	Primary education	43	21.1
	Secondary education	71	34.8
	Tertiary education	48	23.5
Marital status	Married	98	48.0
	Widowed	106	52.0
Employment status	Employed	39	19.1
	Retired	165	80.9

RESULTS OF THE TRANSLATION AND ADAPTATION OF THE QUALEFFO-41 QUESTIONNAIRE INTO INDONESIAN

General information

The original QUALEFFO-41 (Quality of Life Questionnaire, 1997) was translated, culturally adapted, and validated into Indonesian by Z. N. and P. W. N. The translation was acknowledged and approved by the International Osteoporosis Foundation (IOF) on June 16, 2019.

Structure of the questionnaire

The Indonesian version of the QUALEFFO-41 comprises 41 items divided into 5 domains, identical to those of the original version. The pain domain includes 5 items assessing the frequency, duration, and intensity of back pain. The physical function domain is divided into three subdomains. The activities of daily living subdomain comprises 4 items evaluating respondents' ability to dress, bathe, use the toilet, and maintain sleep quality. The household work subdomain contains 5 items covering activities such as cleaning, cooking, washing dishes, shopping, and lifting objects. The mobility subdomain includes 8 items assessing the ability to stand, bend, climb stairs, walk, and maintain posture. The social function domain consists of 7 items assessing respondents' participation in hobbies, sports activities, visits to cinemas or theaters, and other social activities. The general health perception domain includes 3 items reflecting respondents' perceptions of their overall health and quality of life, whereas the mental function domain comprises 9 items assessing fatigue, hopelessness, loneliness, mood, and optimism.

Translation and cultural adaptation

The translation process emphasized semantic, idiomatic, experiential, and conceptual equivalence with the original instrument. Several linguistic and cultural adaptations were made to ensure clarity and relevance for respondents. Lexical adjustments and simplifications were introduced to improve readability, whereas unfamiliar or technical terms were replaced with more readily understood expressions. Cultural adaptations were made for items that might not fully correspond to the local context, such as activities involving cinema or theater attendance. Clarifying examples were added to improve comprehension, particularly for items involving specific weights or tasks. Semantic refinement was also undertaken to preserve the intended

psychological meaning of key terms, ensuring that the translated items accurately reflected the constructs assessed by the source version.

Scoring and interpretation

All response options were standardized according to the IOF scoring algorithm (2017):

1. Most items are rated from 1 (best quality of life) to 5 (worst quality of life).
2. Items 33, 34, 35, 37, 39, and 40 are reverse scored.
3. Domain scores are calculated as the mean of all items in the domain and then converted to a 0-100 scale.
4. If > 30 % of items are unanswered, the result is considered invalid.

Validation notes

1. The translation incorporated the official IOF scoring and conversion algorithm, ensuring methodological consistency.
2. The Indonesian version retains the original structure and psychometric intent while ensuring linguistic and cultural equivalence.
3. Official authorization was obtained from the International Osteoporosis Foundation, confirming approval of the adaptation.

The Indonesian version of the QUALEFFO-41 demonstrates semantic and conceptual equivalence with the original English instrument, with minor linguistic simplifications and contextual adjustments to accommodate Indonesian cultural norms. This version is suitable for assessing quality of life among Indonesian-speaking patients with osteoporosis.

Table II presents the internal consistency reliability of each domain as measured using Cronbach α . The pain domain, comprising 5 items, demonstrated excellent reliability ($\alpha = 0.930$). The physical function domain, comprising 17 items, also showed a high level of reliability ($\alpha = 0.902$). The social function domain demonstrated acceptable reliability ($\alpha = 0.725$). The general health perception domain demonstrated marginal reliability ($\alpha = 0.653$), indicating lower internal consistency than the other domains. The mental function domain demonstrated moderate reliability ($\alpha = 0.794$). Overall, most domains demonstrated satisfactory internal consistency.

Test-retest reliability was assessed using the intraclass correlation coefficient (ICC) over a 14-day interval in a subsample of 60 participants. The pain domain showed good temporal stability (ICC, 0.8378), and the physical function domain also demonstrated good reliability (ICC, 0.8510). The social function domain

Table II. Integrated analysis of internal consistency, test-retest reliability, and construct validity across questionnaire domains

Domain	No. of items	Cronbach's Alpha (α)	Alpha interpretation	n (test-retest)	Time interval	ICC	ICC interpretation	AVE	CR	Validity interpretation
Pain	5	0.930	Highly reliable	60	14 days	0.8378	Good	0.721	0.928	Valid
Physical function	4	0.902	Highly reliable	60	14 days	N/A	N/A	0.831	0.980	Valid
	5					0.8510	Good			
	8					N/A	N/A			
Social function	7	0.725	Acceptably reliable	60	14 days	0.6604	Moderate	0.584	0.787	Valid
General health perceived	3	0.653	Marginally reliable	60	14 days	0.7572	Good	0.695	0.830	Valid
Mental function	9	0.794	Moderately reliable	60	14 days	0.8664	Excellent	0.716	0.907	Valid
Total score	-	-	-	60	14 days	0.9994	Excellent	-	-	-

Note: Percentages are calculated based on valid responses (n = 204).

showed moderate reliability (ICC, 0.6604). General health perception demonstrated good reliability (ICC, 0.7572), whereas the mental function domain showed excellent test-retest reliability (ICC, 0.8664). In addition, the total score exhibited an exceptionally high ICC of 0.9994, indicating nearly perfect temporal stability. The Bland-Altman plot used to assess agreement between the initial test and retest measurements and to provide an overview of agreement for the total QUALEFFO-41 score is shown in figure 1.

Convergent validity was assessed for each domain using average variance extracted (AVE) and composite reliability (CR). All domains met the conventional criteria for convergent validity, with AVE values > 0.50 and CR values > 0.70. Specifically, the pain domain demonstrated strong convergent validity (AVE, 0.721; CR, 0.928). Social function (AVE, 0.584; CR, 0.787), general health perception (AVE, 0.695; CR, 0.830), mental function (AVE, 0.716; CR, 0.907), and physical function (AVE, 0.831; CR, 0.980) also demonstrated satisfacto-

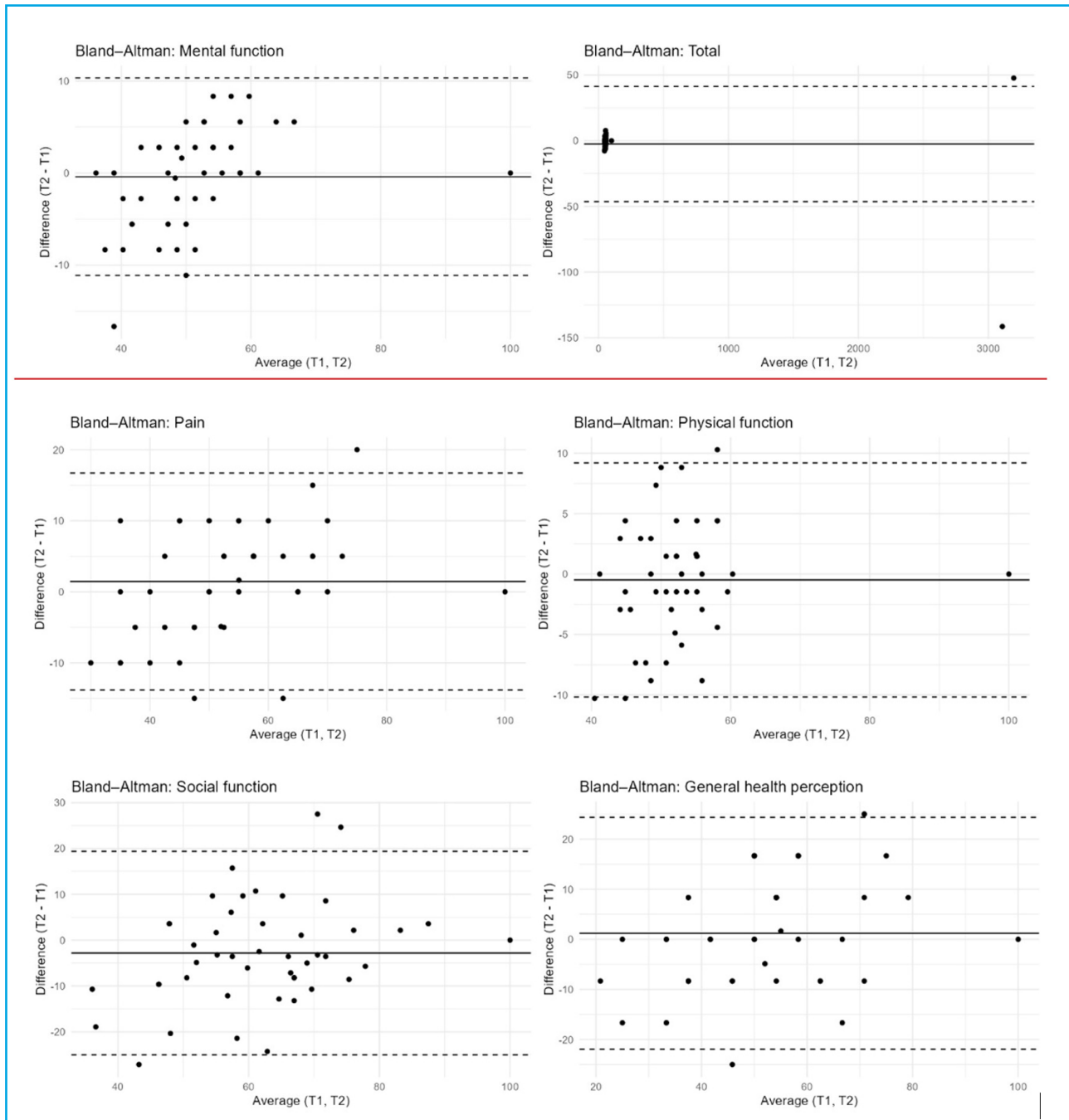


Figure 1. Bland-Altman plot for QUALEFFO-41 scores.

ry convergent validity. These results indicate that the items within each domain adequately represent their respective latent constructs.

Table III presents the results of the confirmatory factor analysis (CFA) for each construct. The pain construct showed poor model fit based on indices such as the goodness-of-fit index (GFI), adjusted goodness-of-fit index (AGFI), comparative fit index (CFI), Tucker-Lewis index (TLI), and root mean square error of approximation (RMSEA). Within the physical function domain, the activities of daily living (ADL) and household work sub-constructs demonstrated marginal fit, whereas mobility showed poor fit across all indices. The social function and mental function constructs also showed poor fit, suggesting substantial deviations from the assumptions of the proposed measurement model. In contrast, the general health perception construct exhibited perfect fit, indicating complete agreement between the measurement model and the observed data. Overall, the CFA results demonstrate variability in construct validity across domains, with some domains requiring further refinement. A structural equation modeling (SEM) path diagram depicting the relationships between latent constructs and the contribution of each indicator to the overall model is shown in figure 2. This diagram provides a visual representation of the direction and strength of the structural relationships examined in the study. A CFA model of the QUALEFFO-41 latent construct, showing the factor loading of each item and the fit of the model to the theoretical structure, is shown in figure 3. Together, these complementary figures support interpretation of the psychometric findings discussed below.

DISCUSSION

The validation results for the Indonesian version of the QUALEFFO-41 in this study demonstrate an overall satisfactory psychometric profile. The high internal consistency observed in domains such as pain ($\alpha = 0.93$) and physical function ($\alpha = 0.90$) indicates that the items within these domains are highly cohesive

and consistently measure the intended constructs. This finding is consistent with the Korean adaptation, in which Cronbach α values for the QUALEFFO-41 ranged from 0.733 to 0.942, indicating adequate reliability in the Korean population (8).

Although internal consistency was strong in several domains, the CFA results showed that not all domains conformed closely to the original factor structure. The general health perception domain demonstrated very good model fit, whereas pain, social function, mobility, and mental function showed poor to marginal fit based on indices such as CFI, TLI, and RMSEA. This finding indicates that, although the items may be internally consistent, the theoretically proposed latent structure may not fully correspond to the pattern observed among Indonesian respondents. The discrepancy between high internal consistency and suboptimal CFA fit can be explained by the fact that Cronbach α assesses item homogeneity, whereas CFI, TLI, and RMSEA assess how well the hypothesized factor structure corresponds to the empirical data. In other words, items may correlate strongly with one another without necessarily fitting a proposed unidimensional structure. A similar issue was reported in a recent systematic review, which found relatively strong evidence for construct validity but limitations in cross-cultural validity and factor structure (6).

Cross-cultural comparisons are particularly relevant when interpreting these findings. For example, in the Hebrew-language adaptation for postmenopausal women in Israel, the QUALEFFO-41 demonstrated good internal consistency ($\alpha = 0.88$) and adequate construct validity, although several domains, particularly cognitive/mental and social domains, required refinement to improve their relevance within the Israeli sociocultural context (9). Similarly, the Serbian adaptation of the QUALEFFO-41 showed challenges related to translation and cultural adaptation despite the use of methodologically rigorous forward-backward translation procedures (10). In Malaysia, the Malay version of the QUALEFFO-41 demonstrated good internal consistency (0.752-0.925), although the social activity do-

Table III. Construct validity (Confirmatory Factor Analysis - CFA)

Construct		χ^2/df	GFI	AGFI	CFI	TLI	RMSEA	RMR	Fit conclusion
Pain		32.13	0.771	0.314	0.840	0.680	0.392	0.083	Poor fit
Physical function	Activities of daily living	8.19	0.963	0.815	0.969	0.906	0.188	0.059	Marginal fit
	Household work	7.49	0.941	0.822	0.935	0.871	0.179	0.101	Marginal fit
	Mobility	11.00	0.783	0.609	0.693	0.570	0.222	0.222	Poor fit
Social function		11.236	0.821	0.642	0.662	0.493	0.225	0.173	Poor fit
General health perceived		–	1.000	–	1.000	–	–	0.000	Perfect fit
Mental function		34.434	0.585	0.308	0.462	0.283	0.406	0.242	Poor fit

Source: Authors' primary data (2025).

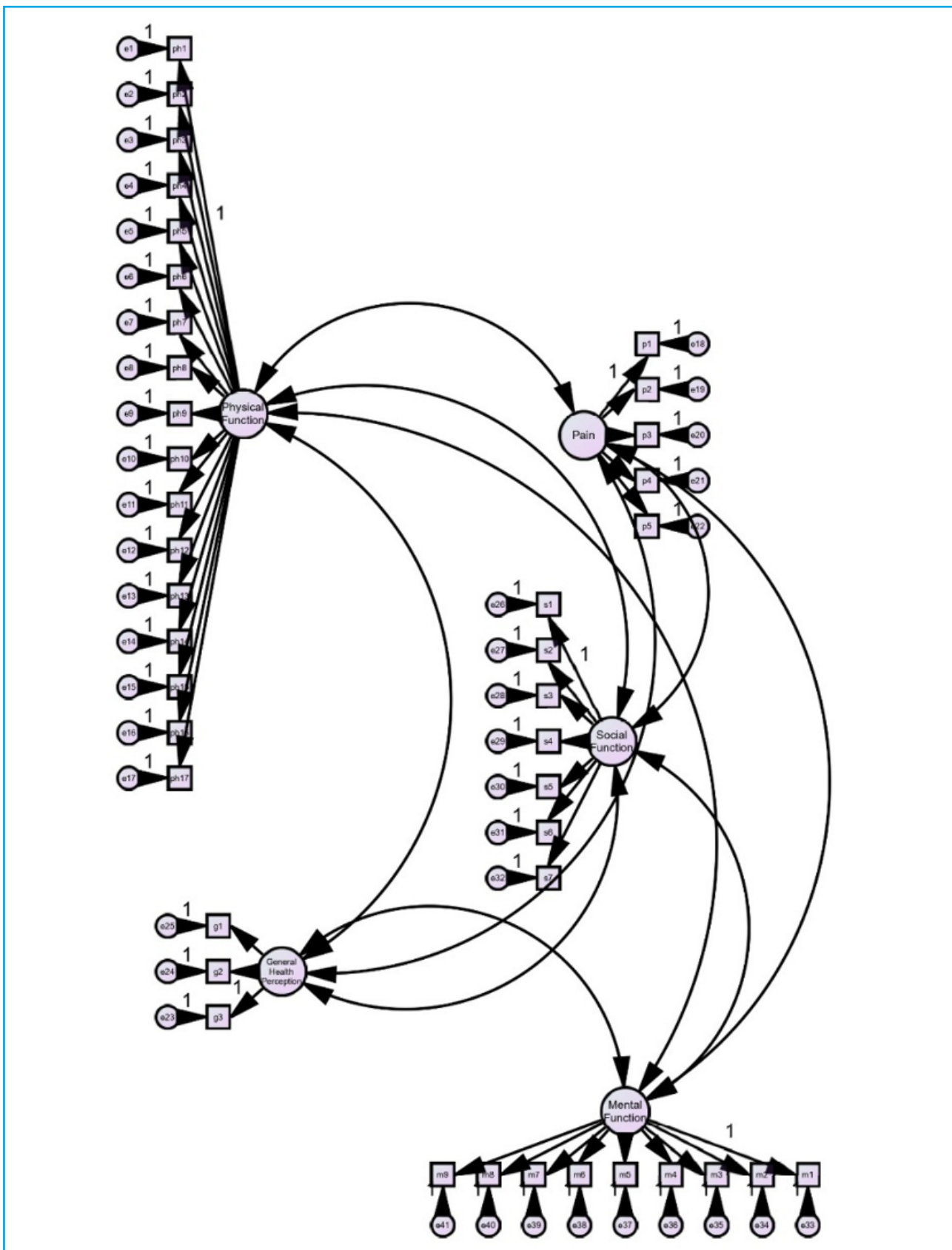


Figure 2. Structural equation modeling (SEM) path diagram.

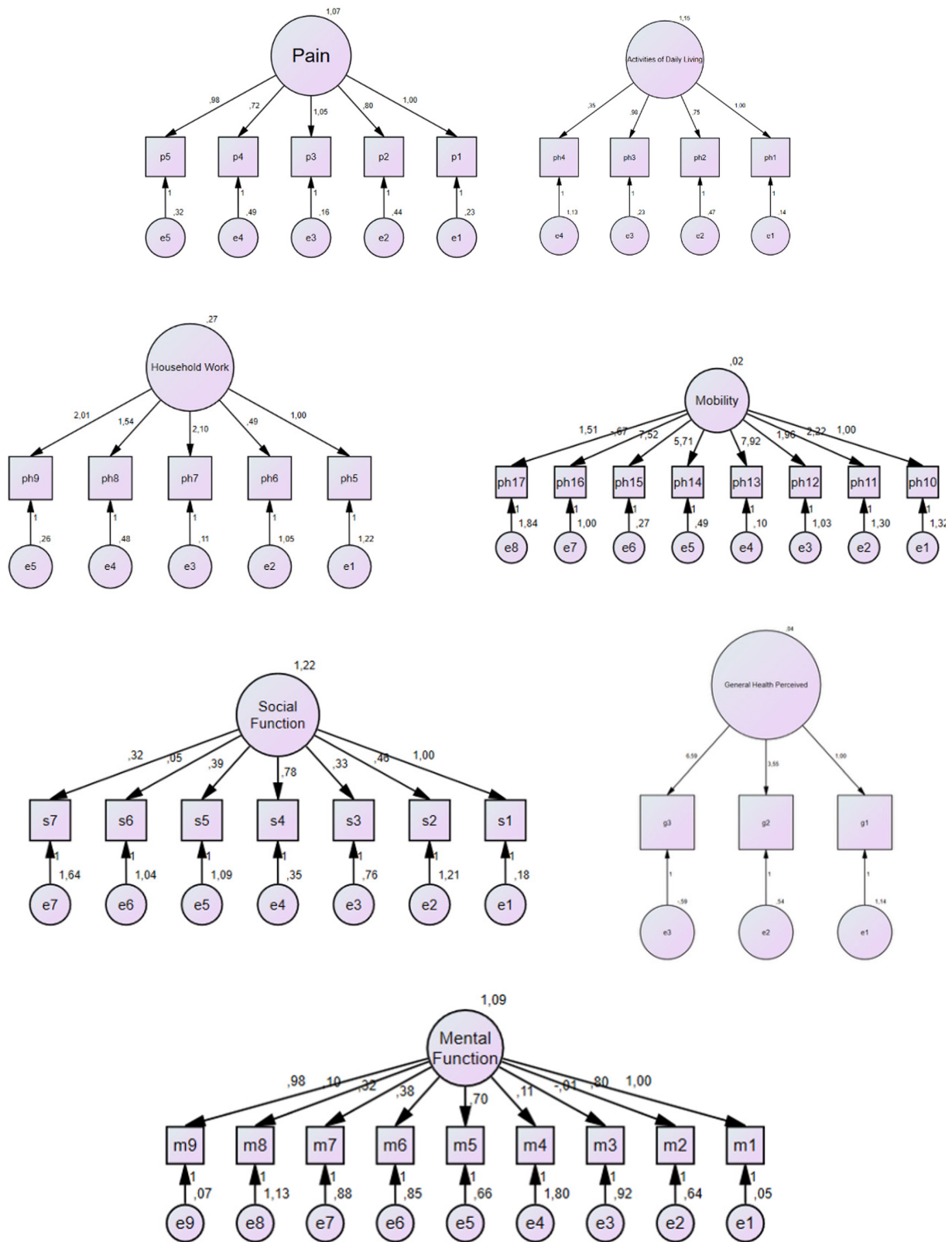


Figure 3. Confirmatory factor analysis (CFA) model for the QUALEFFO-41 latent construct.

main had a lower α value (0.692), possibly reflecting differences in the perception of social activity within the Malay cultural context (11).

Cultural and linguistic factors are likely to be major contributors to these differences. For example, the interpretation of household tasks in Indonesia may differ substantially from that in European or other Western contexts because Indonesian households often distribute such tasks among extended family members. This may lead respondents to rate the burden of household activities differently from how it was conceptualized in the original QUALEFFO framework. In addition, expressions related to “social function” and “mental function” may have different connotations in Indonesian; idiomatic expressions, emotional communication, and social roles, including family roles and social support, are strongly influenced by local cultural values. Linguistic adaptation that does not adequately account for these nuances may result in item cross-loading or high error covariance, which can adversely affect CFA model fit.

The high reliability and satisfactory convergent validity, including adequate AVE and composite reliability values across the major domains, indicate that the Indonesian version of the QUALEFFO-41 remains a useful disease-specific quality-of-life instrument for the Indonesian population with osteoporosis. Good internal consistency indicates coherent response patterns within domains, whereas convergent validity suggests that the items adequately reflect the constructs they are intended to measure. Collectively, these findings support the use of the Indonesian QUALEFFO-41 in clinical research, epidemiological surveys, and outcome monitoring in patients with osteoporosis in Indonesia.

The importance of the Indonesian version of the QUALEFFO-41 lies in its role as a locally adapted and validated instrument. It allows a more sensitive and contextually appropriate assessment of quality of life than generic instruments such as the EQ-5D in an Indonesian population that may differ in its perceptions of pain, mobility, social activities, and mental health. This provides practical benefits for clinical practice, including rehabilitation management and therapeutic interventions; research, including evaluation of treatment and rehabilitation effects; and health policy, such as assessment of the burden of osteoporosis-related impairment in quality of life in developing countries.

This study reinforces the view that health-related quality of life (HRQoL) is a critical clinical outcome in the management of osteoporosis, particularly among patients with vertebral fractures. Osteoporosis should not be conceptualized solely as a reduction in bone mineral density (BMD), but rather as a chronic, mul-

tifactorial condition with substantial physical, psychological, and social consequences. From a global epidemiological perspective, osteoporotic fractures represent a substantial and growing public health burden, particularly in aging populations (12). Vertebral fractures, although frequently underdiagnosed, are associated with chronic back pain, progressive kyphotic deformity, impaired mobility, reduced pulmonary function, and increased risk of falls. Collectively, these sequelae contribute to long-term deterioration in HRQoL that may not be adequately captured by radiological findings or densitometric parameters alone (13).

The development of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO) represented a paradigm shift in osteoporosis outcome assessment by emphasizing patient-reported outcomes (4). Unlike generic instruments, the QUALEFFO was specifically designed to detect the multidimensional impact of vertebral fractures, including pain severity, physical functioning, social participation, mental health, and general health perception. Subsequent validation studies confirmed its internal consistency, construct validity, and discriminative ability in distinguishing patients with and without vertebral fractures (14). The shortened version, QUALEFFO-41, further improved feasibility in clinical and research settings without compromising psychometric robustness.

Former studies have consistently demonstrated that vertebral fractures are a major determinant of impaired HRQoL. Oleksik et al. (15) reported that postmenopausal women with low BMD and prevalent vertebral fractures experienced significantly poorer HRQoL than women without fractures. Similarly, Jahelka et al. (16) found that patients with osteopenia or osteoporosis without fractures had relatively preserved quality of life compared with patients with fractures. These findings suggest that vertebral fracture represents an important clinical turning point in the course of osteoporosis and underscore the importance of fracture prevention strategies.

Disease-specific instruments such as the QUALEFFO demonstrate greater sensitivity than generic measures for detecting clinically meaningful differences and changes after treatment. Badia et al. (17) showed that the QUALEFFO had strong discriminative ability in women with vertebral fractures when compared with the Osteoporosis Quality of Life Questionnaire (OQLQ). Furthermore, Yilmaz et al. (18) demonstrated that disease-specific instruments had higher responsiveness indices than generic instruments when evaluating therapeutic interventions. This is particularly relevant in clinical trials assessing pharmacological treatments, physical rehabilitation, or combined interventions.

The association between HRQoL and functional parameters further strengthens the clinical relevance of disease-specific assessment. Bergland, Thorsen, and Kåresen (19) demonstrated significant correlations between HRQoL scores and measures of mobility and balance among women with osteoporosis and vertebral fractures. Spinal deformity and chronic pain not only impair physical performance but also increase the risk of falls, creating a vicious cycle of disability and further fracture risk. Therefore, integrating HRQoL assessment with functional mobility evaluation provides a more comprehensive framework for patient-centered osteoporosis management.

Moreover, rehabilitation guidelines emphasize the importance of monitoring quality of life as part of therapeutic evaluation (20). Treatment success should not be restricted to improvements in BMD but should also encompass functional recovery and psychosocial well-being. This reinforces the clinical utility of the QUALEFFO beyond research settings and supports its use as a valuable decision-support tool in routine care. HRQoL in osteoporosis is inherently multidimensional. Physical domains, particularly pain and activity limitation, often exert the greatest influence on total scores; however, psychological and social domains also contribute substantially to overall health perception (14,15). Chronic pain, fear of falling, reduced autonomy, and social withdrawal collectively shape the lived experience of osteoporosis. Consequently, a biopsychosocial framework is essential when interpreting HRQoL outcomes.

Several limitations should be acknowledged. First, the study sample may have been predominantly female, limiting the generalizability of the findings to men with osteoporosis. Sex-related differences in social roles, household responsibilities, and pain perception may produce different response patterns. Second, the cross-sectional design precludes assessment of changes in quality of life over time and causal inference. Third, although test-retest reliability was assessed, long-term temporal stability over months or years and measurement invariance across subpopulations, including age, sex, and geographic region, were not evaluated. Without measurement invariance analyses, it is difficult to determine whether the QUALEFFO-41 factor structure remains consistent across different segments of the Indonesian population. Subgroup analyses according to T-score severity and fracture type were not performed because of limited statistical power. Future studies with larger samples are warranted to assess the discriminative ability of the Indonesian QUALEFFO-41 across clinical severity groups.

Recommendations for future research include the following: (1) conducting item-level analyses, such as item response theory or communality analyses, to identify problematic items, including cross-loading, redundant, or culturally irrelevant items; (2) conducting cognitive

interviews with respondents from diverse cultural and social backgrounds to ensure that item meaning is understood as intended; (3) considering modifications to the factor structure, including potential division of domains or subscales, based on local empirical data and cultural theory; (4) conducting multigroup CFA to assess measurement invariance across sex, geographic region, and age groups; and (5) implementing longitudinal studies to evaluate responsiveness to change and temporal stability of the Indonesian QUALEFFO-41.

Overall, although not all domains demonstrated optimal model fit in CFA, the strengths in internal consistency and convergent validity support the Indonesian version of the QUALEFFO-41 as a valuable, relevant, and contextually appropriate instrument for assessing quality of life in Indonesian patients with osteoporosis. Further adaptation and validation studies will help strengthen its utility in clinical research, population-based studies, and osteoporosis management interventions in Indonesia.

CONCLUSIONS

This study demonstrates that the Indonesian version of the QUALEFFO-41 is a valid and reliable instrument for assessing health-related quality of life in patients with osteoporosis, with satisfactory internal consistency across domains and evidence supporting several aspects of its construct validity. Although some CFA domains showed suboptimal model fit, the overall psychometric findings support use of the instrument within the Indonesian cultural context. Careful linguistic and cultural adaptation helped ensure that the instrument captures patients' lived experiences more appropriately than nonlocalized measures. The study is limited by its cross-sectional design, predominantly female sample, and absence of long-term longitudinal evaluation. Future research should assess longitudinal responsiveness, measurement invariance, and applicability across more diverse populations with osteoporosis.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

P. W. N. conceptualized the study, coordinated data collection, and performed the statistical analyses. Z. N. supervised the overall study design, provided methodological oversight, contributed to data interpretation, and critically revised the manuscript for important intellectual content. Both authors have read and approved the final version of the manuscript and are accountable for the accuracy and integrity of the work.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the International Osteoporosis Foundation (IOF) for permission to translate and validate the QUALEFFO-41. Technical assistance with grammar and formatting was provided using AI-assisted tools under full author oversight.

REFERENCES

1. Anasulfalah H, Verasita P, Widiyanto A, Atmojo JT. Smoking Behavior and the Incident of Osteoporosis in the Elderly: Meta-Analysis. *Indones J Glob Health Res* 2023;5(4):735-42. DOI: 10.37287/ijghr.v5i4.2426
2. Ferreira NO, Arthuso M, Beserra da Silva R, Mendes Pinto-Neto A, Costa-Paiva L. Validation of the Portuguese version of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41) in Brazilian women with postmenopausal osteoporosis and vertebral fracture. *Clin Rheumatol* 2013;32(11):1585-92. DOI: 10.1007/s10067-013-2265-8
3. International Osteoporosis Foundation. Quality of Life Questionnaire (QUALEFFO-41) – English version; 2020. Available from: <https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/files/qualeffo-41-questionnaire-english>
4. Lips P, Cooper C, Agnusdei F, Caullin F, Egger P, Johnell O, et al. Quality of life as outcome in the treatment of osteoporosis: The development of a questionnaire for quality of life by the European Foundation for Osteoporosis. *Osteoporos Int* 1997;7:36-8. DOI: 10.1007/BF01623457
5. Marquis P, De La Loge C, Dubois D, McDermott A, Chassany O. Development and validation of the Patient Assessment of Constipation Quality of Life questionnaire. *Scand J Gastroenterol* 2005;40(5):540-51. DOI: 10.1080/00365520510012208
6. Choo YW, Mohd Tahir NA, Mohd Said MS, Makmor Bakry M. Health-related quality of life in osteoporosis: A systematic review of measurement properties of the QUALEFFO-41. *Osteoporos Int* 2024;35(5):745-57. DOI: 10.1007/s00198-023-07005-0
7. Beaton DE, Bombardier C, Guillemin F, Ferraz MB. Guidelines for the process of cross-cultural adaptation of self-report measures. *Spine* 2000;25(24):3186-91. DOI: 10.1097/00007632-200012150-00014
8. Lee YS, Kim H-J, Park JW, Won S, Hwang J-S, Ha Y-C, et al. Transcultural adaptation and psychometric properties of the Korean version of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41) *Arch Osteoporos* 2019;5;14(1):96. DOI: 10.1007/s11657-019-0647-5
9. Masharawi Y, Lerner A, Weisman A. Transcultural adaptation and validation of the QUALEFFO-41 questionnaire for Hebrew-speaking Israeli women with postmenopausal osteoporosis with and without vertebral fractures. *Osteoporos Int* 2025;36:1239-47. DOI: 10.1007/s00198-025-07526-w
10. Tadic I, Vujasinović Stupar N, Tasić L, Stevanović D, Dimić A, Stamenković B, et al. Validation of the osteoporosis quality of life questionnaire QUALEFFO-41 for the Serbian population. *Health Quality Life Outcomes* 2012;10:74. DOI: 10.1186/1477-7525-10-74
11. Nagammal T, Mohazmi M, Liew SM, Chinna K, Lai PSM. Validation of the Malay version of the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO-41) in Malaysia. *Qual Life Res* 2015;24(8):2031-7. DOI: 10.1007/s11136-015-0933-7
12. Cooper C, Harvey N, Dennison E. Worldwide epidemiology of osteoporotic fractures. In: Reginster JY, Rizzoli R, editors. *Elsevier; Innovation in Skeletal Medicine*. 2008. p. 95-112.
13. Chandran M, Brind'Amour K, Fujiwara S, Ha Y-C, Tang H, Hwang JS, et al. (2023). Prevalence of osteoporosis and incidence of related fractures in developed economies in the Asia Pacific region: A systematic review. *Osteoporos Int* 2023;34:1037-53. DOI: 10.1007/s00198-022-06657-8
14. Lips P, Cooper C, Agnusdei D, Caullin F, Egger P, Johnell O, et al. Quality of life in patients with vertebral fractures: Validation of the quality of life questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFFO). *Osteoporos Int* 1999;10(2):150-60. DOI: 10.1007/s001980050210
15. Oleksik A, Lips P, Dawson A, Minshall ME, Shen W, Cooper C, et al. Health-related quality of life in postmenopausal women with low BMD with or without prevalent vertebral fractures. *J Bone Miner Res* 2000;15(7):1384-92. DOI: 10.1359/jbmr.2000.15.7.1384
16. Jahelka B, Dorner T, Terkula R, Quittan M, Bröll H, Erlacher L. Health-related quality of life in patients with osteopenia or osteoporosis with and without fractures in a geriatric rehabilitation department. *Wien Med Wochenschr* 2009;159(9-10):235-40. DOI: 10.1007/s10354-009-0655-y
17. Badia X, Díez-Pérez A, Álvarez-Sanz C, Díaz-López B, Díaz-Curiel M, Guillén F, González-Macías J. Measuring quality of life in women with vertebral fractures due to osteoporosis: A comparison of the OQLQ and QUALEFFO. *Qual Life Res* 2001;10(4):307-17.
18. Yilmaz F, Doğu B, Sahin F, Sirzai H, Kuran B. Investigation of responsiveness indices of generic and specific measures of health-related quality of life in patients with osteoporosis. *J Back Musculoskelet Rehabil* 2014;27(4):391-7. DOI: 10.3233/BMR-140459
19. Bergland A, Thorsen H, Kåresen R. Association between generic and disease-specific quality of life questionnaires and mobility and balance among women with osteoporosis and vertebral fractures. *Aging Clin Exp Res* 2011;23(4):296-303. DOI: 10.1007/BF03324967
20. Smits-Engelsman BCM, Bekkering GE, Hendriks HJM. KNGF guideline for osteoporosis. *Nederlands Tijdschrift voor Fysiotherapie* 2005;115(Suppl 1).

Original

Modulación osteogénica mediante estimulación eléctrica: estudio *in vitro* en osteoblastos humanos

Elena Fernández-Díaz¹, Jesús Bocio^{1,2}, Daniel Martín^{3,6}, M.^a Ángeles Vázquez^{4,5}, Pedro Chacón^{7,8}, Miguel Colmenero⁵, Miguel Ángel Rico⁵, Alberto Yufera^{3,6}, M.^a José Montoya-García^{4,5}, Mercè Giner^{1,5}

¹Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica. Universidad de Sevilla. Sevilla. ²FISEVI. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

³Instituto de Microelectrónica de Sevilla – Universidad de Sevilla (IMSE-US). Sevilla. ⁴Departamento de Medicina. Universidad de Sevilla. Sevilla. ⁵UGC de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla. ⁶Departamento de Tecnología Electrónica. Universidad de Sevilla. Sevilla.

⁷Departamento de Ciencias de la Salud y Biomédicas. Universidad Loyola Andalucía. Dos Hermanas, Sevilla. ⁸Laboratorio de Inmunología y Alergia-FISEVI. UGC de Alergología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Resumen

Introducción: la estimulación eléctrica (EE) se ha consolidado como una herramienta prometedora en medicina regenerativa por su capacidad de modular procesos celulares clave. En el tejido óseo, la EE puede favorecer proliferación, diferenciación y síntesis de matriz extracelular.

Hipótesis y objetivo: la aplicación de corriente alterna a baja frecuencia modula “de manera dependiente del voltaje” la proliferación, maduración y morfología de hOB procedentes de biopsias humanas. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la EE alterna sobre la proliferación, actividad osteogénica (ALP y OCN) y características morfológicas de hOB en cultivo.

Material y métodos: a partir de biopsias tibiales de cuatro pacientes se obtuvieron cultivos primarios de hOB. Tras su expansión, se sometieron a EE (0, 500 o 750 mV) durante 10 días, 3 h/día. Se evaluó proliferación mediante recuento nuclear, actividad de ALP, síntesis de osteocalcina (OCN) por inmunofluorescencia y morfología celular tras transfección con pmCherry. El análisis estadístico incluyó análisis de normalidad seguido de *t* Student y ANOVA para variables paramétricas y Kruskal-Wallis ANOVA en rangos, para variables no paramétricas.

Resultados: la proliferación aumentó significativamente a 500 mV, mientras que 750 mV mostró valores similares al control. La actividad ALP aumentó progresivamente en ambos voltajes, alcanzando valores máximos a día 10. La expresión de OCN fue significativamente superior a 500 mV. Morfológicamente, 500 mV incrementó el área celular sin cambios relevantes en número o longitud de pseudofilopodios.

Conclusión: la EE alterna a 10 Hz y 500 mV favorece la proliferación y la maduración osteoblástica. Los resultados indican que 500 mV constituye la condición más adecuada para promover una respuesta osteogénica equilibrada en hOB.

Palabras clave:

Osteoblastos primarios humanos. Electroestimulación. Corriente alterna. Ingeniería tisular.

Recibido: 05/02/2026 • Aceptado: 07/04/2026

Financiación: estudio financiado por el programa PAIDI 2018: Proyectos I+D+i de la Junta de Andalucía (Consejería de Economía y Conocimiento), P18-FR-2308.

Consideraciones éticas: el estudio se aprobó por el CEIm Provincial de Sevilla (SICEIA-2024-001743).

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.

Fernández-Díaz E, Bocio J, Martín D, Vázquez MÁ, Chacón P, Colmenero M, Rico MÁ, Yufera A, Montoya-García MJ, Giner M. Modulación osteogénica mediante estimulación eléctrica: estudio *in vitro* en osteoblastos humanos. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):101-109

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00118

Correspondencia:

Jesús Bocio. Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica. Universidad de Sevilla. Avda. de Sánchez Pizjuán, s/n. 41009 Sevilla e-mail: jbcio@us.es

INTRODUCCIÓN

La medicina regenerativa es un campo interdisciplinario que tiene como objetivo reparar o sustituir tejidos y órganos comprometidos para restablecer sus funciones fisiológicas. Dentro de este campo, la estimulación eléctrica (EE) ha surgido como una modalidad terapéutica significativa, reconocida por su capacidad para modular diferentes procesos biológicos tanto a nivel celular como tisular (1,2).

La generación de un tejido funcional mediante ingeniería tisular y la aplicación de estimulación eléctrica, tiene un gran impacto en diversas áreas de la medicina regenerativa, así como la corrección de defectos óseos mediante la producción de osteoblastos (OB) funcionales (3). Las células osteoblásticas, ampliamente reconocidas por su función en la formación de tejido óseo, provienen de células madre mesenquimales (MSC) presentes en el estroma de la médula ósea (4).

A lo largo del proceso de diferenciación osteoblástica, estas células van a ir expresando distintos genes, marcadores que indican el estadio de maduración de los osteoblastos. Al inicio, existe una etapa de proliferación en la que los pre-OB expresan entre otros genes, *RUNX2*. Posteriormente, la transición de pre-OB a OB maduros se caracteriza por expresión de genes como *osterix (OSX)* y *osteocalcina (OCN)*, y un aumento en la actividad fosfatasa alcalina (ALP) para una posterior síntesis de proteínas de la matriz ósea, como es la OCN (5). El proceso de síntesis de matriz ósea extracelular por parte de los OB ya maduros, se lleva a cabo mediante la deposición de la matriz inorgánica y posterior mineralización, donde ALP y OCN desempeñan un papel fundamental (6). ALP es una enzima producida por los OB que participa en la mineralización ósea al proporcionar el fosfato inorgánico necesario para la formación de hidroxapatita, principal componente mineral del hueso (7). Por otra parte, la OCN, se considera un marcador específico de la formación ósea debido a su síntesis exclusiva por los OB, además, su concentración en sangre refleja la actividad osteoblástica (8).

En la actualidad, existen diversas condiciones asociadas a la patología ósea que requieren soluciones en la práctica clínica. Entre ellas, se incluyen defectos significativos en el tejido óseo, fracturas traumáticas con mala consolidación, resecciones de tumores, desbridamientos de tejidos necróticos tanto sépticos como asépticos. Asimismo, el incremento en los reemplazos protésicos, debido a enfermedades óseas degenerativas o metabólicas, es cada vez más común, especialmente en personas mayores en las que presentan menor capacidad osteorregenerativa, sin garantizar de este modo, una adecuada biomecánica futura (3).

Se ha evidenciado que la aplicación de corrientes eléctricas en el hueso produce un efecto eléctrico capaz de estimular la osteogénesis (3). Actualmente, las investiga-

ciones se orientan en el desarrollo de sistemas conductores para la EE localizada, la aplicación de la EE en células madre, la utilización de diferentes biomateriales, la optimización de los parámetros de EE (frecuencia, amplitud, duración) para diferentes aplicaciones y el estudio de sus mecanismos de acción a nivel celular y molecular (9). En su conjunto, la EE muestra un gran potencial para avanzar en la regeneración ósea, particularmente en casos desafiantes como grandes defectos óseos y la integración de prótesis, debido a su capacidad para mejorar la proliferación celular, la diferenciación y la remodelación de tejidos, particularmente, del tejido óseo (10).

Diversos experimentos han demostrado que la EE tiene un efecto positivo en procesos clave para la regeneración ósea como la vascularización, condrogénesis, adhesión celular o la modulación de la inflamación (11). A nivel celular, se considera que los valores en el rango de decenas o centenas de milivoltios (mV), son los adecuados para inducir excitación, y óptimos para activar las proteínas sensibles al campo eléctrico, principalmente canales y receptores de membrana.

El objetivo general de este trabajo es estudiar el papel de la estimulación eléctrica como modulador de la diferenciación y maduración de células osteoblásticas obtenidas a partir de biopsias óseas humanas procedentes de artrodesis de rodilla.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DE ESTUDIO

Estudio experimental *in vitro* de osteoblastos humanos primarios (hOB) procedentes de biopsias ósea, sometidos a electroestimulación mediante corriente alterna (Fig. 1A).

SUJETOS DE ESTUDIO

Los hOB se obtuvieron a partir de explantes de mesetas tibiales. Dichos explantes se adquirieron durante intervenciones artroplásticas de 4 pacientes que acudieron a la UGC de Traumatología del Hospital Universitario Virgen Macarena (HUVVM), Sevilla. El estudio se aprobó por el CEI Provincial de Sevilla (SICEIA-2024-001743).

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron informados y firmaron el consentimiento informado. No hubo pacientes excluidos durante el procedimiento.

Los pacientes fueron seleccionados de acuerdo con los criterios de exclusión e inclusión definidos en el estudio. Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes

mayores de 50 años, que hayan ingresado para la implantación de una prótesis articular de rodilla por cuestiones mecánicas y hayan firmado el consentimiento informado. Se excluyeron aquellos que presentaron tratamientos crónicos con corticoides orales durante un período mayor a 6 meses y con una dosis $\geq 7,5$ mg/día de prednisona o corticoide equivalente. También se excluyeron los que habían recibido en los últimos 5 años tratamiento para la osteoporosis, presentaban antecedentes de inmovilización prolongada durante un período mayor a 6 meses o sufrían enfermedades hepáticas, renales, endocrinas o hematológicas con influencia sobre el metabolismo óseo o enfermedad tumoral.

CULTIVO CELULAR

A partir de biopsias óseas de cuatro pacientes, se obtuvieron cuatro cultivos celulares de explantes mediante disgregación mecánica del hueso trabecular, constituyendo cuatro réplicas biológicas independientes para cada condición experimental.

Tras lavarlos con PBS, fueron cultivados para obtener osteoblastos humanos en medio DMEM (Medio Esencial Mínimo - PanBiotec, Alemania) suplementado con 15 % suero bovino fetal inactivado, 2 mM GlutaMAX i, 100 U/mL penicilina, 100 µg/mL estreptomicina (Gibco, USA) y 2,5 µg/mL anfotericina-B (Cytiva, USA). A los 4 días de cultivo se cambió este medio de crecimiento por medio osteogénico, el cual incluyó: 50 µg/mL de β -glicerofosfato (Merck, Alemania), 10 mM de ácido ascórbico (StemCell Technologies, Canadá) y 10 nM de dexametasona (Sigma-Aldrich, Madrid). Se mantuvieron en el incubador a una atmósfera humificada al 95 % y 5 % de CO₂. Cuando las células alcanzaron

un 80-85 % de confluencia, se efectuó un pase celular para aumentar el número de células y someterlas a las diferentes condiciones de electroestimulación.

SISTEMA DE ELECTROESTIMULACIÓN

La electroestimulación de los cuatro cultivos de hOB, se realizó mediante un sistema que genera campos eléctricos a la vez que los adapta y aplica a las células. Para poder realizar estas funciones, el sistema posee 3 componentes principales: monitorización, electroestimulación y funciones de control como el suministro de energía. Todos los componentes están acoplados a una placa del circuito e interactúan a través de una conexión inalámbrica bidireccional, que permite conocer y modificar los parámetros de funcionamiento en cualquier momento del transcurso experimental (10).

El sistema de electroestimulación utilizado albergó 4 placas de electrodos 8W10E+ (Applied Biophysics, Troy, NY, USA) de 8 pocillos de 1 cm² cada uno, con 20 electrodos de oro de un diámetro de 250 µm (10). La frecuencia aplicada fue de 10 Hz. El sistema de electroestimulación fue diseñado en el Instituto de Microelectrónica de la Universidad de Sevilla (grupo TIC-178) (Fig. 1B).

En este estudio, se aplicó corriente alterna con una frecuencia de 10 Hz, a un voltaje de 500 mV/mm o 750 mV/mm durante 10 días, 3 h diarias, además de una condición control (0 mV). Se definió este rango de voltaje y frecuencia debido a experimentos anteriores de nuestro grupo de investigación aun no publicados.

El sistema de electroestimulación empleado permite trabajar en condiciones compatibles con cultivos celu-

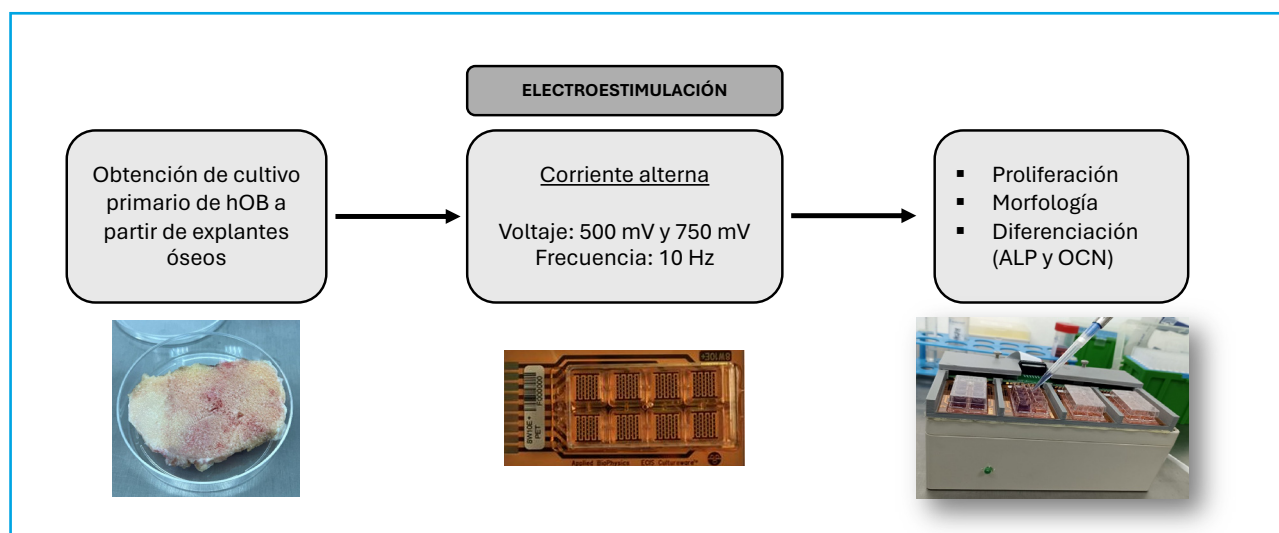


Figura 1. Esquema general del proceso realizado, creado con Bio-Render.

lares estándar, manteniendo las placas de cultivo en incubador (37 °C, 5 % CO₂ y humedad controlada). El sistema está diseñado para mantener la esterilidad durante la estimulación.

ENSAYO DE ACTIVIDAD FOSFATASA ALCALINA

Durante la estimulación, se recogió el sobrenadante (SN) los días 4, 7 y 10, y se congelaron a -80 °C para su posterior análisis.

La actividad ALP se determinó con el *kit* comercial Alkaline Phosphatase Assay Kit (Abcam, Cambridge, UK), y se midió mediante un ensayo colorimétrico basado en la conversión de p-nitrofenilfosfato (pNPP) a p-nitrofenol.

Se determinó la absorbancia utilizando el lector de placas Infinity 200 Pro y los resultados obtenidos se analizaron y representaron mediante GraphPad Prism.

DETERMINACIÓN DE OSTEOCALCINA

Para estudiar la maduración de los hOB, se determinó la presencia de OCN mediante inmunofluorescencia (IF).

Las células se fijaron con paraformaldehído al 4 %. El anticuerpo primario utilizado fue anti-humano-OCN (R&D Systems, USA) y el secundario Anti-mouse Alexa Fluor 488 (Invitrogen, Spain).

Las células fueron visualizadas utilizando microscopio de fluorescencia (Hamamatsu ORCA-03G) y se midió la fluorescencia mediante el *software* ImageJ (Softonic, España).

TRANSFECCIÓN CELULAR E INMUNOFLUORESCENCIA

Los hBO deben cultivarse a una densidad alta para asegurar la supervivencia. La expansión de las células dificulta el análisis individual morfológico. Para evitar este problema, realizamos la transfección de los hOB, tras los 10 días de cultivo, con vectores de expresión de proteínas exógenas fluorescentes. La baja eficiencia de la transfección nos permitió analizar células individuales al microscopio electrónico.

La transfección se llevó a cabo mediante lipofección con el vector pmCherry-N1 (Clontech Laboratories, Takara BioCompany, Canadá) usando el reactivo Lipofectamine 2000 (Invitrogen Life Technologies, USA) en medio OptiMEM (Invitrogen).

Posteriormente, para evaluar la proliferación, morfología y diferenciación celular se llevó a cabo una IF de los hOB después de 10 días de electroestimulación. Las células fueron fijadas con 4 % de paraformaldehído, impermeabilizadas con 0,5 % Tritón-PBS e inmediatamente bloqueadas con 1 % de albúmina de suero bovino en PBT (0,1 % Tritón en PBS). Se incubó con el anticuerpo primario conejo anti-mCherry 1:500 (Conejo, ab167453, Abcam) para el estudio morfológico. Tras lavado con PBS-T, se incubó con el anticuerpo secundario correspondientes en solución de bloqueo durante 1 hora a dilución 1:500 Cy3 AffiniPure Donkey (H+L) (Conejo, AB_2340612, Jackson ImmunoResearch). Para finalizar, las placas se lavaron con PBS y se incubaron con DAPI 1:500 para el estudio de proliferación. Se procedió al montaje y visualización en el microscopio de fluorescencia (Olympus BX50, PA, USA).

También se realizó una inmunofluorescencia de todas las células, como estudio independiente utilizando anti-osteocalcina humana 1:500 (ratón, MAB1419, R&D Systems) como marcador de diferenciación celular. Se siguió el mismo protocolo llevado a cabo en la IF de las células transfectadas, utilizando el anticuerpo secundario a dilución 1:500: anti-mouse Alexa Fluor 488 (Cabra, A11001, Invitrogen) y DAPI a 1:500.

ANÁLISIS DE ESTUDIOS DE PROLIFERACIÓN, MORFOLOGÍA Y DIFERENCIACIÓN OSTEOBLÁSTICA

El análisis morfológico de las células se realizó mediante microscopía de fluorescencia y se capturaron 10 imágenes por pocillo usando un microscopio de fluorescencia (Olympus BX50) equipado con una cámara digital (Hamamatsu ORCA-03G).

Para el estudio de proliferación, se contaron núcleos de 40 campos aleatorios por condición mediante la herramienta Cell Counter del programa ImageJ. Para el análisis morfológico, se contabilizó el área, número de pseudofilopodios, así como su longitud máxima y media de las células pmCherry⁺ mediante el *software* ImageJ. Para cada imagen, se realizó la calibración específica en escala píxel-μm (1 μm = 12 píxeles).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los experimentos se realizaron por triplicado y cada condición por duplicado.

Para llevar a cabo el análisis de datos se utilizó el *software* estadístico SPSS 23.0 (IBM, España). Se rea-

lizó un primer análisis de normalidad, mediante el test de Shapiro-Wilk. Se compararon las medias para datos independientes siguiendo *t*-student o el test *one-way* ANOVA, según se comparasen 2 o más condiciones experimentales, respectivamente. Para el estudio de actividad ALP, se llevó a cabo un análisis *t*-Student de datos pareados, ya que se obtuvieron resultados a lo largo del tiempo (4,7 y 10 días). Los datos referentes a la señal ICC OCN mostraron distribución normal. Sin embargo, el estudio de proliferación y morfológico (área, número de pseudo-filopodios, longitud media y máxima) no mostró normalidad. Para las variables normales, se llevó a cabo un análisis estadístico mediante *t*-Student, para comparar dos grupos independientes y posterior realización de *post-hoc* Tukey. Por otro lado, las variables no paramétricas fueron analizadas mediante un estudio Kruskal-Wallis.

Los datos de edad de los pacientes se representan como media $\pm$ desviación típica, los datos de los análisis experimentales se muestran como media $\pm$ error estándar de la media (SEM). En todos los casos se consideró una $p < 0,05$ como nivel de significación estadística.

RESULTADOS

Obtuvimos cuatro cultivos primarios de hOB de 4 pacientes que fueron sometidos a artrodesis. La edad media de los pacientes fue de 55 ± 2 , fueron 2 mujeres y 2 varones, y en los 4 casos se alcanzó la confluencia celular óptima a los 22 ± 2 días. Los datos se organizan en función de los diferentes parámetros funcionales y morfológicos evaluados, permitiendo observar cómo varía la respuesta celular en relación con el voltaje aplicado.

PROLIFERACIÓN

Analizamos la proliferación de hOB en función del voltaje de electroestimulación aplicado (0, 500 o 750 mV) a una frecuencia de 10 Hz durante 10 días. La variable analizada corresponde a la densidad celular (células/cm²).

En la condición control, sin estímulo eléctrico, se registra una densidad celular media de $90,26 \pm 7,70$ células/cm². En aquellas células estimuladas a 500 mV, observamos un aumento significativo en la proliferación celular ($p < 0,001$) alcanzando una densidad de $112,25 \pm 11,03$ células/cm² mientras que en la condición de 750 mV, la proliferación fue similar a la condición control ($75,90 \pm 7,82$ células/cm²) (Fig. 2).

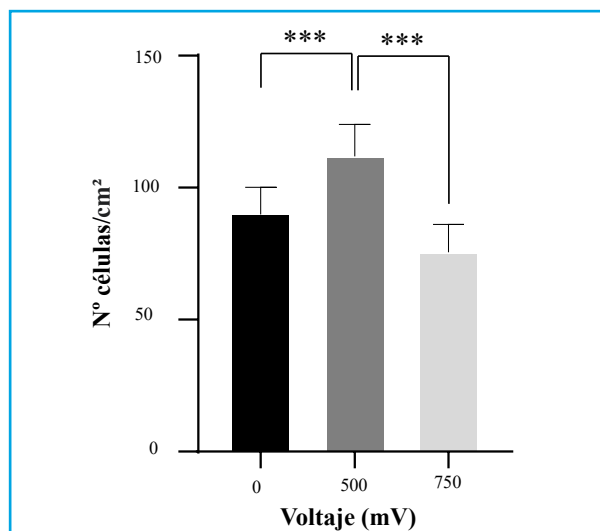


Figura 2. Efecto de la estimulación con corriente alterna sobre la proliferación en cultivos primarios hOB tras 10 días de cultivo. Se evaluaron las respuestas celulares a la frecuencia de 10 Hz bajo diferentes voltajes: 500 mV y 750 mV. Los valores se expresan como porcentaje de viabilidad en relación con el control sin estimulación (0 Hz). Diferencias estadísticas: *** $p < 0,001$.

MADURACIÓN OSTEOBLÁSTICA

La maduración celular se analizó cuantificando los valores de la actividad de ALP a 4, 7 y 10 días de cultivo en el sobrenadante celular. Los valores se muestran en la figura 3.

Tanto en la condición de 500 mV como a 750 mV, observamos una progresión en aumento de la actividad de ALP a lo largo de los días de cultivo, en ambos casos, obtuvimos una actividad máxima a los 10 días.

En el día 7 se observaron aumentos significativos de la actividad ALP respecto a la condición control frente a 750 mV con unos valores de $0,72 \text{ U/mL} \pm 0,02$ vs $0,76 \text{ U/mL} \pm 0,01$. A los 10 días de cultivo, los niveles de ALP a 500 mV y 750 mV aumentaron significativamente respecto a las células control no estimuladas, con valores de $0,74 \text{ U/mL} \pm 0,006$ a 500 mV ($p < 0,01$), $0,82 \text{ U/mL} \pm 0,02$ a 750 mV ($p < 0,001$) frente a control $0,70 \text{ U/mL} \pm 0,01$.

Con respecto a la síntesis de OCN, la figura 4 muestra la señal IF de OCN en hOB expuestas a los voltajes del estudio. La variable registrada corresponde a la intensidad de la señal IF medida en unidades arbitrarias.

Se muestra cómo la señal de OCN es significativamente superior ($p > 0,001$) a 500 mV respecto a la condición control. A 750 mV, observamos una tendencia en aumento sin llegar a alcanzar la significación.

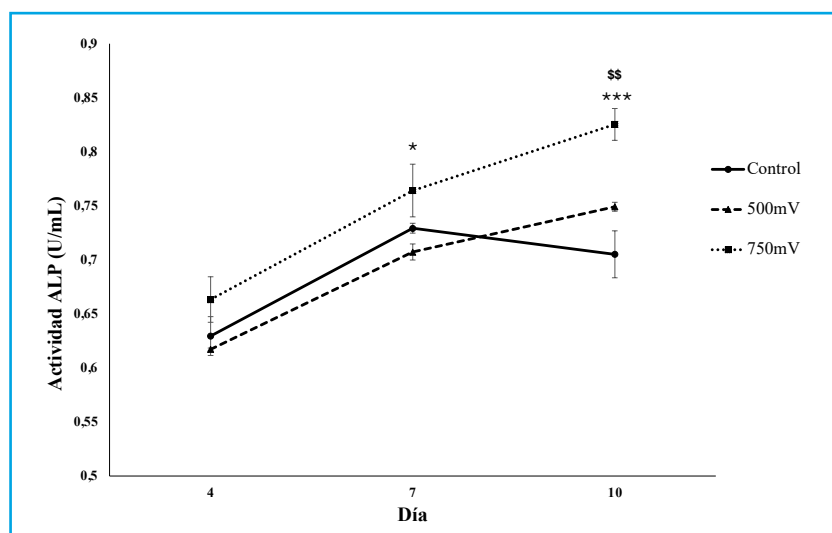


Figura 3. Estudio de actividad de ALP en hOB durante la electroestimulación medida en los días 4, 7 y 10 por corriente alterna a 10 Hz aplicando voltajes de 500 mV y 750 mV. Los datos se expresan en U/mL y se realiza una comparación estadística con el control osteogénico no estimulado (0 Hz) del día del estudio. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

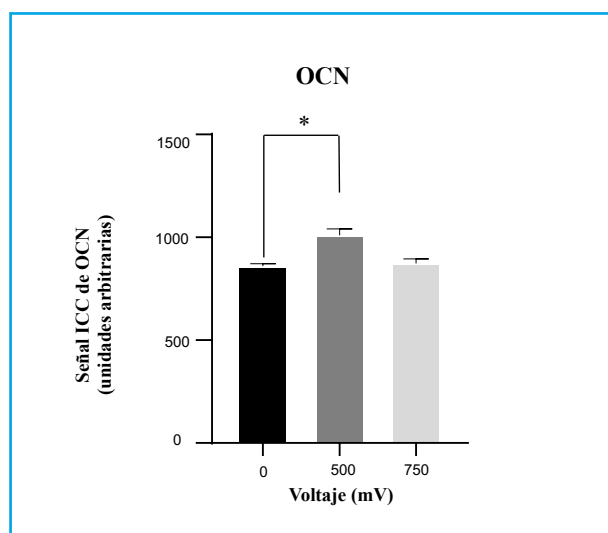


Figura 4. Estudio de la señal IF de OCN de hOB tras la electroestimulación por corriente alterna a 10 Hz aplicando voltajes de 500 mV y 750 mV durante 10 días; (* $p < 0,05$).

167,03 $\mu\text{m}^2 \pm 12,56$. La estimulación a 500 mV produjo un aumento notable del área, alcanzando 181,78 $\mu\text{m}^2 \pm 17,50$. A 750 mV el área media fue de 200 $\mu\text{m}^2 \pm 15,89$, siendo superior al valor observado en el grupo control, pero sin alcanzar diferencia significativa.

En cuanto al recuento total de pseudofilopodios por hOB, tanto en las células estimuladas como en el cultivo control, no se observaron diferencias significativas ya que tanto en los OB estimulados a 500 mV, a 750 mV como la condición control presentaron 6,32 $\pm 0,25$ pseudofilopodios por célula.

Los valores alcanzados en la longitud máxima de los pseudofilopodios fueron similares en todos los cultivos de hOB, llegando a valores próximos a cerca de 14,55 $\mu\text{m} \pm 1,40$ en cada condición. Respecto a la longitud media de los mismos, no mostró diferencias significativas entre el grupo control y las células estimuladas a 500 mV, ya que ambos alcanzaron una media de 7,1 $\mu\text{m} \pm 0,40$. En cambio, la estimulación eléctrica a 750 mV resultó en una disminución no significativa, situándose en valores de 5,19 $\mu\text{m} \pm 0,63$.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Nos planteamos estudiar la morfología celular de los hOB para demostrar si la electroestimulación inducía cambios de forma, tamaño, número de prolongaciones citoplasmáticas (pseudofilopodios) o la extensión de las mismas. Dado que observar la morfología en un cultivo es complejo, se transfectaron las células, con una tasa de 10 % de transfección, con el objetivo de observar células aisladas y poder cuantificar y evaluar todos los parámetros (Fig. 5).

Respecto al estudio del área celular media de los hOBs (μm^2), el cultivo control presentó un área media de

DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que los cultivos de hOB estimulados a 500 mV presentan un aumento de la proliferación. Estos resultados están en consonancia con los de otros autores los cuales también observan un aumento tanto en la actividad metabólica como en la proliferación celular bajo estimulación eléctrica. Esto sugiere que la estimulación eléctrica potencia el crecimiento celular bajo condiciones específicas, observado que los campos eléctricos acoplados de forma capacitiva incrementaron significativamente la proliferación

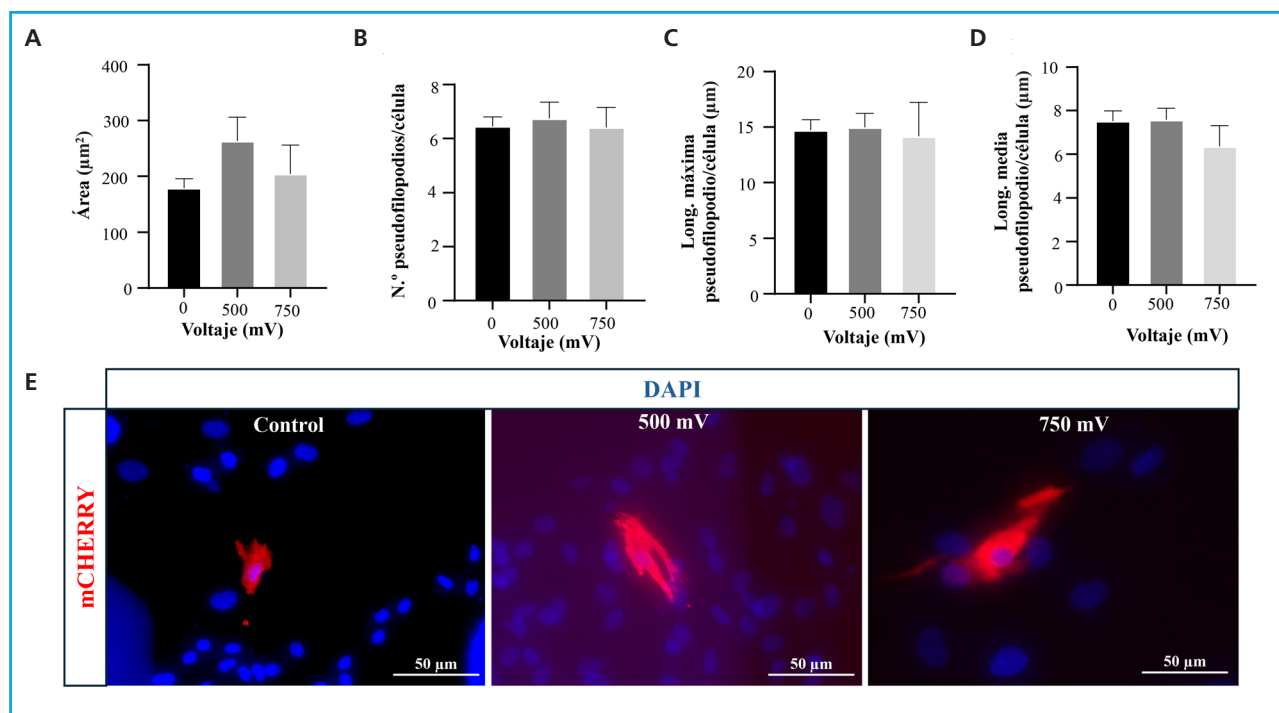


Figura 5. Estudio morfológico en hOB tras la electroestimulación por corriente alterna a 10 Hz aplicando voltajes de 500 mV y 750 mV. A. Área (μm²). B. Número de pseudofilopodios/célula. C. Longitud máxima de los pseudofilopodios/célula. D. Longitud media de pseudofilopodios/célula. E. Inmunofluorescencia de hOB tras electroestimulación a 10 Hz a los voltajes de 500 mV y 750 mV respecto a la situación control (0 mV). Células transfectadas con el plásmido mCherry (rojo); núcleos celulares con DAPI (azul).

de células osteoblásticas respaldando el hecho de que la estimulación eléctrica puede favorecer la expansión celular en fases tempranas del proceso osteogénico (12,13). En otros estudios realizados, se ha descrito que la estimulación eléctrica produce un aumento en la actividad metabólica de los hOB y de la expresión de marcadores implicados en la remodelación ósea (14). Sin embargo, en diversos estudios no se han observado diferencias significativas en la regeneración ósea tras aplicar estimulación eléctrica alterna a 0,2 V y 1,4 V, lo que sugiere que es una respuesta dependiente de las condiciones de estimulación eléctrica (15). Este aumento de proliferación podría deberse a que la corriente continua puede alterar el potencial de membrana celular, activando canales iónicos dependientes de voltaje, especialmente canales de calcio. El aumento en la entrada de Ca^{2+} puede activar cascadas de señalización intracelular que promueven la proliferación mediante la activación de proteínas quinasas A y C (PKA y PKC). Por otro lado, se ha descrito que el aumento de vinculina induce una mejor adhesión celular, lo que puede activar señalización mediada por integrinas y promover la proliferación a través de señales mecanotransductoras (14-16).

La maduración celular la valoramos cuantificando la actividad de ALP y OCN, como biomarcadores claves en el proceso de formación ósea ya que son enzimas

producidas por los osteoblastos que participan en la mineralización ósea.

En base a los datos obtenidos, se observó un aumento progresivo entre días 4-10 en ambos cultivos estimulados, siendo más evidente en las células estimuladas a 750 mV. ALP es un marcador de maduración temprana osteoblástica y de preparación de la matriz para mineralización, este patrón temporal es coherente con la transición de pre-OB a OB maduros, donde la actividad de ALP precede a la expresión de proteínas de matriz (como OCN) y a la deposición de hidroxiapatita. Por otro lado, la mayor expresión de OCN se mostró en los cultivos de hOB estimulados a 500 mV.

Varios autores han descrito que la expresión de ALP y/o OCN aumentó de forma notable tras la aplicación de campos electromagnéticos junto con un campo eléctrico alterno tradicional tanto en células madre humanas derivadas de hueso alveolar como en cultivos de células MC3T3 (17-19). De manera similar se mostró que la combinación de electroestimulación con hidrogel de hidroxiapatita incrementa la expresión de marcadores osteogénicos y promueve la diferenciación de hOB, favoreciendo su maduración y mineralización (20).

Los cambios morfológicos observados en los osteoblastos tras ser sometidos a diferentes voltajes reflejan va-

riaciones relevantes en su comportamiento biológico. A partir de los resultados del estudio se observa un incremento del área celular en las células estimuladas a 500 mV, posiblemente relacionado con un aumento en la producción de matriz extracelular (15). Con respecto al número de pseudofilopodios observados, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos de OB estimulados. Aunque estos resultados no son concluyentes, estudios previos han demostrado que la estimulación eléctrica puede modular la organización del tejido e incrementar su actividad celular, lo que está relacionado de forma indirecta con la formación de pseudofilopodios. Concretamente, estudios en neuronas han evidenciado que la estimulación eléctrica modula parámetros estructurales como la longitud y orientación celular (10), lo que sugiere que este fenómeno podría manifestarse en OB, dado que la formación de pseudofilopodios están relacionados con procesos de migración y regeneración ósea. Asimismo, en estudios previos se ha descrito que la estimulación eléctrica induce cambios morfológicos generales en hOB, como alteraciones en la forma celular y reorganización del citoesqueleto, lo que refuerza la idea de que la morfología de los osteoblastos responde a estímulos eléctricos (21).

Basándose en trabajos previos, se plantea la hipótesis de que la estimulación con corriente continua posiblemente aumenta la concentración de calcio extracelular y promueve la señalización celular, así como la expresión de diferentes proteínas de adhesión celular y otros marcadores de la matriz extracelular (como vinculina, fosfatasa alcalina, osteocalcina, etc.), lo que acelera el crecimiento y la maduración progresiva de los osteoblastos.

A partir de los estudios previos, se propone que la estimulación con corriente continua podría elevar los niveles de calcio en el espacio extracelular y activar diversas rutas de señalización celular (16). Este estímulo favorecería también la producción de proteínas implicadas en la adhesión celular y en la matriz extracelular, la fosfatasa alcalina y la osteocalcina, contribuyendo así a acelerar tanto la proliferación como la maduración progresiva de los osteoblastos (22).

La fortaleza del estudio es el uso de hOB primarios como modelo de investigación, evitando los cambios genéticos que presentan las líneas celulares convencionales, por otro lado, el sistema de estimulación está totalmente controlado y regulado por análisis integrados. En modelos de fractura ósea, la estimulación eléctrica ha demostrado mejorar la calidad ósea, evidenciándose en un aumento de la densidad mineral y resistencia mecánica del hueso fracturado, lo que apoya la aplicabilidad de estimulación eléctrica en estudios de regeneración ósea (23). Las limitaciones principales son: por un lado, el pequeño tamaño muestral y el hecho que sean 2 varones y 2 mujeres que no nos permitió hacer estudios separados por sexo y, por otro lado, la duración li-

mitada del estudio (10 días) que viene determinada por la dificultad de mantener los cultivos hOB y la ausencia de análisis de mineralización tardía.

Los resultados muestran tres conclusiones: a) mejora de la proliferación y expansión del área celular a 500 mV (pero reducción de densidad a 750 mV); b) aumento de la actividad de ALP con el tiempo, particularmente significativo al día 10 en ambos voltajes frente al control; y c) incremento significativo de la señal de osteocalcina (OCN) a 500 mV, sin cambios relevantes en número ni longitud máxima de pseudofilopodios respecto a control.

Se concluye que la estimulación alterna a 10 Hz y 500 mV mejora proliferación, expande el área celular y potencia la maduración (OCN) osteoblástica, siendo la condición óptima y recomendable para estudios posteriores en modelos de animales y humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chen C, Bai X, Ding Y, Lee IS. Electrical stimulation as a novel tool for regulating cell behavior in tissue engineering. *Biomater Res* 2019;23:25. DOI: 10.1186/s40824-019-0176-8
2. Zhang X, Wang T, Zhang Z, Liu H, Li L, Wang A, et al. Electrical stimulation system based on electroactive biomaterials for bone tissue engineering. *Mater Today* 2023;68:177-203.
3. Wang Y, Li Z, Chen X, Tan Y, Wang F, Du Y, et al. Electroactive differential growth and delayed instability in accelerated healing tissues. *J Mech Phys Solids* 2024;193:105861. DOI: 10.1016/j.jmps.2024.105867
4. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *J Cell Biochem* 2006;99(5):1233-9. DOI: 10.3390/ijms20071694
5. Buo AM, Tomlinson RE, Eidelman ER, Chason M, Stains JP. Connexin43 and Runx2 interact to affect cortical bone geometry, skeletal development, and osteoblast and osteoclast function. *J Bone Miner Res* 2017;32(8):1727-38. DOI: 10.1002/jbmr.3152
6. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Biomed Res Int* 2015;2015:421746. DOI: 10.1155/2015/421746
7. Rubert M, de la Piedra C. La osteocalcina: de marcador de formación ósea a hormona; y el hueso, un órgano endocrino. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2020;12(4):146-51. DOI: 10.4321/S1889-836X2020000400007
8. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garner P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos Int* 2011;22(2):391-420. DOI: 10.1007/s00198-010-1501-1
9. Aleem IS, Aleem I, Evaniew N, Busse JW, Yaszemski M, Agarwal A, et al. Efficacy of electrical stimulators for bone healing: a meta-analysis of randomized sham-controlled trials. *Sci Rep* 2016;6:31724. DOI: 10.1038/srep31724

10. Martín D, Gil A, Sanchis A, Martínez-Ramos C, Pradas MM, Vallés-Lluch A, et al. DC electrical stimulation enhances proliferation and differentiation on N2a and MC3T3 cell lines. *J Biol Eng* 2022;16:27. DOI: 10.1186/s13036-022-00306-8
11. Leppik L, Oliveira KMC, Bhavsar MB, Barker JH. Electrical stimulation in bone tissue engineering treatments. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2020;46(2):231-44. DOI: 10.1007/s00068-020-01324-1
12. Mata D, Boix-Lemonche G, Marchat D, Llorens E, Ginebra MP, Canal C, et al. Smart electroconductive bioactive ceramics to promote in situ electrostimulation of bone. *J Mater Chem B* 2015;3(9):1831-45. DOI: 10.1039/c4tb01628a
13. Hartig M, Joos U, Wiesmann HP. Capacitively coupled electric fields accelerate proliferation of osteoblast-like primary cells and increase bone extracellular matrix formation in vitro. *Eur Biophys J* 2000;29(7):499-506. DOI: 10.1007/s002490000100
14. Stephan S, Zimmermann J, Klinder A, Sahm F, van Rienen U, Kämmerer PW, et al. Establishment and evaluation of an in vitro system for biophysical stimulation of human osteoblasts. *Cells* 2020;9(9):1995. DOI: 10.3390/cells9091995
15. Sahm F, Zimmermann J, Klinder A, Stephan M, van Rienen U, Kämmerer PW, et al. Alternating electric fields modify the function of human osteoblasts growing on and in the surroundings of titanium electrodes. *Int J Mol Sci* 2020;21(18):6944. DOI: 10.3390/ijms21186944
16. Bodhak S, Bose S, Kinsel WC, Bandyopadhyay A. Investigation of In Vitro Bone Cell Adhesion and Proliferation on Ti Using Direct Current Stimulation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2012;32(8):2163-8. DOI: 10.1016/j.msec.2012.05.032
17. Hiemer B, Ziebart J, Jonitz-Heincke A, Grunert PC, Su Y, Hansmann D, et al. Magnetically induced electrostimulation of human osteoblasts results in increased cell viability and osteogenic differentiation. *Int J Mol Med* 2016;38:57-64. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2590
18. Lim K, Hexiu J, Kim J, Seonwoo H, Cho WJ, Choung PH, et al. Effects of electromagnetic fields on osteogenesis of human alveolar bone-derived mesenchymal stem cells. *Biomed Res Int* 2013;2013:296019. DOI: 10.1155/2013/296019
19. Liu J, Zhang Y, Wang H, Li X, Chen Z, Liu Y, et al. The effects and mechanisms of electromagnetic fields on bone remodeling: from clinical to laboratory. *J Orthop Translat* 2025;52:14-26. DOI: 10.1016/j.jot.2025.03.003
20. Gao J, Li Y, Wang X, Zhang L, Chen Y, Liu H, et al. Electrical stimulation combined with hydroxyapatite hydrogel for bone regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2025;113(11):e35687. DOI: 10.1002/jbm.b.35687
21. Engel N, Dau M, Engel V, Franz D, Klemmstein F, Thanisch C, et al. Combining electrostimulation with impedance sensing to promote and track osteogenesis within a titanium implant. *Biomedicines* 2023;11(3):697. DOI: 10.3390/biomedicines11030697
22. Mahadeo CO, Shahin-Shamsabadi A, Khodamoradi M, Fahnestock M, Selvaganapathy PR. The Effects of Electrical Stimulation on a 3D Osteoblast Cell Model. *Cells* 2025;14:396. DOI: 10.3390/cells14060396
23. Yao G, Kang L, Li C, Chen S, Wang Q, Yang J, et al. A self-powered implantable and bioresorbable electrostimulation device for biofeedback bone fracture healing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021;118(28):e2100772118. DOI: 10.1073/pnas.2100772118

Original

Failure of the mechanical response as a cell-intrinsic effect in osteoblastic cell lines with *GBA1* mutations used as models of Gaucher bone disease

Sara Heredero-Jiménez¹, Juan-David Patiño-Salazar², Eduardo Martín-Guerrero¹, Núria Martínez-Gil², Mónica Cozar², Diana Ovejero³, Xavier Nogués³, Laura Cinque⁴, Arancha R. Gortázar¹, Daniel Grinberg², Susanna Balcells², Natalia García-Giralt³, Raquel Rabionet¹, Juan A. Ardura²

¹Bone Physiopathology Laboratory. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Universidad San Pablo-CEU. Madrid, Spain. ²Department of Genetics, Microbiology and Statistics. Faculty of Biology. Universidad de Barcelona. CIBERER, IBUB, IRSJD. Barcelona, Spain. ³Musculoskeletal Research Group. Instituto de Investigaciones Médicas. Hospital del Mar. CIBERFES, ISCIII. Barcelona, Spain. ⁴Department of Clinical Medicine and Surgery. Federico II University. Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM). Naples, Italy

Abstract

Background: Gaucher disease (GD) is caused by mutations in the *GBA1* gene that result in lysosomal accumulation of glucosylceramides. Bone manifestations associated with GD include Erlenmeyer flask deformity, osteopenia, osteosclerosis, osteonecrosis, and bone pain. Although osteoblast function has previously been evaluated in GD, no studies have assessed osteoblast function under mechanical stimulation.

Objectives: we aimed to generate an *in vitro* osteoblastic cellular model of GD and to evaluate the effect of mechanical stimulation on the function of this model.

Material and methods: *GBA1* was knocked out using CRISPR/Cas9, and two ROS17/2.8 clones with no detectable *GBA1* enzymatic activity were selected. ROS wild-type (wt) and ROS-*Gba1*KO cells were plated and subjected to mechanical stress using laminar fluid flow at a shear stress of 10 dynes/cm² and 8 Hz for 10 minutes in a Flexcell® Streamer® Shear Stress Device. The remaining cells were maintained under static conditions. Cells were then cultured in fresh medium for an additional 18 hours before RNA extraction and quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analysis of osteoblastic biomarkers. Cell viability and proliferation were assessed throughout the experiment, with no significant differences observed among the experimental conditions.

Results: as expected, mechanical stimulation induced osteoblast differentiation in all cell lines tested, as demonstrated by increased mRNA expression of *Runx2* and *Bglap* (osteocalcin). However, *Opg* (osteoprotegerin) expression was significantly reduced in KO cells compared with control cells.

Conclusions: loss of *GBA1* activity reduces osteoprotegerin expression in mechanically stimulated osteoblast models, suggesting disruption of osteoblast-osteoclast crosstalk and consequent impairment of bone remodeling in GD.

Keywords:
Gaucher
disease. *GBA1*
mutations.
Osteoblasts.

Received: 04/24/2026 • Accepted: 05/18/2026

Supplementary data: Supplementary data associated with this article are available online at <https://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>.

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

Artificial intelligence: The authors declare that no generative artificial intelligence (AI) or AI-assisted technologies were used in the writing or preparation of this manuscript.

Heredero-Jiménez A, Patiño-Salazar JD, Martín-Guerrero E, Martínez-Gil N, Cozar M, Ovejero D, Nogués X, Cinque L, Gortázar AR, Grinberg D, Balcells S, García-Giralt N, Rabionet R, Ardura JA. Failure of the mechanical response as a cell-intrinsic effect in osteoblastic cell lines with *GBA1* mutations used as models of Gaucher bone disease. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):110-117

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00122

Correspondence:

Natalia García-Giralt. Musculoskeletal Research Group. Instituto de Investigaciones Médicas. Hospital del Mar. Carrer del Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona, Spain
e-mail: ngarcia@researchmar.net

INTRODUCTION

Gaucher disease (GD; OMIM #230800; ORPHA355) is a rare autosomal recessive genetic disorder caused by bi-allelic pathogenic variants in the *GBA1* gene (GRCh37/hg19 chromosome 1: 155,204,239-155,214,653), resulting in deficient glucocerebrosidase activity (GCase; EC 3.2.1.45; *GBA1*) and accumulation of glucosylceramide (GlcCer) and its deacylated metabolite glucosylsphingosine (GlcSph) in lysosomes of cells of the monocyte/macrophage system (1).

The characteristic signs of the disease, including splenomegaly, hepatomegaly, cytopenias, and bone lesions, are attributable to infiltration by Gaucher cells in the spleen, liver, and bone marrow, respectively (2). Gaucher cells are enlarged macrophages containing expanded lysosomes caused by accumulation of the undegraded substrate glucosylceramide. These cells damage the tissues in which they accumulate and exhibit increased activity of several lysosomal acid hydrolases, including acid phosphatase, angiotensin-converting enzyme (ACE), and lysozyme. In addition, one of the most characteristic features of Gaucher cells is their ability to release the enzyme chitotriosidase and numerous cytokines (3). GlcCer can be metabolized by acid ceramidase to glucosylsphingosine (GlcSph), accumulation of which is a characteristic consequence of GCase deficiency. GlcSph is subsequently metabolized to sphingosine, and high concentrations of this metabolite are toxic to bone and may contribute to neuronal dysfunction and death (4). The Gaucher disease phenotype is heterogeneous, but three clinical forms have traditionally been distinguished according to the severity of neuronopathic involvement: nonneuronopathic GD (GD1; OMIM 230800), acute neuronopathic GD (GD2; OMIM 230900), and chronic or subacute neuronopathic GD (GD3; OMIM 231000) (5-7).

Type 1 Gaucher disease (GD1) encompasses a broad spectrum of clinical severity, ranging from affected infants to asymptomatic adults. GD1 is also associated with numerous musculoskeletal signs, including bone marrow infiltration by Gaucher cells, bone infarction, recurrent avascular osteonecrosis, microvascular occlusion within bone, cortical thinning, impaired bone remodeling, osteolytic lesions, and reduced bone mineral density. These abnormalities can result in bone pain, increased susceptibility to fractures, joint damage with secondary osteoarthritis, bone deformity, and disability, thereby impairing patients' quality of life and occasionally necessitating orthopedic surgery. Imaging studies have demonstrated bone involvement in up to 90 % of patients with Gaucher disease. One of the most characteristic skeletal findings is Erlenmeyer flask deformity, with the femur being among the most frequently affected bones (8,9).

GD1 is the most common form of the disease and is associated with skeletal signs in up to 80 % of pa-

tients, substantially reducing quality of life. Bone involvement may be limited to asymptomatic defective remodeling, such as Erlenmeyer flask deformity. Bone remodeling depends on crosstalk between bone-forming osteoblasts and bone-resorbing osteoclasts and is essential for maintaining bone homeostasis. Mechanical stimulation plays an important role by activating osteoblasts to produce osteoprotegerin (*Opg*), which protects against osteoclast-mediated bone resorption (10,11). Bone involvement in GD may also include medullary and corticocancellous infarcts, pathological fractures, osteonecrosis of the humeral or femoral heads, and vertebral collapse (12-14). However, the precise mechanisms underlying bone pathophysiology in GD remain unclear.

Lysosomes, as components of the autophagy pathway, play important roles in regulating osteoblast differentiation and osteoclast maturation (15). Autophagy protects osteoblasts from apoptosis and may be critical for osteogenic differentiation and bone formation.

In this study, we aimed to generate osteoblast-like cells harboring loss-of-function mutations in the *Gba1* gene using CRISPR/Cas9 and to evaluate their intrinsic response to mechanical stimulation to broaden our understanding of the skeletal phenotype in GD.

MATERIALS AND METHODS

GENERATION OF *Gba1*KO MODELS USING CRISPR/Cas

The rat osteosarcoma cell line ROS17/2.8 (RRID: CVCL_0508) was used as a model of osteoblast-like cells in its wild-type and *Gba1* knockout (ROS-*Gba1*KO) forms. *Gba1* editing was performed at the Organelle Homeostasis Laboratory of TIGEM (Naples, Italy) using the pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) plasmid and a Sigma-Aldrich synthetic guide RNA (RN00064-0684536; sgRNA) targeting exon 3 of the *Gba1* gene (Supplementary Table I - <https://www.revistadeosteoporosismetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>). For guide selection, off-target site prediction was performed using Benchling (<https://www.benchling.com/>) (Supplementary Table II - <https://www.revistadeosteoporosismetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>). The sgRNA was cloned into the pSpCas9(BB)-2A-GFP vector according to the protocol described by Ran et al. (16) After the sgRNA had been cloned and tested, cells were seeded 1 day before transfection in 6-well plates (3.5×10^5 cells/well). Reverse transfection was performed using 2500 ng of pSpCas9 plasmid containing sgRNA, 7.5 μ L of Lipofectamine™ 3000, and 5 μ L of Lipofectamine™ P3000 reagent (Invitrogen-Thermo Fisher Scientific, United States), according to the manufacturer's in-

structions for use. After 48–72 hours, the edited cell pool was subjected to single-cell sorting by flow cytometry (BD Biosciences LSR II flow cytometer, San Jose, CA, United States). Cells derived from individual clones were expanded to obtain sufficient numbers for DNA extraction and identification of edited clones by Sanger sequencing. Edited clones predicted to generate KO proteins were analyzed by western blotting to confirm loss of GCase expression, and GCase activity was measured in selected clones.

CELL CULTURES

ROS wt and ROS-*Gba1*KO cells were cultured and maintained in DMEM/F-12 medium (Gibco) containing 10 % fetal bovine serum (Gibco; origin: Brazil) and 1 % penicillin/streptomycin (Gibco) as complete medium, in a humidified atmosphere containing 5 % CO₂ at 37 °C. Osteoblast viability was assessed using the MTT assay (Sigma). Briefly, 80,000 cells were cultured in 24-well plates for 3 days, after which MTT reagent was added at a final concentration of 0.45 mg/mL. Absorbance was measured at 560 nm after incubation at 37 °C for 4 hours. Three independent replicates were performed.

WESTERN BLOT

To evaluate GCase expression levels, cells were washed once with phosphate-buffered saline (PBS) and lysed in RIPA buffer using cell scrapers. Protein extracts were quantified using the Pierce™ BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, United States). Proteins (20 µg/lane) were separated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and transferred to a hydrophobic polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane (Merck-Millipore, Burlington, MA, USA). A primary antibody against GCase/GBA (2 µg/mL; GBA 2E2 WH0002629M1, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States) was used, and an antibody against actin (1:200; A2066, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States) served as the loading control. Membranes were developed using a peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG secondary antibody (A0545), diluted 1:10,000, for GCase/GBA and actin detection. Each quantification was obtained from an independent experiment, for a total of 3 experiments per biological replicate.

GLUCOCEREBROSIDASE ENZYMATIC ACTIVITY

Glucocerebrosidase (GCase) enzymatic activity was measured using the fluorogenic substrate 4-methy-

lumbelliferyl-β-D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, United States). Total protein concentration in cell lysates was determined using the Bradford assay (Bio-Rad, Hercules, CA, United States), according to the manufacturer's instructions for use. In each well of a 96-well plate, 24 µL containing 24 µg of protein was incubated at 37 °C for 30 minutes. Subsequently, 100 µL of McIlvaine buffer (150 mM citrate-Na₂HPO₄ solution; 0.2 % taurocholate; 0.1 % Triton X-100; 0.1 % BSA; 1.25 mg/mL substrate; pH 5.2) was added, and the plate was incubated again at 37 °C for 30 minutes. The reaction was stopped with 0.3 M NaOH-glycine buffer, pH 10.4, and the fluorescent product was quantified using a fluorimeter (Thermo Scientific Fluoroskan Ascent FL Microplate Fluorimeter and Luminometer) at an excitation wavelength of 365 nm and an emission wavelength of 495 nm. Quantification was performed relative to readings obtained without substrate addition (blank). Values below the blank were reported as 0. This assay was performed once for each selected clone.

FLUID-FLOW ASSAY

ROS wt and ROS-*Gba1*KO cells were plated at 2×10^4 cells/cm² on collagen-pretreated glass slides (Flex-Cell, Hillsborough, NC, United States) and cultured in complete DMEM/F-12 medium. After 24 hours of incubation, half of the cells were subjected to mechanical stress by laminar fluid flow (FF) at a shear stress of 10 dynes/cm² and 8 Hz for 10 minutes using a Flexcell® Streamer® Shear Stress Device. The remaining cells were maintained under static conditions (SC). Cells were subsequently cultured in fresh medium for an additional 18 hours before RNA extraction and qPCR analysis (Supplementary Table I - <https://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>). During the procedure, cell viability and proliferation were assessed, with no significant differences observed among the experimental conditions. Briefly, non-adherent cells were collected and pooled with trypsinized adherent cells and counted using a Neubauer chamber. The number of viable cells and cell viability were determined using the trypan blue exclusion assay, in which refractile cells were considered viable, whereas cells showing intracellular blue staining were considered nonviable. Three independent replicates were performed.

RT-qPCR

Total RNA was extracted from ROS wt and KO cells subjected to FF or SC using the High Pure RNA Isolation Kit (Roche, Basel, Switzerland), according to

the manufacturer's recommendations. Two micrograms of RNA were reverse transcribed using the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, United States), followed by RT-qPCR using LightCycler® 480 Probes Master (Roche, Basel, Switzerland) in a LightCycler® 480 system (Roche, Basel, Switzerland), according to the manufacturer's protocol. Primers were designed from available mouse and rat sequences using Primer3 software (Supplementary Table I - <https://www.revistadeosteoporosismetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>). Mouse and rat *Gapdh* genes were used as internal controls. The comparative threshold cycle (Ct) method was used for data analysis, with results expressed as $2^{-\Delta Ct}$. Three independent experiments were performed for each biomarker.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism, version 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, United States). Unpaired and paired *t* tests, the Mann-Whitney *U* test, or analysis of variance (ANOVA)

were used, as appropriate. Data are expressed as mean $\pm$ SD and are representative of three or more independent experiments.

RESULTS

GENERATION OF *Gba1* GENE KNOCKOUT IN OSTEOLAST-LIKE CELL LINES

We generated and characterized *Gba1* knockout rat osteosarcoma cell lines (ROS-*Gba1*KO) as putative osteoblast-like cellular models of GD. Two KO clones were obtained from ROS cells. The first clone (ROS-*Gba1*KO1) carried a homozygous 2-nucleotide frameshift deletion (NM_001127639.1:c.256_257del; p.Leu86AsnfsTer44), whereas the second clone (ROS-*Gba1*KO2) carried a homozygous 1-nucleotide frameshift deletion (NM_001127639.1:c.258del; p.Leu87ProfsTer11) (Fig. 1A). These deletions were validated by Sanger sequencing (Supplementary Fig. 1 - <https://www.revistadeosteoporosismetabolismomineral.com/files/533/ADMA1-00122-02.pdf>).

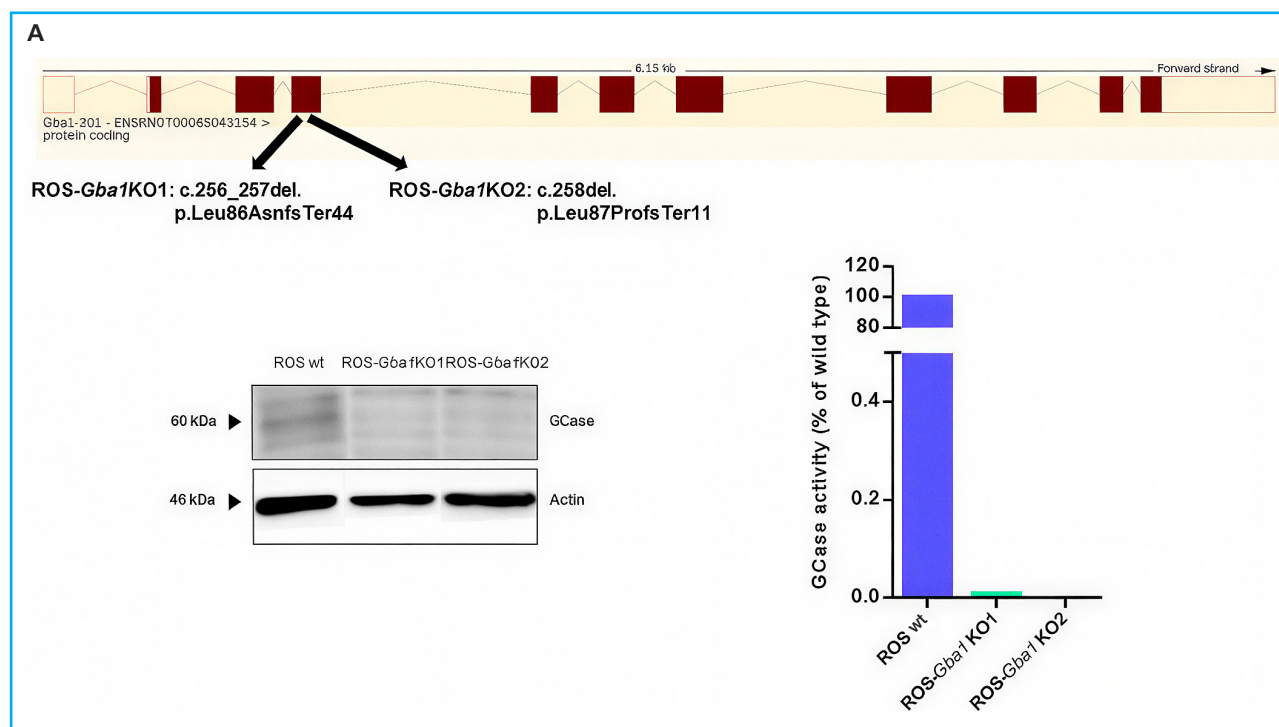


Figure 1. Generation and characterization of Gaucher osteoblastic models. A. Schematic representation of the *Rattus norvegicus Gba1* gene showing the locations of the mutations. The ROS-*Gba1*KO1 clone carries a homozygous 2-nucleotide deletion (256-257), whereas the ROS-*Gba1*KO2 clone carries a homozygous 1-nucleotide deletion (258). B. Western blot analysis of GCase expression in ROS cells (wt and KO). The KO clones showed markedly reduced GCase expression compared with wt cells. C. GCase enzymatic activity in ROS cells (wt and KO). GCase enzymatic activity was markedly reduced in the selected KO clones compared with wt cells. Results correspond to one biological replicate for each cell type.

ROS-*Gba1*KO cells showed no detectable GCase protein expression, as determined by western blotting (Fig. 1B), and exhibited < 1 % residual GCase enzymatic activity (Fig. 1C).

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF GENERATED KO OSTEOBLASTS UNDER MECHANICAL STIMULATION

First, we assessed cell viability and proliferation and observed no significant differences between the KO clones and the wild-type cell line (Fig. 2).

Given the well-established anabolic effects of mechanical stimuli on bone, we analyzed the response of KO cells to mechanical stimulation and compared it with that of wt cells. Mechanical stimulation induced a significant increase in *Runx2* and *Bglap* mRNA expression in all cell types, with no significant differences between KO and wt cells. However, for *Runx2*, a statistically significant difference was detected between wt cells and one KO line (ROS-*Gba1*KO2) under static conditions. In contrast, *Opg* expression showed a distinct pattern: wt cells exhibited a 3-fold increase after mechanical stimulation, whereas this stimulatory effect was significantly attenuated or absent in KO cells (Fig. 2).

DISCUSSION

In this study, we aimed to generate and characterize an osteoblast-like cell model of GD to investigate mecha-

nisms underlying the skeletal manifestations associated with the disease. We used CRISPR/Cas9 gene editing to generate *Gba1* knockouts in rodent bone cell lines because rodents do not harbor the *GBA* pseudogene. After validating the models, we evaluated the response of these *Gba1* knockout cells to mechanical stimulation by measuring the expression of osteoblastic biomarkers.

To assess osteoblast function in ROS-*Gba1*KO cells, we analyzed the expression of *Runx2*, *Bglap*, and *Opg*, which are specifically involved in osteoblast differentiation and function. In our mechanical loading experiments, no consistent differences were observed in either *Runx2* or *Bglap* expression compared with wt cells, either before or after mechanical stimulation. These markers represent distinct aspects of osteoblast differentiation and function. *Runx2* is a transcription factor that plays an essential role in osteoblast differentiation and expression of osteoblast-specific genes. It is crucial for commitment of mesenchymal stem cells to the osteoblast lineage and positively regulates early stages of osteoblast differentiation; accordingly, it is considered an early marker of osteoblast differentiation. Osteocalcin (*Bglap*) is a hormone secreted primarily by osteoblasts and is thought to contribute to systemic metabolic regulation. It is expressed by mature osteoblasts and therefore represents a marker of later-stage differentiation. Finally, osteoprotegerin (*Opg*) is secreted by osteoblasts and acts as a decoy receptor that binds specifically to *Rankl*. Binding of *Rankl* to its receptor *Rank* on the membrane of osteoclast precursors is essential for osteoclast formation and activation. Osteoprotegerin regulates bone remodeling by reducing osteoclast formation and is therefore used as a marker of osteoblast function (10,17-19).

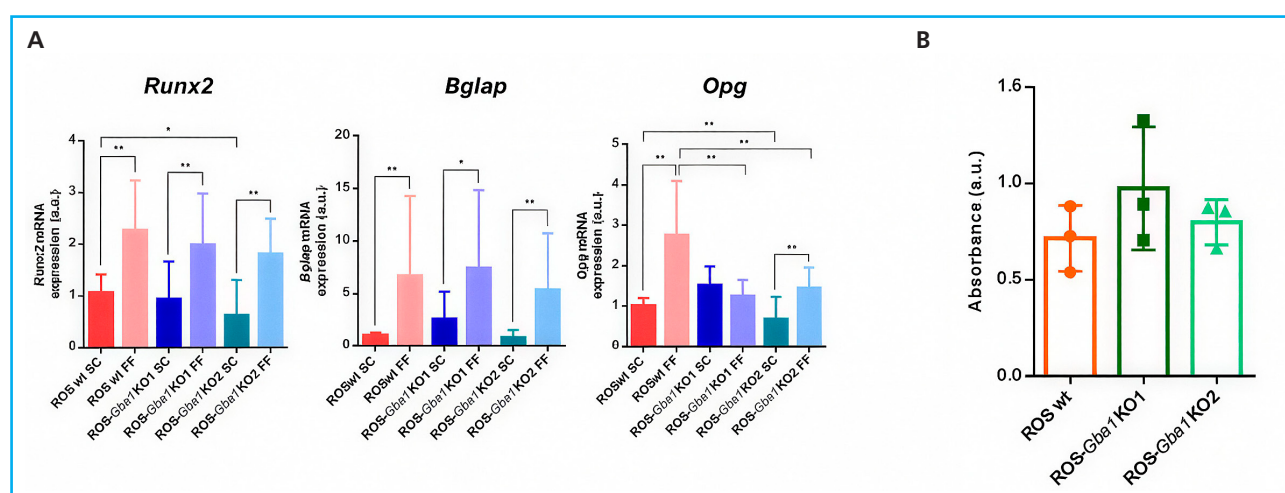


Figure 2. Mechanical stimulation assay (fluid flow) in ROS-*Gba1*KO cell models. A. mRNA expression of osteoblastic markers after mechanical stimulation. Results are expressed as mean $\pm$ SD of 3 independent experiments. B. Cell viability. MTT assay results are expressed as mean $\pm$ SD of three independent experiments. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$. SC, static control; FF, fluid flow (mechanically stimulated sample).

Former *in vitro* studies investigating osteoblast function in GD have reported conflicting results. Several studies, including those using induced pluripotent stem cell-derived osteoblasts, osteoblast-like cell lines treated with the glucocerebrosidase inhibitor conduritol-B-epoxide (CBE), or cells obtained directly from patients with GD, have reported impaired osteoblast function, with significantly reduced expression of biomarkers such as *Runx2*, *Alp*, *Col1*, and *Bglap* (20-22). In contrast, Le-court et al. (23), using an *in vitro* model of CBE-treated and untreated mesenchymal stem cells (MSCs), observed impaired proliferation in treated compared with untreated MSCs. However, when osteoblast differentiation was assessed by measuring *Runx2* and Osterix mRNA expression, no significant differences were found between treated and untreated cells after seven days of culture in osteogenic medium. Similarly, studies of samples from cohorts of untreated patients with type 1 GD found no statistically significant differences in bone biomarkers such as osteocalcin and bone alkaline phosphatase isoenzyme (24,25), or osteocalcin, bone-specific alkaline phosphatase, N-telopeptide cross-links, and deoxypyridinoline (D-PYD) (26), which remained within the normal range compared with the respective controls. Our findings showing no differences in osteoblastic mRNA biomarkers between disease-model and control cells are consistent with these observations.

With regard to osteoblast proliferation defects, several studies have consistently reported decreased proliferation in both animal and cellular models of Gaucher disease (21-23,27). Given the essential role of the Wnt signaling pathway in osteoblastogenesis (28), it is not surprising that abnormalities in this pathway have been reported in several models (21,23,29), potentially accounting for the observed proliferation defects. In the present study, we did not observe clear alterations in proliferation in our ROS KO cell lines, possibly because of their osteosarcoma origin, immortalized phenotype, and *in vitro* culture conditions.

Our Gaucher bone cell models have several limitations, primarily related to their origin as transformed cell lines and their maintenance as isolated monocultures. These characteristics preclude assessment of cell-cell interactions and do not fully reproduce the physiological processes observed in animal models, potentially limiting their usefulness as comprehensive models of Gaucher disease. Nevertheless, these systems are easy to maintain and, importantly, allow investigation of intrinsic cell type-specific mechanisms contributing to the skeletal phenotype. Future studies combining these cell lines in coculture systems to more closely reproduce the bone microenvironment may enable more accurate cellular characterization and facilitate drug testing.

Our principal finding was that osteoblasts used as Gaucher disease models failed to upregulate osteoprotegerin in response to mechanical stimulation,

whereas wild-type osteoblasts significantly increased expression of this marker. To our knowledge, this represents a novel finding. We hypothesize that the absence of *Opg* activation may partly explain the impaired crosstalk described between Gaucher bone cells, in which osteoblasts affected by Gaucher disease promote greater osteoclast differentiation (30,31). Reduced *Opg* expression would decrease competitive inhibition of the *Rank-Rankl* interaction required for osteoclast differentiation, ultimately disrupting bone homeostasis (32).

CONCLUSIONS

Within the context of our cellular model, these findings suggest impaired osteoblast-osteoclast crosstalk mediated by osteoprotegerin, which may disrupt bone remodeling and partly explain the skeletal phenotype observed in Gaucher disease.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Carmine Settembre for hosting N. M. G. in his laboratory and assisting with the generation of the KO cell lines.

CREDIT AUTHORSHIP CONTRIBUTION STATEMENT

J. D. P., S. B., N. M. G., N. G. G., D. G., and R. R. contributed to study conceptualization and design. J. D. P., L. C., M. C., and E. M. G. performed the main experiments. J. A. A., A. R. G., S. H. J., and E. M. G. performed the fluid-flow assays. X. N. and D. O. contributed to project administration and funding acquisition. S. B., D. G., R. R., and N. G. G. contributed to validation and supervision. The first draft of the manuscript was written by J. D. P., S. B., N. G. G., and R. R. All authors contributed to, read, and approved the final version of the manuscript.

FUNDING

This research was supported by FEIOMM 2019; grants PID2019-107188RB-C21 and PID2022-141461OB-I00, funded by MICIU/AEI/10.13039/501100011033 and ERDF/EU; CIBERER (U720); and CIBERFES

(CB16/10/00245) from the Instituto de Salud Carlos III; and by SGR2021/1093 and SGR2021/00043 from the Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR). N. M. G. was the recipient of an FI predoctoral fellowship (2017FI_B 01107), and J. D. P. was the recipient of an FI-SDU predoctoral fellowship (2020FISDU 00517) from AGAUR. J. D. P. received travel grants from the Montcelimar Foundation and the GEMSTONE-COST Action (CA18139).

DATA AVAILABILITY

Data are contained within the article or supplementary material. Additional raw data are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERENCES

- Hruska KS, LaMarca ME, Scott CR, Sidransky E. Gaucher disease: mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (GBA). *Hum Mutat* 2008;29(5):567-83. DOI: 10.1002/humu.20676
- Camou F, Berger MG. Gaucher disease, state of the art and perspectives. *J Intern Med* 2025;298(3):155-72. DOI: 10.1111/joim.20114
- Boven LA, van Meurs M, Boot RG, Mehta A, Boon L, Aerts JM, et al. Gaucher cells demonstrate a distinct macrophage phenotype and resemble alternatively activated macrophages. *Am J Clin Pathol* 2004;122(3):359-69. DOI: 10.1309/BG5V-A8JR-DQH1-M7HN
- Mistry PK, Weinreb NJ, Kaplan P, Cole JA, Gwosdow AR, Hangartner T. Osteopenia in Gaucher disease develops early in life: response to imiglucerase enzyme therapy in children, adolescents and adults. *Blood Cells Mol Dis* 2011;46(1):66-72. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.10.011
- Stirnermann J, Belmatoug N, Camou F, Serratrice C, Froissart R, Caillaud C, et al. A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *Int J Mol Sci* 2017;18(2):441. DOI: 10.3390/ijms18020441
- Daykin EC, Ryan E, Sidransky E. Diagnosing neuronopathic Gaucher disease: New considerations and challenges in assigning Gaucher phenotypes. *Mol Genet Metab* 2021;132(2):49-58. DOI: 10.1016/j.ymgme.2021.01.002
- Grabowski GA, Kishnani PS, Alcalay RN, Prakalapakorn SG, Rosenbloom BE, Tuason DA, et al. Challenges in Gaucher disease: Perspectives from an expert panel. *Mol Genet Metab* 2025;145(1):109074. DOI: 10.1016/j.ymgme.2025.109074
- Arévalo NB, Lamaizon CM, Cavieres VA, Burgos PV, Álvarez AR, Yañez MJ, et al. Neuronopathic Gaucher disease: Beyond lysosomal dysfunction. *Front Mol Neurosci* 2022;15:934820. DOI: 10.3389/fnmol.2022.934820/full
- Méndez-Cobán DA, Guzmán-Silahuá S, García-Hernández D, Conde-Sánchez J, Castañeda-Borrayo Y, Duey KL, et al. An Overview of Gaucher Disease. *Diagnostics (Basel)* 2024;14(24):2840. DOI: 10.3390/diagnostics14242840
- Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142(12):5050-5. DOI: 10.1210/endo.142.12.8536
- Turner CH, Robling AG. Exercise as an anabolic stimulus for bone. *Curr Pharm Des* 2004;10(21):2629-41. DOI: 10.2174/1381612043383755
- Magal I, Lebel E, Altarescu G, Itzhaki M, Rudensky B, Foldes AJ, et al. Serum levels of osteoprotegerin and osteoprotegerin polymorphisms in Gaucher disease. *Br J Haematol* 2006;133(1):93-7. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.05978.x
- Hughes D, Mikosch P, Belmatoug N, Carubbi F, Cox T, Goker-Alpan O, et al. Gaucher Disease in Bone: From Pathophysiology to Practice. *J Bone Miner Res* 2019;34(6):996-1013. DOI: 10.1002/jbmr.3734
- Mikosch P. Miscellaneous non-inflammatory musculoskeletal conditions. Gaucher disease and bone. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2011;25(5):665-81. DOI: 10.1016/j.berh.2011.10.015
- Behera J, Ison J, Tyagi A, Mbalaviele G, Tyagi N. Mechanisms of autophagy and mitophagy in skeletal development, diseases and therapeutics. *Life Sci* 2022;301:120595. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120595
- Ran FA, Hsu PD, Wright J, Agarwala V, Scott DA, Zhang F. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nat Protoc* 2013;8(11):2281-308. DOI: 10.1038/nprot.2013.143
- Komori T. Whole Aspect of Runx2 Functions in Skeletal Development. *Int J Mol Sci* 2022;23(10):5776. DOI: 10.3390/ijms23105776
- Han Y, You X, Xing W, Zhang Z, Zou W. Paracrine and endocrine actions of bone-the functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. *Bone Res* 2018;6:16. DOI: 10.1038/s41413-018-0019-6
- Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 2008;473(2):139-46. DOI: 10.1016/j.abb.2008.03.018
- Drugan C, Jebeleanu G, Grigorescu-Sido P, Caillaud C, Craciun AM. Biochemical markers of bone turnover as tools in the evaluation of skeletal involvement in patients with type 1 Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis* 2002;28(1):13-20. DOI: 10.1006/bcmd.2001.0479
- Panicker LM, Srikanth MP, Castro-Gomes T, Miller D, Andrews NW, Feldman RA. Gaucher disease iPSC-derived osteoblasts have developmental and lysosomal defects that impair bone matrix deposition. *Hum Mol Genet* 2018;27(5):811-22. DOI: 10.1093/hmg/ddx442
- Crivaro AN, Mucci JM, Bondar CM, Ormazabal ME, Ceci R, Simonaro C, et al. Efficacy of pentosan polysulfate in vitro models of lysosomal storage disorders: Fabry and Gaucher Disease. *PLoS One* 2019;14(5):e0217780. DOI: 10.1371/journal.pone.0217780
- Lecourt S, Vanneaux V, Cras A, Freida D, Heraoui D, Herbi L, et al. Bone marrow microenvironment in an in vitro model of Gaucher disease: consequences of glucocerebrosidase deficiency. *Stem Cells Dev* 2012;21(2):239-48. DOI: 10.1089/scd.2011.0365
- Fiore CE, Barone R, Pennisi P, Pavone V, Riccobene S. Bone ultrasonometry, bone density, and turnover markers in type 1 Gaucher disease. *J Bone Miner Metab* 2002;20(1):34-8. DOI: 10.1007/s774-002-8444-1
- Ciana G, Martini C, Leopaldi A, Tamaro G, Katouzian F, Ronfani L, et al. Bone marker alterations in patients with type 1 Gau-

- cher disease. *Calcif Tissue Int* 2003;72(3):185-9. DOI: 10.1007/s00223-001-2072-0
26. Sims KB, Pastores GM, Weinreb NJ, Barranger J, Rosenbloom BE, Packman S, et al. Improvement of bone disease by imiglucerase (Cerezyme) therapy in patients with skeletal manifestations of type 1 Gaucher disease: results of a 48-month longitudinal cohort study. *Clin Genet* 2008;73(5):430-40. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2008.00978.x
27. Mistry PK, Liu J, Yang M, Nottoli T, McGrath J, Jain D, et al. Glucocerebrosidase gene-deficient mouse recapitulates Gaucher disease displaying cellular and molecular dysregulation beyond the macrophage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(45):19473-8. DOI: 10.1073/pnas.1003308107
28. Martínez-Gil N, Ugartondo N, Grinberg D, Balcells S. Wnt Pathway Extracellular Components and Their Essential Roles in Bone Homeostasis. *Genes* 2022;13(1):138. DOI: 10.3390/genes13010138
29. Zancan I, Bellesso S, Costa R, Salvalaio M, Stroppiano M, Hammond C, et al. Glucocerebrosidase deficiency in zebrafish affects primary bone ossification through increased oxidative stress and reduced Wnt/ β -catenin signaling. *Hum Mol Genet* 2015;24(5):1280-94. DOI: 10.1093/hmg/ddu538
30. Serra-Vinardell J, Roca-Ayats N, De-Ugarte L, Vilageliu L, Balcells S, Grinberg D. Bone development and remodeling in metabolic disorders. *J Inherit Metab Dis* 2020;43(1):133-44. DOI: 10.1002/jimd.12097
31. Bondar C, Ormazabal M, Crivaro A, Ferreyra-Compagnucci M, Delpino MV, Rozenfeld PA, et al. Osteocyte Alterations Induce Osteoclastogenesis in an In Vitro Model of Gaucher Disease. *Int J Mol Sci* 2017;18(1):112. DOI: 10.3390/ijms18010112
32. Dai X, Wang Y, Huang X, Meng Z, Zheng P. Current advances of bone homeostasis imbalance in the cause of hereditary metabolic bone diseases. *EFORT Open Rev* 2026;11(2):72-84. DOI: 10.1530/EOR-2025-0147

Revisión

Narrative literature review of ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region following a case detected by ¹⁸F-FCH PET/CT

Noelia Ortega Beltrá¹, Julián Izquierdo Luzón¹, Vicente Francisco Gil Guillén², José Joaquín Mira Solves³, Francisco Javier Cerdán Baeza⁴

¹Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery. Hospital General Universitario de Elda Virgen de la Salud. Elda, Alicante. Spain.

²Department of Clinical Medicine, and ³Department of Health Psychology. Universidad Miguel Hernández. Elche, Alicante. Spain. ⁴Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery. Hospital General Universitario de San Juan. San Juan de Alicante, Alicante. Spain

Abstract

Keywords:

Primary hyperparathyroidism. Ectopic submandibular parathyroid adenoma. Ultrasonography. ^{99m}Tc-sestamibi scintigraphy. SPECT/CT. ¹⁸F-fluorocholine PET/CT.

Ectopic parathyroid glands pose a significant challenge in the diagnosis and management of primary hyperparathyroidism, particularly when minimally invasive parathyroidectomy is planned, because its success depends heavily on accurate preoperative localization. Ectopic parathyroid adenomas in the submandibular region are exceptionally rare, and their surgical management may require conversion to bilateral open exploration or subsequent reoperation because of persistent disease.

Prompted by a complex clinical case, this narrative review examines the current literature on ectopic submandibular parathyroid adenomas, with particular emphasis on diagnostic strategies, imaging modalities, and surgical considerations. The findings underscore the critical importance of precise preoperative localization for successful targeted resection, even in challenging ectopic presentations.

Received: 05/21/2026 • Accepted: 06/11/2026

Ethical approval statement: This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and ethical approval was obtained from the institutional ethics committee of our center.

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.

Ortega Beltrá N, Izquierdo Luzón J, Gil Guillén VF, Mira Solves JJ, Cerdán Baeza FJ. Narrative literature review of ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region following a case detected by ¹⁸F-FCH PET/CT. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):118-125

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00114

Correspondence:

Noelia Ortega Beltrá. Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery. Hospital General Universitario de Elda Virgen de la Salud. Ctra. Sax-La Torreta, s/n. 03600 Elda, Alicante. Spain
e-mail: noeliaortegabeltra@gmail.com

INTRODUCTION

Primary hyperparathyroidism (PHPT) is caused by increased activity of the parathyroid glands resulting in excessive secretion of parathyroid hormone (PTH). Most cases are caused by a single adenoma (85 %), of which 5 %-20 % are ectopic (1-4), and, less frequently, by hyperplasia of all 4 glands (10 %-15 %) (2,5-7). PHPT has an approximate prevalence of 1 % in the general population, with a female-to-male ratio of 3-4:1, and typically affects middle-aged women between 40 and 60 years of age (3,6-8). It is the third most common endocrine disorder after diabetes *mellitus* and thyroid disease (2,3,5,7).

The diagnosis of PHPT is biochemical and is often established incidentally after hypercalcemia is detected on repeated laboratory testing, regardless of the presence of clinical symptoms suggestive of the disease. Simultaneous elevation of serum calcium and PTH levels is required for diagnosis.

The curative treatment for PHPT is surgical removal of the affected parathyroid gland or glands. Once PHPT has been diagnosed, surgery is considered in patients who meet the criteria established by European and US guidelines (9-11). Preoperative imaging to localize hyperfunctioning parathyroid glands is indicated only when surgical treatment is planned.

Traditionally, surgery consisted of standard bilateral cervical exploration (BCE), with the aim of identifying all 4 parathyroid glands. Surgical management has now evolved toward a more targeted approach, namely minimally invasive parathyroidectomy (MIP), for which precise preoperative localization plays a fundamental role. MIP reduces pain and complications, shortens operative time and hospital stay, lowers healthcare costs, and provides better cosmetic outcomes (2,6).

The combination of ^{99m}Tc-sestamibi scintigraphy and ultrasonography is currently considered a standard first-line approach for localization of parathyroid adenomas (6). However, when findings are negative, uncertain, or discordant, guidelines recommend additional imaging techniques according to local availability, including single-photon emission computed tomography/computed tomography (SPECT/CT), 4-dimensional computed tomography (4D-CT), or magnetic resonance imaging (4D-MRI) (9,10). More recently, PET/CT with ¹⁸F-fluorocholine (¹⁸F-FCH PET/CT) has been increasingly used for localization of parathyroid adenomas.

Ectopic localization of a parathyroid adenoma in the submandibular triangle is uncommon and represents a diagnostic and surgical challenge (12). Despite its complexity, adequate preoperative radiologic localization and intraoperative tools such as intraoperative PTH (ioPTH) monitoring can enable effective MIP even in these atypical ectopic cases. We present the case of a pa-

tient with persistent PHPT after previous BCE, without postoperative normalization of calcium or PTH levels, in whom an occult ectopic adenoma was suspected.

MATERIAL AND METHODS

STUDY DESIGN

We conducted a narrative literature review to analyze the available scientific evidence on ectopic parathyroid adenomas in the submandibular region.

INFORMATION SOURCES

The literature search was performed in PubMed/MEDLINE. Articles published up to July 2025 were included.

SELECTION CRITERIA

Included: Original articles, reviews, meta-analyses, and case reports.

Excluded: Articles for which the full text was unavailable and studies not relevant to the topic.

SEARCH STRATEGY

The following MeSH terms and keywords were used: primary hyperparathyroidism; submandibular ectopic parathyroid adenoma; ultrasound; ^{99m}Tc-sestamibi scintigraphy; SPECT/CT; and ¹⁸F-fluorocholine PET/CT. The Boolean operators AND and OR were used to combine search terms.

DATA EXTRACTION

The following data were collected from each article:

- Article title, first author, city, year of publication, and reference.
- Study design and sample size.
- Main results relevant to the topic, including number of surgical procedures, preoperative imaging, surgical technique, time to case resolution, complications, and conclusions.

DATA SYNTHESIS

The extracted data were organized descriptively in tabular form to summarize and compare the findings of the different studies (Table I).

Table I. Literature review of ectopic parathyroid adenomas in the submandibular region

Title	Author, year, city/country	n	Design	Imaging	No. of surgical procedures/ technique	Location	Complications	Time to resolution	Conclusion
SPECT and subtraction imaging of an ectopic parathyroid adenoma (23)	LS Serchuk, 1997, United States	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT and subtraction imaging	2 (BCE)	In relation to the right submandibular salivary gland	-	-	SPECT localized the ectopic parathyroid adenoma in relation to the right submandibular salivary gland, whereas subtraction imaging confirmed that the focus represented a parathyroid lesion rather than an anatomical variant of a normal salivary gland
Localization of abnormal parathyroid tissue with use of technetium-99m-sestamibi (14)	VG Calcutt, 1997, United States	24 (1 submandibular)	Case series	^{99m} Tc-sestamibi	3 (BCE)	Medial to the right carotid artery, below the angle of the mandible	No	-	Precise localization of an adenoma facilitates surgical exploration. ^{99m} Tc-sestamibi has become a preferred noninvasive method for localizing ectopic parathyroid glands
Appearance of ectopic undescended inferior parathyroid adenomas on technetium-99m sestamibi scintigraphy: a lesson from reoperative parathyroidectomy (6)	D Axelrod, 2003, United States	3 (3 submandibular)	Case series	^{99m} Tc-sestamibi	3 (BCE + thymectomy + subtotal thyroidectomy)	In the left carotid sheath, inferior to the angle of the mandible	-	-	Attention to the contour of radioactivity in the region of the submandibular salivary gland may alert surgeons to the presence of an undescended inferior adenoma and facilitate selective surgery
65-year-old female patient with persistent hypercalcemia (21)	Wiedmann, 2007, Germany	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT + CT + US	2 (BCE + thyroidectomy)	Left submandibular region	Transient hypocalcemia	—	If an adenoma is not identified during exploratory surgery, an ectopic location should be considered; surgery may be discontinued and further localization studies performed before reoperation
Para-hyoid ectopic parathyroid adenoma localized by ^{99m} Tc-MIBI SPECT (22)	Rajagopalan, 2008, United States	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT + CT + US	2 (BCE)	Posterior inferior parathyroid adenoma of the right submandibular gland	-	2 years	Attention should be paid to an uptake focus in the "submandibular tail," which may indicate an ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region
Adenomas of cervical maldescended parathyroid glands: pearls and pitfalls (2)	James C Lee, 2012, Australia	5241 (1 submandibular)	Case series	^{99m} Tc-sestamibi + US	1 (MIP)	Submandibular triangle	-	-	High surgical success rates can be achieved with MIP when knowledge of embryology is combined with reliable preoperative localization
Ectopic undescended parathyroid adenoma-SPECT/CT avoids false-negative interpretation on ^{99m} Tc-MIBI dual-phase scintigraphy (4)	S Mahajan, 2018, United States	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT	-	Ectopic adenoma inferior to the left submandibular gland	-	-	Ectopic adenomas adjacent to the submandibular gland may be overlooked on scintigraphy because of overlapping salivary gland activity. This case demonstrates the potential advantage of SPECT/CT over sestamibi scintigraphy alone

(Continues on next page)

Table I (cont). Literature review of ectopic parathyroid adenomas in the submandibular region									
Title	Author, year, city/country	n	Design	Imaging	No. of surgical procedures/ technique	Location	Complications	Time to resolution	Conclusion
Ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region: a case report (24)	Y Kong, 2019, China	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT	1 (MIP)	Posteromedial to the left submandibular gland	No	-	Ectopic parathyroid adenoma should be considered in the differential diagnosis of tumors of the submandibular region
Acute hyperparathyroid crisis: ectopic submandibular parathyroid gland the culprit (13)	M Unais, 2020, India	1 (1 submandibular)	Case report	US + CT	2 (MIP)	Right submandibular region	No	1 week	Precise localization of the adenoma is essential, particularly in life-threatening situations such as hyperparathyroid crisis. Imaging has limitations, and further surgical exploration may be necessary
Ectopic submandibular parathyroid adenoma by ^{99m} Tc-sestamibi SPECT/CT localization (1)	Fung Him Ng, 2020, China	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT	-	Inferior to the right submandibular gland	-	-	Ectopic adenomas require a multimodal approach to operative planning. SPECT/CT provides useful anatomical information
^{99m} Tc-MIBI SPECT/CT-negative ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region: a case report (18)	Y Lai, 2023, China	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT + US + ¹¹ C-choline PET/CT	2 (BCE + right hemithyroidectomy)	Submandibular region, posterior to the right submandibular gland	No	6 years	Ectopic adenoma in the submandibular region is exceptionally rare. When conventional imaging is negative, clinical suspicion should be maintained, and ¹¹ C-choline PET/CT may accurately localize the lesion and facilitate successful surgery
Submandibular ectopic parathyroid adenoma: a case report (26)	JA H Tawil, 2023, Colombia	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT + US + ¹⁸ F-FCH PET/CT	1 (MIP)	Right submandibular region	No	6 months	Surgical management of PHPT reduces morbidity and mortality. Ectopic locations should be considered. ¹⁸ F-FCH PET/CT can precisely localize the adenoma and facilitate successful surgery
Multimodality evaluation of persistent hyperparathyroidism in a rare case of ectopic submandibular parathyroid adenoma (25)	Edamadaka, 2024, India	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT + US + 4D-CT	1 (MIP)	Submandibular region	-	-	^{99m} Tc-MIBI SPECT/CT and 4D-CT may improve preoperative detection of parathyroid adenomas in rare ectopic locations, as illustrated by this case of persistent hyperparathyroidism
Management of primary hyperparathyroidism with rare localization of ectopic parathyroid adenoma (7)	Aboisheva, 2024, Russia	1 (1 submandibular)	Case report	^{99m} Tc-sestamibi + SPECT/CT + US + CT	Conservative therapy (high surgical risk)	Posterior to the internal jugular vein, adjacent to the right submandibular gland	No	10 years	Ectopic adenomas complicate topographic diagnosis and may require advanced imaging methods. Management should be individualized according to lesion location and patient comorbidities
4D-CT, four-dimensional computed tomography; BCE, bilateral cervical exploration; CT, computed tomography; ¹⁸ F-FCH, ¹⁸ F-fluorocholine; MIP, minimally invasive parathyroidectomy; PET, positron emission tomography; PHPT, primary hyperparathyroidism; SPECT, single-photon emission computed tomography; SPECT/CT, single-photon emission computed tomography/computed tomography; US, ultrasonography.									

CASE REPORT

A 42-year-old White woman presented to her primary care physician with dizziness and generalized weakness of 3 days' duration. Her past medical history included hypertension treated with hydrochlorothiazide. Physical examination findings and vital signs were unremarkable. Laboratory testing revealed hypercalcemia, with a protein-corrected calcium level of 10.3 mg/dL.

Further evaluation showed phosphorus, 2.5 mg/dL; PTH, 156 pg/mL; vitamin D, 43 ng/mL; and thyroid-stimulating hormone, 1.6 μ IU/mL. A 24-hour urine collection showed hypercalciuria (486 mg/24 h). The patient was referred to the Department of Endocrinology.

Targeted history taking confirmed symptoms compatible with PHPT, including arthralgia, asthenia, and dizziness. The patient had no history of pathological fractures but reported 2 episodes of nephrolithiasis 2 years earlier. Abdominal ultrasonography and radiography ruled out current nephrolithiasis. Bone densitometry showed lumbar and femoral z-scores within the normal range for her age and sex.

INVESTIGATIONS AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

The patient's evaluation began after the incidental detection of hypercalcemia. The differential diagnosis included PHPT, malignancy-associated hypercalcemia, vitamin D intoxication, chronic kidney disease, medications such as thiazides and lithium, familial hypocalciuric hypercalcemia, and granulomatous diseases such as sarcoidosis and tuberculosis (11).

After correction of concomitant vitamin D deficiency with monthly calcifediol and discontinuation of hydrochlorothiazide, repeated laboratory testing showed persistent abnormalities: calcium, 10.4 mg/dL; PTH, 128 pg/mL; and urinary calcium, 594 mg/24 h. These findings confirmed PHPT after secondary causes had been excluded.

The patient met European and US criteria for surgery because of her age and persistent hypercalcemia (9–11). Surgical treatment was proposed and accepted. Initial imaging with cervical ultrasonography and ^{99m}Tc -sestamibi SPECT/CT was negative. Endoscopic ultrasonography identified a possible 4-mm left inferior parathyroid adenoma adjacent to the vascular bundle.

The patient underwent bilateral neck exploration. The left side was explored first without identification of a lesion. Exploration then proceeded to the right side, where a 2-cm nodule was excised and sent for histo-

pathological examination. Intraoperative PTH monitoring showed no decrease (baseline PTH, 135 pg/mL; ioPTH, 165 pg/mL; percentage decrease, -1.85%), prompting extended exploration of the retroesophageal, thymic, thyroid capsular, and vascular compartments without further findings. Because a mediastinal ectopic adenoma was suspected, the procedure was concluded. Postoperative calcium remained elevated at 10.7 mg/dL. Histopathological examination identified the excised tissue as a reactive lymph node.

The patient was followed for 4 years. Laboratory abnormalities persisted: calcium, 11.2 mg/dL; PTH, 197 pg/mL; and urinary calcium, 172 mg/24 h. Repeated imaging studies remained negative. During this period, the patient experienced a new and more severe episode of renal colic. Abdominal ultrasonography confirmed a 2-mm calculus in the lower calyceal group of the left kidney.

Given the need for definitive treatment, a newer preoperative imaging modality that had recently been introduced in parathyroid surgery, ^{18}F -FCH PET/CT, was performed. This study identified a hypermetabolic lesion measuring $6 \times 6 \times 14$ mm at left cervical level IIA in the submandibular region, adjacent to the submandibular gland (Fig. 1).

In the clinical context of this patient, visualization of a hypermetabolic focus in the submandibular region suggested an ectopic parathyroid adenoma. The differential diagnosis included reactive lymphadenopathy, salivary gland tumors, and superior thyroid lesions. These alternatives were excluded by fine-needle aspiration and PTH measurement in the aspirate, supporting the diagnosis of an ectopic parathyroid adenoma.

TREATMENT

Revision surgery was performed. Intraoperatively, a brownish nodule located posterior and caudal to the left submandibular gland and corresponding to the imaging findings was excised. ioPTH monitoring showed a $> 50\%$ decrease (baseline PTH, 225 pg/mL; ioPTH, 87.6 pg/mL). Histopathological examination confirmed a 17-mm, 0.7-g parathyroid adenoma.

OUTCOME AND FOLLOW-UP

At 2 years postoperatively, the patient remains under follow-up. Her clinical symptoms have improved, with no further episodes of nephrolithiasis. Calcium and urinary calcium levels are within the normal range (8.5 mg/dL and 138 mg/24 h, respectively).

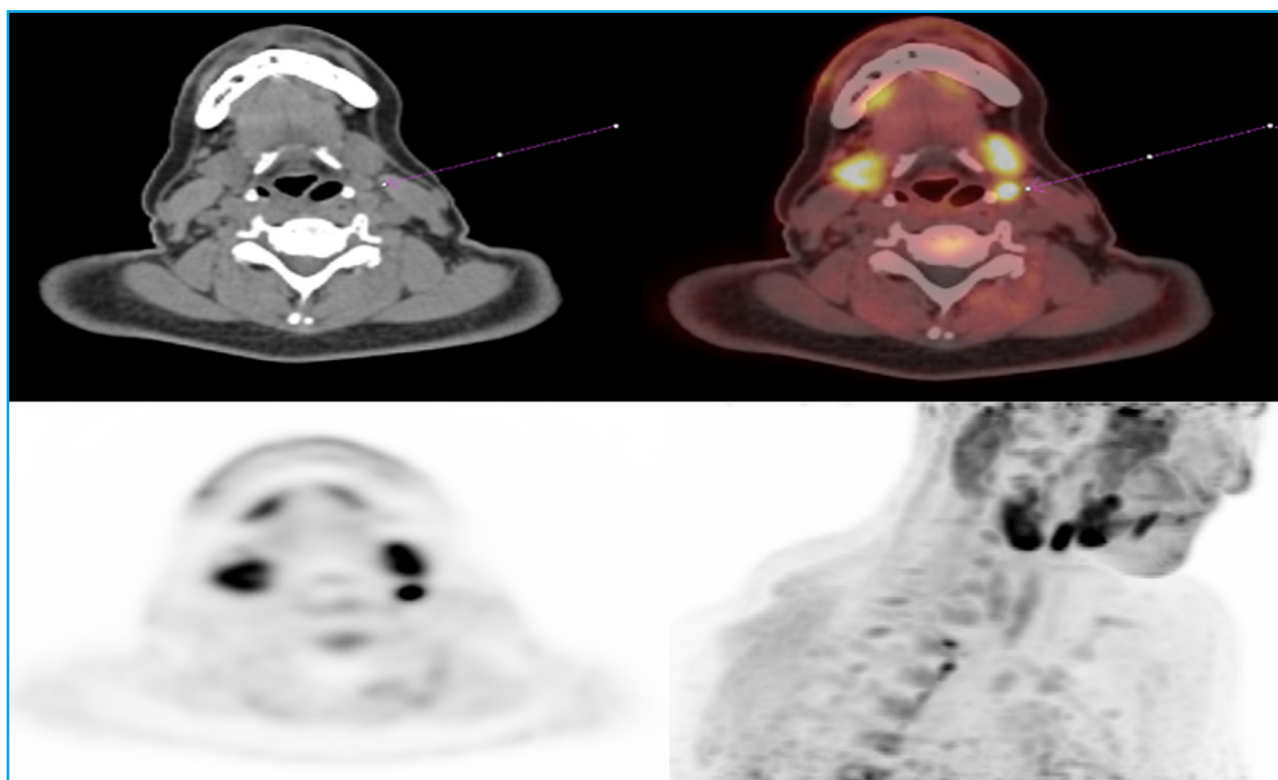


Figure 1. An elongated nodular lesion measuring approximately 6 mm × 6 mm × 14 mm (AP × T × CC) is identified in the left submandibular region at level IIA. The lesion is located posterior and inferior to the left submandibular gland, anterior to the vascular bundle, and medial to the sternocleidomastoid muscle. It appears hyperintense in the arterial phase, with intense ¹⁸F-choline uptake, suggestive of an ectopic parathyroid adenoma. No other lesions showing radiotracer uptake are identified. Physiological tracer uptake is observed in the bone marrow, salivary glands, and thyroid gland. SUVmax values were 20.9 immediately after injection, 15.8 at 20 minutes, and 15.9 at 60 minutes.

DISCUSSION

The parathyroid glands usually consist of 4 small oval structures located on the posterior surface of the thyroid gland. However, their position may vary, making localization difficult in some patients, as occurred in the present case. Ectopic localization has been reported in up to 20 % of cases (2-4). The most frequent ectopic locations include the retroesophageal, thymic, carotid, mediastinal, and intrathyroidal regions, whereas the submandibular region is among the rarest sites (2,4,7,8).

This atypical high cervical or submandibular location (< 1 %) can be explained by abnormalities in embryological migration of the parathyroid glands. Such lesions are often referred to as high cervical or undescended parathyroid adenomas and may resemble lymph nodes or salivary gland lesions (2,4,12). Lee et al. reported 16 high cervical adenomas among 5241 patients (0.3 %), only 1 of which was located in the submandibular region. Fourteen occurred during primary parathyroidectomy and 2 were identified at reoperation. In this group, scintigraphy had a sensitivity of 67 %, and 9 patients required BCE (2).

Treatment of PHPT is surgical, and resection of the hyperfunctioning parathyroid gland or glands is curative. Reoperation is relatively common in patients with ectopic adenomas after failed initial surgery (2,13). Axelrod et al. reported 3 ectopic submandibular adenomas identified only during revision surgery (6). Calcutt et al. described a case requiring 3 surgical procedures before the submandibular adenoma was identified (14). Accurate preoperative localization is therefore crucial to minimize unnecessary surgical exploration. Aboisheva et al. reported the case of an 84-year-old woman who underwent years of conservative medical management without normalization of calcium levels because the pathological focus could not be identified (7).

Conventional imaging modalities, including scintigraphy and ultrasonography, have reported sensitivity and specificity rates of approximately 70 %-80 % for adenoma detection (3-5,15-18). In the 20 %-30 % of patients with negative findings, more advanced imaging techniques may be required. ¹⁸F-FCH PET/CT combines functional and anatomical imaging and provides greater spatial resolution with shorter acqui-

sition times and potentially lower radiation exposure. Despite its greater cost and limited availability, it has shown promising diagnostic performance. A 2019 meta-analysis reported a sensitivity of 95 %, positive predictive value of 97 %, and detection rate of 91 % for ^{18}F -FCH PET/CT (19), potentially avoiding unnecessary bilateral exploration in 75 %-87 % of cases (20).

The present case illustrates a rare ectopic submandibular adenoma diagnosed after years of persistent PHPT and unsuccessful surgery. Conventional imaging was nondiagnostic, whereas ^{18}F -FCH PET/CT provided precise localization and enabled curative surgery.

Few cases of parathyroid adenoma in the submandibular region have been published. Our literature review identified 14 articles indexed in PubMed, the earliest dating from 1997 (Table I). In most reported cases, the adenoma was detected using conventional imaging or SPECT/CT (1,4,21-26). Only 2 published cases described identification of a submandibular adenoma using PET/CT: 1 with an ^{11}C -choline tracer (18) and another with ^{18}F -choline (26). We report an additional case of a submandibular parathyroid adenoma localized using ^{18}F -FCH PET/CT after neither $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi scintigraphy with SPECT/CT nor cervical ultrasonography was able to detect the lesion.

Identification of an ectopic submandibular adenoma represents an exceptionally uncommon anatomical presentation and can pose a substantial challenge for the head and neck surgeon. Many of these patients have already undergone unsuccessful bilateral exploratory surgery and have persistent hyperparathyroidism, requiring revision surgery and thereby increasing the risk of postoperative complications. More accurate imaging modalities are therefore needed for preoperative localization to enable targeted resection, even in atypical ectopic cases such as the present one.

The use of ^{18}F -FCH PET/CT for preoperative localization in the surgical management of PHPT represents a significant advance in patient safety and clinical care. Its greater sensitivity and diagnostic accuracy allow more targeted and less invasive surgical planning. This may result in shorter operative times, a lower risk of complications such as recurrent laryngeal nerve injury and hypocalcemia, and faster recovery. Moreover, by increasing the likelihood of successful initial surgery, it may reduce the need for reoperation and thereby improve clinical outcomes and patients' quality of life.

CONCLUSIONS

The present case emphasizes the importance of surgical management of PHPT to reduce associated morbidity and potential complications. Rigorous clinical,

biochemical, and radiological correlation is essential, together with the surgeon's awareness of the different embryological migration patterns of the parathyroid glands and their possible anatomical variants. This case also highlights the value of advanced preoperative imaging techniques in optimizing surgical outcomes, particularly in the context of minimally invasive approaches. ^{18}F -FCH PET/CT is a promising modality for preoperative localization of ectopic parathyroid adenomas. In the present case, it enabled accurate localization and curative surgical treatment after conventional imaging modalities had failed.

Finally, multidisciplinary clinical committees bringing together specialists from different fields, including endocrinology, otorhinolaryngology, radiology, and nuclear medicine, are important for the discussion and management of complex clinical cases.

REFERENCES

1. Ng FH, Yung KS, Luk WH. Ectopic Submandibular Parathyroid Adenoma by Tc-99m Sestamibi SPECT/CT Localization. *J Clin Imaging Sci* 2020;3;10:61. DOI: 10.25259/JCIS_125_2020
2. Lee JC, Mazeh H, Serpell J, Delbridge LW, Chen H, Sidhu S. Adenomas of cervical maldescended parathyroid glands: Pearls and pitfalls. *ANZ J Surg* 2015;85(12):957-61. DOI: 10.1111/ans.12017
3. Adarve Castro A, Domínguez Pinos D, Soria Utrilla V, O'Farrell del Campo JA, Sendra Portero F, Ruiz-Gómez MJ. Update in imaging tests used for the localization of parathyroid pathology. *Radiologia* 2024;66(3):236-47. DOI: 10.1016/j.rxeng.2023.04.006
4. Mahajan S, Schoder H. Ectopic Avoids Undescended False-Negative Parathyroid Interpretation Adenoma on 99m - Tc-MIBI SPECT/CT Dual-Phase Scintigraphy. *Clin Nucl Med* 2018;43(3):199-200. DOI: 10.1097/RLU.0000000000001958
5. Cacciatore G, Mastronardi M, Paiano L, Abdallah H, Crisafulli C, Dore F, et al. How has the diagnostic approach to parathyroid localization techniques evolved in the past decade? Insights from a single-center experience. *Updates Surg* 2025;77(2):389-99. DOI: 10.1007/s13304-025-02090-8
6. Axelrod D, Sisson JC, Cho K, Miskulin J, Gauger PG. Appearance of Ectopic Undescended Inferior Parathyroid Adenomas on Technetium Tc 99m Sestamibi Scintigraphy: A Lesson From Reoperative Parathyroidectomy. *Arch Surg* 2003;138(11):1214-8. DOI: 10.1001/archsurg.138.11.1214
7. Aboisheva EA, Avsiech ES, Korchagina MO, Degtyarev MV, Bibik EE, Beltsevich DG, et al. [Management of primary hyperparathyroidism with rare localization of ectopic adenoma parathyroid gland]. *Probl Endokrinol (Mosk)* 2024;71(1):20-6. DOI: 10.14341/probl13425
8. Chakrabarty N, Mahajan A, Basu S, D'Cruz AK. Imaging Recommendations for Diagnosis and Management of Primary Parathyroid Pathologies: A Comprehensive Review. *Cancers (Basel)* 2024;16(14):2593. DOI: 10.3390/cancers16142593

9. Bilezikian JP, Khan AA, Silverberg SJ, Fuleihan GEH, Marcocci C, Minisola S, et al. Evaluation and Management of Primary Hyperparathyroidism: Summary Statement and Guidelines from the Fifth International Workshop. *J Bone Miner Res* 2022;37(11):2293-314. DOI: 10.1002/jbmr.4677
10. Wilhelm SM, Wang TS, Ruan DT, Lee JA, Asa SL, Duh QY, et al. The American Association of Endocrine Surgeons Guidelines for Definitive Management of Primary Hyperparathyroidism. *JAMA Surg* 2016;151(10):959-68. DOI: 10.1001/jamasurg.2016.2310
11. Zhu CY, Sturgeon C, Yeh MW. Diagnosis and Management of Primary Hyperparathyroidism. *JAMA* 2020;323(12):1186-7. DOI: 10.1001/jama.2020.0538
12. Simeone DM, Sandelin K, Thompson NW. Undescended superior parathyroid gland: A potential cause of failed cervical exploration for hyperparathyroidism. *Surgery* 1995;118(6):949-56. DOI: 10.1016/S0039-6060(05)80099-6
13. M Unais T, Gangadhar P, Kolikkat N. Acute hyperparathyroid crisis: Ectopic submandibular parathyroid gland the culprit. *Ann R Coll Surg Engl* 2021;103(1):e7-e9. DOI: 10.1308/rcsann.2020.0183
14. Calcutt VG, Franco-Saenz R, Morrow LB, Mulrow PJ. Localization of Abnormal Parathyroid Tissue With Use of Technetium-99m-Sestamibi. *Endocr Pract* 1998;4(4):184-9. DOI: 10.4158/EP.4.4.184
15. Noltes ME, Kruijff S, Jansen L, Westerlaan HE, Zandee WT, Dierckx RAJO, et al. A retrospective analysis of the diagnostic performance of 11C-choline PET/CT for detection of hyperfunctioning parathyroid glands after prior negative or discordant imaging in primary hyperparathyroidism. *EJNMMI Res* 2021;11(1):32. DOI: 10.1186/s13550-021-00778-7
16. Ferrari SB, Morand GB, Rupp NJ, Krützfeldt J, Vetter D, Hüllner MW, et al. Clinical predictors of negative/equivocal SPECT imaging outcomes in primary hyperparathyroidism: Factors calling for 18F-choline-PET. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg* 2024;45(4):104315. DOI: 10.1016/j.amjoto.2024.104315
17. Thanseer N, Bhadada SK, Sood A, Mittal BR, Behera A, Gorla AKR, et al. Comparative Effectiveness of Ultrasonography, 99mTc-Sestamibi, and 18F-Fluorocholine PET/CT in Detecting Parathyroid Adenomas in Patients With Primary Hyperparathyroidism. *Clin Nucl Med* 2017;42(12):e491-e4977. DOI: 10.1097/RLU.0000000000001845
18. Lai Y, Shen YL, Zhou JQ. 99Tcm-MIBI SPECT/CT negative ectopic parathyroid adenoma in submandibular region: a case report. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2023;58(2):157-9. DOI: 10.3760/cma.j.cn115330-20220602-00326
19. Treglia G, Piccardo A, Imperiale A, Strobel K, Kaufmann PA, Prior JO, et al. Diagnostic performance of choline PET for detection of hyperfunctioning parathyroid glands in hyperparathyroidism: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2019;46(3):751-65. DOI: 10.1007/s00259-018-4123-z
20. Quak E, Blanchard D, Houdu B, Le Roux Y, Ciappuccini R, Lireux B, et al. F18-choline PET/CT guided surgery in primary hyperparathyroidism when ultrasound and MIBI SPECT/CT are negative or inconclusive: the APACH1 study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2018;45(4):658-66. DOI: 10.1007/s00259-017-3911-1
21. Wiedmann M, Kassahun W, Deckert F, Tröltzsch M, Sturmvolll M, Führer D. [65-year old female patient with persistent hypercalcemia]. *Internist* 2007;48(12):1436-41. DOI: 10.1007/s00108-007-1957-z
22. Rajagopalan MS, Narla VV, Kanderi T, Muthukrishnan A. Para-hyoid ectopic parathyroid adenoma localized by Tc-99m MIBI SPECT. *Clin Nucl Med* 2008;33(12):880-1. DOI: 10.1097/RLU.0b013e31818bf36d
23. Serchuk LS, Tomas MB, Patel M, Palestro CJ. SPECT and subtraction imaging of an ectopic parathyroid adenoma. *Clin Nucl Med* 1997;22(7):459-62. DOI: 10.1097/00003072-199707000-00002
24. Kong Y, Ge SY, Shang W, Song K. Ectopic parathyroid adenoma in the submandibular region: a case report. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2019;57(10):1150-2. DOI: 10.1016/j.bjoms.2019.10.296
25. Edamadaka Y, Malhotra G, Daga A, Memon SS, Lila AR, Bandgar T. Multimodality Evaluation of Persistent Hyperparathyroidism in a Rare Case of Ectopic Submandibular Parathyroid Adenoma. *Clin Nucl Med* 2024;49(12):e670-3. DOI: 10.1097/RLU.0000000000005495
26. Hakim Tawil JA, Flórez A, Sanabria MC, Palau M, Santivañez JJ. Submandibular Ectopic Parathyroid Adenoma: A Case Report. *Ear, Nose Throat J* 2023;104(2_suppl):118S-121S. DOI: 10.1177/01455613231177193

Nota Clínica

Fracturas de sacro por insuficiencia ósea: diagnóstico olvidado en el dolor lumbar del adulto mayor

Daniela Ionescu Lupsa¹, Natalia Bravo Martín¹, M.^a Jesús Moro-Álvarez¹, Jaime Atance García de la Santa², Leonor de Pablo Zurdo³

Servicios de ¹Medicina Interna, ²Medicina Nuclear y ³Radiología. Hospital Universitario Central de la Cruz Roja San José y Santa Adela. Madrid

Resumen

Introducción: las fracturas de sacro por insuficiencia representan una causa poco reconocida de dolor lumbar bajo en pacientes con factores de riesgo para fragilidad ósea. Su clínica insidiosa, sin antecedente traumático, y la baja sensibilidad de las radiografías simples dificultan su diagnóstico.

Caso clínico: presentamos el caso de una mujer de 61 años con menopausia precoz y antecedentes de anorexia nerviosa, que consultó por dolor lumbar bajo progresivo sin traumatismo previo. Fue diagnosticada mediante tomografía computarizada (TC), resonancia magnética (RMN) y gammagrafía ósea, siendo tratada de forma conservadora, incluyendo un tratamiento osteoformador para la osteoporosis, con buena evolución.

Discusión: el caso ilustra la necesidad de incluir esta entidad en el diagnóstico diferencial de lumbalgia persistente y valorar opciones terapéuticas más eficaces, como la fijación mediante os teosíntesis o la sacroplastia, en casos refractarios.

Palabras clave:

Osteoporosis.
Fractura de sacro.
Insuficiencia ósea.
Dolor lumbar.
Sacroplastia.

Recibido: 08/09/2025 • Aceptado: 03/03/2026

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.

Ionescu Lupsa D, Bravo Martín N, Moro-Álvarez MJ, Atance García de la Santa J, de Pablo Zurdo L. Fracturas de sacro por insuficiencia ósea: diagnóstico olvidado en el dolor lumbar del adulto mayor. Rev Osteoporos Metab Miner 2026;18(3):126-130

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00097

Correspondencia:

M.^a Jesús Moro-Álvarez. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de la Cruz Roja San José y Santa Adela. Avda. de la Reina Victoria, 22-26. 28003 Madrid
e-mail: mariajesus.moro@salud.madrid.org

INTRODUCCIÓN

Las fracturas por insuficiencia del sacro, incluidas entre las fracturas por fragilidad, afectan predominantemente a pacientes con osteoporosis o con factores predisponentes como menopausia precoz, corticoterapia o trastornos nutricionales (1). La presentación clínica inespecífica, sin antecedente traumático evidente, hace que estas fracturas pasen desapercibidas en fases iniciales. El retraso diagnóstico compromete el pronóstico funcional, por lo que resulta clave mantener un alto índice de sospecha y emplear herramientas diagnósticas adecuadas (2).

CASO CLÍNICO

Paciente mujer de 61 años, con antecedentes de menopausia precoz (41 años), anorexia nerviosa (IMC 17,6) y trastorno psicoafectivo en tratamiento con aripirazol subcutáneo. Sin fracturas previas.

Consulta por dolor de tipo radicular en ambas sacroilíacas, irradiado a pierna izquierda, de dos semanas de evolución, exacerbado con la bipedestación, movimientos y carga de peso, desarrollando en urgencias retención urinaria y debilidad distal con caída del pie izquierdo.

No había antecedentes de caída o esfuerzo significativo. La clínica evolucionó a limitación funcional severa, sin respuesta a analgesia convencional.

La exploración física mostró dolor a la palpación lumbosacra y sobre las articulaciones sacroilíacas, con reflejo aquileo abolido en MII, sin alteración de sensibilidad superficial ni profunda y con fuerza conservada, salvo leve disminución en flexión y extensión de cadera y flexión de rodilla por falta de colaboración por el dolor a nivel lumbar. Resto de reflejos normales. Reflejo cutáneo plantar flexor derecho e indiferente izquierdo.

Las radiografías simples fueron anodinas. La tomografía computarizada (TC) reveló una fractura en el ala sacra izquierda (Figs. 1 y 2) y solicitándose resonancia magnética nuclear (RMN) de columna (Fig. 3) que mostró fractura bilateral de alas sacras por insuficiencia con angulación anterior y aparente repercusión foraminal S2-S3 con edema óseo asociado, sin datos de mielopatía (fractura tipo IVb según la clasificación de Rommens-Hofmann), evidenciándose en gammagrafía ósea una captación en "H" típica de esta entidad (Fig. 4).

Se confirmó diagnóstico de osteoporosis con medición de densidad mineral ósea (DMO) por densitometría: Columna lumbar 0,554 g/cm² (T score -4,5); cuello femoral 0,385 g/cm² (T score -4,2) y fémur total 0,391 g/cm² (T score -4,5).

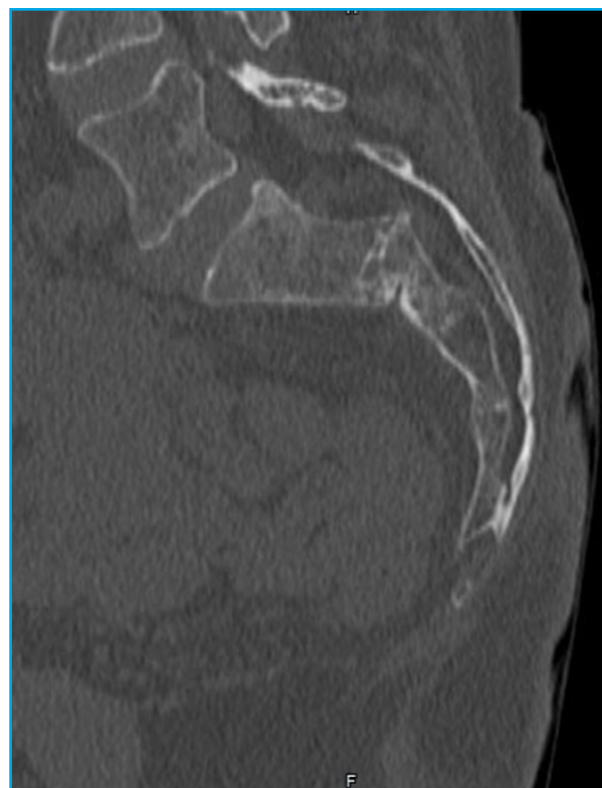


Figura 1. Imágenes TAC en un corte sagital.

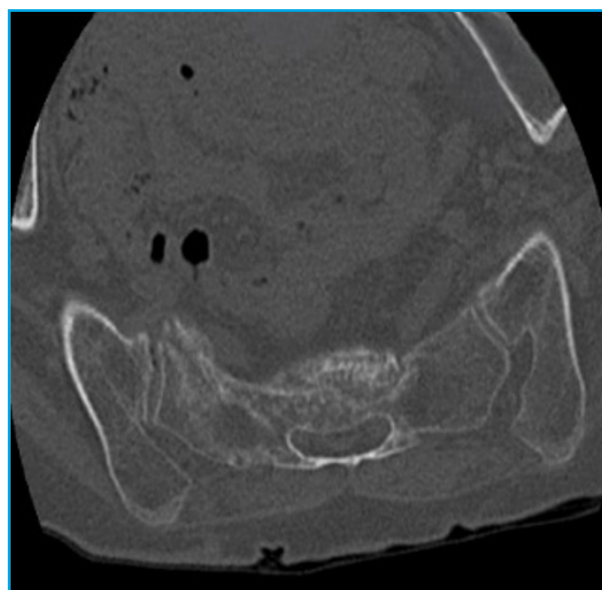


Figura 2. Imágenes TAC en un corte coronal oblicuo.

Se desestimó la realización de procedimiento quirúrgico por parte de Traumatología, de forma consensuada con la paciente y familiares, teniendo en cuenta fragilidad de la paciente, recomendando reposo relativo y ajuste de analgesia. Se inició tratamiento para

la osteoporosis con un osteoformador (Teriparatida subcutánea diaria) para facilitar la consolidación y anticoagulación profiláctica para evitar complicaciones trombóticas.

La paciente durante el seguimiento presenta buen control del dolor, con TC al mes con trazo de fractura con aspecto más escleroso como signo de consolidación. Inicialmente no se iniciaron ejercicios de rehabilitación.

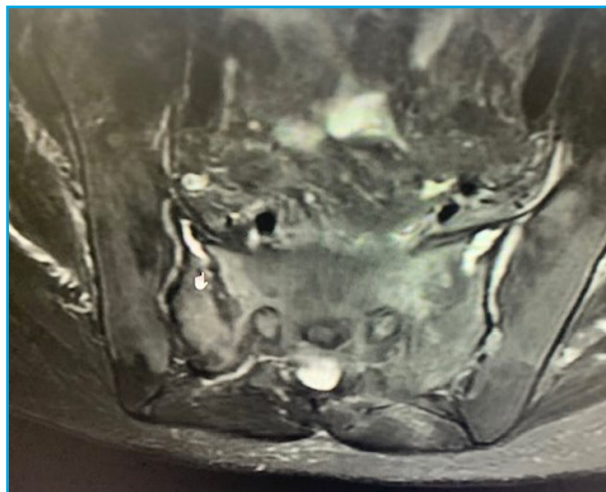


Figura 3. Imagen RMN en una secuencia T2 con supresión grasa.

litación activa para evitar desplazamientos, pero en la actualidad recibe rehabilitación con buena recuperación funcional y adecuado control del dolor, por lo que en este momento no se valora necesidad de tratamiento intervencionista ni quirúrgico. A los 18 meses de seguimiento la paciente presenta importante mejoría clínica, no tiene dolor y se ha recuperado totalmente en movilidad, no tiene limitación funcional para actividades de su vida diaria. También ha mejorado la densitometría con un aumento significativo de DMO en columna lumbar ($0,792 \text{ g/cm}^2$, T score $-3,3$); cuello femoral ($0,550 \text{ g/cm}^2$, T score $-3,6$) y fémur total ($0,513 \text{ g/cm}^2$, T score $-4,1$).

DISCUSIÓN

El dolor lumbar bajo crónico y progresivo, en ausencia de un antecedente traumático claro, debe hacer sospechar la posibilidad de fracturas por insuficiencia del sacro, especialmente en pacientes con factores predisponentes como osteoporosis avanzada, osteopenia, anorexia, menopausia precoz, tratamiento prolongado con corticoides o enfermedades reumatológicas como la artritis reumatoide (1,2). Debido al aumento de la población anciana, con mayor prevalencia de osteoporosis, las fracturas por insuficiencia sacra podrían aumentar su incidencia. Sin embargo, esta patología

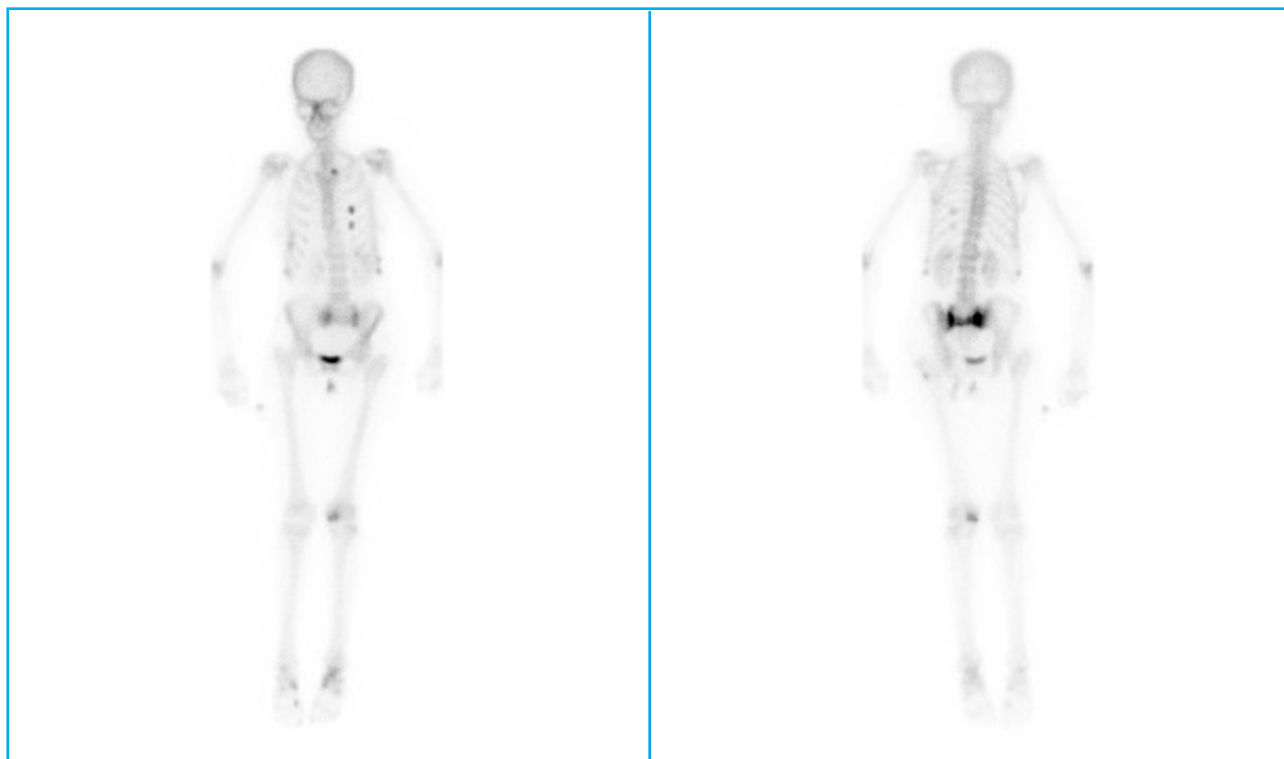


Figura 4. Imagen gammagrafía ósea.

continúa siendo infradiagnosticada, debido a que la clínica suele ser inespecífica y la exploración física no aporta hallazgos patognomónicos (3,4).

En fases iniciales, la radiografía simple presenta un rendimiento diagnóstico limitado, ya que frecuentemente no permite visualizar el trazo de fractura. La gammagrafía ósea constituye una herramienta muy sensible, aunque poco específica, siendo característico el hallazgo en "H" o "*H-sign*", secundario a la captación bilateral en las alas sacras con afectación transversal del cuerpo (1,4). No obstante, la técnica de elección es la RMN, que permite identificar precozmente el edema óseo y delimitar con precisión el trazo de fractura, convirtiéndose en el "*Gold standard*" diagnóstico (3). Por su parte, la tomografía computarizada ofrece un excelente detalle de la morfología ósea y puede confirmar la presencia de fracturas corticales (2).

En cuanto al abordaje terapéutico, el tratamiento conservador —basado en reposo relativo, analgesia multimodal y rehabilitación precoz— puede ser efectivo en casos estables y sin complicaciones neurológicas.

En casos de dolor refractario, limitación funcional marcada, disociación espínulo-pélvica, afectación neurológica o riesgo elevado de inmovilidad prolongada, habría que valorar tratamiento quirúrgico con fijación mediante osteosíntesis con o sin descompresión neurológica con el objetivo de mejorar la estabilización sacra y mejorar la clínica neurológica, facilitando con ello la movilización precoz. Sin embargo, es importante tener en cuenta que lo permita el estado general del paciente y la fragilidad ósea, ya que la propia anatomía del sacro y las líneas de fractura, en pacientes con hueso osteoporótico, dificultan la fijación del material de osteosíntesis, dando lugar a un fracaso mecánico de los implantes, además del riesgo de complicaciones locales como infecciones o lesiones nerviosas iatrogénicas. Es por ello que algunos autores defienden el tratamiento conservador en este tipo de fracturas salvo compromiso neurológico o inestabilidad de la columna (6-8).

Por otro lado, la sacroplastia (inyección percutánea de polimetilmetacrilato en el foco de fractura, guiada por fluoroscopia o TC) ha demostrado ser una alternativa terapéutica eficaz y segura (6,9). Diversos estudios y metaanálisis han documentado una mejoría significativa del dolor (reducción en la escala VAS), acompañada de una recuperación funcional más temprana y una menor tasa de complicaciones en comparación con el manejo conservador (4,9,10), si bien en nuestro caso no estaría indicada por compromiso de los agujeros de conjunción.

Entre las posibles complicaciones de la sacroplastia se describen la fuga de cemento óseo hacia forámenes sacros o tejidos blandos y, en menor medida, fenómenos de embolización. No obstante, su incidencia es

baja y la mayoría de los reportes coinciden en que se trata de un procedimiento con un perfil de seguridad favorable (6-8).

En este contexto, la osteosíntesis quirúrgica y la sacroplastia debe considerarse una herramienta terapéutica de creciente importancia, particularmente en pacientes con dolor incapacitante, afectación neurológica y mala respuesta al tratamiento conservador (11).

Con el aumento progresivo de la esperanza de vida y la mayor prevalencia de osteoporosis en la población general, es previsible que la incidencia de estas fracturas continúe en ascenso, lo que hace imprescindible reforzar la sospecha clínica, optimizar el diagnóstico precoz mediante técnicas de imagen avanzadas y seleccionar adecuadamente la estrategia terapéutica más beneficiosa para cada paciente (1-12).

CONCLUSIÓN

Las fracturas sacras por insuficiencia deben formar parte del diagnóstico diferencial de dolor lumbar persistente en pacientes con osteoporosis o con factores de riesgo de fractura por fragilidad.

El diagnóstico requiere imagen avanzada, siendo la RMN el *gold standard*. La osteosíntesis quirúrgica o la sacroplastia intervencionista son opciones válidas en casos refractarios al tratamiento conservador o con compromiso neurológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Newhouse KE, el-Khoury GY, Buckwalter JA. Occult sacral fractures in osteopenic patients. *J Bone Joint Surg Am* 1992;74(10):1472-7.
2. Schindler OS, Watura R, Cobby M. Sacral insufficiency fracture: an under-recognised condition. *Curr Orthop* 2003;17(3):234-9. DOI: 10.1016/S0268-0890(03)00045-8
3. Sánchez García MT, Carpintero Lluch R, García Carmona M. Fracturas de sacro por insuficiencia como causa poco conocida de dolor lumbar bajo: exposición de cinco casos. *Rev Soc And Traumatol Ortop* 2015; 33:79-87.
4. Vaishya R, Agarwal AK, Banka PK, Vijay V, Vaish A. Insufficiency Fractures at Unusual Sites: A Case Series. *J Orthop Case Rep* 2017;76-9. DOI: 10.13107/jocr.2250-0685.862
5. Briggs P, King SW, Staniland T, Gopal S, Shah R, Chimutengwende-Gordon M. A Systematic Review of Sacral Insufficiency Fractures: Treatment Modalities and Outcomes. *Cureus* 2023;15(7):e41745. DOI: 10.7759/cureus.41745
6. Schwetje D, Wahd YESH, Bornemann R, Jansen TR, Pflugmacher R, Kasapovic A. Balloon-assisted sacroplasty as a successful pro-

- cedure for osteoporotic sacral insufficiency fractures after failure of the conservative treatment. *Sci Rep* 2020;10(1):18455. DOI: 10.1038/s41598-020-75384-z
7. Phelan ST, Jones DA, Bishay M. Conservative management of transverse fractures of the sacrum with neurological features: a report of four cases. *J Bone Joint Surg Br* 1991;73:969-71. DOI: 10.1302/0301-620X.73B6.1955446
 8. Cearra I, Alonso R, Martínez Ogalla D, Hoyos J, Lauzirika A, Mongil R, et al. Sacral fracture with spino-pelvic dissociation: A literature review. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English ed.)* 2013;57(6):434-42. DOI: 10.1016/j.recot.2013.08.001
 9. Chandra V, Wajswol E, Shukla P, Contractor S, Kumar A. Safety and Efficacy of Sacroplasty for Sacral Fractures: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Vasc Interv Radiol* 2019;30(11):1845-54. DOI: 10.1016/j.jvir.2019.06.013
 10. Eichler K, Zangos S, Mack MG, Marzi I, Vogl TJ. Outcome of long-axis percutaneous sacroplasty for the treatment of sacral insufficiency fractures with a radiofrequency-induced, high-viscosity bone cement. *Skeletal Radiol* 2014;43(4):493-8. DOI: 10.1007/s00256-013-1811-4
 11. Singh M, Balmaceno-Criss M, Knebel A, Kuharski M, Sakr I, Daher M, et al. Sacroplasty for Sacral Insufficiency Fractures: Narrative Literature Review on Patient Selection, Technical Approaches, and Outcomes. *J Clin Med* 2024;13:1101. DOI: 10.3390/jcm13041101
 12. Schindler OS, Watura R, Cobby M. Sacral insufficiency fractures. *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2007;15(3): 339-46. DOI: 10.1177/230949900701500320