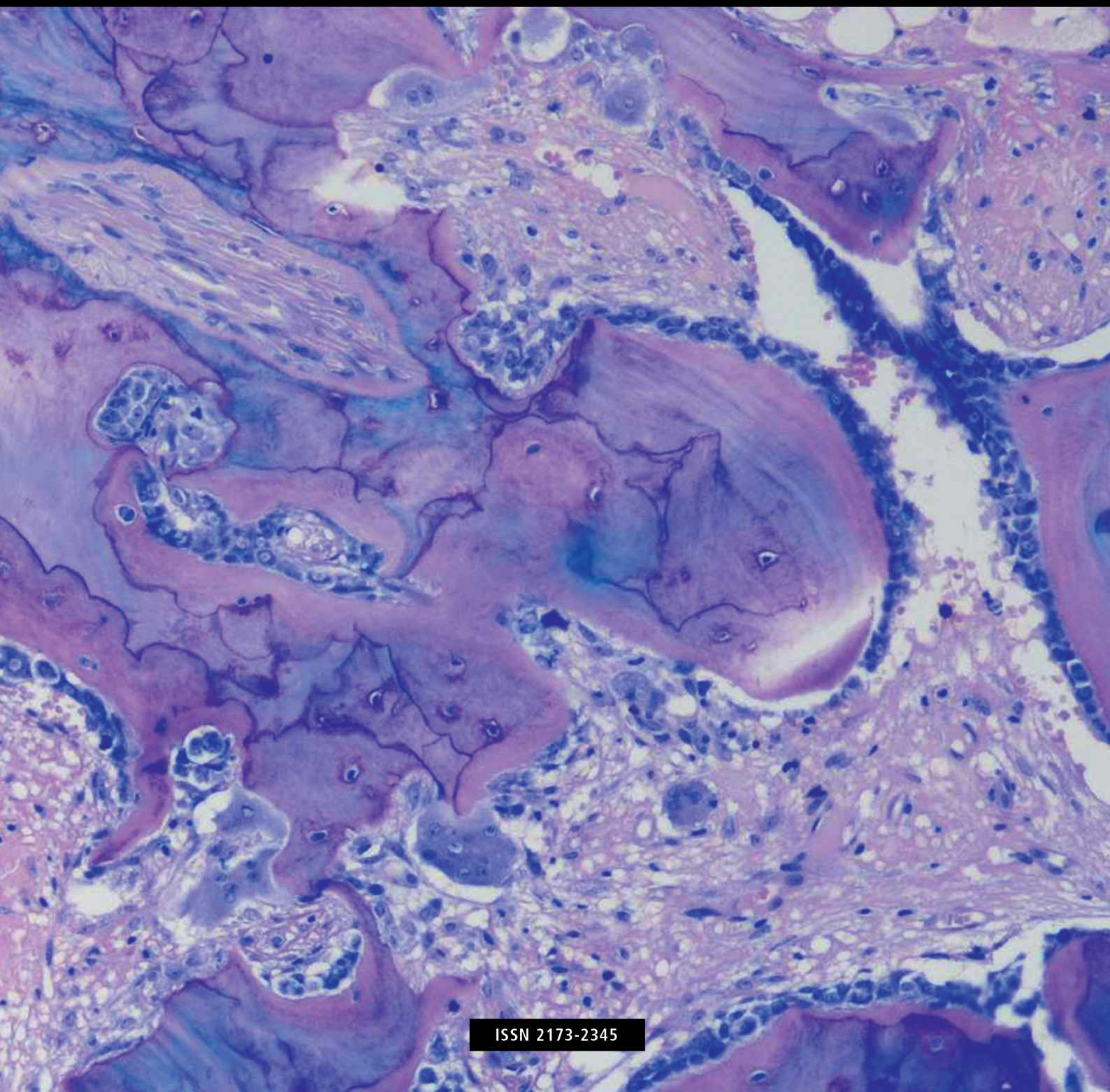


Volumen 12 · Número 4 · Octubre-Diciembre 2020

Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com



ISSN 2173-2345

Director
Manuel Sosa Henríquez

Redactora
**M^a Jesús Gómez de Tejada
Romero**



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

Presidente
Manuel Naves Díaz

Vicepresidenta
Pilar Peris Bernal

Secretaria
Minerva Rodríguez García

Tesorero
José Luis Pérez Castrillón

Vocales
**Luis del Río Barquero
José Antonio Riancho Moral**

Presidente Electo
Guillermo Martínez Díaz-Guerra

Velázquez, 94 (1^a planta)
28006 Madrid

Tel: +34-648 949 755

seiommm@seiommm.org

www.seiommm.org

Edición



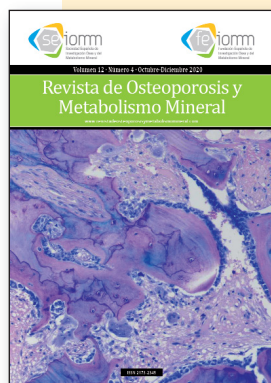
Avda. Reina Victoria, 47
28003 Madrid
Telf. +34-915 538 297
correo@ibanezyplaza.com
www.ibanezyplaza.com

Maquetación
Concha García García

Traducción inglés
David Shea

ISSN: 2173-2345

Envío de originales:
romm@ibanezyplaza.com



Nuestra portada: Trabéculas pagetoides en mosaico, tapizadas por numerosos osteoblastos. Se aprecian escasos osteoclastos, de aspecto menos activo.

Autor: Dr. Manuel Díaz Curiel. Consultor Enfermedades Metabólicas Óseas. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Madrid (España).

Sumario

Vol. 12 - N^o 4 - Octubre-Diciembre 2020

EDITORIAL

¿Las mediciones de masa ósea en fémures son simétricas?

Del Río Barquero L 113

ORIGINALES

Comparación de los valores densitométricos de la extremidad proximal del fémur en sujetos jóvenes sanos: zurdos vs. diestros

Naranjo-Kalinowska S, Saavedra Santana P, De la Rosa-Fernández F, Suárez-Ramírez N, Gómez de Tejada Romero MJ, Sosa Henríquez M 115

Predictores del riesgo de fractura en una población de mujeres postmenopáusicas mediante el procedimiento estadístico binario CART

Campillo-Sánchez F, Usategui-Martin R, Gil J, Ruiz de Temiño A, González-Silva Y, Ruiz-Mambrilla M, Dueñas-Laita A, Pérez-Castrillón JL 122

Evaluación de la densidad mineral ósea y de los parámetros de 3D-Shaper en la hipofosfatasa congénita del adulto

Tornero C, Coronado M, Humbert L, Navarro-Compán V, García Carazo S, Lancha Hernández C, Balsa Criado A, Aguado Acín P 129

Implicación de la Cx43 y el cilio primario en la actividad de los osteocitos

Herederó-Jiménez S, Tirado-Cabrera I, Martín-Guerrero E, Ardura Rodríguez JA, R Gortázar A 135

NOTA CLÍNICA

¿Se puede diagnosticar una enfermedad genética en base a caracteres fenotípicos? A propósito de un caso de pseudohipoparatiroidismo en Ecuador

Segura Mestanza A, Cedeño German R, López Gavilanez E 141

REVISIÓN

La osteocalcina: de marcador de formación ósea a hormona; y el hueso, un órgano endocrino

Rubert M, De la Piedra C 146

ARTÍCULO ESPECIAL

Conexina 43 y senescencia celular: nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la artrosis

Carpintero-Fernández P, Sánchez Temparno A, Varela Eirín M, García-Yuste A, Yáñez Cabanas J, Díez-Ulloa A, Caeiro JR, Mayan MD 152

DOCUMENTO DE POSICIÓN

COVID-19 y vitamina D. Documento de posición de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)

Pérez Castrillón JL, Casado E, Corral Gudino L, Gómez Alonso C, Peris P, Riancho JA 155

Indexada en las siguientes bases de datos: Scielo, Web of Sciences, IBECS, Scopus, SIIC Data Bases, embase, Redalyc, Emerging Sources Citation Index, Open J-Gate, DOAJ, Free Medical Journal, Google Academic, Medes, Electronic Journals Library AZB, e-revistas, WorldCat, Latindex, EBSCOhost, MedicLatina, Dialnet, SafetyLit, Mosby's, Encare, Academic Keys, ERIH plus, British Library, ROAD.

Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral ha sido aceptada para su inclusión en "Emerging Sources Citation Index", la nueva edición de Web of Sciences que funciona desde noviembre de 2015. Por ello, los artículos publicados en nuestra revista serán indexados en Web of Sciences desde el mismo momento de su publicación.

Comité Editorial

Dra. Teresita Bellido

Departamento de Anatomía y Biología Celular. Departamento de Medicina, División de Endocrinología. Universidad de Indiana. Facultad de Medicina. Richard Roudebush Centro Médico de la Administración de Veteranos de los Estados Unidos. Indianápolis. Indiana (Estados Unidos)
Correo electrónico: tbellido@iupui.edu

Dr. Ernesto Canalis

Director, Centro de Investigaciones del Hueso. Profesor de Ortopedia y de Medicina. Centro de Salud de la Universidad de Connecticut. Farmington, CT (Estados Unidos)
Correo electrónico: canalis@uchc.edu

Dra. Patricia Clark Peralta

Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica. Hospital Infantil Federico Gómez-Facultad de Medicina. UNAM. Ciudad de México (México)
Correo electrónico: patriciaclark@prodigy.net.mx

Dr. Oswaldo Daniel Messina

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

Dra. Lilian I Plotkin

Departamento de Anatomía y Biología Celular y Centro de Indiana para la Salud Muscoloesquelética. Facultad de Medicina. Universidad de Indiana. Indianápolis. Indiana (Estados Unidos)
Correo electrónico: lplotkin@iupui.edu

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

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. José Antonio Riancho Moral

Departamento de Medicina y Psiquiatría, Universidad de Cantabria. Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Santander (España)
Correo electrónico: rianchoj@unican.es

Metodología, estudio de datos y estadística: Pedro Saavedra Santana

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Departamento de Matemáticas. Las Palmas de Gran Canaria (España)
Correo electrónico: pedro.saavedra@ulpgc.es

Dr. Manuel Sosa Henríquez (Director)

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

Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero (Redactora)

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

Revisores Volumen 12 (2020)

Verónica Alonso Rodríguez
Luis Arbolea Rodríguez
Juan Antonio Ardura Rodríguez
Josep Blanch i Rubió
José Antonio Blazquez Cabrera
M^a Jesús Canelo Hidalgo
Jorge Cannata Andía
Antonio Cano Sánchez
Enrique Casado Burgos
Santos Castañeda Sanz
Luis Corral Gudino
Concha de la Piedra Gordo

Javier del Pino Montes
Luis del Río Barquero
Jesús Delgado Calle
Silvana di Gregorio
Iñigo Etxebarría Foronda
Natalia García Giralte
Carlos Gómez Alonso
M^a Jesús Gómez de Tejada Romero
Federico Hawkins Carranza
Diego Hernández Hernández
Guillermo Martínez Díaz-Guerra
M^a José Montoya García

Manuel Naves Díaz
José Luis Neyro Bilbao
Xavier Nogués i Solan
José Manuel Olmos Martínez
Norberto Ortego Centeno
Santiago Palacios Gil-Antuñano
José Luis Pérez Castrillón
Manuel Quesada Charneco
Manuel Quesada Gómez
Enrique Raya Alvarez
José Antonio Riancho Moral
Minerva Rodríguez García

Arancha Rodríguez de Gortázar
Alonso-Villalobos
Lluís Serra Majem
Manuel Sosa Henríquez
Antonio Torrijos Eslava
Carmen Valero Díaz de la Madrid

La Junta Directiva de la SEIOMM y la Dirección de la Revista les agradece su inestimable colaboración.

¿Las mediciones de masa ósea en fémures son simétricas?

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400001>

Del Río Barquero L

Centro de Tecnología Diagnóstica S.A. Mutua de Terrassa. Terrassa (España)

En este número de la revista se publica un interesante artículo sobre posibles diferencias en las densitometrías de fémures relacionadas con la dominancia de las extremidades superiores entre zurdos y diestros¹.

La absorciometría radiológica de doble energía (DXA) se basa en la medición de la densidad mineral ósea superficial (DMO en g/cm²) en fémur proximal y columna lumbar. Los artefactos, como la osteoartritis y las calcificaciones osteofíticas influyen en la DMO de la columna y confieren gran valor a la medición del fémur. Desde los inicios de la aplicación de la técnica DXA en las caderas se ha mantenido la presunción de que puede existir una mínima asimetría bilateral entre los fémures proximales, pero sin trascendencia clínica. Esta cuestión ha sido objetivo de estudio por varios grupos de investigadores al no conocer con claridad si existen diferencias sistemáticas entre la DMO de las dos caderas e intentando responder a las cuestiones: ¿la densidad ósea en uno de los fémures es similar en el lado opuesto?, ¿qué fémur elegir?, si no es así, ¿se deben medir las dos caderas?

En este sentido es paradigmático el ejemplo del antebrazo, región de interés que ha quedado relegada a un sector alternativo que se utiliza en aquellas situaciones que las mediciones en las regiones convencionales no son fiables. Debido a las diferencias conocidas de DMO de los antebrazos dominantes y no dominantes, se recomienda medir la DMO del antebrazo no dominante para reducir la varianza.

La respuesta a la cuestión ¿son simétricos los fémures proximales izquierdo y derecho?, es importante, ya que el resultado de la medición en la cadera elegida condiciona la estimación del riesgo de fractura del sujeto. Los cirujanos ortopédicos en su búsqueda de una artroplastia de cadera ideal y mejorar la técnica quirúrgica, se han interesado especialmente en las potenciales diferencias anatómicas.

La investigación sobre la variabilidad anatómica del fémur proximal ha revelado algunas diferencias entre fémures relacionadas con el género y etnia. Se han identi-

ficado diferencias en las dimensiones y compensaciones femorales entre hombres y mujeres²⁻⁵. Otros estudios han comprobado diferencias en algunas características morfológicas de fémures de poblaciones europea y asiática, en concreto en el diámetro de la cabeza femoral, el desplazamiento femoral y diámetro de la diáfisis⁶. Otras propiedades como la densidad mineral ósea, la resistencia mecánica, el grosor cortical, los ángulos o la longitud del fémur han sido también estudiadas⁷⁻¹¹. La evaluación de las posibles diferencias entre fémures mediante un método fotográfico en 160 fémures de ambos lados emparejados, provenientes de cadáveres, no revelaron diferencias absolutas de cualquier medida femoral que excediera 1,5 mm⁹. El porcentaje de asimetría no excedió el 4% para todas las mediciones antropométricas y no encontraron asociación entre las diferencias absolutas y el porcentaje de asimetría, género y/o la etnia. La edad o el peso tampoco se asociaban con las diferencias absolutas o el porcentaje de asimetría. Este estudio respalda la suposición de un alto grado de simetría en los fémures proximales izquierdo y derecho a pesar de la forma y la forma del cuerpo, que también está respaldada en otras publicaciones^{12,13}. La simetría generalmente es independiente de los datos demográficos y las dimensiones generales del fémur proximal.

Otros grupos, aplicando método DXA con diferentes enfoques tecnológicos, han evaluado las variaciones de DMO femoral y las características geométricas como la longitud del eje de la cadera (HAL) entre fémur izquierdo/derecho, encontrando una alta correlación ($r = 0,81-0,96$) en las regiones de interés relevantes. No detectaron diferencias significativas entre ambos lados, por lo que, a pesar de que hay un antebrazo dominante, no parece haber una cadera dominante. Los autores de estos estudios^{1,14,15} han llegado a la conclusión de que la medición de un único fémur suele ser suficiente para la evaluación clínica de la DMO y/o la longitud del eje de la cadera.



Conflicto de intereses: El autor declara no tener conflictos de intereses.



Correspondencia: Luis del Río Barquero (delriobarquero@gmail.com)

Bibliografía

1. Naranjo-Kalinowska S, Saavedra SP, De la Rosa-Fernández F, Suárez-Ramírez N, Gómez de Tejada Romero MJ, Sosa Henríquez M. Comparación de los valores densitométricos de la extremidad proximal del fémur en sujetos jóvenes sanos: zurdos vs. diestros. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2021;12(4):115-21.
2. Asala SA. Sex determination from the head of the femur of South African whites and blacks. *Forensic Sci Int.* 2001; 117:15-22.
3. Casper DS, Kim GK, Parvizi J, Freeman TA. Morphology of the proximal femur differs widely with age and sex: relevance to design and selection of femoral prostheses. *J Orthop Res.* 2012;30:1162-6.
4. Purkait R. Sex determination from femoral head measurements: a new approach. *Leg Med (Tokyo).* 2003;5(suppl 1):S347-50.
5. Unnanuntana A, Toogood P, Hart D, Cooperman D, Grant RE. Evaluation of proximal femoral geometry using digital photographs. *J Orthop Res.* 2010; 28:1399-404.
6. Hoaglund FT, Low WD. Anatomy of the femoral neck and head, with comparative data from Caucasians and Hong Kong Chinese. *Clin Orthop Relat Res.* 1980;(152):10-6.
7. Murshed KA, Cicekcibasi AE, Karabacakoglu A, Seker M, Ziyilan T. Distal femur morphometry: a gender and bilateral comparative study using magnetic resonance imaging. *Surg Radiol Anat.* 2005;27:108-12.
8. Pierre MA, Zurakowski D, Nazarian A, Hauser-Kara DA, Snyder BD. Assessment of the bilateral asymmetry of human femurs based on physical, densitometric, and structural rigidity characteristics. *J Biomech.* 2010;43:2228-36.
9. Rosenbaum TG, Hamblin T, Bloebaum RD. Determining the degree of cortical bone asymmetry in bilateral, nonpathological, human femur pairs. *J Biomed Mater Res A.* 2006;76:450-5.
10. Strecker W, Keppler P, Gebhard F, Kinzl L. Length and torsion of the lower limb. *J Bone Joint Surg Br.* 1997;79: 1019-23.
11. Teitz CC, Lind BK, Sacks BM. Symmetry of the femoral notch width index. *Am J Sports Med.* 1997;25:687-90.
12. Auerbach BM, Ruff CB. Limb bone bilateral asymmetry: variability and commonality among modern humans. *J Hum Evol.* 2006;50:203-18.
13. Unnanuntana A, Wagner D, Goodman SB. The accuracy of preoperative templating in cementless total hip arthroplasty. *J Arthroplasty.* 2009;24:180-6.
14. Faulkner KG, Genant HK, McClung M. Bilateral comparison of femoral bone density and hip axis length from single and fan beam DXA scans. *Calcif Tissue Int.* 1995;56(1):26-31.
15. Rao AD, Reddy S, Rao DS. Is there a difference between right and left femoral bone density? *J Clin Densitom.* 2000;3 (1):57-61.

Comparación de los valores densitométricos de la extremidad proximal del fémur en sujetos jóvenes sanos: zurdos vs. diestros

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400002>

Naranjo-Kalinowska S¹, Saavedra Santana P², De la Rosa-Fernández F¹, Suárez-Ramírez N¹, Gómez de Tejada Romero MJ^{1,3}, Sosa Henríquez M^{1,4}

¹ Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)

² Departamento de Matemáticas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)

³ Departamento de Medicina. Universidad de Sevilla. Sevilla (España)

⁴ Unidad Metabólica Ósea. Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria (España)

Fecha de recepción: 31/10/2020 - Fecha de aceptación: 24/12/2020

Resumen

Objetivo: La actividad física es un determinante de la densidad mineral ósea. Las personas zurdas ejercitan más los miembros izquierdos que las diestras, quienes lo hacen con los derechos. El objetivo de este trabajo fue estudiar si los sujetos zurdos tienen valores más elevados de DMO en el miembro inferior izquierdo (fémur proximal) y los diestros en el derecho.

Material y métodos: Estudio observacional, transversal realizado en sujetos jóvenes sanos de ambos sexos que no realizaban actividad deportiva, que fueron agrupados en zurdos o diestros según su lateralidad, la cual se estableció aplicando el cuestionario de Edimburgo. A todos ellos se les midió la densidad mineral ósea en la columna lumbar y en la extremidad proximal de ambos fémures por medio de un densitómetro Hologic QDR 4500, Discovery®.

Resultados: De los 122 sujetos estudiados, 62 eran diestros y 60 zurdos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y controles en la edad, proporción de varones y mujeres, índice de masa corporal y distribución de los estilos de vida: consumo de alcohol, tabaco y actividad física en el tiempo libre. Los zurdos y los diestros mostraron valores similares de densidad mineral ósea en la columna y en todas las localizaciones anatómicas medidas (cuello femoral, total de cadera, trocánter e intertrocánter) de ambos fémures, derecho e izquierdo. Sin embargo, en el fémur izquierdo se obtuvieron valores más bajos de DMO en comparación con el derecho en todas las localizaciones medidas (diferencias que fueron estadísticamente significativas) tanto al considerar a todos los sujetos juntos como al agruparlos según su lateralidad.

Conclusión: No se observó diferencias en la DMO de las distintas localizaciones medidas entre los sujetos zurdos y los diestros estudiados. Sin embargo, los valores de DMO en el lado izquierdo fueron significativamente más bajos en comparación con el derecho en todos los sujetos, independientemente de la lateralidad.

Palabras clave: densidad mineral ósea, lateralidad, zurdos, diestros, prevalencia.

INTRODUCCIÓN

La absorciometría radiológica dual, comúnmente conocida como densitometría ósea¹, es una técnica ampliamente utilizada en la práctica clínica diaria que es considerada el patrón oro para la estimación de la densidad mineral ósea (DMO)¹⁻⁴. Al realizar una densitometría, los valores obtenidos, habitualmente en la columna lumbar y en la extremidad proximal del fémur, son comparados con los valores de referencia para la población

de cada país, pudiéndose calcular de esta manera los valores T-score y Z-score^{3,5}. Por consenso, la Organización Mundial de la Salud recomendó que el diagnóstico densitométrico de osteoporosis se realizara ante la presencia de una T-score inferior a -2,5 desviaciones típicas del pico de DMO². Aunque este criterio ha sido un tema de controversia, también se ha convertido en una referencia mundial que ha permitido la homogenización de los estudios aleatorizados, entre otras muchas ventajas¹⁻⁶.



Correspondencia: Manuel Sosa Henríquez (manuel.sosa@ulpgc.es)

Por otra parte, es conocido el efecto beneficioso que tiene el estímulo mecánico sobre hueso. Los ejercicios de carga constituyen una de las mejores maneras de aumentar la DMO, como se ha constatado en los deportistas en los que existe una carga asimétrica sobre uno de los miembros que es lo que ocurre, por ejemplo, en los jugadores de tenis, o en futbolistas, en quienes se ha constatado diferencias significativas en la DMO a favor de la extremidad dominante⁷⁻¹⁵.

Aproximadamente el 10% de la población es zurda¹⁶. A principios del siglo XX se realizaron varios estudios que compararon la DMO en sujetos zurdos y diestros no deportistas, con resultados diversos¹⁷⁻¹⁹. Sin embargo, no hemos encontrado estudios recientes que trataran de ser más concluyentes. Por ello hemos realizado el presente trabajo, partiendo de la hipótesis de trabajo de que los individuos zurdos podrían efectuar durante la actividad física diaria una mayor carga en el miembro inferior izquierdo y, por ello, tener unos mayores niveles de DMO en el fémur izquierdo, mientras que en los diestros debería observarse justamente el fenómeno contrario: cifras más elevadas de DMO en el fémur derecho.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estilos de vida. Cuestionario

Se trata de un estudio observacional, transversal, en el que incluimos a 122 estudiantes voluntarios de ambos sexos de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), sin patologías conocidas. Fueron excluidos del estudio todos aquellos sujetos que sufrieran cualquier enfermedad que pudiera tener efecto sobre el metabolismo mineral óseo, bien por la patología o por su tratamiento. Para conocer sus estilos de vida en general, se les realizó un cuestionario, previamente validado²⁰.

El consumo de alcohol se estableció aplicando el cuestionario AUDIT (*alcohol use disorders identification test*), considerándose como consumo de riesgo la ingestión igual o superior a 35 UBE (unidades de bebida estándar) por semana en varones y 21 en mujeres²¹. La UBE está establecida en España en 10 g, que equivale al contenido medio de alcohol de una consumición de vino o cerveza, y a media de destilados²².

La actividad física se estimó aplicando la versión corta del cuestionario IPAQ (*The International Physical Activity Questionnaire - Short Form, IPAQ-SF*)²³. Se consideró conducta sedentaria aquella en la que los individuos permanecen más de 6 h sentados al día.

Determinaciones antropométricas

A todos se les practicó una exploración física que incluyó talla y peso con ropa ligera, y se les calculó el índice de masa corporal o índice de Quetelet (IMC) definido como el peso (en kg) dividido por la talla (en m) al cuadrado, aceptándose la existencia de sobrepeso cuando el índice fue igual o superior a 25 kg/m² y de obesidad cuando dicho índice fue superior o igual a 30 kg/m²²⁴.

Lateralidad

Los participantes cumplieron el cuestionario sobre la escala de lateralidad de Edimburgo²⁵, el cual consta de un total de 15 ítems en su versión ampliada, que fue la empleada en nuestro estudio y que puede obtenerse desde el enlace: <https://www.brainmapping.org/shared/Edinburgh.php>.

Cada sujeto obtiene una puntuación que oscila entre -100 y +100. De acuerdo con esta escala, se consideran sujetos zurdos a aquellos que muestran valores negativos en dicha escala, entre -20 y -100 puntos, y diestros a aquellos que mostraron valores positivos entre +20 y +100. Con el fin de realizar las comparaciones exclusivamente entre dos grupos, zurdos y diestros, excluimos del estudio a los sujetos ambidiestros.

Consentimiento. Ética

A todos los participantes en el estudio se les explicó detalladamente los objetivos del estudio y firmaron un consentimiento informado. El protocolo fue previamente aprobado por el Comité de Ensayos Clínicos del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno-Infantil.

Densitometría ósea

La DMO se midió por absorciometría dual de rayos X (DXA) mediante un densitómetro Hologic 4500 Discovery® (Hologic Inc. Waltham, EE.UU.). Éste utiliza un tubo de rayos X (Rx) y la fuente de radiación y de energía es pulsada alternativamente a 70 KVp y 140 KVp, y transmitida por un tubo que tiene un pico de 2 mA. En el estudio multicéntrico realizado por el Grupo de Trabajo sobre Osteoporosis (GTO) se estableció para la densitometría con este aparato un coeficiente de variación del 0,75%±0,16 con un rango entre 0,6 y 1,13%²⁶. Todas las determinaciones fueron realizadas por el mismo operador, por lo que no existen variaciones interobservador. Las mediciones se realizaron en la columna lumbar, en proyección AP, de las vértebras L2-L4. Posteriormente se efectuó la medición en ambas extremidades proximales del fémur, en las siguientes regiones anatómicas: cuello femoral, total de cadera, trocánter e intertrocánter.

El valor medio teórico y la desviación típica de cada grupo de edad se obtuvo de los valores considerados como normales para la población canaria²⁷.

Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresaron como frecuencias y porcentajes, y las continuas como medias y desviaciones típicas cuando las variables seguían una distribución normal, o como medianas con sus rangos intercuartílicos (IQR = percentiles 25th – 75th) cuando la distribución se separaba de la normalidad. Los porcentajes se compararon utilizando la prueba de la chi-cuadrado (χ^2) y el test exacto de Fisher. Las medias se compararon aplicando la prueba de la t de Student y las medianas se compararon aplicando la prueba de Wilcoxon para datos independientes.

RESULTADOS

Participaron en el estudio 122 sujetos voluntarios. En la figura 1 se muestra el proceso de selección de los participantes.

En la tabla 1 se recogen las características basales de los participantes en el estudio, 60 zurdos y 62 diestros. Dos sujetos ambidiestros fueron excluidos por las razones indicadas en material y métodos. Se trata de una población joven con una edad media de alrededor de 24 años (24,3 años vs. 23,7 años), con notable predominio del sexo femenino, pues aproximadamente el 73% de los participantes eran mujeres (73,3% en el grupo de zurdos vs. 72,6% en el de diestros). El índice de masa corporal (IMC) fue similar en ambos grupos, estando el mismo dentro de la normalidad. La mayor parte de los

participantes eran no fumadores y bebían con moderación, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre los zurdos y diestros, con prevalencias similares. Asimismo, la mayor parte de los participantes eran sedentarios (más del 40% en ambos grupos) sin existir tampoco diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

En la tabla 2 se muestran los valores de DMO medidos por DXA entre los zurdos y los diestros; no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los lugares anatómicos donde se efectuó la medición, tanto en la columna lumbar como en la extremidad proximal del fémur (cuello femoral, total de cadera, trocánter e intertrocánter) de las dos extremidades, derecha e izquierda. La lateralidad no condicionó diferencias en la DMO. Sin embargo, se observó que la DMO mostró valores superiores en el fémur derecho vs. el izquierdo en todas las localizaciones y en ambos grupos (diferencias [derecho – izquierdo] positivas). Al comparar estas diferencias entre ambos grupos, los zurdos mostraron una diferencia mayor que los diestros, aunque solo en la zona intertrocanterea fue significativa ($p=0,203$).

Ante este hallazgo, se analizaron las diferencias entre valores densitométricos derechos e izquierdos para ver si eran estadísticamente significativas. En la tabla 3 se muestran los resultados densitométricos obtenidos en el conjunto de los participantes, sin agrupar por la lateralidad. Al comparar los valores densitométricos del fémur derecho con los del fémur izquierdo, obtuvimos que, al igual que al compararlos en los grupos por separado, en todas las localizaciones anatómicas (cuello femoral, total de cadera, trocánter e intertrocánter) los valores de DMO eran superiores en el lado derecho respecto al izquierdo, siendo las diferencias estadísticamente significativas en todas las localizaciones.

En la tabla 4 se muestran los resultados de dicha comparación en los grupos estudiados, zurdos y diestros, obteniendo que las diferencias eran significativas en todas las localizaciones excepto en cuello femoral, tanto en el grupo de los zurdos como en el grupo de los diestros.

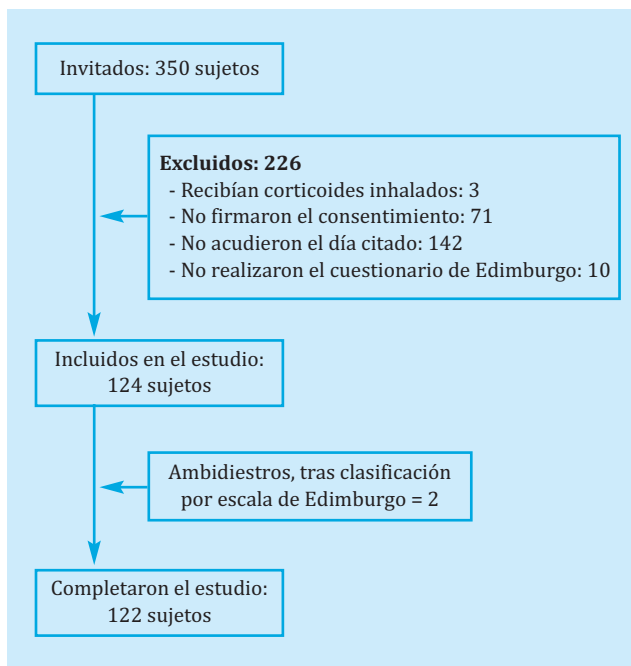
En la figura 2 se muestra la correlación obtenida en las determinaciones de DMO en el fémur proximal entre ambos lados, derecho e izquierdo, en zurdos y en diestros, y en cada localización.

Discusión

Aunque la influencia de la lateralidad en la DMO en individuos atletas se ha demostrado en diversos estudios⁷⁻¹⁵, no ha sido así en sujetos que no realizan actividad física intensa. Al igual que en otros estudios similares, hemos estudiado a una población sana y joven, en la que no pudiera haber influencias derivadas de la edad, menopausia, patologías o terapias en su DMO. Aunque determinar la lateralidad de un individuo es a veces difícil, la escala lateralidad de Edimburgo²⁵ nos ha permitido una clasificación objetiva, en contraste con lo observado en algunos de los estudios publicados sobre zurdos o diestros, en los que se acepta la autoevaluación del sujeto participante, que casi siempre lo hace en función de la mano con la que escribe. De hecho, la aplicación de esta escala nos obligó a excluir a 2 participantes que, viéndose a sí mismos como zurdos, en realidad eran ambidiestros.

Al clasificar a los seleccionados en zurdos y diestros obtuvimos 2 grupos muy homogéneos en cuanto a la edad, proporción de hombres y mujeres, el IMC y los estilos de

Figura 1. Diagrama de flujo que muestra el proceso de recogida de los participantes en el estudio



vida que pueden influir en el hueso, como el consumo de alcohol^{28,29}, de tabaco^{30,31} y la realización de ejercicio físico^{32,33}. Dado que eran todos jóvenes sanos, sin medicación que pudiera afectar al metabolismo mineral óseo, podíamos considerar la lateralidad como un factor determinante de las diferencias observadas en la DMO entre ambos grupos.

Establecimos que nuestra hipótesis de trabajo fuera que los zurdos deberían tener valores más elevados de DMO en todos los lugares anatómicos de la extremidad inferior izquierda donde se midió esta, mientras que los diestros deberían tener valores más elevados en el fémur proximal derecho, debido a una mayor carga en ellos, hipótesis que establecimos al observar en algunos estudios de la literatura, realizados en deportistas, que al producirse una carga asimétrica en una extremidad los valores densitométricos obtenidos eran más elevados en el miembro dominante, tanto en las extremidades superiores, como en los tenistas⁷⁻¹⁰, como en las inferiores, el caso de los futbolistas¹¹⁻¹³. Este hecho también se observó en sujetos sedentarios³⁴. También partimos de la hipótesis de que no deberían observarse diferencias en la DMO de columna lumbar entre ambos grupos, por ser estructura de localización media sin influencia de la lateralidad, en condiciones normales. Puesto que lo que quisimos valorar fue el efecto de la carga sobre el hueso, no consideramos la medición de DMO en el antebrazo.

Los estudios similares realizados con anterioridad mostraron resultados contradictorios: en 2001, Dane y cols.¹⁷ estudiaron la DMO en ambos fémures de 124 estudiantes diestros y 23 zurdos, obteniendo que en hombres diestros la DMO es mayor en el fémur izquierdo, mientras que en mujeres no hubo diferencias significativas. También encontraron que la DMO en el fémur no dominante era mayor que en el dominante, tanto en los zurdos en conjunto (fémur derecho) como en los diestros (fémur izquierdo) en todas las localizaciones, salvo en trocánter entre los diestros, que fue al revés. Estos resultados fueron significativos entre los diestros, pero no entre los zurdos (salvo en trocánter, con resultado contrario).

Tabla 1. Características basales y estilos de vida de los participantes en el estudio

	Zurdos N = 60	Diestros N = 62	Valor de p
Edad, años	24,3 ± 8,3	23,7 ± 8,5	0,675
Sexo femenino número (%)	44 (73,3)	45 (72,6)	0,925
Índice de masa corporal, kg/m²	23,5 ± 3,7	22,7 ± 3,1	0,192
Consumo de tabaco			0,593
Fumadores (%)	7 (11,7)	11 (17,7)	
No fumadores (%)	48 (80,0)	45 (72,6)	
Exfumadores (%)	5 (8,3)	6 (9,7)	
Consumo de alcohol			0,292
Bebedores habituales de riesgo (%)	2 (3,3)	0 (0,0)	
Abstemios (%)	19 (31,7)	16 (25,8)	
Bebedores moderados (%)	39 (65,0)	46 (74,2)	
Ejercicio físico habitual			0,905
Actividad intensa (%)	23 (38,3)	26 (41,9)	
Actividad moderada (%)	11 (18,3)	10 (16,1)	
Sedentarios (%)	26 (43,3)	26 (41,9)	

Los datos se expresan como medias ± desviación típica y número (porcentaje).

Tabla 2. Valores densitométricos obtenidos en la columna lumbar y en la extremidad proximal de ambos fémures en zurdos y diestros. Valores netos y tras restar a los valores del lado derecho los del izquierdo

	Zurdos N = 60	Diestros N = 62	Valor de p
L2-L4, g/cm²	1,047 ± 0,105	1,044 ± 0,131	0,883
Cuello femoral, g/cm²			
Derecho	0,889 ± 0,134	0,889 ± 0,122	0,998
Izquierdo	0,876 ± 0,120	0,879 ± 0,127	0,863
Derecho - izquierdo	0,013 ± 0,053	0,009 ± 0,042	0,651
Total de cadera, g/cm²			
Derecho	0,999 ± 0,130	0,996 ± 0,120	0,882
Izquierdo	0,984 ± 0,130	0,982 ± 0,120	0,933
Derecho - izquierdo	0,015 ± 0,037	0,013 ± 0,035	0,826
Trocánter, g/cm²			
Derecho	0,756 ± 0,119	0,752 ± 0,105	0,853
Izquierdo	0,733 ± 0,108	0,733 ± 0,098	0,988
Derecho - izquierdo	0,023 ± 0,046	0,019 ± 0,034	0,634
Intertrocánter g/cm²			
Derecho	1,156 ± 0,152	1,146 ± 0,143	0,685
Izquierdo	1,128 ± 0,146	1,131 ± 0,143	0,903
Derecho - izquierdo	0,029 ± 0,070	0,014 ± 0,050	0,203

Los datos se expresan como medias ± desviación típica.

Tabla 3. Densidad mineral ósea en las distintas localizaciones de la extremidad proximal del fémur, comparando globalmente ambos lados en todos los participantes del estudio

	Lado derecho	Lado izquierdo	Valor de p
Cuello femoral g/cm²	0,889 ± 0,127	0,878 ± 0,123	0,011
Cadera total g/cm²	0,997 ± 0,124	0,983 ± 0,124	<0,001
Trocánter g/cm²	0,754 ± 0,111	0,733 ± 0,103	<0,001
Intertrocánter g/cm²	1,151 ± 0,147	1,130 ± 0,144	<0,001

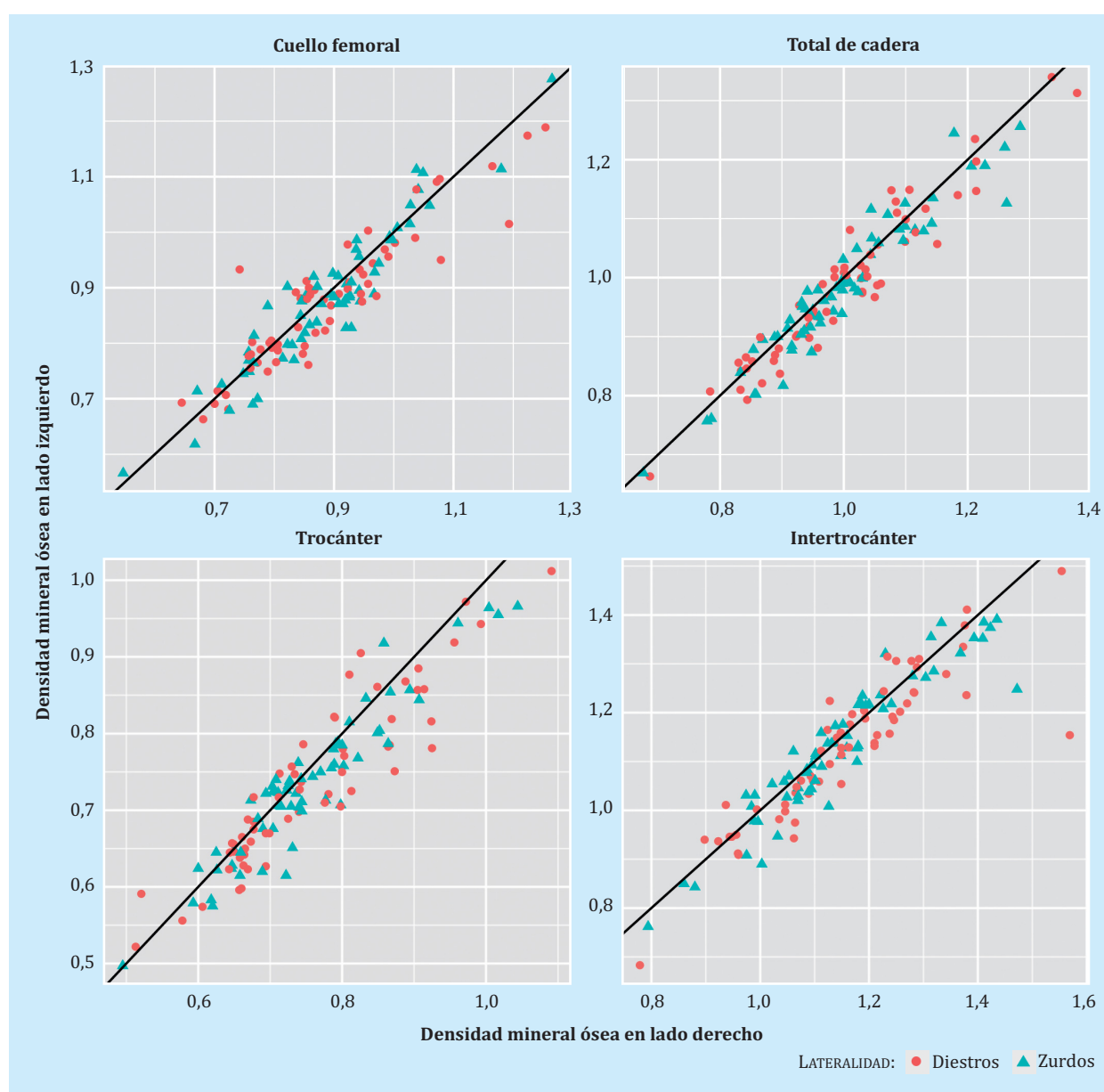
Los datos se expresan como media ± desviación típica.

Tabla 4. Comparación entre los valores de densidad mineral ósea (g/cm²) en las distintas localizaciones del fémur proximal izquierdo con las del derecho en cada grupo estudiado, zurdos y diestros

	Zurdos			Diestros		
	Lado derecho	Lado izquierdo	Valor de p	Lado derecho	Lado izquierdo	Valor de p
Cuello femoral	0,889 ± 0,134	0,876 ± 0,120	0,060	0,889 ± 0,122	0,879 ± 0,127	0,094
Cadera total	0,999 ± 0,130	0,984 ± 0,130	0,003	0,996 ± 0,120	0,982 ± 0,120	0,004
Trocánter	0,756 ± 0,119	0,733 ± 0,108	<0,001	0,752 ± 0,105	0,733 ± 0,098	<0,001
Intertrocánter	1,156 ± 0,152	1,128 ± 0,146	0,002	1,146 ± 0,143	1,131 ± 0,143	0,026

Los datos se expresan como media ± desviación típica.

Figura 2. Correlación de los valores de DMO obtenidos en las distintas localizaciones de ambas extremidades proximales del fémur en ambos grupos, zurdos y diestros



En el trabajo de Gümüştekin y cols.¹⁸, realizado en 2004 también en estudiantes (32 diestros y 26 zurdos), se obtuvieron resultados parecidos: los participantes diestros, hombres y mujeres juntos, y separados por sexo, mostraron mayor DMO en el fémur izquierdo en

todas las localizaciones, siendo la diferencia significativa las mediciones total (e intertrocanterea en los hombres); mientras que los zurdos mostraron mayor DMO en todas las localizaciones del fémur derecho (aunque solo significativo en la zona intertrocanterea), salvo en

zona de Ward en el conjunto, y cuello femoral y zona de Ward en hombres, que fue al contrario (mayor DMO en el lado dominante). Al igual que Dane y cols., pues, encontraron que la DMO en el fémur no dominante era mayor, tanto en los zurdos como en los diestros, si bien las diferencias no eran significativas en general.

En 2009 Sahin y cols.¹⁹ publicaron un estudio realizado con 113 estudiantes, 66 hombres y 47 mujeres (66 diestros y 47 zurdos en total) en el que se reportó que la DMO de ambos fémures (derecho e izquierdo) en los sujetos diestros era mayor que en los sujetos zurdos y de forma significativa (salvo en zona de Ward de ambos fémures). Estos autores no valoraron las diferencias entre los valores de DMO entre fémur izquierdo y derecho de cada grupo.

En nuestro estudio no consideramos analizar los resultados por sexo, debido a que, al obtener subgrupos de pequeño tamaño, las diferencias no serían concluyentes. Al contrario de lo reportado en los anteriores estudios mencionados, no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas entre zurdos y diestros en los valores densitométricos obtenidos en ninguno de las localizaciones anatómicas donde los medimos de la extremidad proximal de los fémures derecho e izquierdo. Obviamente, tampoco las obtuvimos en la columna lumbar. Ello indica que, en la población que estudiamos, la lateralidad no influyó en los valores de DMO y que, o bien no hay diferencia en la carga de ambos miembros inferiores o que esta no es suficiente para afectar a la DMO. Nuestros voluntarios llevaban una vida sedentaria en su mayoría, y esto puede justificar la explicación anterior. En los trabajos de Dane¹⁷, Gümüştekin¹⁸ y Sahin¹⁹ no se hace una valoración del ejercicio físico de los sujetos estudiados, por lo que no sabemos si pudiera haber influido en la diferencia de DMO hallada.

Sin embargo, nos llamó la atención la mayor DMO encontrada en todas las localizaciones del fémur derecho respecto a las del izquierdo, tanto en diestros (que sería lo esperable) y en zurdos por separados, como en el total de participantes, y en algunos casos significativamente, resultados contrarios a los reportados por otros autores^{17,18}. Nuestros resultados fueron más homogéneos que en estos otros estudios, en el sentido de que fue igual todas las localizaciones (no así en los estudios de Dane y Gümüştekin^{17,18}). Por otro lado, no encontramos explicación a esa mayor DMO en el fémur proximal derecho de forma generalizada; otros estudios publicados en poblaciones más am-

plias de edad, obtienen resultados contrarios; así, Rao y cols. realizaron un trabajo en 131 mujeres caucásicas osteoporóticas, encontrando que la DMO de la cadera izquierda fue significativamente mayor que la de la derecha en todas las localizaciones, no pudiendo determinar la influencia de la lateralidad al tener un bajo número de mujeres zurdas (solo 7, el 5%)³⁵. Por el contrario, Bonnick y cols. realizaron mediciones de DMO en ambos fémures proximales a 198 mujeres de un rango de edad de 16 a 73 años, sin considerar su lateralidad, y solo encontraron diferencias significativas en la zona trocantérea, siendo en general las medias de las diferencias bajas (cuello = 0,7%, zona de Ward = 0,2%, and trocánter = 1,9%), aunque encuentran diferencias individuales tan altas como del 22%³⁶.

A pesar de las diferencias halladas, y al igual que en el resto de trabajos revisados, nuestros resultados muestran correlación entre los valores de DMO del fémur proximal izquierdo y del derecho; esta correlación es ampliamente aceptada, y, de hecho, los documentos de posición de la *Internacional Society of Clinical Densitometry* (ISCD)¹, indican que, para la medición de DMO en fémur proximal, puede ser utilizada cualquiera de las 2 extremidades. Sin embargo, si aceptamos que la validez fundamental de esta prueba es la de detectar a los sujetos con DMO baja, dada la relación inversa entre los valores densitométricos y el riesgo de fractura y habiéndose estimado que cada disminución de una desviación típica duplica el riesgo de fractura^{4,6}, y, en vista de nuestros resultados, en los que el fémur proximal izquierdo presenta valores de DMO significativamente más bajos que el derecho, quizás fuera recomendable realizar las mediciones en el fémur izquierdo.

Una limitación de nuestro estudio fue el pequeño tamaño muestral. Esto se observa en casi todos los estudios que valoran la lateralidad, debido a que la proporción de zurdos en la población general es baja (aproximadamente un 10%)³⁷.

En conclusión, de acuerdo a nuestros resultados, la lateralidad en sujetos que no realizan un deporte o actividad física que conlleve una carga importante en el miembro dominante no afecta favorablemente a su DMO; además, la menor DMO observada en las mediciones de fémur proximal izquierdo respecto al derecho, independientemente de la lateralidad, nos llevan a sugerir que sería más adecuado realizar la densitometría en el fémur izquierdo si queremos una mayor sensibilidad diagnóstica.



Conflicto de intereses: Lo autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Lewiecki EM, Binkley N, Morgan SL, Shuhart CR, Camargos BM, Carey JJ, et al. Best practices for dual-energy x-ray absorptiometry measurement and reporting: International Society for Clinical Densitometry Guidance. *J Clin Densitom.* 2016;19(2):127-40.
- Kanis, JA, WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO Report. *Osteoporos Int.* 1994;4:368-81.
- Vázquez M, López A, Franco G, Isasi C. Fractura osteoporótica: valoración del riesgo en la práctica clínica. *Med Clin.* 2007;129(11):418-23.
- Ferrer A, Estrada MD, Borràs À, Espallargues M. Guía para la indicación de la densitometría ósea en la valoración del riesgo de fractura y en el control evolutivo de la osteoporosis. *Med Clin.* 2009;132(11):428-36.
- Lewiecki EM, Watts NB, McCloung MR, Petak SM, Bachrach LK, Shepherd JA, et al. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(8):3651-5.
- Cummings SR, Palermo L, Browner W, Marcus R, Wallace R, Pearson J, et al. Monitoring osteoporosis therapy with bone densitometry. *JAMA.* 2010;283 (10):1318-21.
- Chapelle L, Rommers N, Clarys P, D'Hondt E, Taeymans J. Upper extremity bone mineral content asymmetries in tennis players: A systematic review and meta-analysis. *J Sport Sci.* 2019;37(9):988-97.
- Löffing F, Hagemann N, Strauss B. Left-handedness in professional and amateur tennis. *PLoS One.* 2012;7(11):1-8.
- Ducher G, Tournaire N, Meddahi-Pellé A, Benhamou CL, Courteix D. Short-term and long-term sitespecific effects of tennis playing on trabecular and cortical bone at the distal radius. *J Bone Miner Metab.* 2006;24(6):484-90.
- López-Calbet JA, Moysi JS, Dorado C, Rodríguez LP. Bone mineral content and density in professional tennis players. *Calcif Tissue Int.* 1998;62(6):491-6.
- Wittich A, Mautalen CA, Oliveri MB, Bagur A, Somoza F, Rotemberg E. Professional football (soccer) players have a markedly greater skeletal mineral content, density and size than age- and BMI-matched controls. *Calcif Tissue Int.* 1998;63(2):112-7.
- López-Calbet J, Dorado C, Díaz-Herrera P, Rodríguez-Rodríguez P. Density in male football (soccer) players. *Med Sci Sport Exerc.* 2001;33(10):1682-7.
- Karlsson MK, Magnusson H, Karlsson C, Seeman E. The duration of exercise as a regulator of bone mass. *Bone.* 2001; 28(1):128-32.
- Brahm H, Ström H, Piehl-Aulin K, Mallmin H, Ljunghall S. Bone metabolism in endurance trained athletes: A comparison to population-based controls based on DXA, SXA, quantitative ultrasound, and biochemical markers. *Calcif Tissue Int.* 1997;61(6):448-54.
- Taaffe DR, Snow-Harter C, Connolly DA, Robinson TL, Brown MD, Marcus R. Differential effects of swimming versus weight-bearing activity on bone mineral status of eumenorrheic athletes. *J Bone Min Res.* 1995;10(4):586-93.
- Galobardes B, Bernstein MS, Morabia A. The association between switching hand preference and the declining prevalence of left-handedness with age. *Am J Public Health.* 1999;89(12):1873-5.
- Dane S, Akar S, Hacıbeyoglu I, Varoglu E. Differences between right- and left-femoral bone mineral densities in right- and left-handed men and women. *Int J Neurosci.* 2001;111(3-4):187-92.
- Gümüştekin K, Akar S, Dane S, Yildirim M, Seven B, Varoglu E. Handedness and bilateral femoral bone densities in men and women. *Int J Neurosci.* 2004; 114(12):1533-47.
- Sahin A, Dane S, Seven B, Akar S, Yildirim S. Differences by sex and handedness in right and left femur bone mineral densities. *Percept Mot Skills.* 2009;109(3):824-30.
- Navarro-Rodríguez M, Sosa-Henríquez M, Domínguez-Cabrera M, Sánchez-García J, Laínez-Sevillano P, Marrero-Montelongo M. Influencia de los estilos de vida, historia ginecológica e ingesta de calcio en la aparición de osteoporosis. *Rev Esp Enf Metab Óseas.* 1997; 6(2):45-9.
- Gómez Arnáiz A, Martel AC, Bautista JAA, Montesdeoca JMS, Moreno AJ, León PB. Utilidad diagnóstica del cuestionario Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) para detectar el consumo de alcohol de riesgo en atención primaria. *Med Clin (Barc).* 2001;116(4):121-4.
- Dauer ARM, Solé AG, Llácer JLL. La «unidad de bebida estándar» como registro simplificado del consumo de bebidas alcohólicas y su determinación en España. *Med Clin (Barc).* 1999; 112(12):446-50.
- Baecke JAH, Burema J, Frijters JER. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr.* 1982;36(5):936-42.
- Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: Prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci.* 2006;331(4):166-74.
- Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia.* 1971;9(1):97-113.
- Diaz Curiel M, Carrasco De La Peña JL, Honorato Perez J, Cano RP, Rapado A, Ruiz Martinez I, et al. Study of bone mineral density in lumbar spine and femoral neck in a Spanish population. Multicentre Research Project on Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1997;7(1): 59-64.
- Sosa M, Hernández D, Estévez S, Rodríguez M, Limiñana JM, Saavedra P, et al. The range of bone mineral density in healthy Canarian women by dual X-ray absorptiometry radiography and quantitative computer tomography. *J Clin Densitom.* 1998;4:385-93.
- Berg KM, Kunnins, HV, Jackson JL, Nahvi S, Chaudhry A, Harris KA, et al. Association between alcohol consumption and both osteoporotic fracture and bone density. *Am J Med.* 2008;121(5):406-18.
- Kanis JA, Johansson H, Johnell O, Oden A, De Laet C, Eisman JA, et al. Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporos Int.* 2005;16(7):737-42.
- Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, et al. Smoking and fracture risk: A meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005;16(2):155-62.
- Høidrup S, Prescott E, Sørensen TIA, Gottschau A, Lauritzen JB, Schroll M, et al. Tobacco smoking and risk of hip fracture in men and women. *Int J Epidemiol.* 2000;29(2):253-9.
- Coupland CAC, Cliffe SJ, Bassey EJ, Grainger MJ, Hosking DJ, Chilvers CED. Habitual physical activity and bone mineral density in postmenopausal women in England. *Int J Epidemiol.* 1999;28(2):241-6.
- Bidoli E, Schinella D, Francesca S. Physical Activity and Bone Mineral Density in Italian middle-aged women. *Eur J Epidemiol.* 2010;14(14):153-7.
- Walters J, Koo WW, Bush A, Hammami M. Effect of hand dominance on bone mass measurement in sedentary individuals. *J Clin Densitom.* 1998;1(4):359-67.
- Rao AD, Reddy S, Rao DS. Is there a difference between right and left femoral bone density? *J Clin Densitom.* 2000; 3(1):57-61.
- Bonnick SL, Nichols DL, Sanborn CF, Payne SG, Moen SM, Heiss CJ. Right and left proximal femur analyses: Is there a need to do both? *Calcif Tissue Int.* 1996;58(5):307-10.
- Perelle IB, Ehrman L. On the other hand. *Behav Genet.* 2005;35(3):343-50.

Predictores del riesgo de fractura en una población de mujeres postmenopáusicas mediante el procedimiento estadístico binario CART

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400003>

Campillo-Sánchez F¹, Usategui-Martin R², Gil J³, Ruiz de Temiño A⁴, González-Silva Y⁵, Ruiz-Mambrilla M⁶, Dueñas-Laita A⁷, Pérez-Castrillón JL⁸

1 Servicio de Ginecología. Hospital Universitario de Guadalajara. Guadalajara (España)

2 Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada (IOBA). Universidad de Valladolid. Valladolid (España)

3 Servicio de Medicina Interna. Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila (España)

4 Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid (España)

5 Gerencia de Atención Primaria. Salamanca (España)

6 Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. Valladolid (España)

7 Departamento de Medicina. Unidad de Toxicología Clínica. Universidad de Valladolid. Valladolid (España)

8 Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Río Hortega. Universidad de Valladolid. Valladolid (España)

Fecha de recepción: 10/11/2020 - Fecha de aceptación: 22/12/2020

Resumen

Objetivo: La principal consecuencia de la osteoporosis es la fractura por fragilidad asociada a elevada morbilidad y mortalidad. La predicción de la misma puede ayudar a identificar la población de mayor riesgo y establecer medidas de prevención. El objetivo de este estudio fue valorar la utilidad de diversos factores en su prevención comparando la densidad mineral ósea (DMO), el cálculo del riesgo absoluto de fractura con la herramienta FRAX® con y sin DMO, y los datos clínicos.

Material y método: Se realizó un estudio longitudinal de 8 años de duración en una población de mujeres postmenopáusicas, osteoporóticas y no osteoporóticas. A todas ellas se les realizó una historia clínica protocolizada, DMO de columna y cadera, y el FRAX con y sin DMO. A los 8 años se identificaron las fracturas existentes. Además de realizar una estadística paramétrica y no paramétrica con SPSS 21.1, se realizó un método del árbol de clasificación y regresión (CART) para evaluar las posibles interacciones entre los factores de riesgo de fractura.

Resultados: Se incluyeron 276 pacientes postmenopáusicas cuya edad media al inicio del estudio fue de 61,08±8,43 años y un índice de masa corporal (IMC) de 25,67±4,04. El 56,5% de las pacientes (n=156) fueron diagnosticadas de osteoporosis antes del inicio de nuestro estudio, y todas ellas fueron tratadas. Pasados los 8 años de seguimiento, 72 pacientes (24,6%) sufrieron fractura y 17 (6,2%) también sufrieron una segunda fractura. Los resultados del análisis CART nos mostraron que el principal factor de riesgo para sufrir una fractura osteoporótica tras 8 años de seguimiento fue el haber sufrido fracturas previas. Entre las pacientes que habían sufrido una fractura previa, el tener una DMO del cuello femoral menor de 0,67 fue el principal factor de riesgo.

Conclusiones: La utilización de un procedimiento estadístico binario (CART), en una cohorte de pacientes nos permite identificar a los pacientes con mayor riesgo de fracturas en función de parámetros clínicos y de pruebas complementarias sencillas de realizar y establecer medidas terapéuticas más eficaces.

Palabras clave: osteoporosis, fractura, FRAX, densidad mineral ósea, análisis CART.

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad asociada a una elevada morbilidad y mortalidad cuya incidencia se incrementa con el envejecimiento de la población. Se ha definido como un trastorno esquelético sistémico caracterizado por un deterioro

de la microarquitectura ósea y un descenso de la masa ósea que determina un incremento de la fragilidad con una mayor susceptibilidad a la aparición de fracturas¹. Es una enfermedad clínicamente silente que no se manifiesta hasta que aparecen sus complicaciones, las fracturas.



Correspondencia: José Luis Pérez-Castrillón (uvacastv@gmail.com)

Las principales consecuencias de la osteoporosis son las fracturas por fragilidad que pueden aparecer en diferentes localizaciones, aunque se consideran típicas las vertebrales, la distal de radio y la proximal de fémur^{2,3}. Son fracturas con un elevado coste económico y están asociadas a una mayor morbimortalidad, específicamente la vertebral y la proximal de fémur. La mortalidad por fractura de cadera, la manifestación más grave de la osteoporosis, es del 8% durante el primer mes tras la fractura (mortalidad aguda). Al año, la mortalidad se eleva al 30%⁴. Por otra parte, la recuperación de aquellos pacientes que no fallecen es pobre. Únicamente un 30% de los pacientes que sufren una fractura de cadera vuelven a la situación basal⁵. La fractura vertebral presenta una incidencia superior a la fractura de cadera. Mientras que esta última tiene una incidencia anual de 1,3-1,9 casos/1.000 habitantes/año, la vertebral es de 13,6/1.000 habitantes/año en varones y 29,3/1.000 habitantes/año en mujeres². Aunque su mortalidad es inferior a la fractura de cadera, no es despreciable, especialmente en los pacientes con patología respiratoria asociada^{6,7}. Por ello, los tratamientos irán dirigidos a prevenir su aparición mediante las medidas terapéuticas adecuadas. Para establecer el tratamiento más adecuado es necesario disponer de elementos diagnósticos aislados que ayuden a identificar el riesgo individual de cada paciente mediante pruebas complementarias o mediante la realización de escalas de riesgo.

La densidad mineral ósea (DMO) ha demostrado su capacidad para predecir el riesgo de fractura, así como demostrar la eficacia anti-fractura de los diversos tratamientos⁸. Esto ha podido demostrarse en un meta-análisis, aunque su utilidad en pacientes individuales es menos valorable⁹. Por otra parte, hay un número importante de fracturas cuya DMO está en el rango de la osteopenia¹⁰.

Debido a la dificultad existente en algunos países para realizar densitometrías, se desarrollaron diferentes procedimientos clínicos para determinar el riesgo de fractura y la indicación de densitometría¹¹. Estos procedimientos no han tenido una clara implementación debido al desarrollo adquirido por la herramienta FRAX[®]. Esta escala de riesgo tiene como objetivo determinar el riesgo de fractura en hombres y mujeres entre 40 y 90 años, cuenta con los datos favorable de estar patrocinada por la Organización Mundial de la Salud y disponer de una herramienta informática muy sencilla de aplicar, estando el riesgo ajustado por países¹². Sin embargo, también plantea problemas como la no inclusión de factores de riesgo de fractura importantes como las caídas, la falta de definición de causas secundarias de osteoporosis o la dosificación de corticoides, la infraestimación del riesgo de fractura mayor osteoporótica en algunas poblaciones y la falta de validez en pacientes osteoporóticos tratados. Por otra parte, se ha observado que datos clínicos simples tienen una capacidad de predicción comparable con el FRAX¹⁰.

Por todo ello, el objetivo de este estudio fue valorar la capacidad de predicción de fractura de la aDMO, del FRAX con o sin DMO y de datos clínicos en una población de mujeres osteoporóticas tratadas y no osteoporóticas pero con factores de riesgo de la enfermedad durante un seguimiento de 8 años, aplicándose el método del árbol de clasificación y regresión (CART). Todo ello con el objetivo final de identificar a las pacientes que tengan un mayor riesgo de fractura osteoporótica.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Se realizó un estudio retrospectivo y longitudinal en mujeres postmenopáusicas con sospecha de osteoporosis o con diagnóstico de osteoporosis. Los criterios de inclusión eran: amenorrea de más de 12 meses de evolución y sospecha diagnóstica o diagnóstico de osteoporosis según los criterios clínicos establecidos por *National Osteoporosis Foundation's Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis*¹³. Los criterios de exclusión fueron: la ausencia de factores de riesgo de osteoporosis, no disponer datos de seguimiento y la no firma del consentimiento informado. A todas las mujeres se les realizó una historia clínica protocolizada donde se recogieron datos demográficos, factores relacionados con el estilo de vida y enfermedades previas. Se les midió la talla y el peso calculándose el índice de masa corporal (peso -kg-/altura² -m-). Los datos iniciales se recogieron en 2011. A todas las pacientes se les calculó el FRAX incluyendo la DMO y sin incluirla. Se revisaron las historias clínicas de las pacientes en 2019. Las fracturas clínicas se identificaron a partir de los informes de Traumatología y Urgencias. En caso de duda, se revisaron las radiografías. Se valoraron las radiografías laterales de columna para identificar fracturas incidentales aplicándose los criterios de Genant¹⁴.

Densitometría ósea

Para determinar la DMO se utilizó un densitómetro DXA Prodigy[®] (GE Healthcare, Madison, Wisconsin, EE.UU.) de acuerdo con las recomendaciones provistas por el fabricante. La aDMO se realizó en columna lumbar (L1-L4), cuello femoral y cadera total. La T-score fue evaluada empleando los valores de normalidad de la población española.

Análisis estadístico

Las variables continuas se expresaron como media $\pm$ desviación estándar (DS), mientras que las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas (n) y relativas (%). Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para comparar las variables categóricas. La distribución de las variables se analizó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. En el caso de las variables paramétricas, se aplicó el test de análisis de varianza (ANOVA). Para las variables no paramétricas, se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney (2 grupos) o la prueba de Kruskal-Wallis (más de 2 grupos).

El análisis CART se utilizó para evaluar las posibles interacciones entre los factores de riesgo de fractura asociados estadísticamente con el haber sufrido fractura tras 8 años de seguimiento. El análisis CART es un método de partición binario que produce una estructura gráfica que se asemeja a un árbol de decisión¹⁵. Esto permite la identificación de subgrupos de sujetos con un mayor riesgo de sufrir fractura osteoporótica. El conjunto de pacientes que contiene la muestra completa se clasifica en grupos en función de un factor dependiente (en este caso: pacientes que han sufrido fractura vs. pacientes que no han sufrido fractura). En el procedimiento se examinan todos los posibles factores (o variables) independientes y se selecciona el que esté más estrechamente asociado con respecto a la variable dependiente y se crean dos nuevos grupos (nodos). El proceso de partición se repite en cada nodo y se detiene cuando no hay asociación estadística entre la variable dependiente y las variables independientes, o cuando el tamaño de la muestra del grupo es pequeño. En el análisis CART se aplicó el ajuste de Bonferroni.

Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS versión 22.0 (SPSS, Chicago, Illinois, EE.UU.).

Aspectos éticos

El protocolo se ajustó a la Declaración de Helsinki (2008) de la Asociación Médica Mundial. Fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid, España) y está en cumplimiento a la ley española de protección de datos (LO 15/1999) y sus especificaciones (RD 1720/2007). Todas las pacientes que aceptaron participar en el estudio firmaron un consentimiento.

RESULTADOS

Nuestro trabajo incluyó el estudio y seguimiento de 276 pacientes postmenopáusicas cuya edad media al inicio del estudio fue de $61,08 \pm 8,43$ años. El IMC fue de $25,67 \pm 4,04$. La práctica totalidad de las pacientes era de etnia caucásica ($n=274$, 99,6%), una sola paciente era de etnia sudamericana (0,4%). En referencia a los datos ginecológicos, la edad de la menarquia fue de $13,03 \pm 1,46$ años y la edad de la menopausia fue de $47,99 \pm 5,75$ años. Las pacientes tuvieron una media de $2,07 \pm 1,3$ hijos. El 56,5% de las pacientes ($n=156$) fueron diagnosticadas de osteoporosis antes del inicio de nuestro estudio, y todas ellas fueron tratadas. Pasados los 8 años de seguimiento, 72 pacientes (24,6%) sufrieron fractura y 17 (6,2%) también sufrieron una segunda fractura; 61 pacientes (22,1%) sufrieron una fractura con más de 55 años de edad. Los datos de la población global aparecen recogidos en la tabla 1.

Había 16 (8,6%) pacientes tratadas con tiazidas, 32 (17,1%) con inhibidores del receptor de la serotonina, 1 (0,5%) con inhibidores androgénicos, 8 (4,3%) con beta-bloqueantes, 20 (10,7%) con hormonas tiroideas, 74 (27%) con antirresortivos, 4 (1,5%) con terapia hormonal sustitutiva, 11 (4%) con terapia anabólica, 25 (9%) con corticoides y 10 (3,6%) con ranelato de estroncio. La tabla 2 muestra las características de las pacientes incluidas divididas en dos grupos: pacientes con fracturas en los 8 años de seguimiento y pacientes sin fracturas.

Los resultados del análisis CART nos mostraron que el principal factor de riesgo para sufrir una fractura osteoporótica tras 8 años de seguimiento fue el haber sufrido fracturas previas. Entre las pacientes que habían sufrido una fractura previa, el tener una DMO del cuello femoral menor de 0,67 fue el principal factor de riesgo. Entre las pacientes que no habían sufrido fracturas previas, los principales factores de riesgo fueron el IMC y el tener un FRAX sin DMO (fractura mayor osteoporótica) mayor de 9,30 (Figura 1). En la figura 2 se muestran los resultados del análisis CART en las pacientes diagnosticadas de osteoporosis; los principales factores de riesgo para sufrir una fractura tras 8 años de seguimiento fueron el haber sufrido fracturas previas y el tener una DMO del cuello femoral menor de 0,663; entre las pacientes que no habían sufrido fracturas previas, el principal factor de riesgo fue el tener más de 67 años (Figura 2). Finalmente, los resultados del análisis CART en las pacientes no diagnosticadas de osteoporosis mostraron que los principales factores de riesgo para sufrir una fractura osteoporótica fueron tener más de 55 años y haber sufrido patologías previas no óseas, comorbilidad asociada (Figura 3).

Tabla 1. Características generales de la población incluida

Edad (años)	61,08 $\pm$ 8,43
Edad de la menarquia (años)	13,03 $\pm$ 1,46
Edad de la menopausia (años)	47,99 $\pm$ 5,75
Número de hijos	2,07 $\pm$ 1,20
IMC (kg/m ²)	25,67 $\pm$ 4,04
FRAX sin DMO (fractura mayor osteoporótica)	2,17 $\pm$ 3,83
FRAX sin DMO (fractura de cadera)	2,17 $\pm$ 3,83
FRAX con DMO (fractura mayor osteoporótica)	12,49 $\pm$ 9,11
FRAX con DMO (fractura de cadera)	3,15 $\pm$ 4,04
FRAX con DMO (fractura de cadera), riesgo alto	71 (27,6%)
Antecedentes familiares de fractura	42 (15,2%)
Antecedentes familiares de osteoporosis	104 (37,8%)
Tabaco	88 (30,0%)
Alcohol	3 (1,1%)
Fracturas previas	87 (37,8%)
Antecedentes patológicos (no óseos)	62 (19,7%)
DMO lumbar, g/cm ²	0,860 $\pm$ 0,130
DMO cuello femoral, g/cm ²	0,834 $\pm$ 0,138
DMO cadera total, g/cm ²	0,860 $\pm$ 0,130
Osteoporosis	156 (56,2%)

IMC: índice de masa corporal; DMO: densidad mineral ósea. Datos expresados como medias $\pm$ desviación estándar y número absoluto (porcentaje).

Tabla 2. Características clínicas de las pacientes incluidas en el estudio, comparando las que sufrieron una fractura por fragilidad y las que no sufrieron fracturas

	Fractura tras 8 años de seguimiento		Valor de p
	No (n = 215)	Sí (n = 61)	
Edad (años)	57,74 ± 7,40	60,96 ± 5,69	0,039
Edad de la menarquía (años)	12,91 ± 1,52	13,03 ± 1,50	0,711
Edad de la menopausia (años)	48,45 ± 5,50	49,26 ± 5,04	0,501
Número de hijos	2,05 ± 1,23	1,96 ± 1,19	0,736
IMC (kg/m ²)	25,30 ± 4,29	27,21 ± 4,08	0,043
FRAX sin DMO (fractura mayor osteoporótica)	3,98 ± 3,06	5,01 ± 3,52	0,14
FRAX sin DMO (fractura de cadera)	1,05 ± 1,45	1,32 ± 1,79	0,414
FRAX sin DMO (fractura de cadera), riesgo alto	4 (4,3%)	2 (7,4%)	0,514
Antecedentes familiares de fractura	11 (11,8%)	4 (14,8%)	0,68
Antecedentes familiares de osteoporosis	33 (35,9%)	8 (29,6%)	0,549
Tabaco	37 (39,8%)	11 (40,7%)	0,929
Alcohol	1 (1,1%)	1 (3,7%)	0,348
Fracturas previas	17 (18,3%)	9 (33,3%)	0,095
Antecedentes patológicos (no óseos)	29 (31,2%)	4 (14,8%)	0,094
DMO lumbar, g/cm ²	1,04 ± 0,14	1,02 ± 0,19	0,526
DMO cuello femoral, g/cm ²	0,87 ± 0,15	0,86 ± 0,10	0,735
DMO cadera total, g/cm ²	0,90 ± 0,13	0,91 ± 0,10	0,697

IMC: índice de masa corporal; DMO: densidad mineral ósea. Datos expresados como medias ± desviación estándar y número absoluto (porcentaje).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio, los datos que permiten diferenciar a los pacientes que han sufrido una fractura osteoporótica en el seguimiento son la existencia de una fractura previa, la edad y el FRAX calculado con o sin DMO. Este último dato pierde parte de su valor en el análisis CART, por lo que, probablemente, en nuestra serie es un marcador de severidad de la enfermedad más que un predictor. En el análisis CART, que tiene en cuenta los factores que pueden influir en la aparición posterior de fracturas, observamos que, para el total de la población, el elemento clave es la existencia de fractura por fragilidad previa complementada con una DMO en cuello femoral inferior a 0,67. Mientras que en ausencia de fracturas un IMC de 28 o inferior y un FRAX para fractura mayor osteoporótica por encima de 9,3 serían los elementos determinantes. En pacientes diagnosticadas de osteoporosis, con tratamiento activo, los datos son similares a los descritos para la población general salvo que, en aquellos casos sin fractura previa, la edad por encima de los 67 años es el dato distintivo sin jugar ningún papel el FRAX. Esto es lógico teniendo en cuenta que el FRAX no tiene utilidad en los pacientes osteoporóticos tratados. En las pacientes sin osteoporosis, el factor que determina la aparición de fracturas es la edad por encima de los 55 años y la patología asociada no ósea, la comorbilidad.

La fractura previa constituye el primer determinante en la aparición de fractura posterior, radicando en este hecho la importancia de la prevención secundaria^{16,17}. Hay que tener en cuenta que un elevado porcentaje de hombres y mujeres con alto riesgo, determinado por fractura

previa, no son diagnosticados ni tratados¹⁸. Esto sucede para cualquier localización de fractura por fragilidad, siendo especialmente significativo para la fractura vertebral y la de cadera. En la primera, además de la existencia de fractura, la severidad de la misma según la clasificación de Genant y el número incrementan el riesgo¹⁹. La fractura de cadera es la complicación más grave de la osteoporosis, no solamente por su capacidad para predecir el riesgo posterior, sino por su elevada morbilidad. Además, en este caso, la DMO es un predictor fuerte y consistente de fractura posterior²⁰. Nuevos estudios realizados en la práctica clínica real para valorar la eficacia de los distintos tratamientos han mostrado que el incremento de la DMO es un factor determinante en su eficacia para reducción de fracturas²¹. En nuestro estudio la existencia de una DMO en cuello femoral por debajo de 0,660 fue un fuerte predictor concordante con estos datos. Otro factor importante en la aparición de nuevas fracturas es el temporal. De aquí ha surgido el concepto de riesgo inminente de fractura, que es mayor en los primeros dos años tras la fractura^{22,23}. En un estudio realizado en una cohorte que incluyó 377.561 mujeres mayores se observó que el mayor riesgo de fractura se producía en los 5 años siguientes, siendo especialmente frecuente en los dos primeros. Estos autores encontraron que los factores determinantes eran la edad, el lugar de la fractura y la patología ósea asociada²⁴. En nuestro estudio no se ha determinado este riesgo inminente ni la localización de las fracturas posteriores. Sin embargo, en las pacientes no diagnosticadas de osteoporosis, la edad y la patología asociada estuvieron presentes coincidiendo con los datos de esta amplia serie.

Figura 1. Análisis CART (Classification and regression tree) para estudiar los principales factores de riesgo asociados al riesgo de sufrir fractura osteoporótica en el total de las pacientes incluidas en nuestro estudio

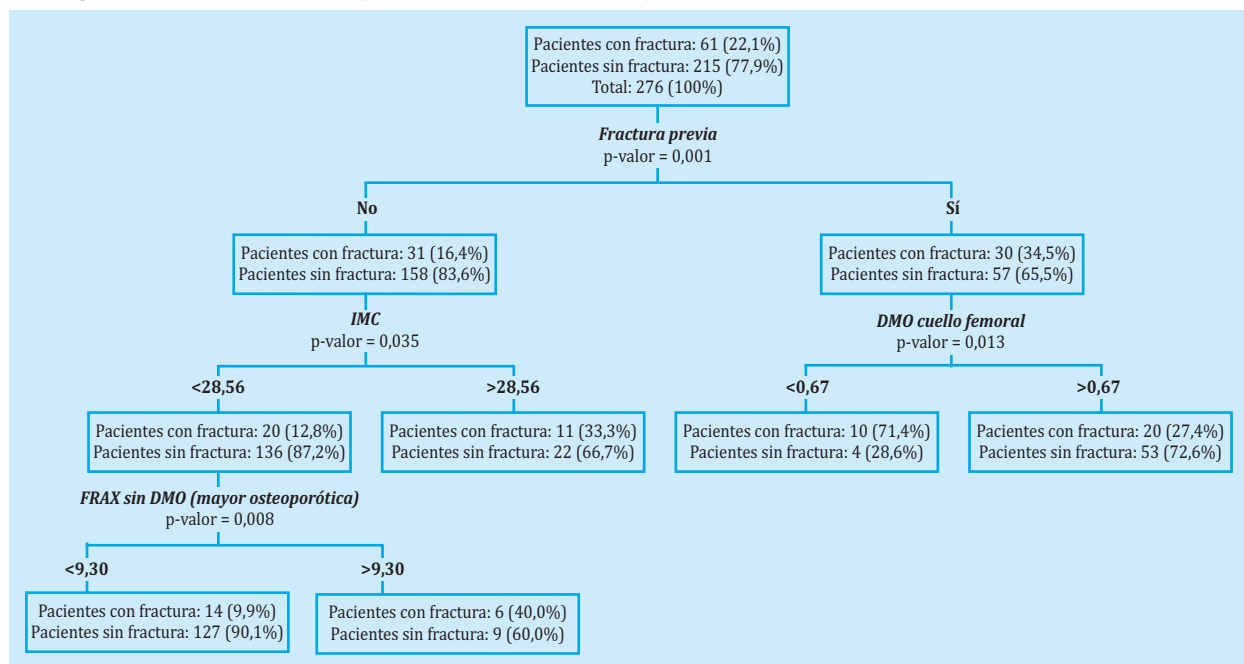


Figura 2. Análisis CART (Classification and regression tree) para estudiar los principales factores de riesgo asociados al riesgo de sufrir fractura osteoporótica en las pacientes diagnosticadas de osteoporosis

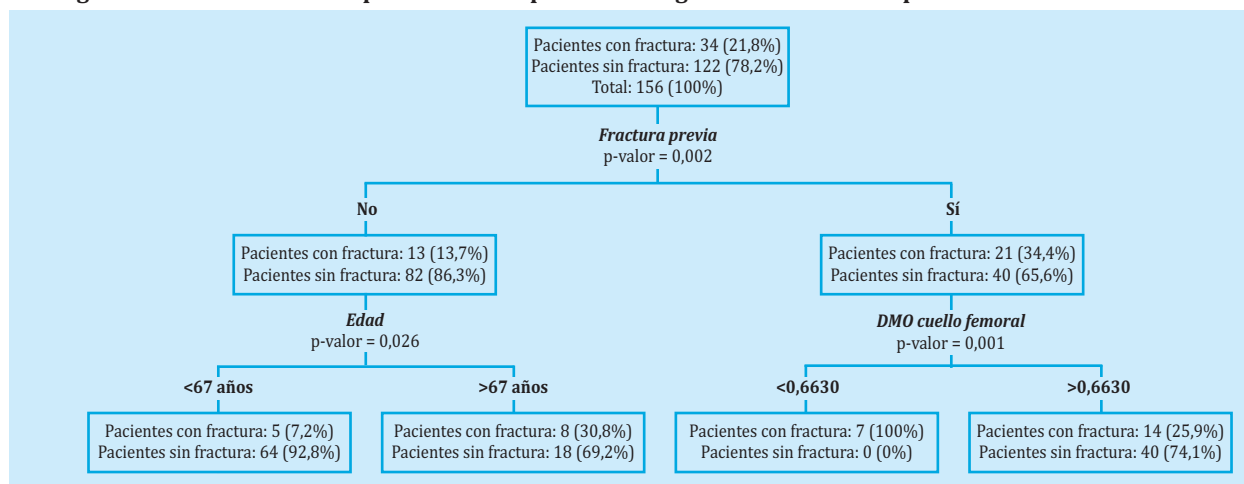
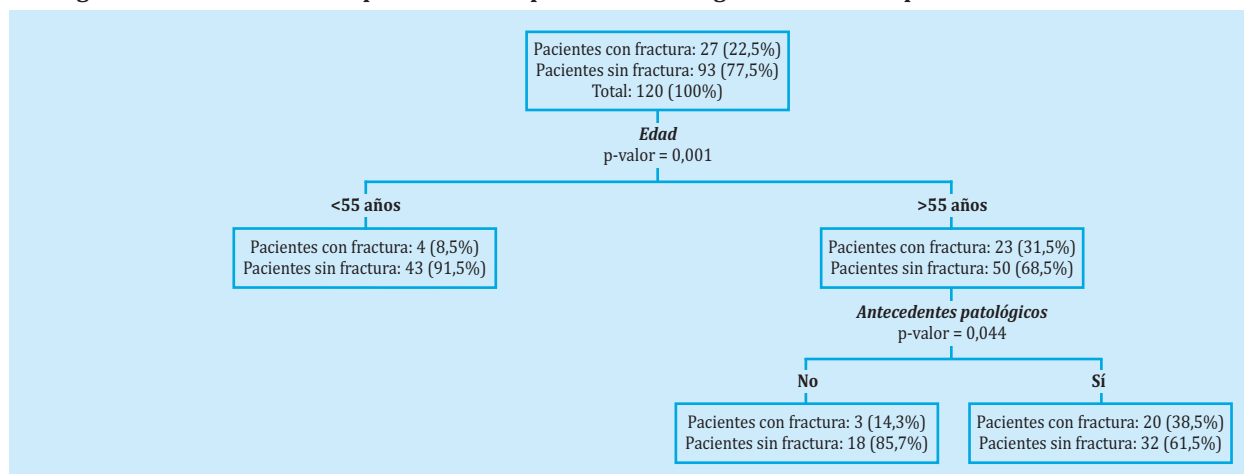


Figura 3. Análisis CART (Classification and regression tree) para estudiar los principales factores de riesgo asociados al riesgo de sufrir fractura osteoporótica en las pacientes sin diagnóstico de osteoporosis



La edad fue otro factor de riesgo importante en nuestro análisis CART, especialmente en pacientes sin osteoporosis previa y en pacientes con osteoporosis pero sin fractura previa. Se han publicado numerosos estudios que han confirmado este dato. Ensrud *et al.*²⁵, en una cohorte con 6.652 mujeres y con un seguimiento de 10 años, concluyeron que los modelos basados en la edad y DMO o edad y fracturas predecían el riesgo de forma similar al FRAX. Datos similares fueron obtenidos por Bolland *et al.*²⁶ al comparar dos escalas, FRAX y Garvan, con edad y DMO. En el estudio Glow, con 19.586 mujeres de más de 60 años, se observó que un modelo basado en la edad y fractura previa era superior al FRAX y Q-Fracture sin DMO²⁷.

Otro hecho relevante de nuestro estudio es el pequeño papel del FRAX en nuestro análisis CART. Se observa que el FRAX, tanto con DMO como sin DMO, diferencia las pacientes que se fracturan y no fracturan, pero al realizar un análisis estadístico basado en algoritmos desaparece su valor. Únicamente al analizar el total de la población, en pacientes sin fractura, un FRAX para fractura mayor osteoporótica sin DMO, superior a 9,3, tiene un papel. Este valor de FRAX coincide con los umbrales de FRAX establecidos por Azagra *et al.*²⁸ en su análisis de la cohorte Fridex. Estos autores dividieron a los pacientes en tres grupos considerando de alto riesgo los que presentaban un FRAX superior a 10. Esto puede deberse a varios hechos. En la población española el FRAX infra-estima el riesgo de fractura mayor osteoporótica. Varias cohortes han intentado validarlo analizando las diferencias entre fracturas predichas y observadas²⁹⁻³¹. Los resultados pueden considerarse aceptables en la predicción del riesgo de fractura de cadera, pero no para el de fractura mayor osteoporótica, probablemente por la ausencia de datos epidemiológicos robustos para este tipo de fracturas. La comparación del FRAX con otras pruebas más sencillas, incluyendo entre ellas únicamente la edad, no ha mostrado una mayor capacidad de predicción³². Otro hecho de nuestro

estudio es que las pacientes osteoporóticas estaban recibiendo tratamiento activo, y en estas pacientes no está validado.

Otro dato destacable en las pacientes no osteoporóticas es la importancia de los antecedentes patológicos no óseos, la comorbilidad en la aparición de fracturas. Desafortunadamente, no existe un índice único validado para evaluar la fragilidad en la práctica clínica³³. Algunos índices utilizados se han asociado con un mayor riesgo de fracturas³⁴ y caídas³⁵. La cohorte Glow y la cohorte CaMos utilizaron diferentes índices para evaluar la relación entre la fragilidad y las fracturas, pero ambas incluyen muchos de los parámetros evaluados en nuestro estudio. Las variables del índice de fracturas por fragilidad Glow incluyeron 15 ítems sobre comorbilidad, 12 sobre actividades básicas de la vida diaria (similar al índice de Barthel), 6 ítems sobre signos y síntomas (plenitud de vida, energía, agotamiento, cansancio, dolor/malestar autoevaluado, no intencional, pérdida de peso). El índice de fragilidad utilizado en la cohorte CaMos incluyó 30 ítems, 13 referidos a patología, 5 a aspectos funcionales (visión, audición, marcha, destreza manual/uso de herramientas y cognición) y 12 a salud general y actividades diarias. Sin embargo, el índice de Charlson no se asoció con el riesgo de fractura, aunque en algunos estudios, como el registro SIDIAP, que incluyó a 186.171 hombres, se encontró que un índice de Charlson ≥ 3 se asoció con un mayor riesgo de fractura de cadera³⁶. El dato más novedoso de este estudio es el empleo de la metodología estadística CART para establecer el riesgo de fractura posterior en una población heterogénea que incluyó pacientes osteoporóticos con tratamiento activo y no osteoporóticos.

En conclusión, la utilización de un procedimiento estadístico binario (CART), en una cohorte de pacientes nos permite identificar a los pacientes con mayor riesgo de fracturas en función de parámetros clínicos y de pruebas complementarias sencillas de realizar y establecer medidas terapéuticas más eficaces.



Conflicto de intereses: Lo autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

1. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. Prevention, diagnosis and therapy. *JAMA*. 2001;285:785-95.
2. Felsenberg D, Silman AJ, Lunt M, Armbrrecht G, Ismail AA, Fin HD, et al. Incidence of vertebral fracture in Europe: results from European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res*. 2002;17:716-24.
3. Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2005;16(Suppl 1):S3-7.
4. Abrahamsen B, Van Staa T, Ariely R, Olson M, Cooper C. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiologic review. *Osteoporos Int*. 2009;20:1633-50.
5. Dyer SM, Crotty M, Fairhall N, Magaziner J, Beaupre LA, Cameron ID, et al. A critical review of the long-term disability outcomes following hip fracture. *BMC Geriatrics*. 2016;11:158.
6. Center JR, Nguyen TV, Schneider N, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality alter all major types of osteoporosis fracture in men and women: an observational study. *Lancet*. 1999;353:878-82.
7. Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, Scott JC, Black D. Risk of mortality following clinical fractures. *Osteoporos Int*. 2000;11:556-61.
8. Black DM, Rosen CJ. Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med*. 2016;374:254-62.
9. Lyu H, Jundi B, Xu C, Tedeschi SK, Yoshida K, Zhao S, Nigwekar SU, et al. Comparison of denosumab and bisphosphonates in patients with osteoporosis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104:1753-65.
10. Siris ES, Brennan SK, Barret-Connor E, Miller PD, Sajjan S, Berger ML, et al. The effect of age and bone mineral density on the absolute, excess and relative risk of fracture in postmenopausal women aged 50-99: results from the National Osteoporosis Risk Assessment (NORA). *Osteoporos Int*. 2006;17:565-74.
11. Perez-Castrillón JL, Sagredo MG, Conde R, Del Pino-Montes J, De Luis D. OST risk index and calcaneus bone densitometry in osteoporosis diagnosis. *J Clin Densitom*. 2007;10:404-7.
12. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, McCloskey EV. A brief history of FRAX. *Arch Osteoporos*. 2018;13:118.
13. Cosman F, de Beu SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. National Osteoporosis Foundation clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2014;25:2359-81.
14. Genant HK, Li J, Wu CY, Shepherd JA. Vertebral fractures in osteoporosis: a new method for clinical assessment. *J Clin Densitom*. 2000;3:281-90.
15. Breiman L, Friedman J, Olshen R, Stone C. Classification and Regression Trees. 1st ed. Wadsworth International Group, Belmont, California; 1984.
16. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA, Berger M. Patients with prior fracture have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistically synthesis. *J Bone Miner Res*. 2000;15 721-9.
17. Pinedo-Villanueva R, Charokopou M, Toth E, Donnelly K, Cooper C, Prieto-Alhambra D, et al. Imminent fracture risk assessments in the UK FLS setting: implications and challenges. *Arch Osteoporos*. 2019;14:12.
18. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Osteoporosis is markedly underdiagnosed: a nationwide study from Denmark. *Osteoporos Int*. 2005;16:134-41.
19. Johnell O, Kanis JA, Oden A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Pettersson C, et al. Fracture risk following an osteoporotic fracture. *Osteoporos Int*. 2004;15:175-9.
20. Black DM, Cauley JA, Wagman R, Ensrud K, Fink HA, Hillier TA. The ability of a single BMD and fracture history assessment to predict fracture over 25 years in postmenopausal women: The Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res*. 2018;33:389-95.
21. Abrahamsen A, Ernst MT, Smith CD, Nybo M, Rubin KH, Prieto-Alhambra D, et al. The association between renal function and BMD response to bisphosphonates treatment: Real-world cohort study using linked national registers. *Bone*. 2020;137:115371.
22. Johansson H, Siggeirsdottir K, Harvey NC, Oden A, Gudnason V, McCloskey E, et al. Imminent risk of fracture after fracture. *Osteoporos Int*. 2017;28:775-80.
23. Schnell A, Curtis JR, Saag KG. Importance of recent fracture as predictor of imminent fracture risk. *Curr Osteoporos Rep*. 2018;16:738-45.
24. Balasubramanian A, Zhang J, Chen L, Wenkert D, Daigle SG, Grauer A, et al. Risk of subsequent fracture after prior fracture among older women. *Osteoporos Int*. 2019;30:79-92.
25. Ensrud KE, Lui LY, Taylor BC, Schousboe JT, Donaldson MG, Fink HA, et al. A comparison of prediction models for fractures in older women: is more better? *Arch Intern Med*. 2009;169:2087-94.
26. Bolland MJ, Siu AT, Mason BH, Horne AM, Ames RW, Grey AB, et al. Evaluation of the FRAX and Garvan fracture risk calculators in older women. *J Bone Miner Res*. 2011;26:420-7.
27. Sambrook PN, Flahive J, Hooven FH, Boonen S, Chapurlat R, Lindsay R, et al. Predicting fractures in an international cohort using risk factor algorithms without BMD. *J Bone Miner Res*. 2011;26:2770-7.
28. Azagra R, Roca G, Martín-Sánchez JC, Casado E, Encabo G, Zwart M, et al. Umbrales de FRAX para identificar personas con alto o bajo riesgo de fractura osteoporótica en población femenina española. *Med Clin (Barc)*. 2015;144:1-8.
29. Tebe C, Del Rio LM, Di Gregorio S, Casas L, Estrada MD, Kotzeva A, et al. Validation of the FRAX predictive model for major osteoporotic fracture in a historical cohort of Spanish women. *J Clin Densitom*. 2013;16:231-7.
30. Gonzalez-Macías J, Marín F, Vila J, Díez-Pérez A. Probability of fractures predicted by FRAX and observed incidence in the Spanish ECOSAP Study cohort. *Bone*. 2012;50:373-7.
31. Azagra R, Roca G, Encabo G, Aguye A, Zwart M, Guell S, et al. FRAX tool, the WHO algorithm to predict osteoporotic fractures: the first analysis of its discriminative and predictive ability in the Spanish FRIDEX cohort. *BMC Musculoskelet Disord*. 2012;13:204.
32. Rubin KH, Abrahamsen B, Friis-Holmberg T, Hjelmborg JV, Bech M, Hermann AP, et al. Comparison of different screening tools (FRAX, OST, ORAI, OSIRIS, SCORE and age alone) to identify women with increased risk of fracture. A population-based prospective study. *Bone*. 2013;56:16-22.
33. De Vries N, Staal J, Van Ravensberg C, Hobbelen J, Olde Rikkert M, Nijhuis-Van der Sanden M. Outcome instruments to measure frailty: a systematic review. *Ageing Res Rev*. 2011;10:104-14.
34. Li G, Ioannidis G, Pickard L, Kennedy C, Papaioannou A, Thabane L, et al. Frailty index of deficit accumulation and falls: data from the Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women (GLOW) Hamilton cohort. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:185.
35. Kennedy C, Ioannidis G, Rockwood K, Thabane L, Adachi J, Kirkland S, et al. Frailty index predicts 10-year fracture risk in adults age 25 years and older: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CAMOS). *Osteoporos Int*. 2014;25:2825-32.
36. Reyes C, Estrada P, Nogues X, Orozco P, Cooper C, Diaz-Perez A, et al. The impact of common co-morbidities (as measured using the Charlson index) on hip fracture in elderly men: a population-based cohort. *Osteoporos Int*. 2014;25:1751-8.

Evaluación de la densidad mineral ósea y de los parámetros de 3D-Shaper en la hipofosfatasa congénita del adulto

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400004>

Tornero C¹, Coronado M², Humbert L³, Navarro-Compán V¹, García Carazo S¹, Lancha Hernández C², Balsa A¹, Aguado Acín P¹

¹ Departamento de Reumatología. Hospital La Paz. Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). Madrid (España)

² Departamento de Medicina Nuclear. Hospital La Paz. Madrid (España)

³ Galgo Medical. Barcelona (España)

Fecha de recepción: 12/11/2020 - Fecha de aceptación: 21/01/2021

Trabajo premiado por una beca para asistir al 41º Congreso de la ASBMR (Orlando, 2019)

Resumen

Objetivo: Evaluar la densidad mineral ósea (DMO) y parámetros de 3D-Shaper a nivel de fémur proximal (FP) en adultos con hipofosfatasa (HPP) confirmada genéticamente y compararlos en aquellos sujetos con y sin fracturas.

Material y métodos: Análisis transversal de datos densitométricos y de arquitectura ósea de la visita basal de un estudio longitudinal en el que se incluyeron pacientes con HPP. Se realizó un estudio densitométrico (Lunar Prodigy, GE iDXA) en FP y se empleó el software 3D-Shaper (version 2.7. Galgo Medical).

Resultados: Se incluyeron 33 adultos con HPP con mutaciones en heterocigosis. Un 63,6% (21/33) fueron mujeres (42,9% postmenopáusicas), y 8 de los varones (66,6%) fueron mayores de 50 años. La media de edad fue 50,56±15,08 años, el 30,3% (10/33) tuvieron fracturas previas traumáticas, y un 15,2% (5/33), de estrés. La prevalencia de osteoporosis en CF fue del 11,8% (2/17) y de osteopenia, 82,4% (14/17). En premenopáusicas y varones jóvenes se detectó baja masa ósea para la edad en un 12,5% (2/16). Al comparar sujetos con fracturas de estrés y sin ellas, así como con traumáticas, no hubo diferencias en DMO. El 3D-Shaper mostró disminución del grosor cortical (mm) en pacientes con fracturas de estrés [1,8 (1,77-1,89)] frente a sujetos sin ellas [1,94 (1,87-2,03, p=0,03)] y en comparación con los que tuvieron fracturas traumáticas [1,97 (1,88-2,04), p=0,03].

Conclusiones: Estos datos reflejan una discreta repercusión densitométrica en formas más leves del adulto. Estudios de arquitectura ósea pudieran resultar de interés para determinar pacientes susceptibles de presentar fracturas de estrés.

Palabras clave: osteoporosis, hipofosfatasa, densitometría ósea, 3D-DXA.

INTRODUCCIÓN

La hipofosfatasa (HPP) es una enfermedad metabólica rara caracterizada por una baja actividad enzimática de la fosfatasa alcalina no específica de tejido (FANET), que provoca un acúmulo de sus sustratos naturales: pirofosfato inorgánico (PPI), piridoxal-5'-fosfato (PLP) y fosfoetanolamina (PEA)¹. El PPI, actúa como potente inhibidor de la formación de los cristales de hidroxipatita y sus niveles extracelulares elevados pueden inducir alteraciones esqueléticas, como la disminución de la mineralización ósea^{2,3}. En general, las formas más severas se asocian con síntomas y diagnóstico más tempranos, incluso perinatales, mientras que las formas más leves a menudo se presentan más tarde en la infancia o en la edad adulta⁴. La importancia de un diagnóstico precoz reside en la potencial gravedad de la enfermedad y la alteración de la calidad de vida, así como en la posible iatrogenia derivada de un diagnóstico y tratamiento erróneos⁵. Estudios previos han analizado la sintomatología que ca-

racteriza a la HPP del adulto, que habitualmente muestra un rango amplio de manifestaciones clínicas, a veces inespecíficas, como son la presencia de dolor musculoesquelético, debilidad, patología dental o pérdida precoz de piezas dentales, y la presencia de fracturas recurrentes por estrés y pseudofracturas^{6,7}. En una cohorte de edad pediátrica, el análisis de la densidad mineral ósea (DMO) en estos pacientes ha detectado valores bajos en los casos más graves⁸. Sin embargo, la escasa evidencia disponible en adultos con HPP, ha mostrado una DMO normal o discretamente disminuida^{7,9-12}, de lo que se deduce que la densitometría ósea pudiera no predecir adecuadamente el riesgo de fractura⁷. Por ello, el objetivo de este estudio consiste en evaluar la DMO en fémur proximal (FP) y realizar un análisis volumétrico del hueso cortical y trabecular de dicha región, así como el grosor cortical mediante 3D-Shaper en sujetos con HPP, y comparar dichos parámetros entre los sujetos con y sin antecedentes de fracturas.



Correspondencia: Carolina Tornero Marín (carolina.tornero@salud.madrid.org)

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio y diseño

En primer lugar, se realizó una búsqueda en la base de datos bioquímica de nuestro hospital terciario y ambulatorios asociados en la que se localizaron 383.353 pacientes con determinaciones de fosfatasa alcalina (FA), de los cuales 231.805 fueron adultos con al menos dos mediciones. De ellos, 427 mostraron hipofosfatemia persistente (≥ 2 determinaciones menores o iguales a 35 UI/L y ninguna superior a 45 UI/L; rango normalidad: 46-116 UI/L). Posteriormente, se revisaron sus historias clínicas, y se excluyó a 31 sujetos por causas secundarias subyacentes de hipofosfatemia¹³ y a 13 ante la imposibilidad de contacto telefónico. Un total de 383 sujetos cumplieron los criterios de selección y fueron contactados, de los cuales 85 firmaron el consentimiento informado para la realización de un test genético para detectar variantes en el gen ALPL. Se detectó a 39 (46%) pacientes con mutaciones patogénicas o probablemente patogénicas y se les ofreció realizar seguimiento en nuestras consultas.

En este trabajo se presenta el análisis transversal de los datos basales densitométricos y de arquitectura ósea de 33 adultos incluidos posteriormente en un estudio longitudinal observacional prospectivo realizado en el Hospital La Paz (Madrid). Los detalles relacionados con el proceso de reclutamiento se han reportado en una publicación previa de nuestro grupo¹⁴. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético y de Investigación del Hospital La Paz. Se ha obtenido el consentimiento informado de los pacientes.

MÉTODOS

Se recogieron mediante cuestionario protocolizado y se analizaron factores de riesgo de osteoporosis, incluyendo hábito tabáquico, ingesta enólica (≥ 30 g/día), exposición solar (≥ 10 minutos/día), práctica de ejercicio, ingesta dietética de calcio por lácteos (1 ración = 1 vaso de leche = 2 yogures = 1 porción de queso (40-50 mg) = 200 mg/calcio), antecedentes personales de fractura y su etiología, así como antecedentes familiares de fractura de cadera.

Se realizó un estudio densitométrico (Lunar Prodigy, General Electric Medical Systems iDXA) en cada uno de los sujetos para el análisis de la DMO en FP (cuello, trocánter, cadera total y diáfisis femoral). Se ha definido la presencia de osteoporosis de acuerdo con los criterios de la OMS¹⁵. Por otro lado, se ha empleado el software 3D-Shaper (versión 2.7, Galgo Medical) para evaluar la densidad volumétrica del hueso cortical y trabecular del FP. El software utiliza un modelo estadístico 3D del FP y lo ajusta sobre la imagen densitométrica, para conseguir un modelo personalizado en 3D de la forma y la distribución de la DMO del hueso. Las medidas proporcionadas por el software incluyen la densidad mineral ósea volumétrica (DMOv) de los compartimentos cortical, trabecular e integral, la densidad mineral ósea superficial (DMOs) cortical y el grosor cortical. Información adicional sobre la metodología implementada en el software y su validación se puede encontrar en trabajos previos¹⁶.

Análisis estadístico

Para la descripción de la muestra, se ha calculado la media y desviación estándar (DE) o mediana y rango intercuartil (RIQ) para las variables cuantitativas, así como el número absoluto y los porcentajes relativos para las variables cualitativas en cada grupo. Las comparaciones entre grupos se han realizado mediante el test estadístico U-Mann-Whitney. Todos los análisis se han realizado utilizando el paquete estadístico SPSS versión 23.0 para Windows.

RESULTADOS

Datos demográficos, clínicos, densitométricos y de 3D-Shaper de sujetos con HPP

Se incluyeron 33 adultos con HPP de los cuales todos presentaron variantes patogénicas o probablemente patogénicas en heterocigosis. Un 63,6% de los pacientes (21/33) fueron mujeres (42,9% postmenopáusicas), y 8/12 de los varones fueron mayores de 50 años (66,6%). La media de edad fue de $50,56 \pm 15,08$ años; del IMC, $26,31 \pm 4,39$ kg/m², y la media de la fosfatasa alcalina, $25,2 \pm 6,53$ UI/L. Un 12,1% (4/33) presentaron historia familiar de fractura de cadera. El número total de fracturas fue de 16: el 30,3% (10/33) presentaron antecedentes personales de fracturas de etiología traumática (3 en metatarsianos, 4 en huesos de la mano, 2 en el codo y una en clavícula) y el 15,2% (5/33), fracturas previas de estrés (tres pacientes en un metatarsiano, una paciente en dos metatarsianos y otra paciente, fractura atípica en diáfisis femoral que cumple criterios de la *American Society for Bone and Mineral Research* (ASBMR)¹⁷, sin exposición previa a difosfonatos. Ningún paciente presentó fracturas por fragilidad. Las características demográficas y el resto de factores de riesgo de osteoporosis se describen en la tabla 1. La prevalencia de osteoporosis en cuello femoral fue del 11,8% (2/17), y se detectó osteopenia en un 82,4% (14/17) de pacientes. En mujeres premenopáusicas y varones menores de 50 años, se observó baja masa ósea para el rango etario en 12,5% (2/16) de pacientes. El resto no mostraron alteraciones en el estudio densitométrico de cuello femoral (CF). La media de DMO en cuello femoral de los pacientes con osteoporosis fue de $0,73 \pm 0,01$ y del T-score de $-2,65 \pm 0,7$. En los pacientes con osteopenia, la media de DMO en dicha región fue de $0,86 \pm 0,05$ g/cm² y de T-score, $-1,3 \pm 0,43$. En los sujetos con baja masa ósea para su rango etario, la media de DMO fue de $0,67 \pm 0,07$ g/cm² y de Z-score, de $-2,4 \pm 0,6$.

En relación con las fracturas de estrés, dos pacientes en postmenopausia cursaron con sendas fracturas de diáfisis femoral y de metatarso, y ambas presentaron densitometría ósea en rango de osteopenia, mientras que las tres pacientes premenopáusicas con fracturas de metatarsianos tuvieron una densitometría normal. Entre los pacientes con fractura traumática, cinco fueron varones (cuatro con edad > 50 años). Uno de ellos sufrió una fractura de codo traumática y presentó osteoporosis en CF, mientras que los otros tres cursaron con sendas fracturas en metatarsiano, codo y escafoides, y presentaron osteopenia. El paciente menor de 50 años tuvo una fractura traumática en un metacarpiano y densitometría ósea normal.

La mediana de DMO a nivel de CF fue de $0,876$ ($0,83-0,92$) g/cm²; a nivel de la diáfisis femoral, de $1,123$ ($1,03-1,21$) g/cm²; en región trocánterea de $0,759$ ($0,693-0,82$) g/cm², y de $0,931$ ($0,89-1$) g/cm² en cadera total. El valor de Z-score a nivel de CF fue de $-0,29$ ($-1,13-0,25$) y en cadera total, de $-0,06$ ($-0,79-0,39$). En el análisis 3D-Shaper, se objetivó una DMOv cortical total de $813,45$ ($759,12-862,26$) mg/cm³, DMOv trabecular de $155,77$ ($136,73-180,08$) mg/cm³, una DMOs cortical total de $157,55$ ($144,8-166,94$) mg/cm² y una DMOv integral total de $309,29$ ($280,3-324,62$) mg/cm³. El grosor cortical (mm) fue de $1,89$ ($1,85-2,01$). La tabla 2 incluye los datos densitométricos y parámetros de 3D-Shaper de los pacientes con HPP.

Datos demográficos, clínicos, densitométricos y de 3D-Shaper de sujetos con HPP con fractura versus sin fractura

En primer lugar, se realizó la comparación de datos demográficos, clínicos, densitométricos y de 3D-Shaper de los cinco sujetos con HPP que presentaron fracturas de estrés frente a los 28 que no las mostraron. Los pacientes con fracturas de estrés fueron mujeres, un 40% postmenopáusicas, con una media de edad de $46,35 \pm 10,1$ años, mientras que en el grupo de pacientes sin ellas, un 57,14% fueron mujeres (25% postmenopáusicas) con una media de edad de $51,31 \pm 15,82$ años ($p=0,48$). Se observaron diferencias en la prevalencia de mujeres, mayor en el primer grupo ($p=0,07$) y en el IMC, inferior en las pacientes con fracturas de estrés ($23,5 \pm 2,44$ kg/cm²) frente al otro grupo ($26,81 \pm 4,5$ kg/cm²; $p=0,07$). No hubo diferencias en el resto de factores de riesgo de osteoporosis. Si bien no se observaron diferencias en parámetros de DMO en FP, en el análisis mediante 3D-Shaper se evidenció una diferencia estadísticamente significativa en el grosor cortical (mm), que fue menor en aquellos pacientes con fracturas de estrés [$1,8$ ($1,77-1,89$)] frente a los no fracturados [$1,94$ ($1,87-2,03$); $p=0,03$].

En segundo lugar, se comparó a los 9 pacientes con antecedente de fractura traumática frente a los 19 sin antecedente fracturario, y no se objetivaron diferencias densitométricas ni en parámetros de 3D-Shaper ($p>0,05$). En tercer lugar, en la comparación entre sujetos con fracturas de estrés y los que presentaron fracturas de etiología traumática, se observó una disminución del grosor cortical (mm), inferior en los pacientes del primer grupo [$1,8$ ($1,77-1,89$)] frente al segundo [$1,97$ ($1,88-2,03$), $p=0,03$]. No se observaron diferencias en el resto de parámetros densitométricos ni de DXA-3D.

Desde el punto de vista bioquímico, no hubo diferencias significativas en los niveles de fosfatasa alcalina, PTH y vitamina D entre grupos ($p>0,05$). La tabla 3 muestra la comparativa intergrupar de los datos demográficos, clínicos, densitométricos y de 3D-Shaper, y la figura 1, los niveles de FA estratificados por grupos.

Tabla 1. Características demográficas y factores de riesgo de osteoporosis de los pacientes con HPP

Características	TG+ (N=33)
Edad (años), mediana (RIQ)	51,01 (37,96-63,02)
Edad (años), media $\pm$ DE	50,56 $\pm$ 15,08
Sexo femenino, n (%)	21 (63,6%)
Mujeres postmenopáusicas, n (%)	9 (42,9%)
Varones >50 años, n (%)	8 (66,6%)
IMC (kg/m ²), mediana (RIQ)	25,91 (22,89-29,25)
IMC (kg/m ²), media $\pm$ DE	26,31 $\pm$ 4,39
Raza caucásica, n (%)	33 (100%)
Ingesta de calcio (g), mediana (RIQ)	400 (250-500)
Ingesta de calcio (g), media $\pm$ DE	401,52 $\pm$ 152,32
Hábito tabáquico, n (%)	6 (18,2%)
Ingesta enólica ≥ 30 g, n (%)	0%
Ejercicio regular, n (%)	19 (57,6%)
Exposición solar, n (%)	19 (57,6%)
Historia familiar de fractura de cadera, n (%)	4 (12,1%)
AP personales fractura traumática, n (%)	10 (30,3%)
AP fractura por fragilidad, n (%)	0 (0%)
AP fracturas de estrés, n (%)	5 (15,2%)
FA (UI/L), mediana (RIQ)	25 (20,5-27,5)
FA (UI/L), media $\pm$ DE (RN: 46-116 UI/L)	25,2 $\pm$ 6,53
PTH (pg/ml), mediana (RIQ)	37 (30,5-64)
PTH (pg/ml), media $\pm$ DE RN: 18,5-88 pg/ml	44,82 $\pm$ 22,41
Vit. D (ng/ml), mediana (RIQ)	19 (13-23,5)
Vit. D (ng/ml), media $\pm$ DE (RN: 30-100 ng/ml)	20 $\pm$ 9,75

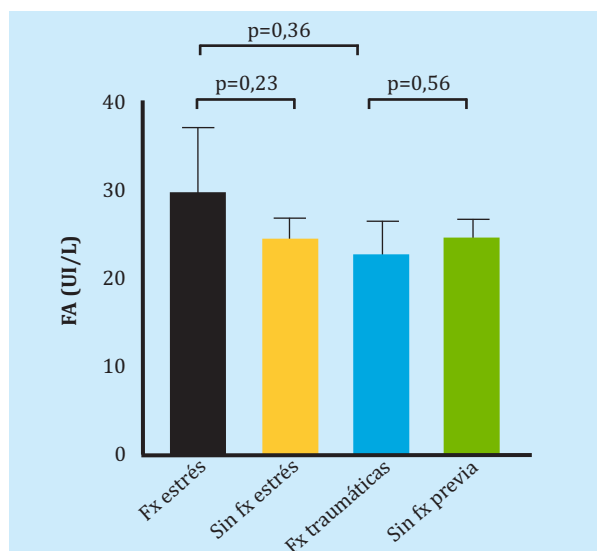
Los datos cuantitativos están expresados como mediana (rango intercuartil, RIQ) y media $\pm$ desviación estándar (DE). Los cualitativos como números absolutos y porcentajes. $p<0,05$ se considera significativo. TG+: pacientes con hipofosfatemia persistente y test genético positivo que confirma hipofosfatasa; IMC: índice de masa corporal; AP: antecedentes personales; FA: fosfatasa alcalina; PTH: hormona paratiroidea; vit. D: vitamina D; RN: rango normalidad.

Tabla 2. Datos de densitometría y 3D-Shaper en pacientes con HPP

Datos densitométricos y de 3D SHAPER	TG+ (N=33)
DMO cuello femoral (g/cm ²)	0,876 (0,83-0,92)
Z-score cuello femoral	-0,29 (-1,13-0,25)
DMO diáfisis (g/cm ²)	1,123 (1,03-1,21)
DMO trocánterea (g/cm ²)	0,759 (0,693-0,82)
Z-score trocánterea	-0,4 (-1,05-0,1)
DMO cadera total (g/cm ²)	0,931 (0,89-1)
Z-score cadera total	-0,06 (-0,79-0,39)
DMOv cortical total (mg/cm ³)	813,45 (759,12-862,26)
DMOs cortical total (mg/cm ²)	157,55 (144,80-166,94)
DMOv trabecular total (mg/cm ³)	155,77 (136,73-180,08)
DMOv integral total (mg/cm ³)	309,29 (280,3-324,62)
Grosor cortical (mm)	1,89 (1,85-2,01)

Los datos están expresados como mediana (rango intercuartil, RIQ). TG+: pacientes con hipofosfatemia persistente y test genético positivo que confirma hipofosfatasa; DMO: densidad mineral ósea; DMOv: densidad mineral ósea volumétrica; DMOs: densidad mineral ósea superficial; $p<0,05$ se considera estadísticamente significativo.

Figura 1. Niveles de fosfatasa alcalina estratificados por grupos atendiendo a los antecedentes fracturarios previos



Niveles de fosfatasa alcalina expresados como mediana (rango intercuartil) estratificados por grupos. FA: fosfatasa alcalina; Fx: fractura.

DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó un análisis descriptivo de las características densitométricas de adultos con HPP y de los parámetros de arquitectura ósea mediante 3D-Shaper, técnica aún poco explorada en estos pacientes, así como una comparativa de dichos parámetros entre los pacientes con y sin antecedentes de fracturas.

En nuestro estudio hemos observado que las alteraciones densitométricas no fueron especialmente relevantes en cuanto a prevalencia de osteoporosis. La repercusión se ha traducido en estos pacientes en cambios más moderados, con una alta prevalencia de osteopenia, más acusada en mujeres postmenopáusicas y varones mayores de 50 años. La discreta disminución de DMO observada en este trabajo parece estar acorde con los resultados encontrados en la literatura existente sobre adultos con HPP, en los que la mayoría de pacientes presentaron parámetros normales o una disminución leve de los valores de *Z-score*, hallazgos que parecen responder a formas más leves del adulto^{5,7,9}.

Trabajos previos⁷ no han encontrado diferencias de DMO en sujetos diagnosticados de HPP con y sin fracturas, sugiriendo que esta prueba pudiera no traducir adecuadamente el riesgo de presentarlas. Tampoco en nuestro estudio hemos encontrado diferencias significativas en el análisis densitométrico entre individuos con HPP con y sin antecedentes de fracturas de estrés. Sin embargo, la técnica 3D-Shaper muestra a nivel de FP una disminución estadísticamente significativa del grosor cortical (mm) en los pacientes con fracturas de estrés [1,8 (1,77-1,89)] frente a aquellos sin este antecedente [1,94 (1,87-2,03, $p=0,03$)] y en comparación con los que presentaron fracturas traumáticas [1,97 (1,88-2,04, $p=0,03$)] que no parece explicarse por un menor nivel de fosfatasa alcalina.

En esta misma patología, aplicando tomografía computarizada cuantitativa periférica de alta resolución (HR-pQCT) en tibia distal izquierda y radio distal derecho, Schmidt *et al.* evidenciaron también una disminución de grosor cortical en pacientes con HPP con fracturas frente a los no fracturados⁷. Asimismo, otro trabajo ha destacado la presencia de una disminución del grosor cortical en las radiografías de algunos pacientes adultos con HPP¹⁸.

Si bien no hemos encontrado evidencia de otros estudios que analicen parámetros de 3D-Shaper en HPP, otras publicaciones han evaluado esta tecnología en pacientes con distintas patologías metabólicas óseas. Gracia-Marco *et al.*¹⁹, han objetivado en sujetos con hiperparatiroidismo primario diferencias en el grosor cortical, inferior en pacientes con esta enfermedad frente a controles sanos ($1,85 \pm 0,14$ mm vs. $1,93 \pm 0,17$ mm; $p=0,023$). Estos resultados apuntan a que los estudios de arquitectura ósea pudieran resultar de especial interés en el campo de otras patologías que cursan con alto remodelado óseo. Sin embargo, Humbert *et al.*²⁰, observaron una disminución no significativa del grosor cortical en pacientes postmenopáusicas con fractura de cadera frente a los controles ($1,746 \pm 0,127$ mm vs. $1,783 \pm 0,123$ mm; $p=0,1$). En nuestro estudio los pacientes con HPP y fractura traumática tampoco mostraron una disminución del grosor cortical respecto a los que no se fracturan.

Las fracturas de estrés fueron descritas originalmente en reclutas militares y consideradas “fracturas por fatiga” consecuencia de mínimos o pequeños impactos mecánicos de manera repetida y prolongada sobre un hueso con resistencia elástica normal. Un subtipo de fracturas de estrés son las fracturas por insuficiencia producidas por una carga normal sobre un hueso con resistencia alterada, descritas en pacientes con deficiencia de vitamina D (líneas de Looser-Milkman, características de la osteomalacia)^{21,22}. Una elevada prevalencia de fracturas por insuficiencia o pseudofracturas se ha descrito también en pacientes con HPP¹, pero no sabemos con exactitud qué pacientes las van a desarrollar. En cuanto a su localización, son características las fracturas recurrentes de metatarso y las fracturas y pseudofracturas femorales, que son las encontradas en nuestros pacientes.

Con probable patogenia multifactorial, las fracturas de estrés podrían reflejar alteraciones en la DMO y en la calidad ósea²³. En nuestro estudio no encontramos diferencias en la DMO a nivel de FP de los pacientes que presentaron fracturas de estrés frente a los que no las presentaron, coincidiendo con lo publicado recientemente por otros autores¹¹. La disminución del grosor cortical objetivada en nuestros pacientes con fracturas de estrés reforzaría la existencia de una alteración cualitativa ósea. López Delgado *et al.*¹² describen un bajo remodelado óseo en pacientes con hipofosfatemia persistente, aunque esto no parece traducirse en diferencias en la DMO o en el *trabecular bone score* (TBS) cuando lo comparan con un grupo control. Nuestros pacientes con fracturas de estrés no mostraron diferencias en el nivel de disminución de fosfatasa alcalina respecto a los que no se fracturan, por lo que no parece poder explicarse la presencia de fracturas por una mayor severidad del defecto enzimático.

Como limitaciones de nuestro estudio, cabe mencionar que la mayoría de los sujetos incluidos presentan mutaciones en heterocigosis que condicionan formas más leves de la enfermedad y, desde el punto de vista densitométrico, que, hasta el momento, no disponemos de los valores poblacionales de referencia para las medidas 3D-Shaper ni se han comparado con un grupo control, hecho que puede limitar la interpretación de los resultados. Como fortalezas, sin embargo, cabe destacar el número significativo de pacientes, tratándose de una enfermedad rara y estudiados mediante una técnica novedosa.

Estos datos parecen reflejar una discreta repercusión a nivel densitométrico en las formas más leves del adulto. Se ha identificado una disminución del grosor cortical en pacientes con HPP con fracturas de estrés. Estudios de arquitectura ósea en FP pudieran resultar de interés para determinar sujetos con HPP susceptibles de presentar este tipo de fracturas.

Tabla 3. Datos demográficos, clínicos, densitométricos y de 3D-Shaper de sujetos con versus sin fractura

	1 Con fracturas de estrés (n=5)	2 Sin fracturas de estrés (n=28)	3 Con fractura traumática (n=9)	4 Sin fractura (n=19)	Valor p 1-2	Valor p 3-4	Valor p 1-3
Edad (años), mediana (RIQ)	43,76 (37,56-56,46)	52,78 (37,6-64,25)	56,58 (38-63,03)	51,01 (36,68-69)	0,48	0,96	0,36
Edad (años), media ± DE	46,35 ± 10,1	51,31 ± 15,82	51,12 ± 12,21	51,01 ± 17,58			
Sexo femenino, n (%)	5 (100%)	16 (57,14%)	4 (44,4%)	12 (63,2%)	0,07	0,35	0,04
Mujeres postmenopáusicas, n (%)	2 (40%)	7 (25%)	1 (25%)	6 (66,7%)	0,88	0,38	0,63
Varones >50 años	0	10 (100%)	4 (80%)	4 (50%)	0,51	0,41	-
IMC (kg/m ²), mediana (RIQ)	22,6 (21,81-25,67)	26,33 (23,19-29,9)	26,22 (23,44-29,8)	26,4 (23,14-31,2)	0,07	0,89	0,11
IMC (kg/m ²), media ± DE	23,5 ± 2,44	26,81 ± 4,5	26,22 ± 3,56	27 ± 4,96			
Ingesta de calcio (g), mediana (RIQ)	400 (250-550)	400 (225-500)	300 (200-500)	450 (300-500)	1,00	0,29	0,61
Ingesta de calcio (g), media ± DE	400 ± 158,11	401,8 ± 154,25	350 ± 150	450 ± 153,99			
Hábito tabáquico, n (%)	2 (40%)	4 (14,29%)	0%	4 (66,7%)	0,17	0,13	0,04
Ingesta enólica, n (%)	0%	0%	0%	2 (33,3%)	0,91	-	0,59
Ejercicio regular, n (%)	3 (60%)	16 (57,14%)	7 (77,8%)	9 (47,4%)	0,91	0,13	0,48
Exposición solar regular, n (%)	3 (60%)	16 (57,14%)	5 (55,6%)	11 (57,9%)	0,91	0,91	0,87
AF fractura de cadera, n (%)	0%	4 (14,29%)	1 (11,1%)	3 (75%)	0,37	0,74	0,44
FA (UI/L), mediana (RIQ)	30 (21-37)	25 (20,25-27)	23 (20,5-26,5)	25 (20-27)	0,23	0,56	0,36
FA (UI/L), media ± DE	29,2 ± 9,45	24,36 ± 5,1	24,22 ± 7,1	24,42 ± 4,06			
(RN: 46-116 UI/L)							
PTH (pg/ml), mediana (RIQ)	29 (19,5-43,5)	38 (31,5-64)	40 (36,5-65)	37 (31-64)	0,1	0,56	0,15
PTH (pg/ml), media ± DE	31 ± 12,9	47,29 ± 23	45,44 ± 16,88	48,16 ± 25,77			
RN: 18,5-88 pg/ml							
Vit. D (ng/ml), mediana (RIQ)	30 (14-42,5)	18,57 (13-22,75)	13 (11,5-21,5)	19 (16-23)	0,14	0,24	0,24
Vit. D (ng/ml), media ± DE	28,6 ± 17,2	18,57 ± 7,31	17,67 ± 9,87	19 ± 6			
(RN: 30-100 ng/ml)							
DMO cuello fémur (g/cm ²)	0,88 (0,75-0,91)	0,88 (0,83-0,94)	0,91 (0,82-1,04)	0,87 (0,83-0,9)	0,48	0,59	0,3
Z-score cuello fémur	-0,56 [-1,5-(-0,17)]	-0,12 (-1,12-0,3)	-0,1 (-1,18-0,36)	-0,29 (-1,032)	0,34	0,92	0,36
DMO diáfisis (g/cm ²)	1,02 (1,005-1,17)	1,13 (1,06-1,2)	1,18 (1,07-1,24)	1,13 (1,04-1,21)	0,29	0,47	0,24
DMO trocánterea (g/cm ²)	0,74 (0,68-0,8)	0,78 (0,69-0,82)	0,79 (0,73-0,85)	0,74 (0,68-0,8)	0,55	0,25	0,19
Z-score trocánterea	-0,5 (-0,85-0,2)	-0,3 (-1,08-0,2)	-0,6 (-1,05-0,15)	-0,2 (-1,1-0,2)	0,9	0,96	0,7
DMO total (g/cm ²)	0,88 (0,85-0,99)	0,95 (0,9-1,01)	0,99 (0,91-1,04)	0,93 (0,89-1)	0,29	0,44	0,24
Z-score total	-0,06 (-0,78-0,3)	-0,07 (-0,8-0,4)	-0,1 (-0,75-0,22)	-0,05 (-0,86-0,65)	0,94	0,85	1
DMOv cortical (mg/cm ³)	844,64 (762,14-879,22)	804,3 (758,06-860,12)	795,14 (768,14-864,74)	813,45 (757-859,97)	0,48	0,6	0,8
DMOs cortical total (mg/cm ²)	155,61 (136,77-162,5)	156,97 (146,18-168,44)	164,01 (148,97-169,07)	157,54 (142,29-166,77)	0,42	0,33	0,24
DMOv trabecular total (mg/cm ³)	154,43 (122,66-189,92)	156,86 (139,41-178,91)	164,71 (136,03-191,63)	155,77 (142,25-178,04)	0,84	0,84	0,7
DMOv integral total (mg/cm ³)	297,28 (267,83-352,33)	309,77 (279,28-322,21)	306,32 (282,58-341,22)	310,25 (277,73-323,31)	0,92	1	0,8
Grosor cortical (mm)	1,8 (1,77-1,89)	1,94 (1,87-2,03)	1,97 (1,88-2,04)	1,88 (1,86-2,03)	0,03	0,44	0,03

Los datos cuantitativos están expresados como media y desviación estándar (DE) y mediana, rango intercuartil (RIQ) y los cualitativos como frecuencias y porcentajes. IMC: índice de masa corporal; AF: antecedentes familiares; FA: fosfatasa alcalina; PTH: hormona paratiroidea; vit. D: vitamina D; DMO: densidad mineral ósea; DMOv: densidad mineral ósea volumétrica; DMOs: densidad mineral ósea superficial; p<0,05 se considera estadísticamente significativo.

Aprobación del Comité de Ética: Todos los estudios realizados siguieron los principios enunciados en la declaración de Helsinki y fueron formalmente aprobados por el Comité de Ensayos Clínicos del Hospital La Paz (PI 3239). Se ha obtenido el consentimiento informado de todos los pacientes.



Conflicto de intereses: Este estudio ha sido financiado por una beca sin restricciones de Alexion Pharmaceuticals Inc. para el estudio de Hipofosfatasa del adulto que tiene como investigadora principal a la Dra. P. Aguado y subinvestigadora a la Dra. C. Tornero y la aplicación del Software 3D-Shaper se ha realizado en el marco de un estudio multicéntrico (SEIOMM-3D-DXA) desarrollado por la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM). L. Humbert es accionista y empleado de la empresa Galgo Medical. C. Tornero, M. Coronado, V. Navarro-Compán, S. García, C. Lancha, A. Balsa y P. Aguado declaran que no tienen otros conflictos de interés.

Bibliografía

- Whyte MP. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(4):233-46.
- Caswell AM, Whyte MP, Russell RG. Hypophosphatasia and the extracellular metabolism of inorganic pyrophosphate: clinical and laboratory aspects. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1991;28(3):175-232.
- Millán JL, Whyte MP. Alkaline phosphatase and hypophosphatasia. *Calcif Tissue Int*. 2016;98(4):398-416.
- Lefever E, Witters P, Gielen E, Vanclooster A, Meersseman W, Morava E, et al. Hypophosphatasia in adults: clinical spectrum and its association with genetics and metabolic substrates. *J Clin Densitom*. 2020;23(3):340-8.
- Martos-Moreno GA, Calzada J, Couce ML, Argente J. Hipofosfatasa: manifestaciones clínicas, recomendaciones diagnósticas y opciones terapéuticas [Hypophosphatasia: Clinical manifestations, diagnostic recommendations and therapeutic options]. *An Pediatr (Barc)*. 2018;88(6):356.
- Berkseth KE, Tebben PJ, Drake MT, Hefferan TE, Jewison DE, Wermers RA. Clinical spectrum of hypophosphatasia diagnosed in adults. *Bone*. 2013; 54(1):21-7.
- Schmidt T, Mussawy H, Rolvien T, Hawellek T, Hubert J, Rüther W, et al. Clinical, radiographic and biochemical characteristics of adult hypophosphatasia. *Osteoporos Int*. 2017;28(9):2653-62.
- Whyte MP, Zhang F, Wenkert D, McAllister WH, Mack KE, Benigno MC, et al. Hypophosphatasia: Validation and expansion of the clinical nosology for children from 25 years experience with 173 pediatric patients. *Bone*. 2015;75:229-39.
- Barvencik F, Timo Beil F, Gebauer M, Busse B, Koehne T, Seitz S, et al. Skeletal mineralization defects in adult hypophosphatasia - A clinical and histological analysis. *Osteoporos Int*. 2011;22(10):2667-75.
- Wüster C, Ziegler R. Reduced bone mineral density and low parathyroid hormone levels in patients with the adult form of hypophosphatasia. *Clin Investig*. 1992;70(7):560-5.
- Genest F, Claußen L, Rak D, Seefried L. Bone mineral density and fracture risk in adult patients with hypophosphatasia. *Osteoporos Int*. 2021;32(2):377-85.
- López-Delgado L, Riancho-Zarrabeitia L, García-Unzueta MT, Tenorio JA, García-Hoyos M, Lapunzina P, et al. Abnormal bone turnover in individuals with low serum alkaline phosphatase. *Osteoporos Int*. 2018;29(9):2147-50.
- McKiernan FE, Berg RL, Fuehrer J. Clinical and radiographic findings in adults with persistent hypophosphatasemia. *J Bone Miner Res*. 2014;29(7):1651-60.
- Tornero C, Navarro-Compán V, Tenorio JA, García-Carazo S, Buño A, Monjo I, et al. Can we identify individuals with an ALPL variant in adults with persistent hypophosphatasemia? *Orphanet J Rare Dis*. 2020;15(1):51.
- Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1994;843:1-129.
- Humbert L, Martelli Y, Fonolla R, Steghofer M, Di Gregorio S, Malouf J, et al. 3D-DXA: Assessing the femoral shape, the trabecular macrostructure and the cortex in 3D from DXA images. *IEEE Trans Med Imaging*. 2017;36(1):27-39.
- Shane E, Burr D, Abrahamsen B, Adler RA, Brown TD, Cheung AM, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res*. 2014;29(1):1-23.
- Whyte MP, Teitelbaum SL, Murphy WA, Bergfeld MA, Avioli LV. Adult hypophosphatasia. Clinical, laboratory, and genetic investigation of a large kindred with review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 1979; 58(5):329-47.
- Gracia-Marco L, García-Fontana B, Ubago-Guisado E, Vlachopoulos D, García-Martín A, Muñoz-Torres M. Analysis of bone impairment by 3D DXA hip measures in patients with primary hyperparathyroidism: a pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020; 105(1):dgz060.
- Humbert L, Bagué A, Di Gregorio S, Winzenrieth R, Sevillano X, González Ballester MÁ, et al. DXA-based 3D analysis of the cortical and trabecular bone of hip fracture postmenopausal women: a case-control study. *J Clin Densitom*. 2020;23(3):403-10.
- Matcuk GR Jr, Mahanty SR, Skalski MR, Patel DB, White EA, Gottsegen CJ. Stress fractures: pathophysiology, clinical presentation, imaging features, and treatment options. *Emerg Radiol*. 2016;23(4):365-75.
- Anguita Martínez G, Vega González ML, Cobos Huerga C, Moreno Casado MJ. Fracturas de estrés de los metatarsianos. *Rev Int Cienc Podol*. 2011;5(2):47-54.
- Moreira CA, Bilezikian JP. Stress fractures: concepts and therapeutics. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(2):525-34.

Implicación de la Cx43 y el cilio primario en la actividad de los osteocitos

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400005>

Herederro-Jiménez S, Tirado-Cabrera I, Martín-Guerrero E, Ardura Rodríguez JA, R Gortázar A

Instituto de Medicina Aplicada de la Universidad San Pablo-CEU. Madrid (España)

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

Fecha de recepción: 09/11/2020 - Fecha de aceptación: 30/01/2021

Trabajo remitido como prestación por una beca para asistir al 39º Congreso de la ASBMR (Denver, 2017)

Resumen

Objetivo: El tejido óseo tiene la capacidad de adaptarse a los estímulos del entorno alterando su morfología y metabolismo. Las diferentes células óseas se comunican entre sí a través de uniones comunicantes (UCs). La conexina 43 (Cx43) es la proteína más abundante de las UCs; tiene funciones clave en la transducción de señales y en la respuesta a estímulos hormonales y mecánicos. Otro elemento mecanosensor de los osteocitos es el cilio primario, formado por microtúbulos y que se desarrolla en la fase G0 del ciclo celular.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la implicación de la Cx43 y del cilio primario en la actividad de los osteocitos, analizar la posible interacción entre estos dos mecanosensores, y evaluar el papel que desempeñan en la detección y respuesta de los osteocitos ante el estímulo mecánico y la estimulación del receptor de la parathormona tipo 1 (PTH1R) por su ligando, la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) (1-36).

Material y métodos: Se comparó la línea celular de osteocitos MLO-Y4 control (Cx43+/+) con MLO-Y4 deficientes en Cx43 (Cx43-/-). El análisis de expresión de la proteína del transporte intraflagelar 88 (IFT88), de la Cx43 y de la fosforilación de la quinasa reguladora de la señal extracelular (P-ERK) se determinó mediante Western blot. Para caracterizar la posible colocalización entre el cilio primario y Cx43 se realizó una inmunofluorescencia. Para simular el estímulo mecánico *in vitro*, las células se sometieron a un estrés mecánico de 10 dinas/cm² por flujo de fluido durante 10 minutos.

Resultados: Los resultados obtenidos muestran que el número de células con cilio primario no varía por la expresión de Cx43 (p=0,089); y que en las células con presencia en Cx43, el estímulo mecánico por flujo de fluido y la PTHrP aumentan la fosforilación de quinasas reguladas por señal extracelular (ERK) respecto a las células no estimuladas (p=0,049 y p=0,011, respectivamente).

Conclusiones: El cilio primario y la Cx43 actúan como elementos mecanosensores de los osteocitos. La deficiencia en Cx43 no influye en la ciliogénesis ni en la activación por parte del estímulo mecánico de las rutas de señalización pro-supervivencia en los osteocitos.

Palabras clave: osteocitos, conexina 43, cilio primario, estímulo mecánico, PTHrP.

INTRODUCCIÓN

El tejido óseo tiene la capacidad de adaptarse a los estímulos del entorno mediante la alteración de su morfología y de su metabolismo¹.

La formación, la remodelación y la reparación del tejido óseo son procesos dinámicos regulados por la acción conjunta de las células óseas (osteocitos, osteoblastos y osteoclastos). Los osteocitos son el tipo celular más abundante en el hueso. Se localizan en la matriz ósea mineralizada, formando una extensa red de intercomunicación celular; denominada sistema lacuno-canalicular osteocitario (SLCO). Los osteocitos son las principales células mecanosensoras del hueso², es decir, son capaces de detectar los estímulos mecánicos de su entorno y comunicar dicha señal a las células efectoras (osteoblastos y osteoclastos). Presentan diferentes estructuras mecanosensoras: los canales iónicos,

las integrinas³, el ligando del receptor de la parathormona tipo 1 (PTH1R), las conexinas⁴ y el cilio primario. Se ha constatado que algunos de estos mecanosensores interactúan entre sí, permitiendo la integración de las múltiples señales extracelulares³.

El estímulo mecánico regula la remodelación ósea. La desregulación de este proceso produce osteoporosis, una patología que se caracteriza por la disminución de la masa ósea y el aumento de su fragilidad⁵.

Los osteocitos responden al estímulo mecánico gracias a la activación de diversas vías de señalización, como la proteína tipo Wntless (Wnt)/β-catenina, y las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y Hedgehog (HH). En este trabajo se analizan algunas moléculas que intervienen en estas vías de señalización, específicamente la P-ERK y la ERK.



Correspondencia: Arancha R. Gortázar (argortazar@ceu.es)

Para el mantenimiento de la homeostasis del tejido óseo es fundamental la interacción entre las células que lo conforman⁶. La comunicación celular a través de uniones comunicantes (UCs) es una de las más importantes, permitiendo la interacción entre los citoplasmas de células adyacentes y, por tanto, la difusión intercelular de moléculas pequeñas⁷. Las UCs no solo sirven como canales pasivos, también intervienen en la regulación de diferentes rutas de señalización⁸.

Las Cxs son proteínas transmembrana que se denominan por su peso molecular, de 26 a 59 kDa. La Cx43 es la proteína más abundante en las UCs de las células óseas. Las conexinas, en particular la Cx43, interactúan con las moléculas estructurales y de señalización, regulando las funciones celulares^{9,10}.

El cilio primario es una estructura basada en microtúbulos; en el que se localizan numerosos canales y proteínas receptoras, que permiten la actuación del cilio como mecanosensor^{11,12}. El PTH1R es un receptor acoplado a proteínas G (GPCR), que se expresa en los cilios primarios y tiene un papel fundamental en la transducción de señales mecánicas en células MLO-Y4¹³. Este receptor presenta dos ligandos ampliamente caracterizados: la PTH y la PTHrP (proteína relacionada con la parathormona). Tanto la PTH como la PTHrP tienen efectos en la formación ósea y son utilizados como agentes anabólicos en el tratamiento de la osteoporosis^{13,14}.

También se ha demostrado que la estimulación por PTHrP y la estimulación mecánica por flujo de fluido inducen la activación de ERK, impidiendo así el aumento de la apoptosis de células osteocíticas¹⁵.

En el presente estudio se hipotetizó que el cilio primario y la Cx43 actúan de manera conjunta en la regulación de vías de señalización implicadas en la supervivencia celular y en la capacidad de adhesión celular. Se determinó la expresión del cilio primario, tanto en células Cx43+/+ como en Cx43-/- y la no colocalización de estos dos mecanosensores. Por tanto, se sugiere que la deficiencia en Cx43 no está involucrada en el desarrollo del cilio primario, pero sí podría influir en otros aspectos, como su funcionalidad, longitud o en el transporte intraflagelar.

Asimismo, se analizó la respuesta celular de los osteocitos (fosforilación de ERK) tras estimular el PTH1R, tanto con PTHrP, obteniéndose un mayor aumento de P-ERK en las células Cx43-/- respecto a Cx43+/+, como mecánicamente, que produjo un aumento de la expresión de P-ERK independiente de la deficiencia en Cx43.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Cultivos celulares

En este proyecto se trabajó con la línea continua de osteocitos MLO-Y4 de huesos largos murinos Cx43+/+, utilizadas como control, y deficientes en Cx43 (Cx43-/-), que fueron cedidas amablemente por la Dra. L. I. Plotkin.

Dichas células se sembraron a una concentración de 24.000 células/cm². Se cultivaron con el medio *α-Modified Eagle's Medium* (α -MEM) (Gibco™, Thermo Fisher Scientific, España), suplementado con 2,5% de suero de ternero (*Calf Serum*; CS), 2,5% de suero fetal bovino (*Fetal Bovine Serum*; FBS), 1% de L-Glutamina, 1% de Penicilina/Estreptomicina y Puromicina (de *Streptomyces alboniger*, Sigma Aldrich, BioReagent, Merck, España) a una concentración 10 μ g/ml.

Para favorecer el desarrollo del cilio primario, las células se cultivaban en medio de depleción, compuesto por α -MEM (Gibco™) suplementado con 1% de peni-

lina/estreptomicina y puromicina a una concentración de 10 μ g/ml, durante 24 h.

Todas las superficies sobre las que se sembraron estas células debían estar previamente collagenizadas, con colágeno tipo I al 0,01% de ácido acético, para simular la matriz de colágeno donde se encuentran embebidos los osteocitos *in vivo*. Las células se mantuvieron a 37°C y 5% de CO₂.

2. Western blot

Se extrajo la proteína total de las células empleando el buffer RIPA (Sigma-Aldrich, Merck, España), suplementado con inhibidores de proteasas y fosfatasa (Calbiochem, Merck, España).

Posteriormente, se procedió a la cuantificación de proteínas mediante el ensayo de ácido bicinónico (BCA) (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific, España), que genera una reacción colorimétrica detectable a 562 nanómetros (nm). Para realizar la lectura se utilizó el lector de placas Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific), mediante el programa SkanIt Software 2.4.3 RE.

Los extractos de proteína (20 μ g) se separaron mediante un gel de poliacrilamida al 10%, en condiciones reductoras; posteriormente se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa (Bio-Rad, Hercules, California, EE.UU.). El bloqueo se realizó con leche en polvo al 5%, en tampón Tris salino con Tween20 (TTBS) al 0,05%, durante 1 h en agitación a temperatura ambiente. A continuación, se pusieron en agitación entre 15-18 h y 4°C los siguientes anticuerpos primarios: anti-Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Cell Signaling, Beverly, Massachusetts, EE.UU.), anti-p44/42 MAPK (Erk1/2) y anti-Cx43 (Sigma Aldrich, ST. Louis, Missouri, EE.UU.) y anti-tubulina (Sigma Aldrich). Todos son anticuerpos policlonales producidos en conejo, menos la anti-tubulina que es monoclonal producido en ratón. Después se incubó durante una hora a temperatura ambiente, con la correspondiente IgG acoplada a peroxidasa, y se reveló la membrana mediante quimioluminiscencia con el sustrato Clarity™ Western ECL (Bio-Rad, Life Science Research, España). La intensidad de las bandas se cuantificó por densitometría, usando DNR Bio Imaging System MF ChemiBIS3.2 y los programas Gelcapture y QuantityOne™ (Bio-Rad).

3. Inmunofluorescencia

Se sembraron 30.000 células/pocillo de las placas multipocillo (Falcon®, Thermo Fisher Scientific, España). Las células se crecieron hasta que alcanzaron una confluencia del 80%; y posteriormente se añadió medio de depleción durante 24 h para inducir la formación del cilio primario. Después, las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4% y se permeabilizaron con Tritón X-100 al 0,5%. Seguidamente, se añadió la solución de bloqueo, compuesta por albumina de suero bovino (BSA) al 10%, suplementado con suero de cabra al 5%, durante 1 h. Posteriormente, se mantuvieron en agitación durante 15-18 h a 4°C los siguientes anticuerpos primarios: anti-Cx43 policlonal producido en conejo (Sigma Aldrich) y anti- α tubulina acetilada monoclonal producido en ratón (Sigma Aldrich), para observar así el cilio primario. A continuación, se dispusieron los anticuerpos secundarios: para cilio Alexa fluor® 488 de cabra anti-ratón (Invitrogen Molecular probes, Thermo Fisher Scientific™, España), y para Cx43, Alexa fluor® 568 anti-conejo IgG (Life technologies, Thermo Scientific™, España) (dilución 1:1000 en BSA al 10% y suero de cabra al 5%). Tras 1 h de incuba-

ción, se añadió 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI). Los núcleos, el cilio primario y la Cx43 se visualizaron con el microscopio de fluorescencia (Leica CTR 6000). La fusión (*merged*) de las imágenes individuales del cilio primario, la Cx43 y núcleos celulares en una sola se realizó con el programa ImageJ.

4. Estimulación mecánica mediante flujo de fluido (*fluid flow*) y por PTHrP

Para realizar la estimulación mediante flujo de fluido (FF) y PTHrP, las células se sembraron en portaobjetos de cristal delimitados con teflón a una densidad de 25.000 células/cm². La técnica del FF se basa en bombear medio de cultivo de forma constante sobre la monocapa celular, en un circuito cerrado herméticamente, a 10 dinas/cm² durante 10 min, mediante una bomba peristáltica (Flexcell International Corp., Hillsborough, Carolina del Norte, EE.UU.). Las configuraciones del tiempo y frecuencia se establecieron a través del programa Master Flex Peristaltic Pump 2010. Por otro lado, se realizó la estimulación con PTHrP (1-36) (Bachem, Bubendorf, Switzerland) a una concentración de 10⁻⁷ molar (M), durante 10 min. El mismo número de portaobjetos se cultivó con células que no fueron sometidas a ningún estímulo, constituyendo los controles estáticos (CE).

5. Análisis estadístico

En el análisis estadístico de los resultados, los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar de al menos dos experimentos llevados a cabo por triplicado. Se realizó utilizando el programa GraphPad Prism 8 (software GraphPad, La Jolla, California, EE.UU.). Para comparar medias entre dos grupos se llevó a cabo el test no paramétrico Mann-Whitney, y para comparar medias de más de dos grupos se empleó el test no paramétrico Kruskal-Wallis. Los análisis múltiples se llevaron a cabo mediante el test de Dunn. En todos los test estadísticos el intervalo de confianza establecido fue del 95%. Por tanto, se consideraron estadísticamente significativos los resultados con un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

1. Efecto de la Cx43 en el desarrollo del cilio primario en células Cx43+/+ y Cx43-/-

Los resultados obtenidos mediante Western blot nos indican que en las células deficientes en Cx43 la expresión de esta proteína disminuye significativamente con respecto a las células control Cx43+/+ ($W=0$, $p=0,029$), lo que nos permite corroborar la deficiencia de esta proteína (Figura 1). Además, se caracterizó la presencia del cilio primario mediante el análisis de expresión de la proteína IFT88. Se empleó IFT88 como marcador de la presencia de cilio primario, dado que es una proteína que se expresa de manera muy abundante en este orgánulo, debido a que está involucrada en el transporte intraflagelar, necesario para la ciliogénesis¹⁸. Se observó que la proteína IFT88 se expresa de forma similar, independientemente de la deficiencia en Cx43 ($W=4$, $p=0,343$).

Asimismo, se analizó la Cx43 y el cilio primario mediante inmunofluorescencia para intentar determinar la posible interacción entre estos dos mecanosensores. La figura 2 muestra que tanto las células Cx43+/+ como las Cx43-/- desarrollan cilio primario, que se evidencia por la presencia del anticuerpo primario anti α -tubulina acetilada, y que este orgánulo se origina desde la superficie celular. También, se puede ver que la Cx43 se expresa fundamentalmente en la membrana celular, por lo que posiblemente se encuentre formando UCs. Además, parece observarse que el cilio primario no colocaliza con la Cx43. Por otra parte, se realizaron contajes de las células que presentaban cilio primario, a partir de nueve fotografías tomadas en distintos campos, con el microscopio de fluorescencia. En cada imagen se cuantificó el número (Nº) de células (cel.) totales y el número de células que presentaban cilio primario, y se calculó el cociente (Nº de cel. con cilio/Nº de cel. totales), tanto para la línea celular Cx43+/+ como para Cx43-/- (Tabla 1 y figura 3). En estos resultados se constató que el número de cilios formados no difería significativamente ($p=0,089$) entre las dos líneas celulares (Cx43+/+ y Cx43-/-).

Figura 1. Expresión de Cx43 e IFT88. A) Resultado del revelado de la membrana de nitrocelulosa para el análisis de Cx43, IFT88 y tubulina como control de carga, se utilizaron extractos de proteínas celulares totales (25 μ g). En el primer carril se dispuso el marcador de peso molecular (PM); los cuatro carriles siguientes pertenecen a cuatro réplicas de células MLO-Y4 control (Cx43+/+) y los cuatro últimos corresponden a cuatro réplicas de células MLO-Y4 deficientes en Cx43 (Cx43-/-). B) Promedio $\pm$ desviación estándar de Cx43/tubulina. C) Promedio $\pm$ desviación estándar de IFT88/tubulina. Los niveles proteicos se normalizaron frente a tubulina * $p < 0,05$

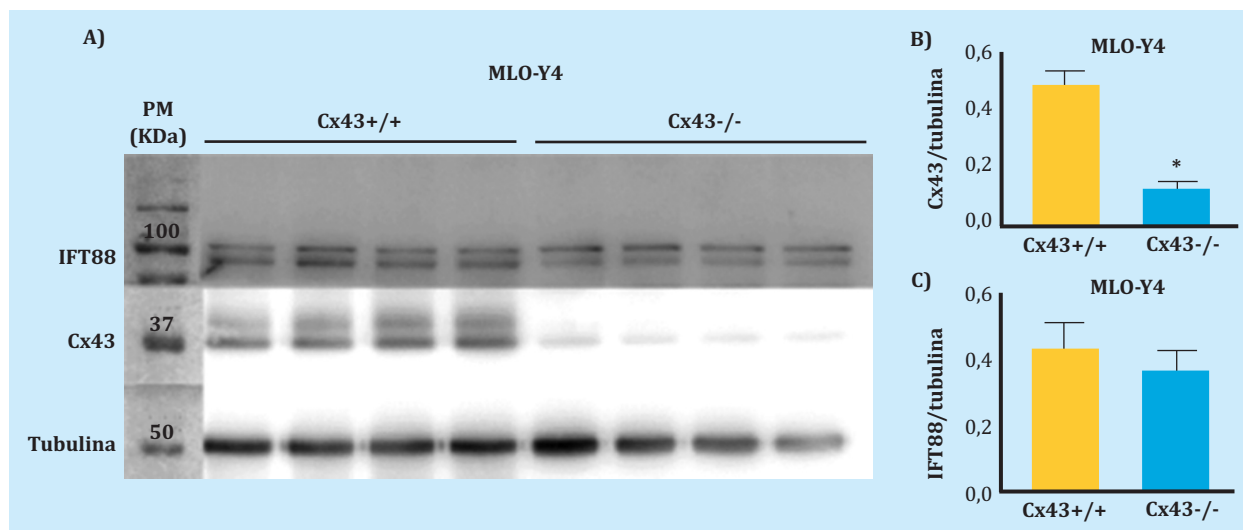


Figura 2. Inmunofluorescencia realizada con osteocitos de la línea MLO-Y4 (A) Cx43+/+ y (B) Cx43-/- . Los núcleos celulares se tiñeron con DAPI (azul), se utilizó anticuerpo anti α -tubulina acetilada para marcar el cilio primario (verde), anticuerpo anti Cx43 para marcar la Cx43 (rojo) y el *merged*. Las imágenes fueron realizadas con el objetivo de inmersión a 63X. Barra de escala = 16 μ m

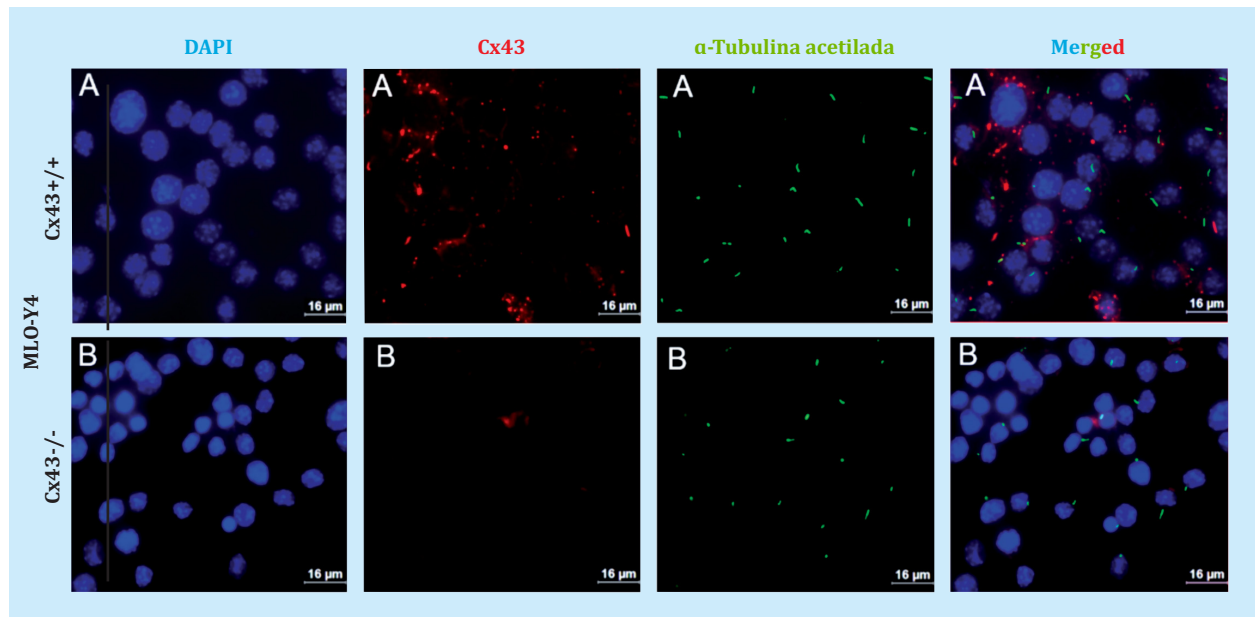


Tabla 1. Contajes de las células (cel.) que presentan cilio primario en las líneas MLO-Y4 Cx43+/+ y Cx43

Nº de foto	Nº de cel. totales Cx43+/+	Nº de cel. con cilio Cx43+/+	Nº de cel. con cilio/Nº cel. totales Cx43+/+ (%)	Nº de cel. totales Cx43-/-	Nº de cel. con cilio Cx43-/-	Nº de cel. con cilio/Nº cel. totales Cx43-/- (%)
1	96	43	44,792	94	41	43,617
2	93	44	47,312	84	36	42,857
3	95	41	43,158	93	20	21,505
4	110	51	46,364	77	33	42,857
5	103	56	54,369	91	24	26,374
6	77	32	41,558	125	55	44,000
7	66	33	50,000	106	61	57,547
8	95	44	46,316	104	49	47,115
9	111	52	46,847	195	69	35,385

Figura 3. Nº de células con cilio/Nº de células totales (%) en las líneas Cx43+/+ y Cx43-/- . Los resultados se expresan como media $\pm$ desviación estándar

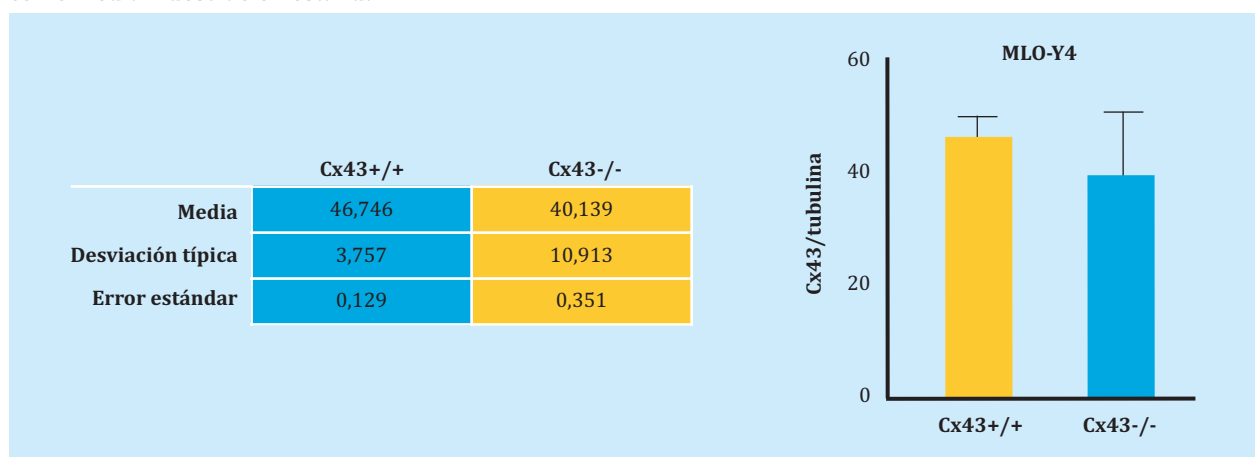
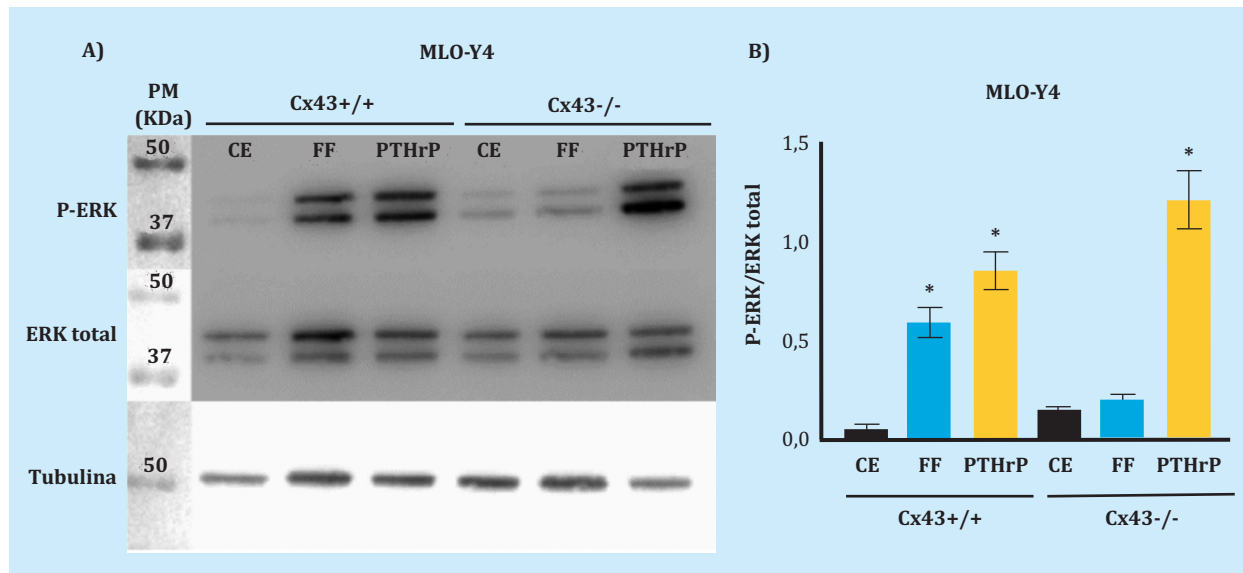


Figura 4. Análisis de P-ERK tras la estimulación mecánica y con PTHrP. Tras la estimulación mecánica y la estimulación con PTHrP, se evaluaron los cambios en los niveles proteicos, mediante Western blot, de P-ERK en extractos de proteína celular total, de las líneas celulares Cx43+/+ y Cx43-/-, que se estimularon o no (control estático, CE). Se utilizaron ERK total y tubulina para normalizar. Los resultados se expresan como media $\pm$ desviación estándar de un experimento por duplicado de cada condición experimental vs. CE



2. Efecto del estímulo mecánico y de PTHrP en células Cx43+/+ y Cx43-/-

En varios estudios se ha determinado que la estimulación mecánica inhibe la apoptosis de los osteocitos, mediante un mecanismo que implica la fosforilación de MAPK como ERKs¹⁶. Con este experimento se pretendía analizar si la deficiencia en Cx43 alteraba el efecto que tiene el estímulo mecánico en los osteocitos y determinar si la Cx43 interviene en la activación del receptor PTH1R, tras estimularlo con uno de sus ligandos, PTHrP. Para caracterizar los efectos que desencadenan la estimulación mecánica y la estimulación con PTHrP en las células MLO-Y4, se analizó mediante Western blot la expresión de P-ERK.

Se aplicó el test Kruskal-Wallis para determinar si existían diferencias entre los grupos Cx43+/+ y Cx43-/- para las condiciones: CE, FF y PTHrP. El resultado del test indicó que había diferencias entre algunos de los grupos ($p=0,0005$). Para determinar entre qué grupos, se realizó el test de comparaciones múltiples Dunn, que mostró que tanto el estímulo mecánico (FF) ($p=0,049$) como el estímulo con PTHrP ($p=0,017$) inducen el aumento significativo de la fosforilación de ERK respecto a las células no estimuladas (control estático, CE); en la línea celular MLO-Y4 Cx43+/+. Este resultado evidencia que los estímulos extracelulares favorecen la activación de la vía de señalización Src/ERK, que promueve la supervivencia celular. En el caso de las MLO-Y4 Cx43-/- se observa que tras la estimulación mecánica (FF), P-ERK no aumenta significativamente respecto a CE ($p=0,955$). Sin embargo, cuando estimulamos con PTHrP la fosforilación de ERK aumenta significativamente ($p=0,025$) (Figura 4).

DISCUSIÓN

Las conexinas y el cilio primario son elementos mecanosensores de las células óseas, desempeñando un papel fundamental en la detección de estímulos y transmisión de señales³.

Los resultados obtenidos mediante Western blot confirman que la línea celular Cx43-/- utilizada en el experimento era deficiente en esta proteína, pues el nivel de expresión de Cx43 disminuía significativamente en comparación con la línea Cx43+/+. También se analizó la expresión de la proteína IFT88, ya que en estudios previos se empleaba como marcador de la presencia del cilio primario¹⁷. Según los resultados obtenidos, se puede concluir que no existen diferencias significativas en la expresión de la proteína IFT88 entre las líneas Cx43+/+ y Cx43-/. Los resultados del análisis de IFT88 mediante Western blot, por sí solos, no permiten asegurar que el cilio primario se esté desarrollando correctamente, debido a que la proteína IFT88 podría estar expresándose en otro compartimento celular distinto al cilio primario. Por tanto, para comprobar si la deficiencia en Cx43 influye en la formación del cilio primario, se analizó la expresión de este orgánulo y de la Cx43 mediante inmunofluorescencia. Se observó que tanto las células Cx43+/+ como las células Cx43-/- desarrollaron cilio primario; asimismo, se constató que el número de cilios formados no difería significativamente entre las dos líneas celulares. Además, parece observarse que la Cx43 y el cilio primario no colocalizan; y que en las células Cx43+/+, la Cx43 se encuentra en la membrana plasmática de la célula, que sería la localización esperada, pues es donde forma las UCs.

Investigaciones previas han demostrado que las células MLO-Y4 son un modelo óptimo para realizar estudios de estimulación mecánica¹⁶. No obstante, para poder extrapolar los resultados obtenidos en estos estudios *in vitro* a las auténticas condiciones *in vivo*, es necesario trabajar con estímulos mecánicos que reproduzcan y generen respuestas similares a las que se producen en la situación fisiológica. Actualmente, el flujo de fluido (FF) sobre una monocapa de células osteocíticas es la técnica que más se aproxima a esta situación¹⁸.

La diana molecular elegida como indicador de la viabilidad de la línea MLO-Y4 fue P-ERK, porque su activación tras la estimulación mecánica es un indicador de

supervivencia en células osteocíticas^{16,18}. De acuerdo con las investigaciones mencionadas, se observó que el estímulo mecánico mediante FF induce el aumento en la expresión de P-ERK^{16,18}. Por tanto, se interpreta que el FF promueve la supervivencia de las células MLO-Y4.

Por otro lado, el sistema PTHrP/PTH1R también es fundamental en la regulación del remodelado óseo. Resultados preliminares sugieren que el PTH1R es clave en la respuesta anabólica ósea en respuesta a la estimulación mecánica *in vivo*. Se ha demostrado que este receptor actúa como mecanorreceptor en células osteoblásticas¹³. Los resultados del estudio efectuado indican que la administración exógena de PTHrP (1-36) (ligando del PTH1R) protege de la apoptosis de modo similar al de la estimulación mecánica en los osteocitos, debido a que induce el aumento de la expresión de P-ERK. De manera similar, estudios anteriores constataron que la PTHrP, al igual que la PTH, posee propiedades anti-apoptóticas en osteocitos¹⁶.

CONCLUSIONES

1. El número de células con cilio primario no varía por la expresión de Cx43.
2. El cilio primario y la Cx43 actúan como mecanosensores de los osteocitos.
3. El estímulo mecánico inducido mediante flujo de fluido (FF) promueve la supervivencia de las células MLO-Y4, independientemente de la deficiencia en Cx43, pues provoca un aumento en la expresión de P-ERK, tanto en células Cx43+/+ como en Cx43-/-.
4. La administración exógena de PTHrP (1-36) (ligando del PTH1R) produce un aumento de P-ERK en las células Cx43+/+ y Cx43-/- . No obstante, este aumento es mucho mayor en las células Cx43-/- . Por tanto, se sugiere que la Cx43 está inhibiendo al receptor PTH1R, lo que provoca que, tras la unión de su ligando PTHrP, la ruta de activación en la que interviene P-ERK no se active completamente.



Conflicto de intereses: Lo autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Matthew RA, Kelly K. Skeletal Imaging. In: Burr DB, Allen MR. Basic and Applied Bone Biology. 1ª ed. USA: Academic Press; 2013. p. 105-209.
2. Rupp M, Merboth F, Daghma DE, Biehl C, El Khassawna T, Heiß C. Osteocytes. Z Orthop Unfall. 2019;157(2):154-63.
3. Geoghegan IP, Hoey DA, McNamara LM. Integrins in osteocyte biology and mechanotransduction. Curr Osteoporos Rep. 2019;17(4):195-206.
4. Jiang JX, Cherian PP. Hemichannels formed by connexin 43 play an important role in the release of prostaglandin E(2) by osteocytes in response to mechanical strain. Cell Commun Adhes. 2003;10(4-6):259-64.
5. Tu KN, Lie JD, Wan CKV, Cameron M, Austel AG, Nguyen JK, et al. Osteoporosis: A Review of Treatment Options. P T. 2018;43(2): 92-104.
6. Plotkin LI, Laird DW, Amedee J. Role of connexins and pannexins during ontogeny, regeneration, and pathologies of bone. BMC Cell Biol. 2016;17(1):19-28.
7. Loiselle AE, Jiang JX, Donahue, HJ. Gap junction and hemichannel functions in osteocytes. Bone. 2013;54(2):205-12.
8. Xu H, Gu S, Riquelme MA, Burra S, Callaway D, Cheng H, et al. Connexin 43 channels are essential for normal bone structure and osteocyte viability. J Bone Miner Res. 2015;30(3):436-48.
9. Solan JL, Lampe PD. Spatio-temporal regulation of connexin43 phosphorylation and gap junction dynamics. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2018;1860(1):83-90.
10. Giepmans BN. Role of connexin43-interacting proteins at gap junctions. Adv Cardiol. 2006;42(1):41-56.
11. Dbouk HA, Mroue RM, El-Sabban ME, Talhouk, RS. Connexins: a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels. Cell Commun Signal. 2009;7(4):2-15.
12. Hoey DA, Downs ME, Jacobs CR. The mechanics of the primary cilium: an intricate structure with complex function. J Biomech. 2012;45(1):17-26.
13. Schwartz EEA, Leonard ML, Bizios R, Bowser SS. Analysis and modeling of the primary cilium bending response to fluid shear. Am J Physiol. 1997;272(1):132-8.
14. Maycas M, Ardura JA, Castro, LF, Bravo B, Gortázar A R, Esbrit P. Role of the parathyroid hormone type 1 receptor (pth1r) as a mechanosensor in osteocyte survival. J Bone Miner Res. 2015; 30(7):1231-44.
15. Sleeman A, Clements JN. Abaloparotide: A new pharmacological option for osteoporosis. Am J Health Syst Pharm. 2019;76(3):130-5.
16. Maycas M. (2016). Mecanismos moleculares implicados en la mecanotransducción osteocítica. Alteraciones en la osteopatía diabética y efecto compensador de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP). Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Páginas 4-138.
17. Plotkin LI, Mathov I, Aguirre JI, Parfitt AM, Manolagas SC, Bellido T. Mechanical stimulation prevents osteocyte apoptosis: requirement of integrins, Src kinases, and ERKs. Am J Physiol Cell Physiol. 2005;289(3):633-43.
18. Yuan X, Serra RA, Yang S. Function and regulation of primary cilia and intraflagellar transport proteins in the skeleton. Ann N Y Acad Sci. 2014;1335(1):78-99.

¿Se puede diagnosticar una enfermedad genética en base a caracteres fenotípicos? A propósito de un caso de pseudohipoparatiroidismo en Ecuador

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400006>

Segura Mestanza A^{1,2}, Cedeño German R^{1,2}, López Gavilanez E^{1,3}

¹ Grupo de Investigación AECE, de la Asociación de Endocrinólogos Clínicos del Ecuador (Ecuador)

² Servicio de Endocrinología. Hospital Abel Gilbert Pontón. Guayaquil (Ecuador)

³ Servicio de Endocrinología. Hospital Docente de la Policía Nacional Guayaquil, N° 2. Guayaquil (Ecuador)

Fecha de recepción: 25/09/2020 - Fecha de aceptación: 03/12/2020

Resumen

El pseudohipoparatiroidismo es una endocrinopatía poco frecuente, pero no debe descartarse su diagnóstico cuando la hipocalcemia se acompaña de hiperfosfatemia y elevación de hormona paratiroidea en ausencia de insuficiencia renal o deficiencia de vitamina D. Aunque el diagnóstico definitivo se obtiene con estudios genéticos, los estudios bioquímicos que evidencien la resistencia hormonal y las características fenotípicas nos permiten establecer el diagnóstico. La literatura es escasa en América Latina y se han descrito pocos casos. Informamos un caso de un hombre de 18 años con pseudohipoparatiroidismo, y discutimos sus características clínicas, hallazgos bioquímicos y radiográficos, junto con el tratamiento.

Palabras clave: osteodistrofia hereditaria de Albright, resistencia hormona paratiroidea, pseudohipoparatiroidismo, trastorno inactivante de la señalización PTH/PTHrP, hipocalcemia, braquidactilia, Ecuador.

INTRODUCCIÓN

El pseudohipoparatiroidismo (PHP) es un grupo heterogéneo de trastornos que tienen en común la resistencia a la hormona paratiroidea (PTH).

A nivel mundial, se estima que la prevalencia es 0,79/100.000¹, aunque depende del tipo de PHP analizado, y oscila entre 6,7 a 3,3 casos por millón de habitantes en Italia² y Japón³, respectivamente.

Entre 2000 y 2019 en la literatura mundial se han descrito aproximadamente 325 casos⁴, la mayoría de ellos en los países desarrollados, en los cuales, además, han sido documentados con estudios genéticos los subtipos de PHP. El subtipo 1a es el más común y representa el 70% de los casos¹. En América Latina se han reportado 47 casos entre 2000 y 2020⁵⁻¹⁰, siendo el subtipo más frecuentemente descrito el 1b, seguido del 1a ó 1c. En algunos casos por no disponer del estudio genético no es posible determinar con precisión a qué subtipo corresponden¹⁰.

Describimos a continuación el caso clínico de un varón de 18 años con aspecto fenotípico de osteodistrofia hereditaria de Albright (AHO).

PRESENTACIÓN DEL CASO

Un varón de 18 años acudió a la consulta de Endocrinología remitido por el Servicio de Neurología por crisis convulsivas asociadas a hipocalcemia persistente. Refería una historia de crisis convulsivas tónico-clónicas generalizadas desde los 15 años, por lo que había sido hospitalizado previamente, evidenciándose hipocalcemia que fue tratada con calcio intravenoso y anticonvulsivantes para controlar la emergencia, y suplementos de calcio oral al egreso hospitalario. No se realizaron más estudios para determinar la causa de la hipocalcemia.

Sus padres y familiares en primer grado no presentan historial médico de importancia. El paciente es hijo de matrimonio no consanguíneo. Nacido pretérmino por ruptura prematura de membranas a las 35 semanas de gestación, con hipoxia neonatal e hipotonía. Presentó un desarrollo motor y del lenguaje tardío, requiriendo de terapia del lenguaje desde los 5 hasta los 7 años y fisioterapia desde los 2 años, además de retraso en el aprendizaje escolar y siempre con sobrepeso. A los 12 años fue diagnosticado de hipotiroidismo primario y desde entonces toma 150 µg de levotiroxina sódica.



Correspondencia: Enrique López Gavilanez (enrique_lopezg57@hotmail.com)

Figura 1. Fascie característica y radiografía piezas dentarias

El paciente es el menor de 3 hermanos que no presentan antecedentes médicos de trascendencia.

Al examen físico presenta un fenotipo característico: obeso, estatura baja, cara redonda, frente prominente, puente nasal bajo, cuello corto, braquidactilia y piezas dentales incompletas (Figura 1). El peso era de 68,8 kg, y la talla, 153 cm (< percentil 3); el índice de masa corporal era 34 (> percentil 97). Las manos y los pies eran pequeños, con notable diferencia en el primer dedo de las 2 manos, correspondiente con braquidactilia tipo E2. En la figura 2 se observa en la radiografía el acortamiento marcado de los metacarpianos y de la falange distal de los pulgares (Figura 2). Además, se detecta radiológicamente calcificaciones subcutáneas en tórax posterior y dorso de pies.

El estadio puberal fue Tanner V: longitud del pene, 15 cm (normal >15 cm); volumen testicular, 30 ml bilateralmente (normal >20 ml).

Los signos de Chvostek y Trousseau fueron positivos, con niveles de calcio total: 1,67 mmol/L (valores normales -VN-: 2,12-2,57 mmol/L); fósforo sérico: 1,81 mmol/L

(VN: 0,8-1,6 mmol/L); hormona paratiroidea (PTH): 12,05 pmol/L (VN: 1,5-8,97 pmol/L), y vitamina D total (25-OH-D): 76,38 nmol/L (VN: 25-137 nmol/L).

En la evaluación bioquímica se estableció que la causa de las crisis convulsivas, parestesias y signos de Chvostek y Trousseau se debían a la hipocalcemia. Fue tratado con infusión intravenosa de calcio y fue referido a la consulta de Endocrinología para una evaluación integral.

En la densitometría ósea, realizada por absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) con un equipo DEXXUM-T (OsteoSys - Seúl, Corea), presentó disminución de la masa ósea para su edad y sexo en región lumbar (L1-L4), con preservación de la masa ósea en cuello de fémur (columna lumbar: 1,044 g/cm², Z-score: -2,6; y cuello de fémur: 1,146 g/cm², Z-score: 0,3).

La tomografía computarizada del cráneo reveló calcificaciones corticales y subcorticales, periventriculares, núcleos de la base y en cerebelo. En el estudio de resonancia magnética nuclear con medio de contraste se observó calcificaciones periventriculares.

Los resultados de las determinaciones hormonales y bioquímicas actuales se presentan en la tabla 1. La vitamina D total (25 hidroxivitamina D) se determinó por electroquimioluminiscencia (valor óptimo: 25-137 nmol/L). La PTH se determinó por quimioluminiscencia (valor normal: 1,5-8,97 pmol/L). No se realizó la determinación de 1,25 dihidroxivitamina D y AMPc inducida por PTH debido a la no disponibilidad de las pruebas en el hospital y por restricciones financieras.

El hemograma completo, los niveles de glucosa en sangre y las pruebas de la función hepática y renal fueron normales. El estudio bioquímico y hormonal de su madre presenta valores normales: calcio 2,35 mmol/L, fosforo: 1,13 mmol/L, TSH: 3,5 mU/L, T4 libre: 14,1 pmol/L, PTH: 2,58 pmol/L.

En el seguimiento, se monitorearon los niveles séricos de calcio y el cociente calcio/creatinina urinarios para lograr niveles séricos de calcio adecuados.

Actualmente el paciente se mantiene en tratamiento con suplementos de carbonato de calcio por vía oral, 3 g/día; calcitriol por vía oral, 1,5 mg/día; vitamina D3, 2.000 UI/día, y levotiroxina, 150 µg/día. Acude a controles en la consulta externa cada 3 meses con mediciones de calcio y fosforo séricos, PTH, vitamina D y hormonas tiroideas. Además, acude regularmente al Servicio de Neurología para control de sus crisis convulsivas y al Departamento de Psicología para soporte al paciente y su familia. El Servicio de Nutrición ofrece el asesoramiento dietético, y por sus alteraciones dentales está en tratamiento odontológico permanente.

DISCUSIÓN

El PHP es un síndrome clínicamente dismórfico que se caracteriza por defectos esqueléticos y del desarrollo¹¹, que incluyen estatura baja, cara redondeada, cuartos metacarpianos cortos y otros huesos de las manos y los pies, obesidad, hipoplasia dental, calcificaciones u osificaciones de tejidos blandos^{12,13}. Sin embargo, algunos casos pueden presentar características fenotípicas poco usuales^{12,13}. Las características bioquímicas de los pacientes con PHP son la hipocalcemia, la hiperfosfatemia y los niveles elevados de PTH¹².

En el presente caso se consideró el diagnóstico de pseudohipoparatiroidismo dados los resultados de laboratorio compatibles con resistencia a la PTH (hipocalcemia, hiperfosfatemia y PTH elevada), acompañados de las características fenotípicas de osteodistrofia hereditaria de Albright¹⁴ (AHO), lo cual nos orientó hacia un PHP tipo 1a ó 1c.

La hipocalcemia es consecuencia de la pérdida de la acción resortiva ósea de la PTH, lo que resulta en una

Figura 2. Fotografía y radiografía de las manos. Acortamiento marcado de los metacarpianos y falange distal de los pulgares



movilización defectuosa de calcio a partir del hueso y una menor absorción de calcio en el intestino¹².

La braquidactilia, descrita como acortamiento de los metacarpianos/metatarsianos III-V y de la falange distal del primer dedo, constituye una de las características más específicas del fenotipo Albright¹⁴. De las características fenotípicas de AHO resaltamos la braquidactilia tipo E del PHP; y este paciente presenta acortamiento significativo en el metacarpo y falange distal del dedo pulgar en ambas manos que podría considerarse una braquidactilia tipo E2^{14,15}.

Existe asociación del PHP con resistencia variable a múltiples hormonas que actúan a través de la proteína Gα. La resistencia a la TSH es la alteración hormonal que más comúnmente se ha asociado e incluso puede ser diagnosticada antes de la aparición de trastornos del metabolismo fosfocálcico¹⁶. En este caso la ausencia de anticuerpos antitiroideos apoya el diagnóstico de resistencia a la TSH¹¹.

La disfunción reproductiva se ha asociado con PHP 1a; sin embargo, los efectos del hipogonadismo son menos evidentes en los hombres¹⁶. Los caracteres sexuales secundarios normales y la determinación de hormonas sexuales descartan la posibilidad de alteración en el eje gonadal en nuestro paciente.

Tabla 1. Determinaciones hormonales y bioquímicas

Determinaciones de Laboratorio	Resultados	Unidades S.I.	Valores de normalidad
Albumina	4,00	g/L	35-50
Anticuerpos anti-peroxidasa tiroidea	35,00	UI/ml	≤35
Calcio en orina	1,12	mmol/día	<7,5
Calcio sérico total	1,67	mmol/L	2,12-2,57
Calcitonina	3,60	ng/L	<100
Creatinina	35,36	umol/L	≤106
Fósforo sérico	1,81	mmol/L	0,8-1,6
FSH	1,70	UI/L	2-15
T4 libre	14,16	pmol/L	10-23
Glucosa	4,88	mmol/L	<6,1
HbA1c	4,60	%	<5,7%
HOMA IR	2,30	--	2,1-2,7
Insulina plasmática	82,80	pmol/L	36-179
LH	1,83	UI/L	3-25
Potasio en suero	3,93	mmol/L	3,5-5,3
PTH	12,05	pmol/L	1,5-8,97
Pyrilinks D en orina	6,60	nM DPD/mM Creatinina	(2,3-5,4)
Sodio en suero	138,00	mmol/L	135-146
Testosterona	9,53	mmol/L	6,7-28,9
TSH	3,40	mU/L	0,5-4,70
Vitamina D total*	76,38	nmol/L	25-137

*: 25 hidroxivitamina D.

Existen discrepancias sobre los efectos de PHP en el esqueleto^{8,17,18}. Algunos estudios han reportado que la densidad ósea está reducida en pacientes con PHP¹⁷. Sin embargo, Long *et al.* analizaron la densidad mineral ósea en 22 sujetos con PHP 1a y encontraron que la masa ósea era normal o aumenta en todas las regiones óseas estudiadas¹⁸. Por el contrario, en este caso la densidad mineral ósea medida en la región lumbar presenta valores disminuidos comparados a los controles emparejados por edad y sexo, con preservación de la masa ósea en cuello de fémur.

En la literatura internacional, entre 2000 y 2019 se han descrito aproximadamente 325 casos de PHP^{4,16,17}. Una serie de 60 casos de PHP se publicó en Dinamarca en 2016, pero sólo en 30 (50%) de ellos se realizó una prueba genética para PHP, de los cuales en 14 se identificó una mutación en el gen GNAS1. En aquellos que no pudieron ser confirmados genéticamente (76%) se aceptó como diagnóstico los criterios bioquímicos y hormonales característicos, excluyendo a los casos con evidencia confirmada de insuficiencia renal, deficiencia de vitamina D, o cualquier otra causa conocida de hiperparatiroidismo secundario¹⁷. En 2013, en una serie de 72 casos con PHP atendidos en el Sistema Nacional de Salud español, se pudo hacer la confirmación genética en 63 de los casos (88%)¹⁶.

En América Latina, después de una búsqueda en la literatura entre 1957 y 2020, encontramos 32 publicaciones, en las que se reportan 56 casos de PHP. Solo en 6 de estas

publicaciones se realizó estudios genéticos para confirmar el diagnóstico. En la mayoría de los casos el diagnóstico se basó en el perfil bioquímico/hormonal y fenotípico.

No existen casos reportados previamente en nuestro país, lo que posiblemente se deba a un subdiagnóstico; sin embargo, los datos publicados a nivel mundial describen las características fenotípicas asociadas a la alteración bioquímica compatible con los hallazgos de nuestro paciente. En nuestro caso, no se pudo confirmar el diagnóstico clínico de PHP mediante un estudio genético, pero en la literatura es aceptado que las evidencias clínicas y bioquímicas pueden ser suficiente para hacer el diagnóstico de PHP^{4,11}.

En concordancia con los criterios internacionales^{12,15}, nuestro objetivo en el tratamiento a largo plazo ha sido reducir el nivel sérico de PTH al nivel superior del rango de referencia con 1-25 dihidroxivitamina D y calcio oral, para mejorar la reabsorción de calcio en el túbulo renal distal, prevenir la hipercalcemia y evitar alteraciones en la mineralización ósea¹⁸.

CONCLUSIONES

En los países de América Latina en los que no están disponibles los estudios genéticos, debemos tener presente que, ante un paciente con hipocalcemia severa y persistente asociada a PTH elevada con función renal normal y un fenotipo característico, tiene que surgir la sospecha diagnóstica de un PHP, aun a pesar de la falta de la confirmación genética.



Conflicto de intereses: Lo autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Mantovani G, Linglart A, Garin I, Silve C, Elli FM, de Nancrales GP. Clinical utility gene card for: pseudohypoparathyroidism. Eur J Hum Genet. 2013;21(6).
- Mantovani G. Pseudohypoparathyroidism. Orpha.net. Available at [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=12935&Disease_Search_disease-Group=Pseudohypoparathyroidism&Disease_Search_diseasesType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Pseudohypoparathyroidism&title=Pseudohypoparat](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=12935&Disease_Search_disease-Group=Pseudohypoparathyroidism&Disease_Search_diseasesType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Pseudohypoparathyroidism&title=Pseudohypoparat). October 2014; Accessed: August 29, 2020.
- Nakamura Y, Matsumoto T, Tamakoshi A, Kawamura T, Seino Y, Kasuga M, et al. Prevalence of idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism in Japan. J Epidemiol. 2000;10(1):29-33.
- Mantovani G, de Sanctis L, Barbieri AM, Elli FM, Bollati V, Vaira V, et al. Pseudohypoparathyroidism and GNAS epigenetic defects: clinical evaluation of Albright hereditary osteodystrophy and molecular analysis in 40 patients. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(2):651-8.
- Peña C, Pinochet C, Florenzano P, Mendoza C, Garfias C, Aracena M, et al. Pseudohypoparathyroidism report of two cases of late presentation. Rev Med Chile. 2018;146:116-21.
- Reis MT, Matias DT, Faria ME, Martin RM. Failure of tooth eruption and brachydactyly in pseudohypoparathyroidism are not related to plasma parathyroid hormone-related protein levels. Bone. 2016;85:138-41.
- Trejo MC, Román-González A, Ruiz S, Tobon C, Castano P, Arango C, et al. Late diagnosis of pseudohypoparathyroidism in adulthood. Case series. Rev Fac Med. 2018;66(4):643-9.
- Fernandez M, Zambrano MJ, Riquelme J, Castiglioni C, Kottler ML, Jüppner H, et al. Pseudohypoparathyroidism type 1B associated with assisted reproductive technology. J Pediatr Endocrinol Metab. 2017;30(10):1125-32.
- Arús Fernández AE, González Fabian L, García Bacallao E, Cormac Tur JB, González Fernández P, Castaño González L, et al. Seudohipoparatiroidismo 1b. Rev Cubana Endocrinol. 2019;30(2):e173.
- Carvalho B, Nascimento I, Cunha C, Morais J, Carvalho L. Osteodistrofia Hereditária de Albright: Um Relato de Caso. Rev Ciênc Saúde Nova Esperança. 2020;18(1):41-8.
- Mantovani G, Bastepe M, Monk D, de Sanctis L, Thiele S, Usardi A, et al. Diagnosis and management of pseudohypoparathyroidism and related disorders: first international Consensus Statement. Nat Rev Endocrinol. 2018;14(8):476-500.
- Linglart A, Levine M.A, Jüppner H. Pseudohypoparathyroidism (Chapter 86). In: John P. Bilezikian, ed. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Ninth Edition. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell; 2019.661-673.
- Hejlesen J, Underbjerg L, Gjørup H, Sikjaer T, Rejnmark L, Haubek D. Dental anomalies and orthodontic characteristics in patients with pseudohypoparathyroidism. BMC Oral Health. 2019;20(1):2.
- David A, Vincent M, Quéré MP, Lefrançois T, Frampas E, David A. Isolated and syndromic brachydactylies: Diagnostic value of hand X-rays. Diagn Interv Imaging. 2015;96(5):443-8.
- Germain-Lee EL. Management of pseudohypoparathyroidism. Curr Opin Pediatr. 2019;31(4):537-49.
- Fernández-Rebollo E, Lecumberri B, Gaztambide S, Martínez-Indart L, Perez de Nancrales G, Castaño L; Spanish PHP Group. Endocrine profile and phenotype-(epi)genotype correlation in Spanish patients with pseudohypoparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(5):E996-1006.
- Underbjerg L, Sikjaer T, Mosekilde L, Rejnmark L. Pseudohypoparathyroidism - epidemiology, mortality and risk of complications. Clin Endocrinol (Oxf). 2016;84:904-11.
- Long DN, Levine MA, Germain-Lee EL. Bone mineral density in pseudohypoparathyroidism type 1a. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(9):4465-75.

La osteocalcina: de marcador de formación ósea a hormona; y el hueso, un órgano endocrino

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400007>

Rubert M¹, De la Piedra C²

1 Equipo de Soporte Hospitalario. Cuidados Paliativos. Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles. Madrid (España)

2 Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica. Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz. Fundación Jiménez Díaz. Madrid (España)

Fecha de recepción: 30/11/2020 - Fecha de aceptación: 09/01/2021

Resumen

La osteocalcina es una proteína sintetizada por el osteoblasto. Antes de ser liberada a la matriz extracelular, la osteocalcina humana sufre una gamma-carboxilación, al unirse en las posiciones 17, 21 y 24 el ácido gamma-carboxi-glutámico. A la circulación pasa parte de osteocalcina carboxilada y descarboxilada. Desde su descubrimiento a finales de los años 70, se ha utilizado como marcador de formación ósea al ser un producto osteoblástico, y desconociéndose su papel en el organismo. En estos últimos años se ha descubierto que la osteocalcina es, en realidad, una hormona, y el hueso un órgano endocrino. La osteocalcina que actúa como hormona es la forma descarboxilada. La osteocalcina interviene en la homeostasis de la glucosa, en el funcionamiento del músculo esquelético, en el desarrollo cerebral, la fertilidad masculina, la esteatosis hepática y la calcificación arterial. En realidad todos estos hechos se han probado en ratones, pero existen indicios importantes de que esto podría ocurrir en humanos. Nos encontramos ante hechos que, de probarse, tendrían una enorme trascendencia clínica.

Palabras clave: osteocalcina, hormona, glucosa, insulina, músculo esquelético, desarrollo cerebral, esteatosis hepática, calcificación arterial.

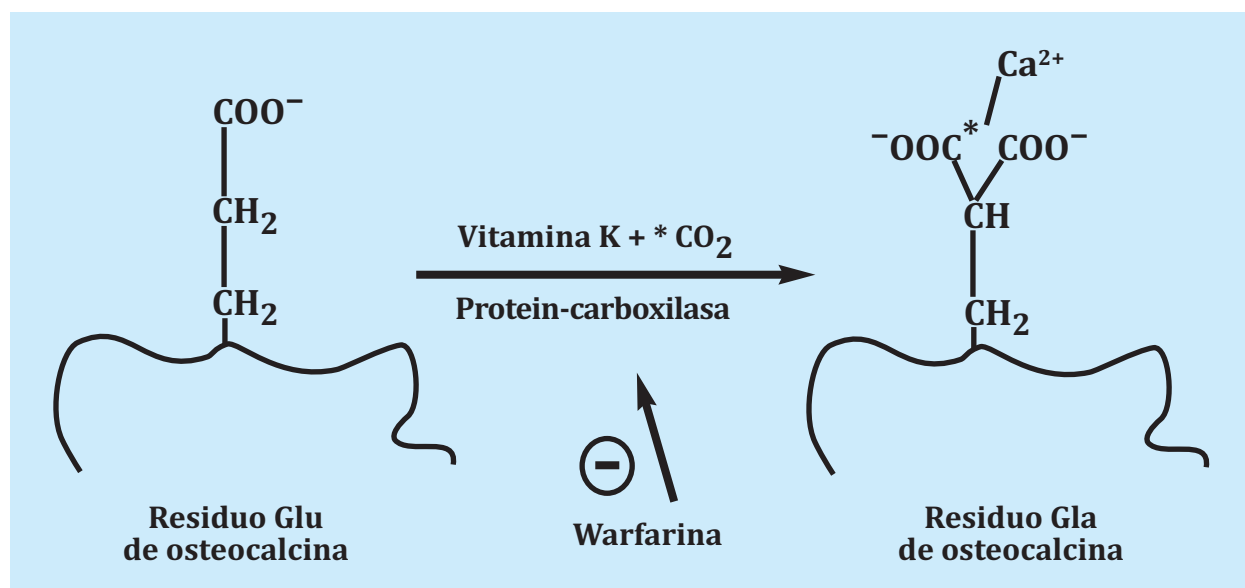
La osteocalcina es una proteína sintetizada por el osteoblasto que fue identificada a finales de los años 70, y que en el humano contiene 49 aminoácidos¹. Antes de ser liberada a la matriz extracelular, la osteocalcina sufre una gamma-carboxilación, al unirse en las posiciones 17, 21 y 24 el ácido gamma-carboxi-glutámico. En esta reacción interviene una gamma-carboxilasa y es necesaria la presencia de la vitamina K (Figura 1). La presencia de los dos grupos carboxilo provoca que la osteocalcina gamma-carboxilada tenga una gran afinidad por el calcio y que, al liberarse al medio extracelular, se una en gran proporción a la hidroxipatita del hueso. En la circulación queda una parte de esta osteocalcina gamma-carboxilada y también osteocalcina no carboxilada². Solo un 10-30% de la osteocalcina sintetizada alcanza la circulación, y el resto se queda unido a la matriz ósea. La osteocalcina no carboxilada representa 1/3 de la osteocalcina total. Durante la resorción, al destruirse la matriz ósea, parte de la osteocalcina que está unida al hueso pasa a la circulación². La osteocalcina es únicamente sintetizada por los osteoblastos y es la proteína no colágena más abundante de la ma-

triz extracelular y es la décima proteína más abundante en los vertebrados³. Desde el principio de su conocimiento sus niveles se correlacionaron con la formación ósea⁴. Para todos los investigadores del metabolismo del hueso supuso un avance contar con un nuevo marcador de formación ósea cuando los únicos marcadores de remodelado que se tenían hasta el momento eran la hidroxiprolina y la fosfatasa alcalina total. La isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina también se podía medir por un método bastante complejo mediante electroforesis. La osteocalcina se ha utilizado durante muchos años como marcador de formación ósea en prácticamente todos los trabajos que se realizaban al respecto. Se utiliza menos desde el año 2011 en que la *International Osteoporosis Foundation* (IOF) y la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) recomendaron que se utilizaran el propéptido N-terminal del colágeno tipo I (PINP) como marcador de formación y el β -telopéptido C-terminal del colágeno tipo I o β -crosslaps (β -CTX) como marcador de resorción en los estudios clínicos sobre osteoporosis⁵.



Correspondencia: Concepción de la Piedra (cpiedra@fjd.es)

Figura 1. Mediante una carboxilación post-traslacional el ácido glutámico de la osteocalcina se transforma en ácido gamma-carboxi-glutámico. La presencia de los dos grupos carboxilos provoca una gran afinidad por la unión al calcio Ca^{2+} de la matriz extracelular



Durante muchos años y a pesar de su abundancia se ignoraba cuál era el papel de la osteocalcina en el organismo. Debido a su modificación post-traslacional se pensó que estaba implicada en la mineralización del hueso. Pero cuando se consiguieron ratones sin osteocalcina (osteocalcina-/-) se evidenció que estos mutantes presentaban una mineralización totalmente normal, por lo cual quedaba claro que la función de la osteocalcina no estaba relacionada con la mineralización ósea⁶.

El hueso contiene osteoclastos, células cuya función es destruir hueso, y esta destrucción activa del hueso mineralizado requiere energía⁷. La formación ósea también requiere energía⁸. Debido a ello, grupos de investigadores como Karsenty y cols.^{9,10} plantearon la hipótesis de que el modelado y remodelado óseo deben estar asociados a la regulación del metabolismo energético. Probablemente, la cantidad de energía de la destrucción activa del hueso es proporcional a la superficie ocupada por el mismo. Este requerimiento energético es probablemente muy elevado, puesto que la resorción ósea no se produce como un hecho aislado, sino en el contexto de que debe haber una regulación coordinada de una función bifásica llamada modelado durante la infancia y remodelado en la vida adulta. Por ello, es por lo que los autores mencionados anteriormente plantearon la hipótesis de que el modelado y el remodelado óseo deben estar unidos a la regulación del metabolismo energético. Esta visión de una regulación coordinada de la masa ósea y del metabolismo energético está apoyada por evidencias clínicas. Por ejemplo, el crecimiento longitudinal del hueso se detiene en los niños y la masa ósea disminuye en los adultos con acceso severamente limitado a la comida (es decir, a la energía)¹¹. Además, otro nexo de unión entre remodelado óseo y metabolismo energético es que la masa ósea siempre declina en ambos sexos cuando disminuye la función gonadal. Considerando estas observaciones, se llega a la conclusión de que debe haber una regulación coordinada del crecimiento/masa del hueso, metabolismo energético y reproducción⁹.

Anteriormente mencionábamos que los ratones (osteocalcina-/-) tenían los huesos mineralizados normal-

mente, pero desarrollan algunos fenotipos que solo pueden ser explicados, dado el sitio de síntesis de la osteocalcina y su abundancia, si esta molécula estuviera actuando como una hormona. En efecto, los ratones mutantes (osteocalcina-/-) tenían más grasa visceral que los controles y además tenían menos crías. El estudio sistemático de estos fenotipos estableció que el hueso debía de ser un órgano endocrino y que la hormona que segrega, la osteocalcina, afecta al metabolismo energético y a la fertilidad. Es decir, que existe una regulación coordinada, endocrina en naturaleza del metabolismo energético y la reproducción. Una parte fundamental es que el hueso sería un órgano endocrino y no el receptor de la acción de las hormonas.

En este momento, el conocimiento de los mecanismos de acción de la osteocalcina en sus órganos diana es un trabajo que se está desarrollando. Por ejemplo, la adiposidad aumentada de los ratones (osteocalcina-/-) podría estar asociada a un descenso en el gasto energético y no a un incremento del apetito (otra función regulada por el hueso). La base molecular de este fenómeno no ha sido descubierta todavía¹⁰.

OSTEOCALCINA Y HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA

En un estudio de Wei y cols.⁹, en el que cultivaron osteoblastos de ratón con islotes pancreáticos, se observó que había un aumento de la expresión de insulina en los islotes. Los osteoblastos no incrementaban la expresión de ninguna otra hormona segregada por los islotes pancreáticos. Cuando se añadía osteoblastos procedentes de ratones (osteocalcina-/-) no se producía esta expresión de insulina. Así se demostró que los osteoblastos son células endocrinas que regulan la expresión de insulina y que la osteocalcina es la hormona responsable de esta acción. También se observó que los ratones (osteocalcina-/-) con una dieta normal eran hiperglucémicos e hipoinsulinémicos. La secreción de insulina estaba disminuida en ausencia de osteocalcina.

En este mismo estudio, un test de tolerancia a la glucosa demostró que los ratones (osteocalcina-/-) eran intolerantes a la glucosa porque tenían un descenso en la

expresión de insulina. Wei y cols.⁹ expresaron que el hecho de que la osteocalcina regule el metabolismo de la glucosa no es sinónimo de que el hueso sea el origen de la diabetes. Simplemente, aumenta el panorama de regulación del metabolismo de la glucosa.

Investigaciones llevadas a cabo en ratas con dieta normal muestran que la osteocalcina es necesaria y suficiente para promover la proliferación de las células β en los islotes pancreáticos, para promover la expresión y la secreción de insulina y para favorecer la captación de glucosa en los tejidos periféricos y por lo tanto la homeostasis de la glucosa¹².

El receptor que media la señal de la osteocalcina en las células β -pancreáticas y otros tejidos periféricos es un receptor acoplado a la proteína G denominado GPR6a¹³. La eliminación específica de genes y otros experimentos de genética han establecido que, *in vivo*, la osteocalcina es, sin lugar a dudas, el ligando que explica la regulación de la homeostasis de la glucosa a través del GPR6a¹⁰. La importancia biológica de la regulación de la osteocalcina en la homeostasis de la glucosa se ha verificado en ratones normales alimentados con una dieta alta en grasas. La osteocalcina exógena rescata casi completamente la intolerancia a la glucosa de estos animales¹⁴.

Era muy importante saber si estas acciones las producía la osteocalcina carboxilada o la descarboxilada. En las bacterias no existe gamma-carboxilación y así se pudo producir osteocalcina bacteriana recombinante que no estaba gamma-carboxilada. Esta osteocalcina no-carboxilada fue capaz de inducir expresión de insulina en los islotes pancreáticos, indicando que la forma no carboxilada de la osteocalcina es la que actúa como hormona⁹.

Los osteoblastos tienen en su superficie receptores de la insulina, y es de gran interés que la insulina y la osteocalcina están implicadas en un *loop* regulador, de tal modo que la señal de la insulina en los osteoblastos es necesaria para la buena homeostasis de la glucosa en todo el organismo⁹.

Los ratones que no tienen receptores de la insulina en los osteoblastos, cuando toman una dieta normal, sufren un descenso en la forma circulante activa de la osteocalcina, un descenso en la secreción de insulina, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. La señal de la insulina sobre los osteoblastos inhibe la expresión de osteoprotegerina y favorece la resorción ósea. El bajo pH que se produce bajo los osteoclastos favorece la formación de osteocalcina descarboxilada, que es la forma activa de la osteocalcina. Esta osteocalcina activa vuelve a actuar sobre las células β -pancreáticas y se forma nueva insulina que vuelve a actuar sobre el osteoblasto y comienza de nuevo el ciclo (Figura 2)¹⁵.

OSTEOCALCINA Y MÚSCULO ESQUELÉTICO

Una simple inyección de osteocalcina exógena inmediatamente antes del ejercicio o la administración crónica de esta hormona durante 1 mes, no solo incrementa la capacidad de ejercicio de los ratones jóvenes sino también restaura la capacidad de ejercicio de los ratones de más edad¹⁶. Al mismo tiempo que incrementa la fuerza muscular en los ratones de edad, la administración crónica de osteocalcina favorece la ganancia en masa muscular¹⁷. Es decir, que la osteocalcina exógena es no solamente necesaria sino suficiente para revertir el descenso en la capacidad de ejercicio y en la masa muscular observada en los ratones de más edad¹⁸.

La señal de la osteocalcina sobre el músculo esquelético se realiza a través del receptor GPR6a¹⁸. Se ha observado que la osteocalcina regula la captación y catabolismo de nutrientes en el músculo durante el ejercicio. La glucosa que es el principal nutriente utilizado por el músculo esquelético para generar energía durante el ejercicio se almacena en las miofibras en forma de glucógeno. La degradación del glucógeno en el músculo esquelético durante el ejercicio es menor en los ratones que no tienen el receptor GPR6a y en los ratones (osteocalcina-/-), demostrando que la osteocalcina favorece la glucogenólisis.

También se ha observado que la acumulación de intermediarios del ciclo tricarboxílico en el músculo esquelético que se ve en los ratones después del ejercicio no se observa en los ratones (GPR6a-/-), lo que indica que no hay entrada de ATP procedente del ciclo tricarboxílico. Durante un periodo largo de ejercicio, cuando los animales terminan su reserva de glucógeno, la captación y catabolismo de los ácidos grasos se incrementa en el músculo esquelético¹⁹. La osteocalcina favorece la oxidación de los ácidos grasos en las miofibras. La señal de la osteocalcina en las miofibras promueve la captación y el catabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos durante el ejercicio, por eso se observa un descenso de actividad física en los ratones (osteocalcina-/-) y (GPR6a-/-) cuando se comparan con los controles²⁰.

Se conoce desde hace décadas que el ejercicio induce cambios en el sistema inmune²¹. La interleucina 6 (IL6) fue la primera molécula que se vio que se liberaba a la sangre en respuesta a la contracción muscular²². La IL6 promueve la captación de glucosa y la oxidación de los ácidos grasos en el músculo esquelético, aumentando la producción de glucosa en el hígado y la lipólisis en el tejido adiposo²³.

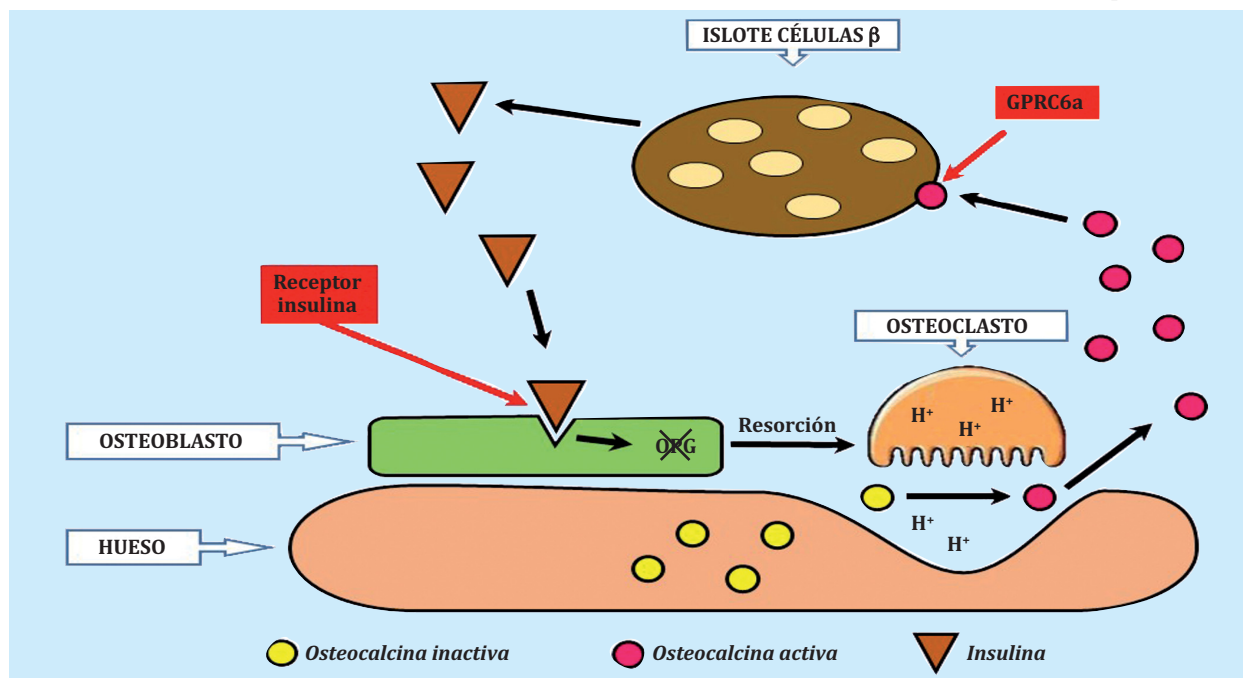
El ejercicio induce la resorción ósea y la producción de osteocalcina bioactiva. Los ratones (IL6-/-) después del ejercicio no aumentan los marcadores de resorción ósea ni la osteocalcina bioactiva, como pasa en ratones sanos. Esto sugiere la existencia de un *loop* entre el hueso (vía osteocalcina) y el músculo (vía IL6) que promueve la adaptación al ejercicio²⁰. Así pues:

- La osteocalcina aumenta la captación de nutrientes y su catabolismo en el músculo esquelético.
- La osteocalcina aumenta la secreción de IL6 en el músculo esquelético. Esto da lugar a la generación de glucosa extra-muscular y ácidos grasos²⁴.
- La IL6 aumenta la producción de osteocalcina bioactiva²⁰.

La IL6 y la osteocalcina regulan aspectos similares del metabolismo esquelético durante el ejercicio, incrementando la glucosa y el catabolismo de los ácidos grasos. Pero, ¿actúa la osteocalcina independientemente de la IL6 en estos procesos? Mera y cols.¹⁶ estudiaron la acción de la osteocalcina sobre un cultivo de miofibras en ratones normales y ratones (IL6-/-). La osteocalcina indujo estas funciones en los dos tipos de cultivo, lo que revela que la IL6 no es requerida para la acción catabólica de la osteocalcina en el músculo esquelético.

La identificación de un puente entre el hueso, vía osteocalcina, y el músculo esquelético, vía IL6, que es necesario y suficiente para promover la adaptación al ejercicio en animales jóvenes y mayores, representa un avance significativo en nuestro conocimiento de cómo el sistema muscular esquelético controla una función que es esencial para la supervivencia de todos los vertebrados²⁰.

Figura 2. Ciclo osteocalcina-insulina. La osteocalcina descarboxilada, forma activa, se une al receptor GPRC6a de las células β pancreáticas, provocando la liberación de insulina. La insulina se une entonces al receptor de la insulina en el osteoblasto, provocando una disminución de la síntesis de osteoprotegerina y un aumento de la resorción ósea. En el ambiente ácido del osteoclasto, la osteocalcina inactiva, gamma carboxilada, se convierte en activa, no-carboxilada. La osteocalcina activa vuelve a comenzar el ciclo uniéndose a las células β de los islotes pancreáticos



Basada en Wei y cols.⁹

OSTEOCALCINA Y DESARROLLO CEREBRAL

La osteocalcina es necesaria para el desarrollo del cerebro y para su funcionamiento. Su ausencia en ratones produce un profundo déficit en el conocimiento espacial y la memoria y una exacerbación de la ansiedad. La osteocalcina podría prevenir el descenso de conocimientos debido a la edad²⁵.

El factor neurotrófico BDNF, una molécula muy conocida que participa en la memoria, dependiente del hipocampo, es el mediador de la regulación de la osteocalcina sobre la función cognitiva²⁶. La osteocalcina no carboxilada es capaz de estimular la dinámica del transporte de vesículas de BDNF hacia la sinapsis en las neuronas de ratas²⁵.

Khrimian y cols.²⁷ identificaron el receptor que traslada la señal de la osteocalcina a las neuronas. Es el Gpr158, un receptor unido a la proteína G expresado en las neuronas en la región CA3 del hipocampo, que transmite la señal de la osteocalcina a través del inositol 1,4,5-trifosfato y un factor neurotrófico derivado del cerebro. Esto es muy importante de cara a futuras acciones terapéuticas.

OSTEOCALCINA Y FERTILIDAD MASCULINA

La osteocalcina descarboxilada actúa sobre las células de Leydig de los testículos favoreciendo la biosíntesis de testosterona²⁸. La osteocalcina descarboxilada actúa a través del receptor GPRC6a, al igual que lo hacía sobre las células β -pancreáticas.

También se ha demostrado que la osteocalcina actúa vía un eje páncreas-hueso-testículos que regula, independientemente y en paralelo al eje hipotálamo-pituitaria-testículos, la función reproductiva masculina, promoviendo la biosíntesis de testosterona²⁹.

OSTEOCALCINA Y ESTEATOSIS HEPÁTICA

En ratones con una dieta rica en grasa, inyecciones diarias de osteocalcina de 3 ó 30 ng/g de peso/día restauran par-

cialmente la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa. Más aún, los ratones tratados con inyecciones intermitentes de osteocalcina presentaban un gasto aumentado de energía y estaban protegidos de la obesidad inducida por la dieta. Por último, la esteatosis hepática inducida por la dieta rica en grasas era evitada totalmente en los ratones que recibían la osteocalcina a diario. Estos resultados evidencian que las inyecciones diarias de osteocalcina mejoran el manejo de la glucosa y evitan el desarrollo de la diabetes tipo 2¹⁴.

OSTEOCALCINA Y CALCIFICACIÓN ARTERIAL

En la "paradoja calcificación ósea-vascular" existe una elevada calcificación en los vasos, conduciendo a rigidez arterial y enfermedad cardio-vascular y una reducida calcificación en el hueso que conduce a osteoporosis y fractura ósea. Esto conduce a la hipótesis de que los desórdenes en el metabolismo óseo y los cardiovasculares podrían tener vías patogénicas comunes, conduciendo a la expresión "eje óseo-vascular"³⁰. Varias moléculas parecen jugar un papel en este eje, y una de ellas sería la osteocalcina.

Rashdan y cols. mantienen la hipótesis de que la osteocalcina regula la calcificación de las células del músculo liso vascular³¹. La inmunohistoquímica revela la co-localización de la osteocalcina con la calcificación de las células del músculo liso vascular en placas calcificadas de arterias carótidas. La implicación de la osteocalcina en el desarrollo de arteriosclerosis está avalada por un reciente meta-análisis de Millar y cols.³², en el que se observa una relación entre la osteocalcina y los marcadores de arteriosclerosis en muestras histológicas. En este mismo estudio, los autores no encontraron diferencias entre los niveles de osteocalcina en pacientes con y sin eventos vasculares. Es decir, que la osteocalcina parece ser un marcador sólo del proceso de calcificación.

OSTEOCALCINA EN HUMANOS

Hasta ahora, toda la revisión realizada sobre el papel de la osteocalcina como hormona se ha centrado en experimentos en ratones o ratas. Resulta de extraordinaria importancia conocer si estos hechos se pueden trasladar al humano, con las implicaciones clínicas que ello conllevaría.

Una revisión sistemática de la literatura realizada entre el año 2007 y el 2014 identificó 82 estudios que observaban que los niveles séricos de osteocalcina descarboxilada o total se correlacionan negativamente con la glucosa sanguínea, la resistencia a la insulina, la obesidad o marcadores del síndrome metabólico. Más aún, algunos de los datos obtenidos en humanos apoyan un papel de la osteocalcina en la secreción de insulina³³.

Se ha observado que el tratamiento con bifosfonatos descende la osteocalcina no carboxilada en el suero y que los niveles de la misma y/o los marcadores de la sensibilidad o la secreción de insulina se correlacionan positivamente con los marcadores de resorción ósea en humanos³⁴.

Se ha visto también que pacientes con una forma dominante de osteopetrosis debido a un defecto en la actividad del osteoclasto se caracterizan por niveles descendidos de osteocalcina descarboxilada e hipoinsulinemia¹⁵.

Cambios en los niveles de osteocalcina, siguiendo tratamientos con bifosfonatos, se asocian con cambios en la masa y la grasa corporal³⁵.

Oury y cols. analizaron una cohorte de pacientes con fallo testicular, e identificaron 2 individuos con una variante en uno de los dominios del GPRC6a. Estos pacientes presentaban intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina³⁶.

Se han comparado los niveles de osteocalcina entre pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y población no diabética, teniendo los diabéticos menores niveles de osteocalcina³⁷. Los pacientes con síndrome metabólico también tienen menos niveles de osteocalcina total que los individuos sanos. Además existe una correlación entre osteocalcina total y descarboxilada con marcadores del estado glicémico y otros parámetros cardio-metabólicos³⁸. Estos autores señalan la necesidad de profundizar en estos hallazgos y su

posible participación en la salud humana, así como analizar su posible potencial terapéutico.

Un estudio observacional evaluó la asociación entre niveles séricos de osteocalcina y capacidad de conocimiento en adultos sanos, demostrando que se correlaciona positivamente con medidas de conocimiento global en mujeres ancianas³⁹. En niños y adolescentes con hígado graso no alcohólico, la concentración de osteocalcina se correlaciona inversamente con las enzimas hepáticas y con la severidad de la enfermedad⁴⁰.

Smith y cols., en un trabajo realizado en 2020⁴¹, han estudiado los valores normales de osteocalcina descarboxilada y carboxilada en hombres adultos. Estos valores deberían ser introducidos en futuros estudios en los ensayos clínicos y asociarlos a la predicción de sucesos como fracturas o riesgo de diabetes. La cantidad de evidencias sobre los efectos multiorgánicos de la osteocalcina descarboxilada, apoyados en los hechos demostrados *in vivo* y *in vitro*, señalan la necesidad de profundizar en estos hallazgos y su posible participación en la salud humana, así como analizar su posible potencial terapéutico.

CONCLUSIONES

Resultan verdaderamente sorprendentes los descubrimientos que se han hecho estos últimos años sobre el papel de la osteocalcina como hormona y del hueso como órgano endocrino. La osteocalcina, que para los investigadores del metabolismo óseo era simplemente un marcador de formación ósea sin ninguna función conocida.

En ratones, la osteocalcina está implicada en la homeostasis de la glucosa, en el funcionamiento del músculo esquelético, en el desarrollo cerebral, en la esteatosis hepática, en la fertilidad masculina y en la calcificación arterial.

Empezamos a conocer trabajos que parecen anticipar que esto podría suceder también en el hombre.

Resulta de extraordinaria importancia abordar este tipo de investigación en el humano, porque si lo sucedido en el hombre fuera semejante a lo que ocurre con la osteocalcina en los ratones, las implicaciones terapéuticas de este compuesto serían extraordinariamente interesantes.



Conflicto de intereses: Las autoras declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Price PA, Otsuka AA, Poser JW, Kristaponis J, Raman N. Characterization of a gamma-carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1976;73:1447-51.
- Poser JW, Esch FS, Ling NC, Price PA. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. Undercarboxylation of the first glutamic acid residue. *J Biol Chem*. 1980;225:8685-91.
- Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K dependent proteins in bone. *Physiol Rev*. 1989;69:990-1047.
- Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis Int*. 2000;11 (Supl 6):S2-17.
- Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnero 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. *Osteoporosis Int*. 2011;22:391-420.
- Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Stacy B, Dunstan C, et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*. 1996;382:448-52.
- Kim JM, Jeong D, Kang HK, Jung SY, Lee SH, Choi Y, et al. Osteoclast precursors display dynamic metabolic shifts toward accelerated glucose metabolism at an early stage of RANKL-stimulated osteoclast differentiation. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20:935-46.
- Karsenty G, Kronenberg HM, Settembre C. Genetic control of bone formation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2009;25:629-48.
- Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic function of osteocalcin. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16:93-8.
- Karsenty G. Update on the biology of osteocalcin. *Endocr Pract*. 2017;23:1270-4.
- Misra M, Klibansky A. The neuroendocrine basis of anorexia nervosa and its impact on bone metabolism. *Neuroendocrinology*. 2011;93:65-73.
- Lee NK, Sowa H, Hinojosa E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007;130:456-69.
- Wei J, Hanna T, Suda N, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin promotes b-cell proliferation during development and adulthood through Gprc6a. *Diabetes*. 2014;63:1021-31.
- Ferron M, McKee MD, Levine RL, Ducy P, Karsenty G. Intermittent injections of osteocalcin improve glucose metabolism and prevent type 2 diabetes in mice. *Bone*. 2012;50:568-75.
- Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fat-tore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010;142:296-308.
- Mera P, Laue K, Ferron M, Confavreux C, Wei J, Galan-Diez M, et al. Osteocalcin signaling in myofibers is necessary and sufficient for optimum adaptation to exercise. *Cell Metab*. 2016;23:1078-92.
- Mera P, Laue K, Wei J, Berger JM, Karsenty G. Osteocalcin is necessary and sufficient to maintain muscle mass in older mice. *Mol Metab*. 2016;5:1042-7.
- Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, et al. Searching for the exercise factor: is IL6 a candidate? *Muscle Res Cell Motil*. 2003;24:113-9.
- Hawley JA, Hargreaves M, Joyner MJ, Zierath JR. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014;159:738-49.
- Karsenty G, Mera P. Molecular bases of the crosstalk between bone and muscle. *Bone*. 2018;115:43-9.
- Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration and adaptation. *Physiol Rev*. 2000;80:1055-81.
- Overmaier KA, Evans CR, Qi NR, Mino-gue CE, Carson JJ, Chermide-Scabbo CJ, et al. Maximal oxidative capacity during exercise is associated with skeletal muscle fuel selection and dynamic changes in mitochondrial acetylation. *Cell Metab*. 2015;21:468-78.
- Febbraio MA, Hiscock N, Sachetti M, Fischer CP, Pedersen BK. Interleukin 6 is a novel factor mediating glucose homeostasis during skeletal muscle contraction. *Diabetes*. 2004;53:1643-8.
- Van Hall G, Steensberg A, Sachetti M, Fisher C, Keller C, Schjerling P, et al. Interleukin 6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:3005-10.
- Obri A, Khirman L, Karsenty G, Oury F. Osteocalcin in the brain: from embryonic development to age-related decline in cognition. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14:174-82.
- Hall J, Thomas KL, Everitt BJ. Rapid and selective induction of BDNF expression in the hippocampus during contextual learning. *Nat Neurosci*. 2000;3:533-5.
- Khirman L, Obri A, Ramos-Brossier, Rousseaud A, Moriceau S, Nicot AS, et al. Gpr158 mediates osteocalcin's regulation of cognition. *J Exp Med*. 2017;214:2859-73.
- Oury F, Sumara G, Sumara O, Ferron M, Chang H, Smith CE, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*. 2011;144:796-809.
- Karsenty G, Oury F. Regulation of male fertility by the bone-derived hormone osteocalcin. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;382:1-13.
- D'Onofrio L, Maddaloni E, Buzzetti R. Osteocalcin and sclerostin: background characters or main actors in cardiovascular disease? *Diabetes Metab Res Rev*. 2020;36:e3217.
- Rashdan NA, Sim AM, Lin C, Phadwal K, Roberts F, Carter R, et al. Osteocalcin regulates arterial calcification via altered Wnt signalling and glucose metabolism. *J Bone Miner Res*. 2020;35:357-67.
- Millar SA, Patel H, Anderson SI, England TJ, O'Sullivan SE. Osteocalcin, vascular calcification and arteriosclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:183.
- Ferron M, Lacombe J. Regulation of energy metabolism by the skeleton: osteocalcin and beyond. *Arch Biochem Biophys*. 2014;561:137-46.
- Thrall KM, Jo CH, Cockrell GE, Moreau CS, Lumpkin CK Jr, Fowlkes JL. Determinants of undercarboxylated and carboxylated osteocalcin in type 1 diabetes. *Osteoporosis Int*. 2012;23:1799-806.
- Schafer AL, Sellmeyer DE, Schwartz AV, Rosen CJ, Vittinghoff L, Palermo L, et al. Change in undercarboxylated osteocalcin is associated with changes in body weight, fat mass, and adiponectin: parathyroid hormone (1-84) or alendronate therapy in postmenopausal women with osteoporosis (the PaTH study). *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1982-9.
- Oury F, Ferron M, Huizen W, Confavreux C, Wei J, Galan-Diez M, et al. Osteocalcin regulates murine and human fertility through a pancreas-bone-testis axis. *J Clin Invest*. 2013;123:2421-33.
- Liu C, Wo J, Zhao Q, Wang Y, Wang B, Zhao W. Association between serum total osteocalcin level and type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Horm Metab Res*. 2015;47:813-9.
- Luo Y, Ma X, Hao Y, Xiong Q, Xu Y, Pan X, et al. Relationship between serum osteocalcin level and carotid intima-media thickness. *Horm Metab Res*. 2015;47:813-819. *Cardiovascular Diabetol*. 2015;14:82.
- Bradburn S, McPhee JS, Bagley L, Sipilä S, Stenroth L, Narici MV, et al. Association between osteocalcin and cognitive performance in healthy older adults. *Age Ageing*. 2016;45:844-9.
- Amin S, El Amrousy D, Elrifay S, Gamal R, Hodeib H. Serum children osteocalcin levels with nonalcoholic fatty liver disease. *J Pediatric Gastroenterol Nutr*. 2018;66:117-21.
- Smith C, Voisin S, Al Saedi A, Phu S, Brennan-Speranza T, Parker L, et al. Osteocalcin and its forms across the lifespan in adult men. *Bone*. 2020;130:115085.

Conexina 43 y senescencia celular: nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la artrosis

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400008>

Carpintero-Fernández P¹, Sánchez Temparno A¹, Varela Eírin M^{1,2}, García-Yuste A¹, Yáñez Cabanas J³, Díez-Ulloa A³, Caeiro JR³, Mayan MD¹

¹ Grupo de Investigación CellCOM. Instituto de Investigación Biomédica de A Coruña. A Coruña (España)

² Instituto Europeo de Investigación para la Biología del Envejecimiento (ERIBA). Centro Médico Universitario de Groningen (UMCG). Universidad de Groningen (RUG). Groningen (Holanda)

³ Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Universidad de Santiago de Compostela (USC). Santiago de Compostela (España)

Fecha de recepción: 04/12/2020 - Fecha de aceptación: 10/01/2021

La artrosis (OA) es una de las enfermedades reumáticas más prevalentes hoy en día, y está caracterizada por la progresiva degeneración del cartílago articular acompañada por alteraciones en otros tejidos, como son en el hueso subcondral, el tejido sinovial o el músculo. En la actualidad, la OA es una de las causas más frecuentes de incapacidad en la población envejecida a nivel mundial, siendo una de las principales causas de dolor crónico. Desde el punto de vista biomecánico, la articulación está implicada en el mantenimiento del soporte mecánico estabilizando el movimiento y la flexión. Las consecuencias mecánicas de la degeneración articular incluyen la pérdida de estabilidad o el aumento de la tensión de carga en las articulaciones, asociadas a cambios en la estructura y composición del cartílago articular. Dado que todavía no se conocen los mecanismos moleculares por los cuales se produce la degradación del tejido articular y la pérdida de homeostasis de este, los tratamientos actuales disponibles se basan en el uso de antiinflamatorios y fármacos para paliar el dolor.

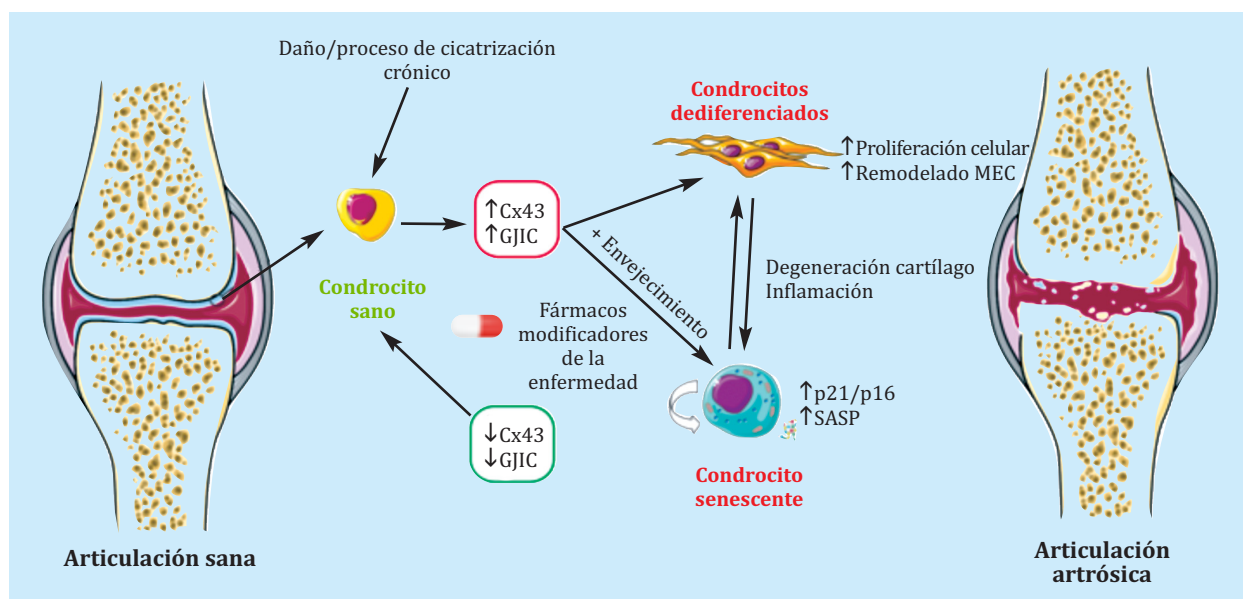
El cartílago articular es un tejido con propiedades mecánicas únicas formado por una densa matriz extracelular (MEC) que recubre la superficie del hueso en las articulaciones móviles, compuesta principalmente por distintos tipos de colágeno, proteoglicanos y glicoproteínas. Los condrocitos, único tipo celular descrito en el cartílago articular, son las células encargadas de sintetizar los componentes de la MEC, así como del mantenimiento de la homeostasis del tejido. Teniendo en cuenta la distribución de los condrocitos dentro del cartílago, hasta hace unos pocos años se creía que los condrocitos se encontraban de forma aislada en lagunas insertadas en la MEC sin ningún tipo de interacción o comunicación celular entre ellos. Sin embargo, resultados recientes han demostrado que los condrocitos presentan proyecciones citoplasmáticas que son capaces de atravesar la MEC y conectar células distantes¹. En línea con estos resultados, se ha demostrado que los condrocitos expresan varias proteínas de la familia de las conexinas, implicadas en la comunicación celular a tra-

vés de uniones comunicantes (*gap junctions*, *GJs*). En el caso del cartílago, los condrocitos son capaces de comunicarse a través de canales de conexinas formados fundamentalmente por conexina 43 (Cx43)². Además, a través de estas proyecciones citoplasmáticas y uniones comunicantes, los condrocitos son capaces de intercambiar diferentes metabolitos y pequeñas moléculas como ATP o ARN además de aminoácidos y proteínas^{1,3}. Por otro lado, varios estudios indican que la sobreactividad de la Cx43 desencadena en un proceso inflamatorio y degenerativo relacionado con la degradación de la articulación en pacientes con OA². En nuestro grupo de investigación hemos demostrado que alteraciones en la actividad de la Cx43 desencadenan en cambios en el fenotipo de los condrocitos acompañados de un aumento en los niveles de expresión de interleucina-1 β (IL-1 β), ciclooxigenasa-2 (COX-2) y metaloproteasa-3 (MMP-3)⁴ asociados al progreso de la enfermedad. La sobreexpresión de la Cx43 en una línea de condrocito aumenta los marcadores tipo CD105 y CD166 asociados a células des-diferenciadas tipo *stem*, así como la translocación al núcleo del factor de transcripción Twist-1, lo que indica que podrían estar sufriendo un proceso de transición epitelio-mesénquima (TEM)⁴. Por último, la sobreactividad de la Cx43 se asocia con un aumento de los niveles marcadores de senescencia tales como p53, p16 y β -galactosidasa, así como de activación de NF- κ B acompañado de un fenotipo senescente y aumento en la secreción de citoquinas inflamatorias, conocido como fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP)⁴. Estos resultados ponen en evidencia que alteraciones en la expresión y actividad de la Cx43 podrían estar jugando un papel esencial en el desarrollo y en el progreso de la enfermedad al modular el fenotipo del condrocito adulto. De hecho, la disminución de la actividad de la Cx43 utilizando diferentes compuestos mejora la capacidad de regeneración de diferentes tejidos y en diferentes modelos de patologías asociadas a la edad^{5,6}, reforzando el papel de esta proteína transmembrana en la degeneración tisular y senescencia.



Correspondencia: María D. Mayán (MA.Dolores.Mayan.Santos@sergas.es)
José Ramón Caeiro (Jose.Ramon.Caeiro.Rey@sergas.es)

Figura 1. La Cx43 está involucrada en los procesos de des-diferenciación y senescencia en condrocitos asociados a procesos inflamatorios y degenerativos en pacientes con OA. La disminución de los niveles de la Cx43 con fármacos modificadores de la artrosis (DMARDs) podría revertir este proceso y favorecer un ambiente regenerativo que evitara el progreso de la enfermedad



Sin duda son necesarios más estudios al respecto, pero, hoy en día con los resultados que tenemos, podríamos concluir que la Cx43 es una diana terapéutica de interés para mantener el fenotipo de condrocito adulto, y evitar procesos de dediferenciación y senescencia celular asociada a un fenotipo inflamatorio y degenerativo cuando se mantiene en el tiempo (de forma crónica). De hecho, modelos *in vitro* ya han demostrado su utilidad al reducir marcadores de senescencia celular y favorecer la re-diferenciación del condrocito restaurando la capacidad de regeneración del tejido⁷⁻⁹. A mayores, cabe destacar que resultados obtenidos recientemente por nuestro grupo de investigación indican que el aumento de Cx43 podría estar también involucrado en la degeneración tisular y acumulación de células senescentes en casos de degeneración de disco intervertebral, sugiriendo que terapias dirigidas a modificar a la Cx43 podrían ser de utilidad en el tratamiento de patologías degenerativas en el disco intervertebral.

En los últimos años, diferentes fármacos modificadores de la OA han sido propuestos como nuevas estrategias terapéuticas debido a su capacidad para favorecer la condrogénesis, promoviendo así la re-diferenciación de los condrocitos y mejorando la regeneración tisular.

Por otro lado, moléculas capaces de reducir los niveles de Cx43, como la oleuropeína¹⁰, mejoran la formación de MEC en modelos 3D al aumentar los niveles de colágeno tipo II y proteoglicanos, y también mejoran el fenotipo del condrocito artrósico reduciendo los niveles de expresión génica de interleuquinas inflamatorias y metaloproteasas^{10,11}.

Estos y otros trabajos ponen en evidencia que niveles elevados de Cx43 en el cartílago observados desde primeros estadios de la enfermedad podrían estar relacionados con la activación de procesos de degradación del cartílago articular al activar la transición epitelio-mesénquima (des-diferenciación celular) y aumentar senescencia celular de forma sinérgica (Figura 1). Sin duda, el uso de moléculas y compuestos que disminuyan los niveles o la actividad de esta proteína resultará de interés para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de enfermedades degenerativas musculoesqueléticas asociadas a la edad como la artrosis.

Agradecimientos: Las figuras se han realizado utilizando el material disponible en "Servier Medical Art" (smart.servier.com), y Creative Commons Attribution 3.0. Unported License.



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

Bibliografía

- Mayan MD, Gago-Fuentes R, Carpintero-Fernández P, Fernández-Puente P, Filgueira-Fernández P, Goyanes N, et al. Articular chondrocyte network mediated by gap junctions: role in metabolic cartilage homeostasis. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(1):275-84.
- Mayan MD, Carpintero-Fernández P, Gago-Fuentes R, Martínez-de-Illar-duya O, Wang HZ, Valiunas V, et al. Human articular chondrocytes express multiple gap junction proteins: differential expression of connexins in normal and osteoarthritic cartilage. *Am J Pathol*. 2013;182(4):1337-46.
- Carpintero-Fernández P, Gago-Fuentes R, Wang HZ, Fonseca E, Caeiro JR, Valiunas V, et al. Intercellular communication via gap junction channels between chondrocytes and bone cells. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2018;1860(12):2499-505.
- Varela-Eirín M, Varela-Vázquez A, Gutiérrez-Caamaño A, Paíno CL, Mato V, Largo R, et al. Targeting of chondrocyte plasticity via connexin43 modulation attenuates cellular senescence and fosters a pro-regenerative environment in osteoarthritis. *Cell Death Dis*. 2018;9(12):1166.
- Ghatnekar GS, O'Quinn MP, Jourdan LJ, Gurjarpadhye AA, Draughn RL, Gourdier RG. Connexin43 carboxyl-terminal peptides reduce scar progenitor and promote regenerative healing following skin wounding. *Regen Med*. 2009;4(2):205-23.
- Ghatnekar GS, Grek CL, Armstrong DG, Desai SC, Gourdier RG. The effect of a connexin43-based Peptide on the healing of chronic venous leg ulcers: a multicenter, randomized trial. *J Invest Dermatol*. 2015;135(1):289-98.
- Mendoza-Naranjo A, Cormie P, Serrano AE, Wang CM, Thrasivoulou C, Sutcliffe JE, et al. Overexpression of the gap junction protein Cx43 as found in diabetic foot ulcers can retard fibroblast migration. *Cell Biol Int*. 2012;36(7):661-7.
- Grogan SP, Miyaki S, Asahara H, D'Lima DD, Lotz MK. Mesenchymal progenitor cell markers in human articular cartilage: normal distribution and changes in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):R85.
- Rai MF, Sandell LJ. Regeneration of articular cartilage in healer and non-healer mice. *Matrix Biol*. 2014;39:50-5.
- Varela-Eirín M, Carpintero-Fernández P, Sánchez-Temparno A, Varela-Vázquez A, Paíno CL, Casado-Díaz A, et al. Senolytic activity of small molecular polyphenols from olive restores chondrocyte redifferentiation and promotes a pro-regenerative environment in osteoarthritis. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(16):15882-905.
- Varela-Eirín M V-VA, Blanco A, Caeiro JR, Mayán MD. A novel therapeutic target for osteoarthritis: control of cellular plasticity and senescence using connexin43. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*. 2019;11(2):46-54.

COVID-19 y vitamina D. Documento de posición de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM)

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000400009>

Pérez Castrillón JL¹, Casado E², Corral Gudino L¹, Gómez Alonso C³, Peris P⁴, Riancho JA⁵

¹ Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid (España)

² Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Parc Tauli. Sabadell (España)

³ Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo y Mineral. Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo (España)

⁴ Servicio de Reumatología. Hospital Clínico. Barcelona (España)

⁵ Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander (España)

INTRODUCCIÓN

La vitamina D ejerce su efecto fundamentalmente a través de su metabolito activo, el 1,25-dihidroxicolecalciferol, mediante su unión a un receptor cuya distribución por las diferentes células del organismo es muy amplia. Este receptor regula la expresión de genes implicados en diferentes funciones biológicas, incluyendo desarrollo de órganos, control del ciclo celular, metabolismo fosforocálcico, detoxificación, y control de la inmunidad innata y adaptativa^{1,2}. La regulación del receptor de la vitamina D viene determinada por factores ambientales, genéticos y epigenéticos que interactúan entre sí.

La vitamina D incrementa la absorción intestinal y la reabsorción tubular de calcio, inhibiendo la síntesis de PTH. Ello conduce a disminución del recambio óseo, lo que contribuye al mantenimiento de su resistencia y la reducción del riesgo de fracturas. Además, ejerce un efecto intraóseo, facilitando la mineralización de la matriz, lo que previene el desarrollo de raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos. Se han publicado numerosos estudios que muestran una asociación entre niveles bajos de vitamina D y diversas enfermedades crónicas, como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, esclerosis múltiple y enfermedades infecciosas, entre otras³. Estas asociaciones pueden explicarse a través de diferentes mecanismos fisiopatológicos relacionados con el déficit de vitamina D.

Durante el año 2020 se ha producido la pandemia derivada de la COVID-19 con un elevado índice de contagiosidad y mortalidad. La gravedad del proceso ha obligado a aplicar medidas terapéuticas sin una clara evidencia científica⁴. Muchas de ellas no han mostrado eficacia en posteriores estudios de cohortes y ensayos clínicos de diferente naturaleza, por lo que han sido retiradas. Algunas han mostrado utilidad en determinados periodos de la enfermedad.

La vitamina D es una hormona cuya deficiencia se ha asociado a numerosas enfermedades agudas y crónicas, tanto óseas como extraóseas. Sin embargo, los estudios realizados para demostrar la causalidad de la asociación, en general, no han sido positivos. El hecho de que diversos factores de riesgo asociados a la incidencia y gravedad de la COVID-19, como la latitud norte, la edad avanzada, las

razas no caucásicas, la hipertensión arterial y la diabetes, también se hayan asociado con la deficiencia de la vitamina D⁵, sugiere la posible relación entre infección por COVID-19 y deficiencia de vitamina D.

Esto lleva a plantear las siguientes cuestiones:

- ¿Existe una relación entre la deficiencia de vitamina D y el riesgo de infección por coronavirus?
- ¿Existe una explicación biológica de esta asociación?
- ¿La administración de vitamina D a los individuos deficientes puede prevenir la infección o alterar su gravedad?
- ¿Cuál es la relación riesgo/beneficio de su administración?

¿Existe una relación entre la deficiencia de vitamina D y el riesgo de infección por coronavirus SARS-COV-2?

Aunque no todos los datos son uniformes, sí parece observarse una relación, no necesariamente causal, entre deficiencia de vitamina D y la incidencia y mortalidad por COVID-19.

¿Existe una relación entre la deficiencia de vitamina D y el riesgo de infección por coronavirus?

Inicialmente se observó que la mortalidad por COVID-19 era superior en latitudes norte, lo que podría deberse a una disminución de la producción de vitamina D por efecto de la radiación ultravioleta. Sin embargo, España e Italia, localizadas al sur, presentaron una mortalidad muy elevada, a la vez que una alta prevalencia de hipovitaminosis D⁶. Illie *et al.*⁷ llevaron a cabo un estudio ecológico en 20 países europeos, observando una relación inversa de los niveles de vitamina D con la incidencia de COVID-19 ($r: -0,443$; $p=0,05$) y la mortalidad por la enfermedad ($r: -0,4378$; $p=0,05$). En otro estudio realizado en 117 países, se observó una asociación entre latitud y mortalidad ($p<0,033$), tras ajustar por la edad⁸. Meltzer *et al.*⁹, en una cohorte de 489 pacientes, con un 75% de mujeres, observaron que el riesgo de padecer infección por COVID-19 se asociaba a edad avanzada, raza no caucásica y deficiencia de vitamina D. El riesgo de infección en los individuos con suficiencia de vitamina D era



del 12,2%, frente al 21,6% de los que tenían insuficiencia ($p=0,02$). D'Avalio *et al.*¹⁰ encontraron que los pacientes con PCR positiva tenían unos niveles de vitamina D de 11,1 ng/ml, mientras que, entre los que tenían PCR para COVID-19 negativa, los niveles eran de 24,6 ng/ml; $p=0,004$. Otro estudio relacionó los niveles de vitamina D con la mortalidad, de tal manera que los pacientes con vitamina D inferior a 10 ng/ml tenían un 50% de probabilidades de morir, frente al 5% de los que tenían un nivel superior, aunque el tamaño muestral del estudio era pequeño¹¹. Hernández *et al.*¹² encontraron niveles más bajos de vitamina D en pacientes hospitalizados, sin relación con la severidad de la enfermedad, aunque observaron una relación inversa con los niveles de ferritina y dímero D, ambos parámetros relacionados con la gravedad de la infección.

La relación entre bajos niveles de vitamina D y riesgo de infección por COVID-19 ha sido observado en un meta-análisis reciente¹³. Pereira *et al.*¹⁴ realizaron un meta-análisis que incluyó 8.176 pacientes con infección por COVID-19. Estos autores no encontraron relación entre deficiencia de vitamina D y un mayor riesgo de infección, pero sí con la gravedad de la misma. Tampoco encontró asociación entre vitamina D y COVID-19 un estudio realizado en Inglaterra con muestras de biobanco¹⁵. Hay que tener en cuenta que, en pacientes críticos, hay una alta prevalencia de deficiencia de vitamina D, aunque desconocemos si la misma es un "espectador inocente", un marcador de gravedad o un factor de riesgo real y modificable. La estimulación de la 1 α -hidroxilasa renal ante procesos inflamatorios hace que la asociación de diversos procesos agudos tenga la posibilidad de ser efecto más que causa, siendo los niveles de 25-hidroxivitamina D un reactante de fase aguda negativo¹⁶.

Por tanto, aunque los estudios realizados tienen planteamientos diferentes y sus resultados no son uniformes, en general se observa una asociación, no necesariamente causal, entre la deficiencia de vitamina D y la incidencia y mortalidad por COVID-19.

¿Existe una explicación biológica de la asociación entre la deficiencia por vitamina D e incidencia y mortalidad?

La vitamina D puede jugar un efecto protector gracias a:

- El mantenimiento de la integridad del epitelio.
- La estimulación de la producción de péptidos antimicrobianos.
- La reducción de la respuesta inflamatoria.
- La modificación de la relación entre ECA/ECA2 al incrementar la expresión de ECA2.

¿Existe una explicación biológica de la asociación entre deficiencia por vitamina D e incidencia y mortalidad?

La vitamina D puede intervenir en la reducción de la incidencia y mortalidad por COVID-19 a través de diversos mecanismos, como el mantenimiento de la integridad epitelial, la producción de péptidos antimicrobianos, la reducción de la respuesta inflamatoria y la modificación de la relación entre ECA/ECA2 (enzima convertidor de la angiotensina clásico/enzima convertidor de la angiotensina 2) al incrementar la expresión de ECA2.

a) Integridad epitelial: la vitamina D estimula la expresión de *gap protein* y *tight junction protein* que ayudan a mantener la integridad del epitelio impidiendo la penetración del virus. Además, actúa de forma indirecta estimulando la autofagia y facilitando la muerte de células epiteliales ocupadas por el virus. Este efecto lo realiza a través de modulación de la vía metabólica mTOR¹⁷.

b) Producción de péptidos antimicrobianos: el 25-hidroxicalciferol se transforma en 1,25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol) a nivel de monocitos y macrófagos que expresan CYP27B1 (1- α hidroxilasa), y facilita el desarrollo de células presentadoras de antígenos. El calcitriol estimula la producción de catelicidina, defensina y NOD2 (*nucleotide binding oligomerization domain-containing protein 2*), facilitando la destrucción de microorganismos. Además, aumenta la síntesis de hepcidina, que acumula hierro a nivel celular, impidiendo su empleo por los microorganismos, y estimula la producción de óxido nítrico y superóxido. Todas estas proteínas tienen una acción antiviral y se producen por estimulación de la inmunidad innata^{18,19}.

c) La estimulación de la inmunidad innata, mediada por la vitamina D, disminuye la proliferación de linfocitos T *helper* tipos 1 y 17 e incrementa la de linfocitos T *helper* 2 y de linfocitos T reguladores. El resultado es un descenso de las citocinas proinflamatorias (IL1, IL6, IL12, TNF α , IL17 e interferón γ) y un incremento de citocinas antiinflamatorias (IL10). Este descenso de citocinas inflamatorias puede ser mediado a través de la vía metabólica de NF κ B. Todos estos efectos modifican la inmunidad adquirida^{17,20}.

d) La entrada del SARS-COV-2 en las células del organismo, y, por tanto, el inicio del proceso infeccioso, se realiza a través del receptor ECA2. Se produce un fenómeno paradójico, ya que el ECA2 se expresa menos intensamente en varones y ancianos que, por otra parte, son los que presentan un mayor riesgo de infección grave por COVID-19²¹. La vitamina D es un potente inhibidor de la renina, por lo que su administración facilita un descenso de la relación ECA clásico/ECA2 que disminuye la morbi-mortalidad cardiovascular.

Todos estos hechos representan las bases biológicas que podrían explicar el posible efecto beneficioso de la vitamina D.

¿La administración de vitamina D a los individuos deficientes puede prevenir la infección o alterar su gravedad?

Las evidencias para indicar la administración de vitamina D en la prevención o tratamiento de la COVID-19 son escasas y presentan numerosas limitaciones.

En estos momentos desconocemos el umbral de vitamina D que se debe alcanzar para conseguir el objetivo, el metabolito más idóneo o las dosis que deben utilizarse.

¿La administración de vitamina D a los individuos deficientes puede prevenir la infección o alterar su gravedad?

Un meta-análisis que incluyó más de 11.000 pacientes, procedentes de 25 ensayos clínicos, mostró un efecto beneficioso de la vitamina D en la reducción de enfermedades infecciosas del tracto respiratorio. El efecto era mayor en situaciones con deficiencia grave de vitamina D (<10 ng/ml) y con administraciones diarias o semanales²². Teniendo en cuenta estos datos, la existencia de hipovitaminosis D en pacientes con COVID-19 y una explicación biológica que ofrece plausibilidad a un efecto beneficioso, se han planteado 18 ensayos clínicos que tratan de demostrar esta hipótesis¹⁰. Los efectos beneficiosos podrían tener lugar tanto en las fases virémicas precoces, impidiendo el desarrollo de la enfermedad, como en fases tardías hiperinflamatorias.

Tabla 1. Estudios de vitamina D-COVID-19

Autor	Tipos de estudio	Población (N)	Suplemento	Objetivo	Resultados	Comentario
Fasano <i>et al.</i> ²³	Casos/Controles	Pacientes con enfermedad de Parkinson (1.486)	No establecido	Incidencia de COVID-19	12,4% vs. 22,9% (p=0,010)	Los que reciben suplementos tienen menos incidencia
Annawiler C <i>et al.</i> ²⁴	Casos/Controles	Institucionalizados (7)	Colecalciferol 50.000 UI/mes (previo) 80.000-100.000 UI/2-3 meses (previo) 80.000 UI bolo único tras diagnóstico	Mortalidad	6,9% vs. 31,3% (p=0,017) 18,8% vs. 31,3% (p=0,5)	Los que reciben vitamina D en el año previo tienen menos mortalidad, pero no los que la reciben tras el diagnóstico. Las dosis son superiores a las recomendadas habitualmente
Annawiler G <i>et al.</i> ²⁵	Casos/Controles	Institucionalizados (66)	Colecalciferol bolo de 80.000 UI previo o tras diagnóstico	Mortalidad	17,5% vs. 55,6% (p=0,023)	Los que reciben vitamina D tienen menos mortalidad. Las dosis son superiores a las recomendadas habitualmente
Tan CW <i>et al.</i> ²⁶	Casos/Controles	Ingresados por COVID-19 (43)	Colecalciferol (1.000 UI/día), magnesio, vitamina B12	Morbilidad	17,6% vs. 61,5% ingreso en UCI (p=0,006)	Los que reciben vitamina D necesitan menos oxigenoterapia y/o ingreso en UCI
Cereceda E <i>et al.</i> ²⁷	Casos/Controles	Pacientes con COVID-19: enfermedad Parkinson (105), cuidadores (92), hospitalizados (127)	Colecalciferol ≥800UI/día en 38 individuos	Mortalidad intrahospitalaria	OR=1,78 (0,64-4,91; p=0,26)	Los que reciben vitamina D tienen una mayor tendencia a morir
Entrenas-Castillo <i>et al.</i> ²⁸	Ensayo clínico piloto abierto, aleatorizado y doble ciego	Ingresados por neumonía COVID-19 (76; 50 tratados y 26 no tratados)	Calcifediol 64.000 UI/1ª semana y posteriormente 16.000 UI/semana hasta el alta o ingreso en UCI	Ingreso en UCI	2% vs. 50% (p<0,001)	Los que reciben vitamina D ingresan menos en UCI aunque los factores de riesgo no están equilibrados entre grupos. Las dosis son superiores a las recomendadas

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

Sin embargo, las evidencias disponibles hasta ahora son muy escasas. Se han publicado varios estudios de casos/controles que podemos denominar cuasi-experimentales y un estudio piloto a partir de una cohorte de pacientes infectados con neumonía (Tabla 1). El tamaño muestral de los mismos es pequeño, salvo uno de ellos que incluyó 1.476 pacientes. Se han obtenido algunos resultados favorables, aunque debe tenerse en cuenta las limitaciones que presentan²³⁻²⁸. No hay datos sobre los valores de 25-hidroxivitamina D basales ni finales, aunque todos ellos valoran variables de resultado importantes, como incidencia de enfermedad y mortalidad.

Algunos estudios en población geriátrica institucionalizada que analizan el efecto de bolos de coledalciferol (80.000 UI) previos y/o en el momento de la infección, reportan mejor evolución de la enfermedad y una disminución de la mortalidad, mientras que en otros estudios de las mismas características este efecto se observa en los individuos que son tratados con bolos periódicos de coledalciferol durante el año previo a la infección^{24,25}. En ambos casos las dosis utilizadas son superiores a las recomendadas. En un estudio realizado en China con una cohorte de

pacientes asintomáticos con COVID-19 se valoró el efecto de la administración de suplementos asociando coledalciferol (1.000 UI), magnesio y vitamina B12 sobre la evolución de la enfermedad²⁶. Los que recibieron suplementos ingresaron menos en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y necesitaron menos oxigenoterapia. Sin embargo, otro estudio, con coledalciferol, no confirmó esos datos. La administración de suplementos se asoció a una tendencia al incremento de mortalidad, aunque sin alcanzar la significación estadística²⁷. No obstante, es importante mencionar las limitaciones metodológicas de dichos estudios. El único estudio con calcifediol (25-hidroxivitamina D) se ha realizado en España y muestra una reducción de la gravedad de la enfermedad y de la mortalidad. Se usaron dosis relativamente elevadas de calcifediol (0,532 mg, seguido de 0,266 mg a los 3 y 7 días y posteriormente semanal hasta el alta del paciente), sin determinaciones de vitamina D basales ni durante el tratamiento, por lo que podrían plantear dudas de seguridad²⁸. De hecho, con la administración de calcifediol (0,266 mg) de forma quincenal se alcanzan concentraciones de 25-hidroxivitamina D mayores de 30 ng/ml en la mayoría de individuos y, si bien

con este tipo de dosificación no se ha descrito el desarrollo de hipercalcemia, alrededor del 38% de individuos presenta concentraciones superiores a 60 ng/ml²⁹. Otro estudio con dosificación semanal mostró concentraciones medias de 93,2±32,4 ng/ml³⁰. Aunque parece razonable emplear suplementos más rápidos y potentes para alcanzar concentraciones suficientes de vitamina D, es aconsejable considerar juiciosamente la dosis y frecuencia de administración.

En estos momentos se desconoce cuál es el umbral óptimo de vitamina D que debemos conseguir en la prevención o tratamiento frente a la COVID-19 para alcanzar el objetivo, así como las dosis que deben utilizarse. En un estudio realizado en China con un tamaño muestral pequeño (62 casos y 80 controles), situaban este umbral en 16,5 ng/ml³¹. Parece razonable conseguir niveles por encima de 20 ng/ml y preferiblemente por encima de 30 ng/ml.

Como conclusión, podemos decir que las evidencias para indicar el empleo de vitamina D en la prevención y/o tratamiento de la COVID-19 son escasas y con numerosas limitaciones, sin tener evidencia clínica suficiente para recomendar uno u otro metabolito.

¿Cuál es la relación riesgo/beneficio de su administración?

A la espera de que se publiquen ensayos clínicos que confirmen o no su utilidad, la relación riesgo/beneficio podría ser favorable al empleo de vitamina D en uso compasivo (fuera de indicación) en la prevención y tratamiento de la COVID-19 en pacientes de riesgo, en los que podría ser razonable prevenir o tratar el déficit, dado el efecto beneficioso conocido sobre inmunidad e infecciones respiratorias.

¿Cuál es la relación riesgo/beneficio de su administración?

En la infección por SARS-COV-2 se han empleado diversos tratamientos, con una cierta base biológica de su posible

utilidad, pero sin evidencias que los sustentaran. Además de las medidas eficaces puestas en marcha (uso de mascarillas, separación, reducción del contacto social), es necesario encontrar alguna medida farmacológica que disminuya la incidencia de la infección (prevención) o mejore su pronóstico (terapéutica). Como se ha mencionado antes, se ha observado una mayor frecuencia de hipovitaminosis D en pacientes con COVID-19. Este hallazgo ha sido observado previamente también en enfermedades crónicas y en alguna enfermedad aguda, como las infecciones respiratorias. Sin embargo, no ha sido establecida claramente la causalidad de esta asociación. En el caso de la infección por SARS-COV-2 existe una plausibilidad biológica para el posible efecto beneficioso de la vitamina D. Sin embargo, las evidencias disponibles son escasas, aunque, con sus limitaciones, tienden a mostrar un efecto favorable.

Al emplear como “uso compasivo” un fármaco sin suficientes evidencias clínicas, debe valorarse la relación riesgo/beneficio. Así, el primer aspecto a considerar es la seguridad. Los suplementos de vitamina D son seguros, con muy pocos casos de toxicidad, entre los que la hipercalcemia la manifestación más grave. Se considera que la administración de 10.000 UI/día de colecalciferol ó 4.000 UI/día de calcifediol es segura³². Se ha establecido un umbral de seguridad de los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D en 80 ng/ml, mientras que a partir de los 100 ng/ml podrían aparecer manifestaciones clínicas. Lewiecki³³, en un editorial reciente, comenta que la vitamina D en el tratamiento de la COVID-19 no es peligrosa y es improbable que cause daño. La relación riesgo/beneficio podría ser favorable al empleo de vitamina D en uso compasivo, fuera de indicación, en la prevención y tratamiento de la COVID-19, a la espera de que se publiquen los ensayos clínicos que confirmen o no su utilidad. Sin embargo, dado el efecto beneficioso conocido sobre la inmunidad y las infecciones respiratorias, parece razonable prevenir o tratar el déficit en pacientes de riesgo.

Conflicto de intereses: José Luis Pérez Castrillón ha participado en ensayos clínicos, grupos de trabajo, ponencias de formación y asistencia a congresos médicos financiados por FAES, Italfármaco y Gebro-Pharma. Enrique Casado ha recibido honorarios por conferencias, asesoría científica o financiación a congresos de parte de Italfármaco, Gebro, FAES y Angelini.



Luis Corral Gudino no tiene conflictos de interés relevantes para este artículo.

Carlos Gómez Alonso ha participado en ensayos clínicos, grupos de trabajo, ponencias de formación y asistencia a congresos médicos financiados por FAES, Italfarmaco y Gebro-Pharma.

Pilar Peris ha colaborado como ponente con Amgen, Lilly, Kyowa Kirin, UCB y Angelini Pharma.

Jose A. Riancho no tiene conflictos de interés relevantes para este artículo.

Bibliografía

- Long MD, Sucheston-Campbell LE, Campbell MJ. Vitamin D receptor and RXR receptor in the postgenomic era. *J Cell Physiol.* 2015;230:758-66.
- Brown AJ, Dusso A. Vitamin D. *Am J Physiol.* 1999;277:F157-75.
- Bouillon R, Marocchi C, Carmelit, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: Current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev.* 2019; 40:1109-51.
- Pascarella G, Strumia A, Piliego C, Bruno F, Del Buono R, Costa F, et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J Intern Med.* 2020;288:192-206.
- Bergman P. The link between vitamin D and COVID-19: distinguishing facts from fiction. *J Intern Med.* 2021;289:131-3.
- Rhodes JM, Subramanian S, Laird E, Griffin G, Kenny RA. Perspective: Vitamin D deficiency and COVID-19 severity- plausibility linked by latitude, ethnicity, impacts on cytokines, ACE2 and thrombosis. *J Intern Med.* 2021; 289:97-115.
- Illie PC, Stefanescu S, Smith L. The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Ag Clin Exp Res.* 2020;32: 1195-8.
- Rhodes J, Dunstan F, Laird E, Subramanian S, Kenny RA. COVID-19 mortality increases with northerly latitude after adjustment for age suggesting a link with ultraviolet and vitamin D. *BMJ Nutr Prev Health.* 2020;3:118-20.
- Meltzer DO, Best TJ, Zhang H, Voves T, Arora V, Solway J. Association of vitamin D status and other clinical characteristics with COVID-19 test results. *JAMA Netw Open.* 2020;3:e2019722.
- D'Avolio AV, Avataneo A, Manca J, Cusato J, De Nicolo A, Lucchini R, et al. 25-Hydroxyvitamin D concentrations are lower in patients with positive PCR for SARS-Co-V-2. *Nutrients.* 2020; 12:1359.
- Carpagnano GE, Di Lecce V, Quaranta VN, Zito A, Buonamico E, Capozza E, et al. Vitamin D deficiency as a predictor of poor prognosis in patients with acute respiratory failure due to COVID-19. *J Endocrinol Invest.* 2020 Aug 9;1-7.
- Hernandez JL, Nan D, Fernandez-Ayala M, García-Unzueta M, Hernandez-Hernandez MA, Lopez-Hoyos M, et al. Vitamin D status in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Oct 27:dga733.
- Liu N, Sun J, Wang X, Zhang T, Zao M, Li H. Low vitamin D status is associated with coronavirus disease 2019 outcomes. A systematic review and meta-analysis. *Int J Inf Dis.* 2021;104: 58-64.
- Pereira M, Damascena AD, Galvao Azevedo LM, Olivera TA, Da Mota Santana J. Vitamin D deficiency aggravates COVID-19: systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2020 Nov 4;1-9.
- Hastie CE, Pell JP, Sattar N. Vitamin D and COVID-19 infection and mortality in UK biobank. *Eur J Nutr.* 2020;26:1-4.
- Le Fevre ML. Screening for vitamin D deficiency in adults: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med.* 2015;20: 162:133-40.
- Bilezikian JP, Bikle D, Hewinson M, Lazaretti-Castro M, Gupta A, Madhavan MV, et al. Vitamin D and COVID-19. *Eur J Endocrinol.* 2020;183:R133-47.
- Ali N. Role of vitamin D in preventing of COVID-19 infection, progression and severity. *J Infect Public Health.* 2020;13:1373-80.
- Mohan M, Cherlan JJ, Sharma A. Exploring links between vitamin D deficiency and COVID-19. *Plos Pathogens.* 2020;16:e1008874.
- Grant WB, Lahore H, McDonnell SL, Baggerly CA, French CB, Aliano JL, et al. Evidence that vitamin D supplementation reduce risk of influenza and COVID-19 infections and deaths. *Nutrients.* 2020;12:988.
- Martin Gimenez VM, Inserra F, Tajer CD. Lungs as target of COVID-19 infection: Protective common molecular mechanisms of vitamin D and melatonin as a new potential synergistic treatment. *Life Sci.* 2020;254:117808.
- Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper R, Greenberg L, Aloia JF, Bergman P, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Brit Med J.* 2017;356:16583.
- Fasano A, Cereda E, Barichella M, Casani E, Ferri V, Zecchinelli AL, et al. COVID-19 in Parkinson's disease patients living in Lombardy, Italy. *Mov Dis.* 2020;35:1089-93.
- Annweiler G, Corvaisier M, Gautier J, Dubée V, Legrand E, Sacco G, et al. Vitamin D supplementation associated to better survival in hospitalized frail elderly COVID-19 patients: The GERIA-COVID quasi-experimental study. *Nutrients.* 2020; 12:3377.
- Anneweiller C, Hanotte B, Grandin de L'Eprevier C, Sabatier JM, Lafaie L, Celarier T. Vitamin D and survival in COVID-19 patients: a quasi-experimental study. *J Ster Biochem Mol Biol.* 2020;204:105771.
- Tan CW, Ho LP, Kalimuddin S, Zhi Chong BP, Ean The Y, Yee Thien S, et al. Cohort study to evaluate the effect of vitamin D, magnesium and vitamin B12 in combination on progression to severe outcomes in older patients with coronavirus (COVID-19). *Nutrition.* 2020;79-80:111017.
- Cereda E, Bogliolo L, Lobascio F, Barichella M, Zecchinelli AL, Pezzoli G, et al. Vitamin D supplementation and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients from the outbreak area of Lombardy, Italy. *Nutrition.* 2021; 82:111055.
- Entrenas Castillo M, Entrenas Costa L, Vaquero Barrios JM, Alcalá Díaz JF, Lopez Miranda J, Bouillon R, et al. Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study. *J Ster Biochem Mol Biol.* 2020;203:105571.
- Olmos JM, Arnaiz F, Hernández JL, Olmos-Martínez JM, González-Macías J. Calcidiol mensual frente a calcifediol quincenal en el tratamiento de pacientes osteoporóticos. Estudio en la vida real. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2018;10:89-95.
- Navarro-Valverde C, Sosa M, Alhambra MR, Quesada JM. Vitamin D3 and calcidiol are not equipotent. *J Ster Biochem Mol Biol.* 2016;164:205-8.
- Ye K, Tang F, Liao X, Shaw BA, Deng M, Huang G, et al. Does serum vitamin D level affect COVID-19 infection and its severity? A case-control study. *J Am Coll Nutr.* 2020;13:1-8.
- Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hawthcock J, Giovannucci E, Willett WC. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int.* 2010;21:1121-32.
- Lewiecki M. Vitamin D and COVID-19: Is something better than nothing? *Osteoporos Sarcopenia.* 2020;6:95-6.



