

Volumen 13 · Suplemento 2 · 2021

Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com

Novedades en el diagnóstico de la

enfermedad metabólica ósea

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



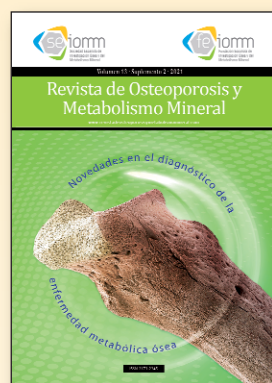
Avda. Reina Victoria, 47
28003 Madrid
Telf. +34-915 538 297
correo@ibanezypalaza.com
www.ibanezypalaza.com

Maquetación
Concha García García

Traducción inglés
David Shea

ISSN: 2173-2345

Envío de originales:
romm@ibanezypalaza.com



Sumario

Vol. 13 (Supl 2) 2021

Métodos de determinación de vitamina D y sus metabolitos. Valor umbral de las manifestaciones óseas <i>Quesada Gómez JM</i>	4
Papel de las nuevas técnicas de imagen en la predicción del riesgo de fractura <i>Del Río Barquero L</i>	11
Estudios genéticos en el diagnóstico de la osteoporosis y otras enfermedades metabólicas óseas <i>Riancho JA, Fernández-Luna JL</i>	18
FGF-23 y PTH, hormonas especulares. Su papel en el metabolismo óseo <i>Naves Díaz M, Rodríguez García M</i>	26
Salud e impacto económico del uso de suplementos de vitamina D/calcio para la prevención de fracturas: revisión de la literatura <i>De Paz HD, Lizán L</i>	31

- Este suplemento ha sido patrocinado por **Laboratorios Asacpharma (Especialidades Farmacéuticas Centrum)**
- La publicación refleja opiniones y conclusiones de los autores firmantes.
- Los principios activos y medicamentos que se mencionan deben ajustarse a las indicaciones de la ficha técnica aprobada en España.

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.

Métodos de determinación de vitamina D y sus metabolitos. Valor umbral de las manifestaciones óseas

Quesada Gómez JM

Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Universidad de Córdoba. Fundación Progreso y Salud. CIBER de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Córdoba (España)

Resumen

El sistema endocrino de la vitamina D (SEVD), por mediación del calcitriol regula más del 3% de todos los genes del organismo, con múltiples efectos tanto a nivel óseo como extraóseo. La concentración total de 25OHD circulante, (expresión de la suma de las concentraciones de 25OHD3 y 25OHD2), constituye un biomarcador robusto y confiable del estatus nutricional del SEVD, empleado por autoridades sanitarias y Sociedades Científicas en América y Europa. Los métodos actuales para medir los metabolitos del SEVD se clasifican básicamente en dos tipos: métodos de detección física, que incluyen cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y cromatografía líquida de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y métodos de inmunoensayo. Aún, hoy en día, no disponemos de un consenso internacional uniforme que defina deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea. Las personas en riesgo de deficiencia de 25OHD deben ser siempre analizadas para detectar la deficiencia, o insuficiencia e intensidad de estas, sin embargo no hay evidencia de un beneficio en el cribado poblacional general en personas sanas.

METABOLISMO DEL SISTEMA ENDOCRINO DE LA VITAMINA D

Desde su descubrimiento, hace un siglo, hemos avanzado en el conocimiento de la que fue denominada erróneamente “vitamina” D. Actualmente sabemos que no es una vitamina, la seguimos denominando así por costumbre y consenso tácito. De hecho, se trata de un sistema endocrino, el sistema endocrino de la vitamina D (SEVD), semejante al de otras hormonas esteroideas. El colecalfiferol o “vitamina” D₃, es el nutriente umbral (fisiológico) del sistema, sintetizado a partir del 7-dehidrocolesterol, que se produce, y encuentra, desde organismos unicelulares hasta la piel de animales superiores, incluyendo seres humanos. Esta vía representa alrededor del 90% del aporte fisiológico al organismo, el resto se obtiene dietéticamente. Existe otra isoforma, de aporte nutricional, o farmacológica, el ergocalciferol la “vitamina” D₂ o producida por irradiación ultravioleta del ergosterol contenido en hongos, levaduras, etc...¹.

La “vitamina” D₃ para ser activa hormonalmente precisa activaciones metabólicas secuenciales: mediante la acción de la enzima 25 hidroxilasa (*CYP2R1* y otros) fundamentalmente en el hígado, no regulada hormonalmente, pero sujeta a diversas influencias se convierte en calcifediol (o 25OHD3), el cual tiene una vida media larga (dos tres semanas). El 25OHD3 es sustrato para, mediante la acción de la enzima 1 alfa hidroxilasa (*CYP27B1*), sintetizar 1,25 dihidroxivitamina D₃ (calcitriol; 1,25(OH)2D3), hormona del sistema, en el riñón para su acción endocrina sistémica y en múltiples células y tejidos del organismo para su acción

local auto/paracrina. La 1,25(OH)2D3, tiene una vida media corta y está hormonalmente regulada para mantener una concentración constante dentro de un margen estrecho. La 1,25(OH)2D estimula la 24 hidroxilasa (*CYP24A1*) para formar 24,25 hidroxivitamina D₃ o 1,24,25 trihidroxivitamina¹.

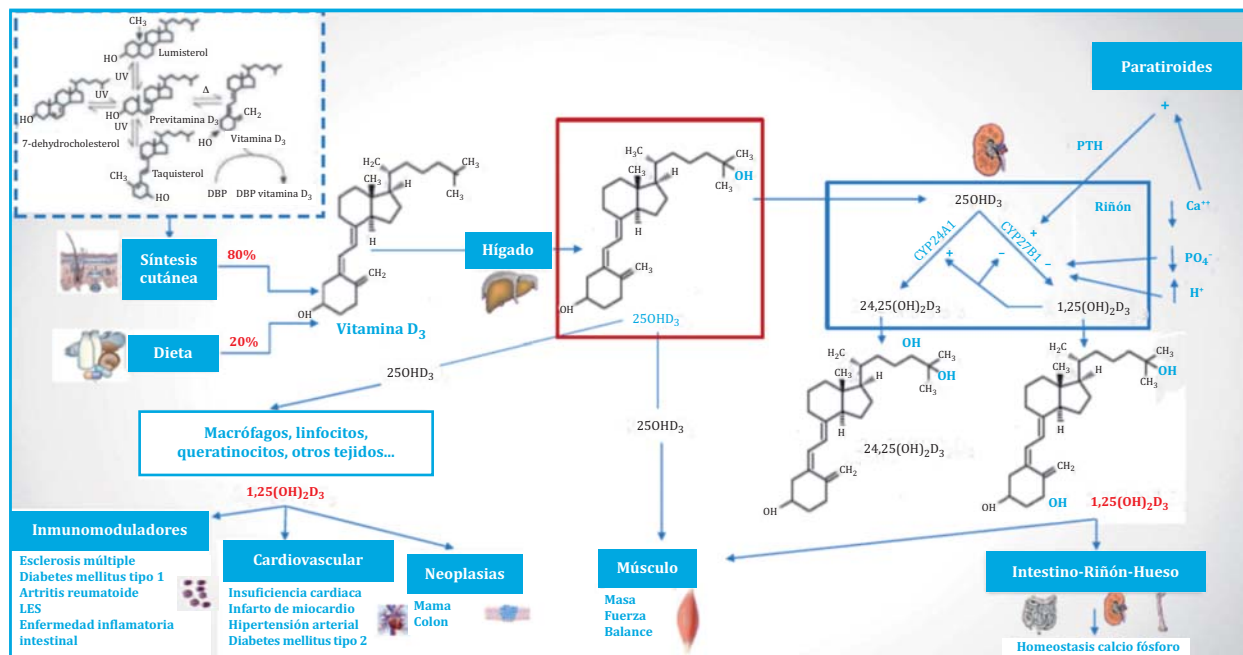
El calcitriol o 1,25(OH)2D3 se une con alta afinidad a su receptor (VDR), mientras que 25OHD3, 24,25 hidroxivitamina D₃ o 1,24,25 trihidroxivitamina D y otros metabolitos tienen una afinidad mucho menor. El VDR pertenece a la superfamilia de receptores nucleares esteroideos que usan el mismo compañero heterodímero (RXR) y co-activadores o represores, y se unen a secuencias hexanucleóticas similares en el ADN (elementos que responden a la hormona directa repetida) separados por tres o cuatro nucleótidos, respectivamente¹. Los metabolitos del SEVD, poco hidrosolubles, precisan unirse para su transporte a su proteína transportadora “*vitamin D-binding protein*” (o DBP), con distintos grados de afinidad, mayor para calcitriol y menor y decreciente para calcifediol, 24,25 hidroxivitamina D₃ o colecalfiferol o albumina¹.

El SEVD, por mediación del calcitriol regula más del 3% de todos los genes del organismo, con múltiples efectos, interactuando no solo sobre la salud ósea, y la homeostasis fosfo-cálcica, sino sobre múltiples procesos fisiológicos en músculo, sistema inmune innato y adaptativo, sistema cardiovascular; controlando el crecimiento y la diferenciación celular; la secreción hormonal, el metabolismo de xenobióticos y numerosos procesos biológicos en todo el organismo¹ (Figura 1).



Correspondencia: José Manuel Quesada Gómez (md1qugoj@uco.es)

Figura 1. Sistema endocrino de la vitamina D



Por lo cual, hoy en día, la deficiencia funcional del sistema debería relacionarse no solo con raquitismo u osteomalacia y osteoporosis, sino también con un riesgo potencial mayor de padecer enfermedades cardiovasculares, autoinmunes, diabetes, oncológicas, e infecciosas, entre otras^{1,2}. Actualmente, sabemos que la deficiencia de “vitamina D” es muy prevalente, incluso en países desarrollados o con gran potencialidad de adquisición de la misma, por exposición al sol, o por facilidad para acceder a la suplementación, como sucede en España³.

Por ello, la demanda de medición de los metabolitos de vitamina D empleados para el diagnóstico clínico e investigación del papel del SEVD en la salud humana ha aumentado significativamente en los últimos veinte años⁴.

MEDICIÓN DE METABOLITOS DEL SISTEMA ENDOCRINO DE LA VITAMINA D

El suero es la matriz habitual empleada para la medición de los metabolitos del SEVD. Tiene la ventaja de no estar contaminado con los anticoagulantes utilizados para la obtención de plasma, como la heparina, EDTA, o citrato. Los ensayos de los metabolitos del sistema son muy sensibles a las interferencias generadas por esas sustancias por lo que debe realizarse una validación apropiada cuando se considere emplear plasma para las determinaciones⁴.

Pese a que la vitamina D₃ es el nutriente umbral del SEVD la medida directa de vitamina D₃ (y/o D₂), propiamente dicha, circulante no constituye un buen marcador del estado nutricional del mismo. Inmediatamente después de su síntesis cutánea o absorción intestinal desaparece rápidamente de la circulación. A partir de entonces, reaparece como 25OHD, intensamente ligada a DBP, el cual tiene una vida media larga y una mayor concentración y además es el sustrato imprescindible para la síntesis de 1,25(OH)₂D₃, la hormona del sistema^{1,4}.

Por lo cual, la medición de la concentración total de 25OHD circulante, (expresión de la suma de las concentraciones de 25OHD₃ y 25OHD₂), constituye un biomar-

cadore robusto y confiable del estatus nutricional del SEVD, empleado por autoridades sanitarias y Sociedades Científicas en América y Europa para establecer el estatus de normalidad, la definición de deficiencia de “vitamina” D y los grados de insuficiencia de la misma, sobre los cuales establecer valores de ingesta de referencia dietética para la “vitamina” D, así como el control en la población de la deficiencia, insuficiencia o exceso de “vitamina”⁵⁻⁷. Es conveniente destacar que, en España, donde salvo muy puntuales excepciones no se toma vitamina D₂, cuando se dan resultados de 25OHD en la práctica se están indicando niveles de 25OHD₃.

A veces en la práctica clínica habitual se solicita la cuantificación de niveles séricos de 1,25(OH)₂D₃ para evaluar el estatus nutricional del SEVD. Esto constituye una práctica errónea e inadecuada. La medición de 1,25(OH)₂D no es un marcador fiable para ese objetivo. Al regularse sus niveles circulantes, estrictamente, de modo endocrino, el organismo tiende a mantener sus valores dentro de un rango muy estrecho de normalidad (20-50 pg/mL, más de mil veces menor que la concentración sérica de 25OHD), incluso en situaciones de intensa deficiencia de sustrato (25OHD) imprescindible para su síntesis.

Por lo cual, no debe emplearse nunca para evaluar el estado nutricional del SEVD. La determinación de 25OHD es el marcador del estatus nutricional del sistema, o lo que coloquialmente damos en llamar de la vitamina D.

Sin embargo, la cuantificación de 1,25(OH)₂D puede ser útil como prueba de segundo nivel en la evaluación del SEVD especialmente en pacientes con enfermedad renal severa⁸, y nos permite identificar una serie de afecciones, incluida la deficiencia de 1 α -hidroxilasa o raquitismo vitamina D dependiente tipo 1, por defecto de la enzima 1 α -hidroxilasa, el raquitismo vitamina D dependiente tipo 2, o defecto del VDR, y en una serie de enfermedades granulomatosas o linfoproliferativas acompañadas de hipercalcemia. También en diagnóstico del hipo y pseudohipoparatiroidismo. La medición de

1,25(OH)₂D también ayuda a discernir entre los síndromes hipofosfatémicos mediados y no mediados por FGF23⁹.

La cuantificación de la fracción 25OHD₃ libre, que representa alrededor del 0,04% de la concentración total de 25OHD no constituye una práctica clínica habitual. La fracción libre y ligada a la albúmina se denomina 25OHD biodisponible¹⁰. El conjunto de las tres fracciones es la denominada 25OHD total, aunque el término "total" se refiere a menudo en la literatura a la suma de las formas 25OHD₂ y 25OHD₃. Las concentraciones de 25OHD libre medidas directamente generalmente oscilan entre 1,2 y 7,9 pg/mL y están fuertemente correlacionadas con las concentraciones totales de 25OHD y se ha informado que suponen entre el 0,02% y el 0,09% de las concentraciones totales de 25OHD¹⁰ (Figura 2).

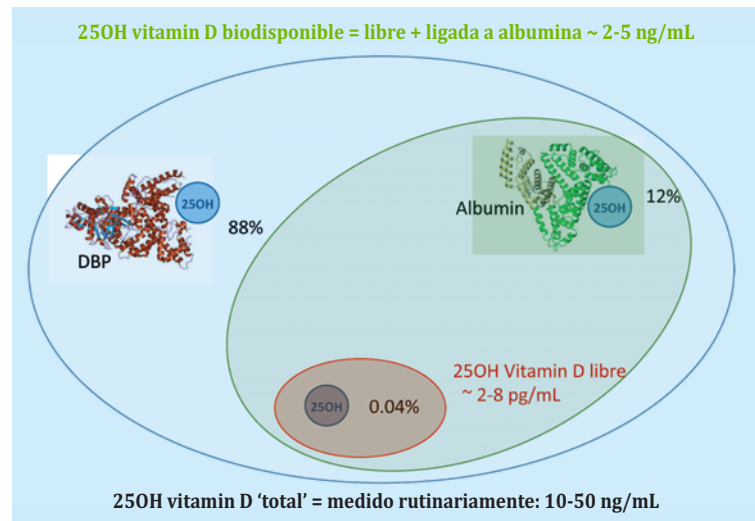
En la denominada hipótesis de la hormona libre se postula que solo la hormona libre atraviesa la membrana celular. En la medida en que esto sea válido, plantea la cuestión de si es la concentración libre la que debería medirse en lugar de la 25OHD total, especialmente en circunstancias en las que los niveles y/o afinidades de las proteínas de unión se alteran fisiológicamente (p. ej. embarazo), o fisiopatológicamente (enfermedad hepática, síndrome nefrótico, enfermedad aguda), o por mutaciones genéticas de la DBP^{10,11}.

El embarazo o la toma de anticonceptivos lleva a un aumento de los niveles de DBP en alrededor del 50%, mientras que, por ejemplo, la insuficiencia hepática y la enfermedad renal crónica dan lugar a una disminución de la concentración de DBP, también de alrededor del 50%. En el caso de una concentración elevada de proteínas de unión, la fracción de 25OHD libre es menor, y viceversa en el caso de una concentración baja de proteínas de unión. En estas condiciones, la medición de la 25OHD libre podría ser un mejor marcador del estatus nutricional en vitamina D que la medición clásica de la 25OHD total^{10,11}. La medición directa de la 25OHD libre está disponible desde el 2013 mediante un ELISA súper sensible¹². El método presenta un límite de detección de <3 pg/mL y un rango de medición que cubre 0,2-35 pg/mL. La repetibilidad y la reproducibilidad son representativas de la tecnología ELISA.

La determinación de 24,25(OH)₂D, ha suscitado poco interés en clínica y no demasiada en investigación. Este metabolito se forma mediante hidroxilación de 25OHD por la enzima *CYP24A1* de la familia del citocromo P450, y se ha considerado durante mucho tiempo como un catabolito puro de la vía catabólica del SEVD (Figura 1).

La determinación de 24,25(OH)₂D es útil en el diagnóstico de la hipercalcemia infantil idiopática donde está muy elevado (80-100 ng/mL) y tiene la potencial utilidad en la identificación de otras enfermedades, solo o como parte de una ratio de 24,25(OH)₂D/25OHD. Esta proporción es inferior a 0,09 en los pacientes con insuficiencia y/o deficiencia de vitamina D (niveles séricos de 25OHD <20 ng/mL)¹³. Históricamente, se ha utilizado la relación de PTH a 25OHD para estimar la suficiencia nutricional del SEVD, recientemente se ha propuesto que la proporción molar de la 25OHD/24,25(OH)₂D tiene mayor potencial. La disminución del catabolismo

Figura 2. Biodisponibilidad de la vitamina D



de la 25OHD también puede medirse mediante una menor concentración de 24,25(OH)₂D y se asocia con mayor riesgo de hiperparatiroidismo secundario y posiblemente de muerte¹⁴.

La C3-epi-25OHyvitamina D, también llamado epímero C3, es un estereoisómero que se diferencia por un solo centro quiral. La función hidroxilo en la posición 3 de la molécula se invierte mientras que los otros centros quirales permanecen inalterados. C3-epi-25OHD se forma a través de una vía de epimerización, paralela a la vía metabólica convencional¹⁵. El C3-epi-25OH D es más abundante en lactantes menores de un año y es de menor amplitud en adolescentes y adultos. Durante muchos años se cuestionó si la C3-epi-25OHD era tan importante como su análogo 25OHD en la actividad biológica de la vitamina D en el organismo. Sin embargo, varios grupos han informado de concentraciones y prevalencias variables, lo que dificulta la evaluación de su verdadera importancia^{16,17}.

TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS METABOLITOS DE SEVD

Las primeras mediciones de 25OHD se remontan a principios los años 70 del pasado siglo, mediante el empleo de ensayos competitivos de unión a proteínas.

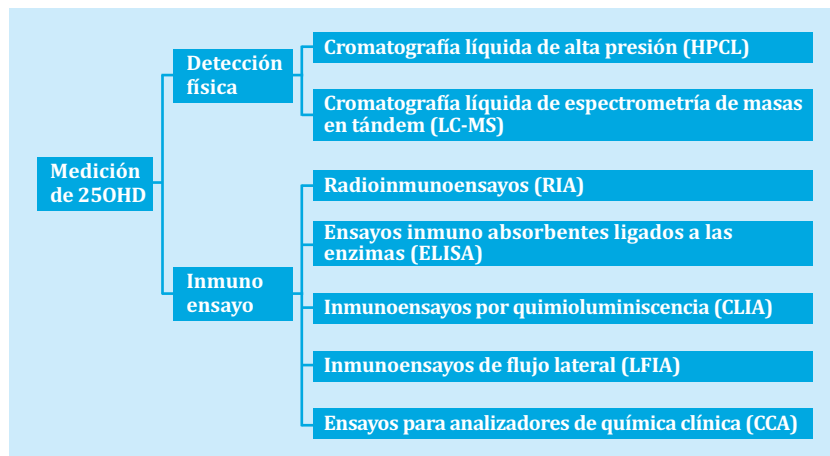
Los métodos actuales para medir los metabolitos del SEVD se clasifican básicamente en dos tipos:

- 1) Métodos de detección física, que incluyen cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y cromatografía líquida de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS);
- 2) Métodos de inmunoensayo, que abarcan radioinmunoensayos (RIA), actualmente obsoletos, y los ensayos inmuno absorbentes ligados a las enzimas (ELISA), inmunoensayos por quimioluminiscencia (CLIA), inmunoensayos de flujo lateral y los ensayos para analizadores de química clínica (CCA) (Figura 3).

Métodos de detección física

La cromatografía líquida (LC) de alta presión o de alto rendimiento (HPLC) y la LC-MS/MS son los métodos de detección física empleados, cada uno con sus fortalezas y debilidades⁴. En la primera, la detección ultravioleta (UV) gracias a su fuerte absorción a 264 nm es un poderoso método de detección para metabolitos del SEVD,

Figura 3. Métodos para medir 25OH vitamina D



pero diversos metabolitos del SEVD exhiben patrones UV similares y necesitan estar completamente separados por el paso de LC para al ser detectados, ser cuantificados adecuadamente. En la espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) se procede a la fragmentación de las moléculas que tienen la misma masa y afinidades similares que dificultan su separación cromatográfica, produciendo patrones de fragmentación diferentes para cada compuesto individual que permiten la detección y cuantificación de los metabolitos por separado; este es el caso, entre otros de la 1,25(OH)2D y la 24,25(OH)2D.

Los beneficios de usar estas técnicas para la medición de la 25OHD patrón oro de la determinación del estatus nutricional del SEVD son su alta sensibilidad (<1 ng/mL para LC-MS), alta precisión y excelente perfil de reproducibilidad (los coeficientes de variación van del 2% al 7-8%). Gracias a sus excelentes resultados, la LC-MS está reconocida actualmente como la referencia para la medición de la 25OHD.

La HPLC y la LC-MS también presentan inconvenientes, principalmente de naturaleza técnica. El coste instrumental y su mantenimiento son también a menudo un obstáculo. Ambas requieren el acceso a agua, disolventes y productos químicos de alta calidad y el suero o plasma necesita ser limpiado, antes de ser analizado⁴.

La presencia en el suero de C3-epi-25OH sigue siendo un problema incluso para muchos métodos de HPLC y LC-MS^{4,9}. Debido a su similar patrón UV e idénticos patrones de masa mono isotópica y de fragmentación no puede ser adecuadamente separada de la 25OHD por las técnicas de detección de UV o MS. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de un protocolo de LC que separe completamente el metabolito C3-epi de la vitamina D 25OH deseada. Aunque existen soluciones técnicas y son utilizadas por varios laboratorios, la vitamina D C3-epi-25OH todavía interfiere en muchos métodos de HPLC y LC-MS⁴.

Inmunoensayos competitivos para la medida de 25OH vitamina D y otros metabolitos del sistema

En los inmunoensayos competitivos cada metabolito, por ejemplo el 25OHD presente en la muestra, compite con un 25OHD marcado con un número limitado de sitios de unión en un anticuerpo. Se diferencian en el marcado del 25OHD competitivo y en el método de detección. El RIA se basaba en el yodo radiactivo marcando la 25OHD y empleaba para la detección contadores de rayos gamma. En el ELISA el marcado se efectúa con una enzima, la detección se basa

en una reacción colorimétrica y se cuantifica midiendo la absorbancia en un lector ELISA. Los métodos CLIA también se basan en 25OHD marcados con una enzima, pero la detección se basa en la emisión de luz por un sustrato específico y se cuantifica mediante un fotómetro.

Técnicamente los inmunoensayos precisan de la liberación de 25OHD de sus proteínas transportadoras DBP y albúmina, seguido inmediatamente de la unión del 25OHD por el anticuerpo y su competencia con el 25OHD marcado, pudiendo emplear en los inmunoensayos anticuerpos policlonales, monoclonales en incluso utilizar distintos tipos de DBP.

Después de 25OH la vitamina D ha sido liberada de sus proteínas aglutinantes diferentes moléculas biológicas pueden participar en inmunoensayos, incluyendo anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales y VDBP.

La especificidad de los anticuerpos, es decir, la reactividad cruzada contra los diversos metabolitos del SEVD es uno de los aspectos clave para la cuantificación del 25OHD y otros metabolitos en los inmunoensayos porque en el suero coexisten la vitamina D₃, excepcionalmente en España la 25(OH)D₂; 24,25(OH)2D₃/; 25,26(OH)2D y C3-epi-25OHD. Los anticuerpos policlonales por lo general suelen carecer de la especificidad necesaria, lo que limita la calidad de las determinaciones.

Para cualquier tipo de método a emplear en la valoración del estatus en vitamina D debe ser un objetivo de agencias estatales, de las sociedades científicas y de los laboratorios implicados participar en procesos eficientes de estandarización, como por ejemplo el DEQAS (acrónimo en inglés de Esquema de Evaluación de la Calidad Externa de la Vitamina D), para obtener resultados con precisión y exactitud, fundamentales en investigación y asistencia, que nos permitan definir adecuadamente los niveles deficientes e insuficientes de vitamina D, en todos los rangos de edad sexo y para cualquier objetivo de salud.

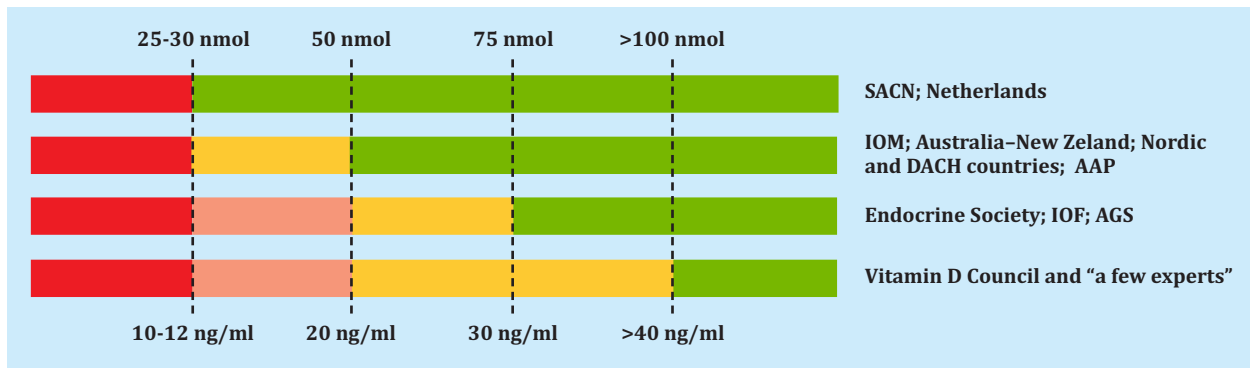
Actualmente el Programa de Estandarización de Vitamina D (VDSP) reconoce tres Procedimientos de Medición de Referencia (RMP) (Gante, NIST y CDC), que son todos ellos métodos de LC-MS⁴.

Definiciones de deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea

Aún, hoy en día, no disponemos de un consenso internacional uniforme que defina deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea¹⁸. Un grave problema para obtener estas definiciones es que dependen en gran medida de la precisión de la cuantificación de niveles en sangre de 25OHD y las discusiones sobre este aspecto continúan, sin avanzar constructivamente¹⁹.

El Reino Unido fue el primer país en 1998 que adoptó un punto de corte de niveles séricos de 25OHD para definir estatus deficiente, *Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy* (COMA). Más recientemente el Comité Asesor Científico sobre Nutrición (SACN) del Reino Unido, valorando objetivos de salud musculo esquelética (raquitismo, osteomalacia, caídas, fuerza y función muscular), propuso que el riesgo de una mala salud

Figura 4. Definiciones de deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea



musculoesquelética era mayor con concentraciones séricas de 25OHD inferiores a ~ 10-12 ng/ml.

Sobre esta base, el SACN definió en 2016 que las concentraciones séricas de 25OHD por debajo de 12 ng/ml eran deficientes para todos los grupos de edad, y concluyeron que este umbral es el único que ha demostrado ser beneficioso para cualquier resultado de salud relacionado con niveles de 25OHD y que no había pruebas suficientes para definir que niveles de 25OHD más altos fueran óptimos para la salud ósea o incluso general del organismo²⁰. Aunque Holanda adoptó estas recomendaciones, esta no es la opinión de la mayoría de las sociedades o expertos¹⁸.

El Instituto de Medicina (IOM) de los EE.UU. (renombrado posteriormente Academia Nacional de Medicina), seleccionó en 2011 la absorción de calcio, la densidad mineral ósea (BMD) y el raquitismo en niños u osteomalacia en adultos, para establecer niveles séricos adecuados de 25OHD y facilitar el desarrollo de sus recomendaciones de ingesta de vitamina D, las denominadas *Dietary Reference Intakes* (DRI)²¹. Definió una concentración sérica de 25OHD de 12 ng/ml (30 nmol/L) como el umbral por debajo del cual puede ocurrir una deficiencia clínica de vitamina D (deficiencia severa), y establecieron niveles de 25OHD de 12-20 ng/ml (30-50 nmol/l), para definir un estatus inadecuado, que representa un rango incierto que puede ser suficiente o no para un determinado individuo. Propone una concentración de 25OHD de 20 ng/mL (50 nmol/L) como el umbral de suficiencia, en términos de salud ósea, para el 97,5% de la población. Define suficiencia para niveles de 25OHD entre 20 y 30 ng/ml (50-75 nmol/l), e indica que niveles superiores a 20 ng/ml de 25OHD en suero satisfacerían las necesidades fisiológicas en vitamina D, sin que hubiera ningún beneficio añadido por encima de los 30 ng/ml (75 nmol/l), pero advierte que podría existir un daño potencial con niveles superiores a 50 ng/ml (>125 nmol/l)²². Posteriormente, los países nórdicos, la Comisión Federal Suiza de Nutrición y la European Food Safety Authority (EFSA) adoptaron las directrices de la IOM 2011 para interpretar las concentraciones de 25OHD²⁰. Aunque es importante destacar que los 20 ng/ml (50 nmol/L) sugeridos por la Academia Nacional de Medicina de Estados Unidos, no fueron propuestos con fines de diagnóstico de deficiencia de vitamina D, sino que se indicaron para respaldar la relación entre ingesta de vitamina D y el estatus de 25OHD, sobre la cual se establecen las recomendaciones dietéticas^{21,22}.

La Endocrine Society (ES) de EE.UU.⁷ publicó en 2011 otro conjunto de directrices que, desde entonces, se han

convertido en centro del debate y controversia con las directrices de Reino Unido e IOM. La ES estableció a través de su Grupo de Trabajo sobre vitamina D en los Estados Unidos una concentración de 25OHD para definir la deficiencia como niveles séricos de 25OHD <20 ng/ml (50 nmol/l), insuficiencia 21-29 ng/ml (52,5-72,5), suficiencia 30-100 ng/ml (75-250 nmol/l) y posible daño >100 ng/ml (>250 nmol/l), respectivamente. En resumen, la ES ha definido niveles séricos de 25OHD de 20 ng/mL (50 nmol/L) como el umbral de deficiencia y 75 nmol/L (30 ng/mL) como el umbral de suficiencia, para 97,5% de la población⁷. Varias sociedades médicas y organizaciones no gubernamentales han adoptado las directrices de la ES (Figura 4)²⁰.

Las pautas de la ES⁷ fueron bastante diferentes de las propuestas por las pautas de Reino Unido en 1991²⁰ o IOM 2011^{21,22} por lo que desencadenaron un intenso debate, que continúa desde entonces. La Endocrine Society declaró que sus guías fueron diseñadas para la práctica clínica y están dirigidas principalmente a pacientes con una amplia variedad de enfermedades y, por lo general, con un mayor riesgo de deficiencia de 25OHD, más que a la población sana (el principal grupo objetivo de la mayoría de las organizaciones gubernamentales). Sin embargo, no ofrecen argumentos consistentes, que justifiquen por qué el estado óptimo de vitamina D en los pacientes sería diferente del de la población sana⁷. Para mayor confusión, en 2016 el SACN objetó al afirmar que sus guías no eran para uso en la práctica clínica, sino guías de salud pública para la población general sana, no enferma²⁰.

Ambas directrices acuerdan que las recomendaciones requerirán una reconsideración en el futuro a medida que estén disponibles datos adicionales de estandarización de la cuantificación de niveles de 25OHD y ensayos aleatorios en curso.

Una minoría de expertos y organizaciones de base recomiendan niveles de 25OHD aún más altos (por encima de 40 ng/ml (100 nmol/l)), basado en el concepto que el estado "óptimo de vitamina D" se define mejor usando el presunto estatus de vitamina D de los primeros *Homo sapiens* que vivían en África ecuatorial. Estos niveles objetivo propuestos implican también que más del 90% de la población humana actual sería "deficiente o insuficiente de vitamina D" y requeriría suplementación con dosis elevadas de vitamina D por vía oral. Pero, debemos considerar, que es muy posible que las elevadas concentraciones séricas de 25OHD que se encuentran en tribus africanas primitivas no representen concentraciones séricas óptimas, sino las máximas toleradas en la evolución para evitar la toxicidad crónica de la vitamina D²³.

Tabla 1. Casos que deben ser siempre analizados para detectar la deficiencia de 25OHD

- Raquitismo-osteomalacia
- Osteoporosis
- Enfermedad renal crónica
- Insuficiencia hepática
- Hiperparatiroidismo
- Síndromes de malabsorción:
 - Fibrosis quística
 - Enfermedad inflamatoria intestinal
 - Enfermedad de Crohn
 - Cirugía bariátrica
 - Enteritis por radiación
- Fármacos:
 - Anticonvulsivos
 - Glucocorticoides
 - Anti-HIV
 - Antifúngicos, vg. Ketoconazol
 - Colestiramina
- Color oscuro de piel
- Embarazadas y mujeres lactando
- Ancianos con antecedentes de caídas
- Ancianos con antecedentes de fracturas no traumáticas
- Obesos (niños y adultos IMC: >30 kg/m²)
- Granulomas
- Sarcoidosis
- Tuberculosis
- Histoplasmosis
- Beriliosis
- Linfomas

Además de las recomendaciones citadas para la población general y con distintas patologías²⁴, los principales ensayos clínicos aleatorizados de fármacos antiosteoporosis, osteo activos, utilizaron suplementos

de vitamina D y calcio en ambos brazos de estos estudios, lo que indica que se deben administrar suplementos de vitamina D/calcio a todos los pacientes que reciben bifosfonatos o denosumab^{25,26}.

Cuantificación de niveles de 25OHD

Las personas en riesgo de deficiencia de 25OHD deben ser siempre analizadas para detectar la deficiencia, o insuficiencia e intensidad de estas (Tabla 1). Como en estos pacientes se espera que el tratamiento de sustitución de vitamina D produzca un rápido efecto favorable de salud. Desde la perspectiva de la salud pública, la determinación de niveles de 25OHD es absolutamente rentable.

Aunque se describe con frecuencia, en todo el mundo, niveles séricos de 25OHD disminuidos en personas sanas, no hay evidencia de un beneficio en el cribado poblacional general en personas sanas en busca de deficiencia en 25OHD por lo que se recomiendan estudios de detección selectiva de deficiencia de vitamina D en pacientes pertenecientes a poblaciones de riesgo⁷.

Por tanto, se recomienda realizar mediciones de 25OHD además de en osteoporóticos con antecedentes o no de fracturas no traumáticas (particularmente antes de comenzar tratamiento con agentes osteo activos, anticatabólicos o anabólicos^{25,26}), en los procesos recogidos en la tabla 1²⁷. Pacientes con el diagnóstico clínico de raquitismo u osteomalacia; ancianos con antecedentes de caídas; mujeres embarazadas y lactantes, obesos (niños y adultos); personas con insuficiente exposición al sol; pacientes con síndromes de malabsorción (congénitos o adquiridos); maldigestión y sometidos a cirugía bariátrica; enfermedad renal crónica, insuficiencia hepática, fibrosis quística; hiperparatiroidismo primario y o secundario. También es conveniente evaluar niveles de 25OHD en pacientes sometidos a tratamientos que interfieren con el metabolismo del sistema endocrino de la vitamina D (fármacos anticonvulsivos, glucocorticoides, medicamentos para el SIDA, antimicóticos y colestiramina, entre otros) y en granulomas y algunos linfomas (en estos casos, también se aconseja evaluar niveles séricos de 1,25 (OH)2D).



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

Bibliografía

- Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: Current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev.* 2019;40:1109-1151. doi: 10.1210/er.2018-00126.
- Bikle DD. Extraskeletal actions of vitamin D. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1376:29-52. doi:10.1111/nyas.13219.
- Quesada-Gómez JM, Diaz-Curiel M, Sosa-Henriquez M, Malouf-Sierra J, Nogues-Solan X, Gomez-Alonso C, et al. Low calcium intake and inadequate vitamin D status in postmenopausal osteoporotic women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:175-7. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.10.013.
- Heureux N. Vitamin D testing-where are we and what is on the horizon. *Adv Clin Chem.* 2017;78:59-101. doi: 10.1016/bs.acc.2016.07.002.
- Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. Washington, DC: National Academies Press. 2011. pp. 1115. (entrada Junio 2020).
- Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). SACN vitamin D and health report. Public Health England, 2016. (Entrada Junio 2020).
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:1911-30. doi: 10.1210/jc.2011-0385.
- Dusso AS. Kidney disease and vitamin D levels: 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, and VDR activation. *Kidney Int. Suppl.* 2011;1:136-141.
- Feldman D, Pike JW, Bouillon R, Giovannucci E, Goltzman D, Hewison M (eds.). Vitamin D. Volume 1: Biochemistry, Physiology and Diagnostics. London; Elsevier Academic Press: 2018.
- Quesada Gómez JM, Heureux N. Vitamina D libre: una determinación en aumento. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2019;11:30-34. doi: 10.4321/s1889-836x2019000100006.
- Bikle DD. The free hormone hypothesis: when, why, and how to measure the free hormone levels to assess vitamin D, Thyroid, sex hormone, and cortisol status. *JBM Plus.* 2020;5(1):e10418. doi: 10.1002/jbm4.10418.
- Schwartz JB, Lai J, Lizaola B, Kane L, Markova S, Weyland PA, et al. Comparison of measured and calculated free 25(OH) vitamin D levels in clinical populations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:1631-7. doi: 10.1210/jc.2013-3874.
- Cashman KD, Hayes A, Galvin K, Merkel J, Jones G, Kaufmann M, et al. Significance of serum 24,25-dihydroxyvitamin D in the assessment of vitamin D status: a double-edged sword? *Clin Chem.* 2015; 61:636-45. doi: 10.1373/clinchem.2014.234955.
- Bosworth CR, Levin G, Robinson-Cohen C, Hoofnagle AN, Ruzinski J, Young B, et al. The serum 24,25-dihydroxyvitamin D concentration, a marker of vitamin D catabolism, is reduced in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;82:693-700. doi: 10.1038/ki.2012.193.
- Cashman KD, Kinsella M, Walton J, Flynn A, Hayes A, Lucey AJ, et al. The 3 epimer of 25-hydroxycholecalciferol is present in the circulation of the majority of adults in a nationally representative sample and has endogenous origins. *J Nutr.* 2014 Jul;144(7):1050-7. doi: 10.3945/jn.114.192419.
- Al-Zohily B, Al-Menhali A, Gariballa S, Haq A, Shah I. Epimers of vitamin D: a review. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 11;21(2): 470. doi: 10.3390/ijms2102 0470.
- Van den Ouweland JM, Beijers AM, van Daal H. Overestimation of 25-hydroxyvitamin D3 by increased ionisation efficiency of 3-epi-25-hydroxyvitamin D3 in LC-MS/MS methods not separating both metabolites as determined by an LC-MS/MS method for separate quantification of 25-hydroxyvitamin D3, 3-epi-25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014 Sep 15;967: 195-20.
- Bouillon R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13:466-479. doi: 10.1038/nrendo.2017.31.
- Sempos CT, Binkley N. Hydroxyvitamin D assay standardisation and vitamin D guidelines paralysis. *Public Health Nutr.* 2020;23:1153-1164. doi: 10.1017/S1368980019005251.
- Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN) (2016) Vitamin D and Health. <https://www.gov.uk/government/groups/scientific-advisory-committee-on-nutrition> (entrada Junio 2020).
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: The National Academies Press 2011 (entrada Junio 2020).
- Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:53-8. doi: 10.1210/jc.2010-2704.
- Durazo-Arvizu RA, Camacho P, Bovet P, Forrester T, Lambert EV, Plange-Rhule J, et al. 25-Hydroxyvitamin D in African-origin populations at varying latitudes challenges the construct of a physiologic norm. *Am J Clin Nutr.* 2014;100:908-14. doi: 10.3945/ajcn.113.066605.
- Fuleihan Gel-H, Bouillon R, Clarke B, Chakhtoura M, Cooper C, McClung M, Singh RJ. Serum 25-hydroxyvitamin D levels: variability, knowledge gaps and the concept of a desirable range. *J Bone Miner Res.* 2015; 30:133-140
- Carmel AS, Shieh A, Bang H, Bockman RS. The 25(OH)D level needed to maintain a favorable bisphosphonate response is ≥ 33 ng/ml. *Osteoporos. Int.* 2012;23:2479-2487. doi: 10.1007/s00198-011-1868-7.
- Díez-Pérez A, Olmos JM, Nogués X, Sosa M, Díaz-Curiel M, Pérez-Castrillón JL, et al. Risk factors for prediction of inadequate response to antiresorptives. *J Bone Miner Res.* 2012;27:817-24. doi: 10.1002/jbmr.1496.
- Varsavsky M, Rozas Moreno P, Becerra Fernández A, Luque Fernández I, Quesada Gómez JM, Ávila Rubio V, et al; en representación del Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Recomendaciones de vitamina D para la población general. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2017; 64 Suppl 1:7-14. doi: 10.1016/j.endinu.2016.11.002.

Papel de las nuevas técnicas de imagen en la predicción del riesgo de fractura

Del Río Barquero L

CETIR Centro Médico. Grupo Ascires (España)

Resumen

La incorporación de la absorciometría radiológica de doble energía (DXA) al arsenal de técnicas diagnósticas desencadenó una cascada de avances en el manejo de las osteopatías metabólicas. El uso extenso de la DXA ha permitido reconocer sus indicaciones y detectar limitaciones en la evaluación del riesgo de fractura ósea. En la última década se han desarrollado nuevos avances aplicables a la técnica original. Estos son el *Trabecular Bone Score* (TBS) y la reconstrucción en 3D de las imágenes DXA. Con enfoques diferentes permiten valorar la microarquitectura del hueso trabecular (TBS) y las mediciones con gran exactitud del hueso trabecular y cortical, alcanzando las mediciones de densidad ósea volumétrica, grosor cortical y variables geométricas. Esta nueva información ahora accesible permite el cálculo de la resistencia ósea sujeto-específica y abre la posibilidad de predecir el comportamiento biomecánico ante los traumas y sobrecargas, avanzando el diagnóstico de fragilidad antes de la aparición de las fracturas.

INTRODUCCIÓN

En 1994, la OMS definió criterios para el diagnóstico de la osteoporosis usando la medición de la densidad mineral ósea (DMO). La técnica DXA se ha impuesto como la tecnología dominante para cuantificación de la DMO debido a:

- Una correlación sólida entre la DMO medida por DXA y la resistencia ósea en estudios biomecánicos,
- Estudios epidemiológicos que muestran una fuerte relación entre el riesgo de fractura y la DMO,
- Por su uso en ensayos clínicos de tratamientos para la selección de sujetos y monitorización en función de su excelente precisión y baja dosis de radiación.

La DXA está indicada para diagnosticar la osteoporosis, evaluar el riesgo de fractura y monitorear los cambios en la DMO a lo largo del tiempo. En los últimos años, se han producido mejoras de la tecnología DXA inicial y se usa para otras mediciones, más allá de la DMO (p. ej. geometría de fémur, detección de fracturas vertebrales, análisis de composición corporal).

Una de las limitaciones en el enfoque diagnóstico de la medición de la masa ósea es la superposición de valores de DMO de sujetos con y sin fracturas¹. El valor predictivo de la medición de la DMO es limitado y el umbral diagnóstico de la OMS del *T-score* <-2,5 se toma como un factor más (si bien, el más potente), pero no el único, en la toma de decisiones clínicas. La última definición de osteoporosis integraba el concepto de alteración de la calidad estructural del hueso.

La calidad ósea engloba a múltiples factores no relacionados directamente con la masa ósea. Han sido identificados factores macro y micro estructurales por su relación con la fortaleza ósea y por tanto con las fracturas por fragilidad.

Para satisfacer la necesidad de evaluación de estos factores estructurales se han desarrollado nuevos procedimientos de evaluación ósea usando la técnica más ampliamente difundida como es la DXA. Este documento va a revisar someramente la aplicación de la técnica TBS (*Trabecular Bone Score*, índice o puntuación del hueso trabecular) y de la reconstrucción 3D de la imagen DXA, que abre nuevos horizontes como es el cálculo de la resistencia ósea con un método no-invasivo sencillo y seguro.

TBS

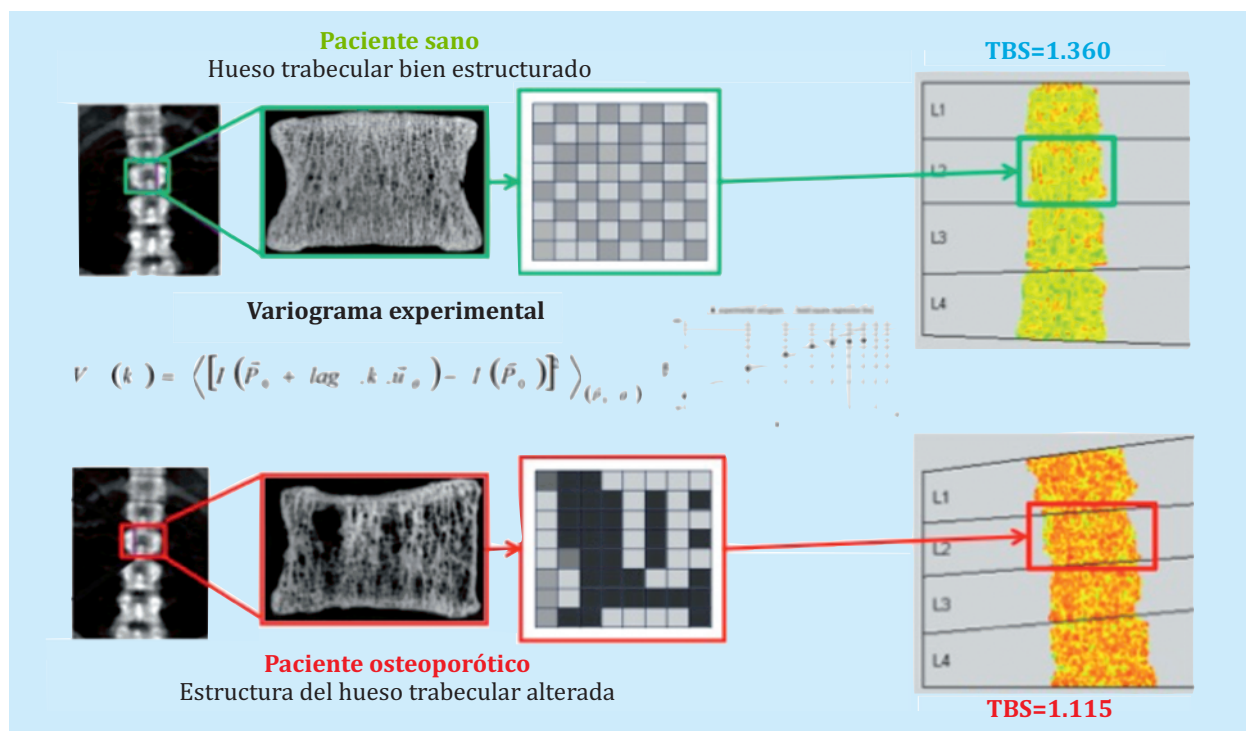
Fundamentos físicos TBS

El TBS ha sido descrito por los desarrolladores como un parámetro de textura de imagen que refleja las diferencias en el nivel de gris con la que son representadas las celdillas (píxeles) en las imágenes DXA. El TBS se calcula usando los datos no procesados de la adquisición DXA pero el cálculo se realiza por separado y por métodos diferentes al de la DMO. El TBS se procesa al finalizar la medición y análisis de la exploración de DMO y se aplica a la misma región de interés. El principio de cálculo TBS, fue publicado en 2008². Las variaciones en la escala de grises con que se representan los píxeles contiguos, en múltiples direcciones aleatorias constituyen el variograma experimental. Una imagen 3D de una estrecha red de trabéculas produce una imagen de proyección 2D con muchas variaciones de nivel de gris de pequeña amplitud y, por lo tanto, una pendiente empinada del variograma lo que ofrece un valor de TBS alto (una microarquitectura conservada asociada a buena resistencia mecánica). Por el contrario, un valor bajo de TBS indica microarquitectura de baja calidad con pocas variaciones de nivel de



Correspondencia: Luis del Río Barquero (ldelrio@cetir.es)

Figura 1. Síntesis del método de cálculo del TBS. Diferencias entre TBS de un sujeto con hueso sano y otro con osteoporosis



gris, de considerable amplitud, inherentes a una pendiente suave en el origen de la variograma. El software para el cálculo TBS (*TBS InSight*[®]) es una aplicación distribuida por Med-imaps (Francia) (Figura 1).

Correlación entre el TBS y parámetros microarquitectura ósea:

Las correlaciones en el estudio inicial² entre el TBS y los principales parámetros micro-arquitectónicos 3D medidos en muestras de hueso trabecular utilizando micro-CT en distintos huesos del esqueleto. Se determinaron los siguientes parámetros de microarquitectura: volumen óseo/volumen total (BV/TV), el grosor trabecular (TbTh), el espaciado entre trabeculas (TbSp), el número de trabeculas (TbN), y su conectividad (Conn.) (Tabla 1).

TBS en el envejecimiento:

Las primeras curvas de evolución del TBS en relación a la edad se establecieron sobre los resultados de 5.942 mujeres francesas³. En la actualidad se han efectuado estudios normativos en múltiples países, incluido en España (Proyecto SEIOMM-TBS) que confirma una gran similitud de los valores de TBS en ambos sexos^{4,7}. En población española (Proyecto SEIOMM-TBS), los valores de TBS en mujeres y hombres adultos en el tramo de 20-30 años, fueron muy similares y alcanzaban su valor más elevado. TBS disminuye con la edad en ambos sexos. La disminución de TBS y DMO es similar en la década 40-50 años. En las mujeres la disminución promedio de TBS entre 20-80 años fue del -18% y en los hombres fue del -14%. Los valores de TBS mostraron pobre correlación con el índice de masa corporal ($r=-0,1$), el peso ($r=-0,1$) y la DMO L1-L4 ($r=0,2$) (Figura 2).

Reproducibilidad:

El coeficiente de variación es similar a las mediciones de DMO del DXA, siendo de 1,5% para el TBS (1,2% para la

Tabla 1. Correlación (r) entre valor TBS y parámetros microarquitectura usando micro-tomografía computarizada

Origen muestra	Número	BV/TV	TbTh	TbSp	TbN	Conn
Vértebra	20	-0,63	0,23	0,73	-0,84**	-0,85**
Cuello Fem.	17	-0,25	0,57	0,62*	-0,52	-0,53
Radio Ultr.	20	0,00	0,83**	0,34	-0,46	-0,60

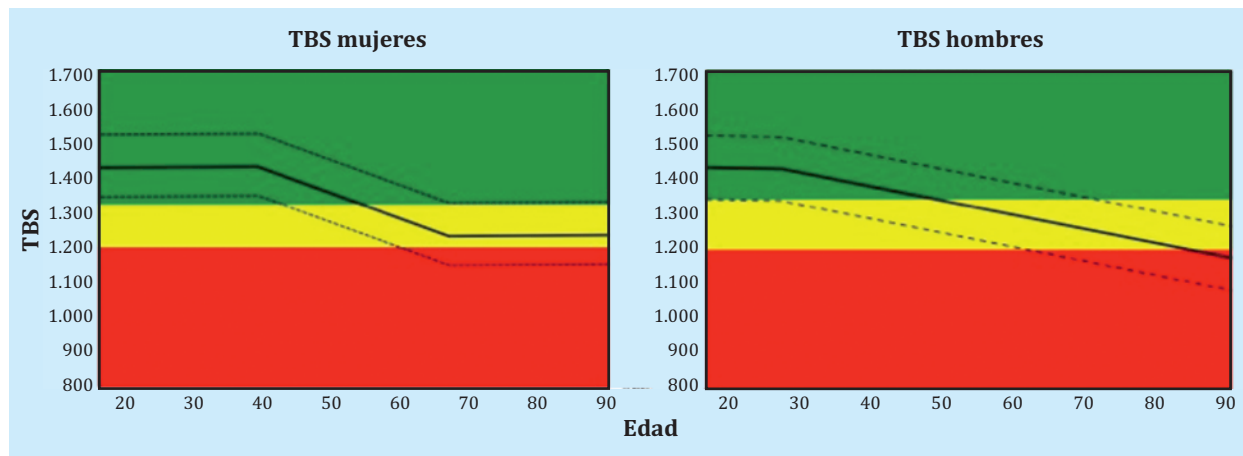
* $p<0,01$; $p<0,0001$.

DMO)⁸. La reproducibilidad *in vivo* de TBS utilizando el protocolo ISCD en 30 pacientes no seleccionados (26 mujeres y cuatro hombres) que no tenían fracturas vertebrales detectables. La media TBS fue $1,239\pm 0,082$, el coeficiente de variación fue del 1,9%, y la diferencia menos significativa fue 0,065. Por las mismas pacientes, el coeficiente de variación fue del 1,2% para la DMO.

Estudios sobre la capacidad de la fractura-discriminación de la TBS:

Varios estudios han evaluado la capacidad de la TBS para diferenciar los pacientes con fracturas por fragilidad de aquellos sin fracturas. El TBS en todos ellos fue significativamente menor en los pacientes con fracturas que en los controles. Estos estudios transversales indican que TBS es capaz de discriminar los individuos con fracturas de los controles y que el poder discriminatorio de la TBS es similar o superior a la de la DMO y que la combinación de la TBS y la DMO proporcionan una mejor discriminación que la DMO en solitario⁸⁻¹¹.

Figura 2. Evolución de TBS en relación a edad en ambos sexos representada por línea sólida. Límites de ± 1 desviación estandar



El estudio poblacional más citado con TBS es el realizado en la Cohorte MANITOBA. Se comparó prospectivamente la TBS y DMO de columna lumbar en un amplio grupo de población femenina 29.407 mujeres mayores de 50 años¹². Para un rango de DMO lumbar dado (normal o osteopenia u osteoporosis), el número anual de fracturas de incidentes fue siempre mayor en el tercil más bajo TBS. La DMO de columna lumbar y la TBS se correlacionaron débilmente ($r=0,32$). Los resultados fueron similares para la predicción de fracturas de cadera o de cualquiera de los cuatro principales tipos de fractura considerados. Para los cuatro tipos de fractura juntos la capacidad predictiva mejoró significativamente cuando se combinaba la DMO y TBS.

En los estudios de la cohorte OFELY¹³ y OPUS¹⁴ el rendimiento de TBS fue significativamente mejor que la DMO de columna lumbar para la predicción de fracturas osteoporóticas clínicas. En las fracturas vertebrales radiológicas, TBS y DMO de columna tenían un poder predictivo similar, pero la combinación de TBS y DMO aumentaron el rendimiento con una capacidad predictiva similar a la DMO de área total de fémur y cuello femoral. En las mujeres no osteoporóticas, el TBS predijo las fracturas incidentes por fragilidad de manera similar a la DMO. La combinación de TBS y la DMO mejoraba en todos los escenarios la predicción en comparación con el uso de la DMO únicamente.

Impacto de la osteoartritis en TBS:

La esclerosis ósea relacionada con la osteoartritis genera contrastes más o menos marcados, con el hueso sano adyacente, y el método utilizado para calcular el TBS detecta estas interfaces y parece sólo mínimamente afectada por grandes masas de hueso osteoartrítico. En un estudio retrospectivo transversal de 141 densitometrías en pacientes con osteoartritis, sólo en L4 (utilizando el criterio ISCD, a saber, una diferencia de más de 1 DE entre los valores de la DMO entre L4 y L3) y 249 controles (define utilizando ISCD criterios como la DMO de L1 <L2 <L3, y >L4), mostró que la osteoartritis no tuvo ningún efecto significativo en los valores de TBS, siempre y cuando el aumento de la DMO resultante fuera en L3 menor de 3,5 desviaciones estándar³.

TBS como nuevo factor de riesgo del FRAX®:

Los desarrolladores del TBS y el grupo de investigadores

de la Universidad de Sheffield determinaron el impacto del TBS en la probabilidad de fractura, más allá de la proporcionada por los factores de riesgo clínicos utilizados en FRAX. Se utilizó la cohorte de Manitoba, Canadá¹⁵ en un retrospectivo aplicando el TBS a la exploración DXA inicial y resto de variables de riesgo ya usadas en el FRAX. Cuando está completamente ajustado por las variables de riesgo del FRAX, el TBS siguió siendo un predictor estadísticamente significativo de las principales fracturas osteoporóticas. Se han derivado modelos de ajuste para las principales fracturas y fractura de cadera, teniendo en cuenta la edad y el TBS. Se ha determinado que el TBS es un factor de predictor del riesgo de fractura osteoporótica, independiente de la DMO del cuello femoral y de los factores de riesgo clínico siendo un factor de riesgo de mortalidad.

Aplicación en la práctica clínica:

La valoración de la microarquitectura ósea permite la identificación de pacientes con alto riesgo de fractura que no han sido clasificados adecuadamente sólo por la densidad mineral ósea. La aplicación del TBS facilita el manejo de los pacientes al reconocer los sujetos que cuentan con una DMO baja y estructura ósea alterada¹⁶. En este sentido, el sector de población que puede beneficiarse más de la aplicación del TBS son aquellas personas que tienen un T-score en la DMO <-1,0 y >-2,5 (Figura 3).

En la rutina clínica, el TBS debe ser considerado como un "factor de riesgo" adicional que ayudará en la orientación y manejo del paciente con riesgo de osteoporosis.

El TBS al verse menos afectado por los artefactos que más influyen en las mediciones de DMO, ya sean intrínsecos, como las alteraciones degenerativas, calcificaciones extra-esqueléticas, o extrínsecos, como elementos ortopédicos, aumentan el rendimiento diagnóstico de la técnica DXA.

Umbral diagnóstico:

Los valores de referencia utilizados han sido revalidados tras la revisión de varias cohortes de población femenina europea, en la que se han integrado también mujeres de España. Con los datos actuales se considera un umbral de degradación significativa de la microarquitectura del hueso trabecular, un resultado de TBS inferior a 1.200.

CONCLUSIONES

El TBS es un nuevo método de aplicación de la técnica diagnóstica DXA que permite evaluar la microarquitectura ósea, determinante clave de la resistencia ósea. El TBS puede ser calculado de manera sencilla, utilizando la tecnología DXA, ampliamente disponible y siguiendo el mismo procedimiento convencional para la medición de la DMO. El TBS es un valor cuantitativo reproducible y por tanto monitorizable. Los resultados clínicos obtenidos en grupos de poblaciones amplios confirman que la combinación de DMO y TBS es capaz de predecir fracturas por fragilidad y que mejora sustancialmente la capacidad predictiva del riesgo de fractura.

DXA EN 3D

La DXA, aunque ofrece una medición precisa de la DMO, está limitada por su bidimensionalidad y no alcanza a representar la distribución espacial de la DMO en las estructuras del hueso explorado. Para superar esta limitación, la tomografía computarizada cuantitativa (QCT) permite la reconstrucción en 3D y valorar la distribución de la DMO en el hueso. Varios parámetros valorados en 3D están fuertemente correlacionados con la fortaleza del fémur, como la DMO trabecular y cortical, la DMO volumétrica en regiones específicas, o parámetros geométricos como la longitud del eje del cuello y el grosor cortical, y justifican la variación de la fuerza necesaria para alcanzar el fallo mecánico, mejorando la estimación del riesgo de fractura cuando complementa a la DMOa¹⁷. La QCT, sin embargo, expone a una dosis de radiación significativamente mayor que la DXA y tiene un coste mayor, motivos que limitan su aplicación a ámbitos de la investigación.

En los últimos años se ha conseguido reconstruir un modelo estadístico que combina la forma del hueso en 3D y la distribución de la DMO a partir de una base de datos *in vivo* de exploraciones QCT del fémur proximal^{18,19}. La reconstrucción se realiza mediante un proceso de registro 3D-2D basado en intensidad y se maximiza la similitud entre su proyección QCT y la imagen DXA. La metodología pone énfasis en conseguir una reconstrucción 3D de la imagen DXA con un modelo de densidad ósea que se asemeja, mediante actualización iterativa, a la información que tendría un QCT, resolviendo la relación con otras estructuras óseas (Figura 4).

Este método se ha concretado en un software comercial conocido como 3D-Shaper® (Galgo Medical, Barcelona, España), disponible para su aplicación en gran parte de los densitómetros actualmente existentes (GELunar; Hologic, DMS). Uno de los aspectos más interesantes de esta técnica es que utiliza la imagen DXA obtenida de forma convencional, sin que condicione un procedimiento diferente o mas tiempo o mayor dosis de radiación. En la actualidad esta disponible para la reconstrucción 3D de fémur proximal y columna lumbar.

Figura 3. Ejemplo interpretación de un resultado TBS

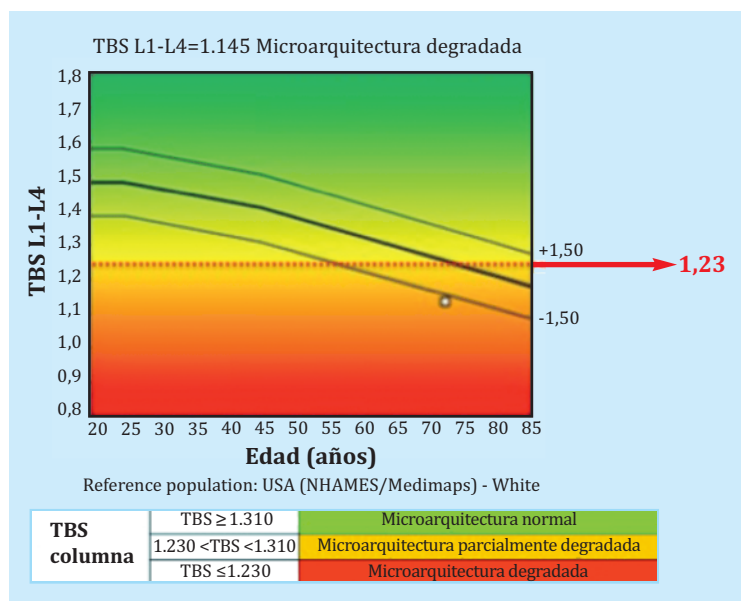
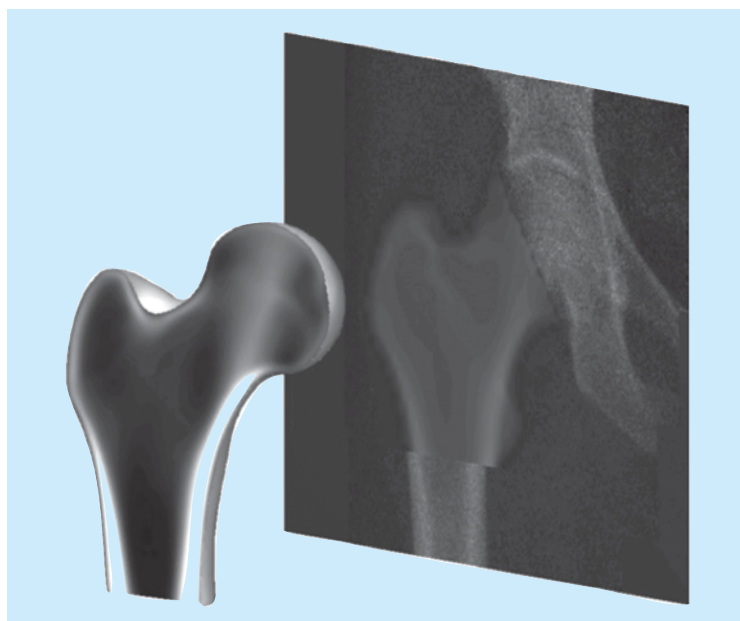


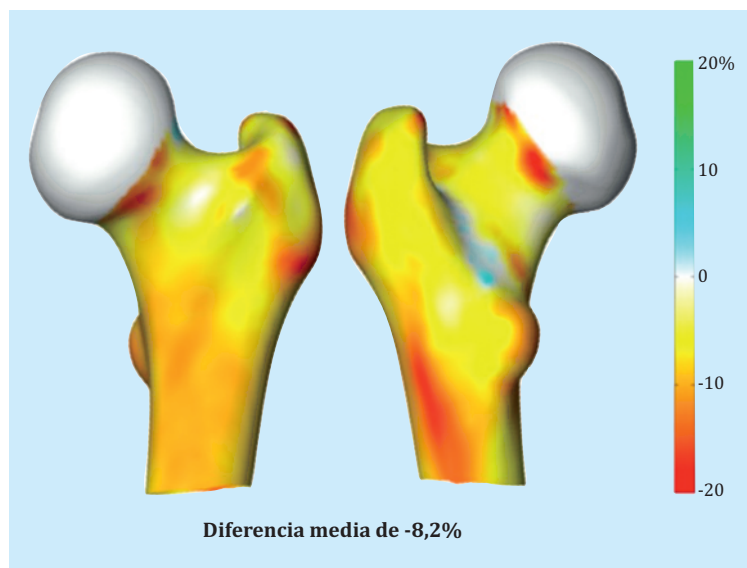
Figura 4. Síntesis del procedimiento de reconstrucción 3D a partir de imagen DXA 2D. La interacción del proceso maximiza la similitud entre la proyección simulada y DXA optimizando en: orientación y tamaño, forma ósea y distribución de DMO



Variables que calcula:

El software permite reconstruir en 3D y realizar mediciones de densidad ósea volumétrica (cm^3) de forma aislada del componente trabecular; del hueso cortical o integrando ambos compartimentos (hueso integrado): DMO volumétrica trabecular (vBMD trabecular, en mg/cm^3), DMO volumétrica cortical (vBMD cortical, en mg/cm^3), DMO volumétrica hueso integrado (vBMD global, en mg/cm^3). La medición del grosor cortical (Cth) en mm y la DMO de la superficie cortical (sBMD cortical) se calcula, en cada vértice de la malla de la superficie femoral, como la multiplicación de la Cth (en cm) por la vBMD cortical (en g/cm^3) observada a lo largo de este espesor. La sBMD cortical se expresa en gramos por centímetro

Figura 5. Diferencias promedio de grosor cortical en estudio casos-controles de fracturas de cadera



cuadrado. La sBMD cortical se ha utilizado en los estudios que utilizan QCT en la literatura²⁰. En el contexto de la monitorización del paciente, cualquier aumento de Cth, vBMD cortical o ambas, dará como resultado un aumento de sBMD cortical. Por otro lado, si Cth y vBMD cortical varían de manera similar de forma opuesta (p. ej., aumento de Cth y disminución de vBMD cortical), la sBMD cortical permanecerá sin cambios.

Si la región explorada es el fémur, los valores medios de las variables antes mencionadas se calculan sobre la región de interés total del fémur (cuello, trocánter; región inter-trocanterea, diáfisis y área total), o en columna lumbar (en las vertebrae L1 a L4 y sus promedios)²¹.

Exactitud:

La exactitud de las mediciones y la potencial necesidad de una exploración de la región ósea única o múltiple (distintos ángulos) se evaluó *in vivo* comparando reconstrucciones 3D obtenidas a partir de imágenes DXA simuladas utilizando exploraciones DXA repetidas con reposición del paciente y diferentes inclinaciones, con reconstrucciones QCT en 3D. La comparación mostró que el uso de una única DXA proporciona reconstrucciones 3D de gran exactitud (precisión de forma media de 1,0 mm y errores de distribución de la DMO del 7,0%)²². En otro trabajo en el que se analizaron los datos de micro-TC de alta resolución de 23 fémures proximales de cadáveres para determinar una relación entre el grosor cortical y la densidad²³ y se complementó con un estudio de casos y controles que incluyó a pacientes con osteoporosis y controles pareados por edad con densidad ósea normal para evaluar el método en un contexto clínico. Los errores de estimación del espesor cortical (densidad) fueron de $0,07 \pm 0,19$ mm (-18 ± 92 mg/cm³) utilizando los volúmenes de TC clínicos simulados con el tamaño de vóxel más pequeño ($0,33 \times 0,33 \times 0,5$ mm³), y $0,10 \pm 0,24$ mm (-10 ± 115 mg/cm³) utilizando los volúmenes con el tamaño de vóxel más grande ($1,0 \times 1,0 \times 3,0$ mm³). El estudio de casos y controles mostró que los pacientes osteoporóticos tenían una corteza más delgada y una densidad cortical más baja, con diferencias promedio de -0,8 mm y -58,6 mg/cm³ en el fémur proximal en comparación con los controles de la misma edad (valor $p < 0,001$).

En columna lumbar el error de exactitud de la forma anatómica fue de 1,5 mm en la vértebra total y 0,6 mm en el cuerpo vertebral. Los coeficientes de correlación entre las mediciones derivadas de DXA y QCT variaron de 0,8 a 0,9²¹.

Precisión:

La precisión *in vivo* a corto plazo de las mediciones 3D efectuadas con adquisiciones DXA efectuadas con sistemas HOLOGIC y GE en seguimiento de pacientes en un intervalo de 18 meses entre exploración basal y la DXA de monitorización²⁴. Considerando el cambio mínimo significativo para un intervalo de confianza de 95%, los intervalos de tiempo recomendados para la evaluación de tendencia en mujeres postmenopáusicas fueron de 2,9 años (DMO volumétrica integral), 2,6 años (DMO volumétrica trabecular) y 3,5 años (DMO de superficie cortical), utilizando el densitómetro Lunar iDXA. Los intervalos de evaluación de tendencias para la DMO del área fueron de 2,8 años en el cuello y 2,7 años en el fémur total. Los intervalos de tiempo en mujeres postmenopáusicas fueron similares a los medidos para las mediciones de la DMOa en 2D en la región del fémur.

Relación de los parámetros 3D con resistencia ósea

Estudios *in vitro*:

El método evaluó, en un experimento con muestras óseas *ex vivo*, la capacidad de predicción de la resistencia ósea en exámenes biomecánicos en conjunto de 90 fémures de cadáveres que fueron previamente explorados con DXA, obteniendo un coeficiente de correlación de 0,85 entre la carga de fractura pronosticada y la medida, mientras que una regresión usando mediciones de DMOa (DXA) resultó en un coeficiente de correlación de 0,77²⁵.

Estudios *in vivo*:

En un estudio retrospectivo de casos y controles²⁶ se evaluó las mediciones 3D-DXA en una cohorte de mujeres postmenopáusicas con fractura de cadera. La DMO total del área total de cadera del grupo de fractura fue un 10% menor en comparación con el grupo control. Las diferencias en la DMO volumétrica (cadera total) medida por 3D-Shaper fueron más pronunciadas en el compartimento trabecular (-23%) que en el cortical (-8%). El área bajo la curva (curvas ROC) fue de 0,742 para la DMO volumétrica trabecular, 0,706 para la DMO volumétrica cortical y 0,712 para la DMO total del área de la cadera. Las diferencias en la cortical fueron localmente más pronunciadas en la cara media del eje, la cara lateral del trocánter mayor y la cara supero-lateral del cuello. Se observaron marcadas diferencias en la DMO volumétrica en el trocánter mayor (Figura 5).

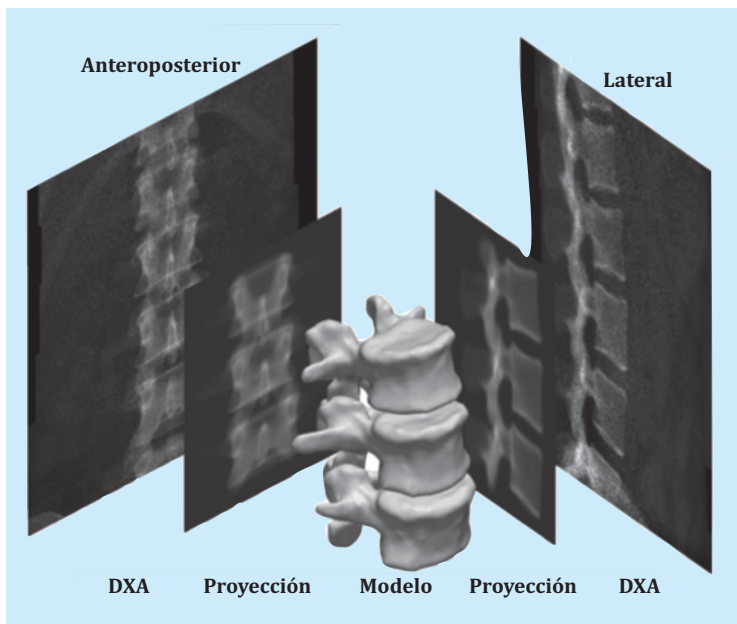
En un estudio de casos (61 fracturas de cadera) y controles se valoró la capacidad predictiva de fracturas a partir de mediciones 3D de columna lumbar evaluando la asociación de medidas 3D-DXA de columna lumbar en sujetos que han sufrido fracturas de fémur osteoporóticas. Se encontró una asociación más fuerte entre las fracturas de cuello de fémur y las variables del hueso cortical de columna lumbar en comparación con las mediciones del hueso trabecular²⁷.

Evaluando la asociación de las mediciones 3D-DXA con las fracturas vertebrales en un estudio retrospectivo de casos y controles²⁸. Las exploraciones DXA en la columna lumbar se adquirieron al inicio del estudio (es decir, antes del evento de fractura para los sujetos fracturados). La DMOa del grupo de fractura fue 9,3% menor en comparación con el grupo de control ($p < 0,01$); si bien, se encontró una mayor diferencia para la DMOv trabecular en el cuerpo vertebral (-16,1%, $p < 0,001$), discriminando mejor los grupos de fractura y control, con un AUC de 0,733, frente a 0,682 para la DMOa. Este estudio mostró la capacidad de las mediciones 3D-DXA para discriminar pacientes con fracturas vertebrales y pacientes que no las han sufrido (Figura 6).

Proyección de futuro:

La reconstrucción 3D de regiones óseas con geometría compleja pueden beneficiarse de los análisis biomecánicos basados en elementos finitos (FE) que permiten mejorar la predicción del riesgo de fractura integrando información definitiva sobre el comportamiento biomecánico cuando el hueso es sometido a cargas físicas. En este sentido cabe destacar el estudio²⁹ en el que se incluyeron pacientes con fractura reciente de fémur y controles. Se simuló una caída lateral utilizando una carga máxima estática que dependía de la masa y la altura del paciente. Los resultados mostraron que la variable biomecánica estrés máximo principal fue mejor discriminador (AUC $> 0,80$) que la DMO volumétrica (AUC $\leq 0,70$). Se logró una alta capacidad de discriminación cuando el análisis se realizó por tipo de hueso, zona de fractura y

Figura 6. Procedimiento reconstrucción 3D de columna lumbar a partir de imágenes DXA 2D. Enfoque inicial en el que se valoró integración de dos proyecciones PA y lateral (Tristan Whitmarsh, Ludovic Humbert, Luis M. Del Río Barquero, Silvana Di Gregorio, Alejandro F. Frangi. *Medical Image Analysis* 17 (2013) 475-487).



género/sexo (AUC de 0,91 para mujeres, hueso trabecular y área de trocánter). Los resultados sugirieron que el hueso trabecular es fundamental para la discriminación de fracturas de fémur. La aplicación del análisis de elementos finitos a los modelos derivados de las exploraciones DXA pueden mejorar significativamente la predicción del riesgo de fractura de sectores complejos como el fémur; proporcionando una nueva perspectiva para que los médicos utilicen esta nueva tecnología.

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

Bibliografía

- Cummings SR (1985) Are patients with hip fractures more osteoporotic? Review of the evidence. *Am J Med.* 78:487-494.
- Pothuaud L, Carceller P, Hans D (2008). Correlations between grey-level variations in 2D projection images (TBS) and 3D microarchitecture: applications in the study of human trabecular bone microarchitecture. *Bone.* 42:775-787.
- Dufour R, Winzenrieth R, Heraud A, Hans D, Mehsen N. Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women. *Osteoporos Int.* 2013 Nov;24(11):2837-46.
- Guagnelli MÁ, Winzenrieth R, Deleze M, Cons-Molina F, Clark P. Description of Normative Spine TBS Data for Men and Women in Mexican Population. *J Clin Densitom.* 2020 Jul 2:S1094-6950(20)30094-9.
- Simonelli C, Leib E, Mossman N, Winzenrieth R, Hans D, McClung M. Creation of an age-adjusted, dual-energy x-ray absorptiometry-derived trabecular bone score curve for the lumbar spine in non-Hispanic US White women. *J Clin Densitom.* 2014 Apr-Jun;17(2):314-9.
- Iki M, Tamaki J, Sato Y, Winzenrieth R, Kagamimori S, Kagawa Y, Yoneshima H. Age-related normative values of trabecular bone score (TBS) for Japanese women: the Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) study. *Osteoporos Int.* 2015 Jan;26(1):245-52.
- Looker AC, Sarafrazi Isfahani N, Fan B, Shepherd JA. Trabecular bone scores and lumbar spine bone mineral density of US adults: comparison of relationships with demographic and body size variables. *Osteoporos Int.* 2016 Aug;27(8):2467-75.
- Hans DB, Cormier C, Bloch JG, Dufour R, Héraud A, Barthe N, Colson F, Giraldi JM, Lamy O, Krieg MA (2009) Indice TBS: la microarchitecture par DXA. *Impact Santé, Abstract Rhumatologie.* 302:4-8.
- Pothuaud L, Barthe N, Krieg MA, Mehsen N, Carceller P, Hans D (2009). Evaluation of the potential use of trabecular bone score to complement bone mineral density in the diagnosis of osteoporosis: a preliminary spine BMD-matched, case-control study. *J Clin Densitom.* 12:170-176.
- Rabier B, Héraud A, Grand-Lenoir C, Winzenrieth R, Hans D (2010). A multi-centre, retrospective case-control study assessing the role of trabecular bone score (TBS) in menopausal Caucasian women with low areal bone mineral density (BMDa): analysing the odds of vertebral fracture. *Bone.* 46:176-181.
- Winzenrieth R, Dufour R, Pothuaud L, Hans D (2010). A retrospective case-control study assessing the role of trabecular bone score in postmenopausal Caucasian women with osteopenia: analyzing the odds of vertebral fracture. *Calcif Tissue Int.* 86:104-109.
- Hans DB, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD (2009). Bone micro-architecture assessed by TBS predicts clinical spine fractures independently of BMD in 29407 women aged 50 and older: the Manitoba Prospective Study. *ASBMR, Denver.*
- Boutroy S, Hans DB, Sornay-Rendu E, Vlayphiou N, Winzenrieth R, Munoz F, Chapurlat R (2010). Trabecular bone score helps classifying women at risk of fracture: a retrospective analysis of the OFELY study. *ASBMR, Toronto.*
- Briot K, Paternotte S, Kolta S, Eastell R, Reid DM, Felsenberg D, Glüer CC, Christian Roux C. Added value of trabecular bone score to bone mineral density for prediction of osteoporotic fractures in postmenopausal women: The OPUS study. *Bone.* 2013 Nov; 57(1):232-6.
- McCloskey EV, Oden A, Harvey NC, Leslie WD, Hans D, Johansson H, Kanis JA. Adjusting Fracture Probability by Trabecular Bone Score. *Calcif Tissue Int.* DOI 10.1007/s00223-015-9980.
- <https://seiommm.org/wp-content/uploads/2020/04/Posici%C3%B3n-Oficial-SEIOMM-sobre-TBS.pdf>.
- V. D. Bousson, J. Adams, K. Engelke, M. Aout, M. Cohen-Solal, C. Bergot, D. Haguenaer, D. Goldberg, K. Champion, R. Aksoh, E. Vicaut, and J.-D. Laredo, "In vivo discrimination of hip fracture with quantitative computed tomography: Results from the prospective European Femur Fracture Study (EFFECT)," *J. Bone Mineral Res.* vol. 26, no. 4, pp. 881-893, 2011.
- T. Whitmarsh, L. Humbert, M. S.D. Craene, L.M. del Río Barquero, K. Fritscher, R. Schubert, F. Eckstein, T. M. Link, and A. F. Frangi. 3D bone mineral density distribution and shape reconstruction of the proximal femur from a single simulated DXA image: An in vitro study, in *Proc. SPIE Med Imag.* 2010: Image Process. 2010, vol. 7623, no. 1, p. 76234U.
- Whitmarsh T, Humbert L, De Craene M, Del Río Barquero LM, Frangi AF. Reconstructing the 3D shape and bone mineral density distribution of the proximal femur from dual-energy X-ray absorptiometry. *IEEE Trans Med Imaging.* 2011 Dec;30(12):2101-14.
- Nicks KM, Amin S, Melton LJ, et al (2013) Three-dimensional structural analysis of the proximal femur in an age-stratified sample of women. *Bone.* 55:179-188.
- Lopez Picazo M, Magallon Baro A, Del Río Barquero LM, Di Gregorio S, Martelli Y, Romera J, Steghofer M, Gonzalez Ballester MA, Humbert L. 3-D Subject-specific shape and density estimation of the lumbar spine from a single anteroposterior DXA image including assessment of cortical and trabecular bone. *IEEE Trans Med Imaging.* 2018 Dec;37(12):2651-2662.
- Humbert L, Whitmarsh T, De Craene M, del Río LM, Frangi A. Technical Note: Comparison between single and multiview simulated DXA configurations for reconstructing the 3D shape and bone mineral density distribution of the proximal femur. *Medical Physics.* 39,5272(2012).
- Humbert L, Hazrati Marangalou J, Del Río Barquero LM, van Lenthe GH, van Rietbergen B. Technical Note: Cortical thickness and density estimation from clinical CT using a prior thickness-density relationship. *Med Phys.* 2016 Apr;43(4):1945.
- Humbert L, Winzenrieth R, Di Gregorio S, Thomas T, Vico L, Malouf J, Del Río Barquero LM. 3D Analysis of cortical and trabecular bone from hip DXA: precision and trend assessment interval in postmenopausal women. *J Clin Densitom.* 2019 Apr-Jun;22(2):214-218. doi: 10.1016/j.jocd.2018.05.001. Epub 2018 May 8. PMID: 30017573.
- Humbert L, Whitmarsh T, Fritscher K, del Río LM, Eckstein F, Link T, Schubert R, Frangi A. Femoral strength prediction using a 3d reconstruction method from dual-energy x-ray absorptiometry. 2012 9th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI).
- Humbert L, Bagué A, Di Gregorio S, Winzenrieth R, Sevillano X, González Ballester MÁ, Del Río L. DXA-Based 3D analysis of the cortical and trabecular bone of hip fracture postmenopausal women: a case-control study. *J Clin Densitom.* 2020 Jul-Sep;23(3):403-410.
- López Picazo M, Humbert L, Winzenrieth R, Di Gregorio S, González Ballester MA, Del Río Barquero LM. Association between osteoporotic femoral neck fractures and DXA-derived 3D measurements at lumbar spine: a case-control study. *Arch Osteoporos.* 2020 Jan 3;15(1):8.
- López Picazo M, Humbert L, Di Gregorio S, González Ballester MA, Del Río Barquero LM. Discrimination of osteoporosis-related vertebral fractures by DXA-derived 3D measurements: a retrospective case-control study. *Osteoporos Int.* 2019 May;30(5):1099-1110.
- Ruiz Wills C, Olivares AL, Tassani S, Ceresa M, Zimmer V, González Ballester MA, Del Río LM, Humbert L, Noailly J. 3D patient-specific finite element models of the proximal femur based on DXA towards the classification of fracture and non-fracture cases. *Bone.* 2019 Apr; 121:89-99.

Estudios genéticos en el diagnóstico de la osteoporosis y otras enfermedades metabólicas óseas

Riancho JA¹, Fernández-Luna JL²

¹ Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marques de Valdecilla. Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. IDIVAL. Santander (España)

² Unidad de Genética Molecular. Hospital Universitario Marques de Valdecilla. Departamento de Medicina y Psiquiatría, Universidad de Cantabria. IDIVAL. Santander (España)

Resumen

El estudio de la causa genética de un trastorno depende de las características clínicas. Si se sospecha una alteración genética puntual, la secuenciación puede centrarse en un gen, en un panel de genes relacionados, o en todo el exoma, en función de que se tenga o no un gen como claramente sospechoso. Las estrategias concretas dependen del cuadro en estudio y los protocolos diagnósticos implementados en cada centro. No obstante, probablemente en los próximos años, cuando se abaraten los costes y se agilicen los procedimientos de análisis, la secuenciación de todo el exoma vaya sustituyendo progresivamente los paneles de genes. Por el contrario, en caso de sospecha de alteraciones de una región cromosómica más amplia están indicados los procedimientos que permiten detectar las variantes estructurales, en general algún tipo de “array”. A menudo la interpretación de los resultados, sobre todo en el caso de las “variantes de significado incierto” requiere la integración juiciosa de los datos genéticos, bioinformáticos y clínicos.

ADN Y MUTACIONES

El núcleo contiene la mayor parte de la información genética, distribuida a lo largo de los aproximadamente 3.000 millones de nucleótidos del ADN haploide humano. Ahí están representados los aproximadamente 21.000 genes que codifican las proteínas necesarias para las diversas funciones orgánicas, así como un número indeterminado de genes que se transcriben en ARNs que no codifican proteínas, sino que tienen funciones reguladoras¹.

El ADN mitocondrial es más pequeño, tiene unos 16.000 nucleótidos, con genes para codificar 13 proteínas y 24 ARNs no codificantes (de transferencia y ribosómicos)².

Los cambios del ADN que dan lugar a enfermedades se pueden clasificar de acuerdo a diversos criterios, entre ellos:

Según la frecuencia

- **Polimorfismos.** Son variaciones relativamente frecuentes en la población, presentes en más del 1% de las personas. Su repercusión funcional es en general limitada. Así que de manera individual no suelen ser causantes de enfermedad. Sin embargo, hay polimorfismos que están asociados a una mayor o menor respuesta a determinados fármacos. Además, cuando se dan en combinación varios polimorfismos perjudiciales, o cuando coexisten circunstancias ambientales adversas, pueden determinar el riesgo de sufrir algunos procesos, como la osteo-

porosis y otras enfermedades complejas prevalentes, que tienen una herencia “poligénica”.

- **Mutaciones.** Son poco frecuentes. Dependiendo de la región concreta de ADN afectada, pueden inducir cambios muy importantes en la actividad de los genes o de las proteínas codificadas por ellos. De ahí que una mutación única puede ser suficiente para producir una enfermedad. Es el caso habitual de las enfermedades hereditarias clásicas, monogénicas o mendelianas.

Según la transmisión

- **Heredadas.** Son las variantes genéticas que están ya presentes en las células de los progenitores, incluyendo las células germinales, tengan estos o no la enfermedad. Lógicamente, los progenitores portadores de estas mutaciones pueden transmitirlos a varios descendientes.

Como es bien conocido, en función de que sea necesaria la presencia de 1 o 2 alelos mutados para que se desarrolle la enfermedad, mostrarán un patrón de herencia dominante, recesiva o codominante. El análisis cuidadoso del árbol familiar ayudará a establecer cuál de estos patrones se da, y si la mutación afecta a los autosomas (en ese caso la enfermedad aparece por igual en varones y mujeres), a los cromosomas sexuales (en los casos más frecuentes, de herencia recesiva ligada al cromosoma X, afecta preferentemente a los varones, pero es transmitida por las mujeres) o al ADN mitocondrial (ambos sexos están afectados, pero sólo se transmite por línea materna).



- *De novo*. Estas mutaciones no están presentes de forma general en los tejidos de los progenitores, sino que aparecen durante la formación de las células germinales y persisten en el embrión si afectan el óvulo o el espermatozoide implicados en la fecundación. Otras veces, estas mutaciones no están presentes en las células germinales de los progenitores, sino que aparecen durante el desarrollo embrionario.

Según los tejidos afectados

- *Mutaciones germinales*. Sean mutaciones heredadas o de novo, están presentes en las células germinales de los progenitores, de manera que lo están también en todos los tejidos del embrión y posteriormente del individuo adulto. Son, por tanto, transmisibles a la descendencia

- *Mutaciones postcigóticas o somáticas*. Aparecen en algunas células del embrión en desarrollo, por lo que sólo los tejidos derivados de esas células presentan la mutación. En función del momento de aparición, pueden afectar a la totalidad de un determinado tejido, o sólo a una parte del mismo, ocasionando un mosaicismo, es decir la coexistencia en el mismo individuo de células normales y células con ADN mutado. Dependiendo de que las células germinales porten o no la mutación, podrán ser transmisibles a la descendencia.

Según el número de nucleótidos implicados

- *Mutaciones puntuales*. La mutación afecta sólo a un nucleótido, en el cual la base habitual cambia por otra.

- *Pequeño grupo de nucleótidos*. En estos casos, suele tratarse de inserciones o deleciones de unos pocos nucleótidos. Otras veces afecta a regiones repetitivas, de manera que se produce un cambio en el número de repeticiones de grupos de 3-5 nucleótidos.

- *Regiones grandes*. A veces, las deleciones o duplicaciones afectan a regiones extensas del ADN, que pueden incluir miles o millones de nucleótidos. Los casos extremos son aquéllos en los que se pierde un cromosoma entero (como el síndrome de Turner, en el que falta el cromosoma Y) o se adquiere un cromosoma extra adicional (como ocurre en la trisomía 21 del síndrome de Down).

Hay que tener en cuenta que durante la replicación del ADN a menudo se producen algunas mutaciones, la mayor parte de las cuales no llegan a tener una repercusión negativa. Así, se estima que en cada individuo se producen aproximadamente unas 50 mutaciones de novo, de las cuales 1 o 2 están localizadas en el exoma. El exoma es el conjunto de las regiones codificantes. Aunque sólo representa el 1% del ADN (unas 30Mb), se supone que es lugar de asiento de más del 80% de las mutaciones causantes de enfermedades monogénicas. La acumulación a lo largo de las generaciones, hace que el exoma de un individuo promedio presente unas 20.000 variantes puntuales en comparación con el genoma de referencia. En el conjunto del genoma se acumulan muchas más variantes, incluyendo, como promedio en un individuo dado, unas 1.000 “variaciones en el número de copias” (duplicaciones y deleciones extensas), unas 350.000 inserciones y deleciones de uno o unos pocos nucleótidos, y más de 3 millones de mutaciones y polimorfismos puntuales. Ese grado de variación, aunque es un porcentaje mínimo en comparación con los 3×10^9 nucleótidos del genoma, representa una complejidad muy importante a la hora de interpretar los resultados de los tests genéticos.

SECUENCIACIÓN Y OTROS TESTS GENÉTICOS

Hay diversos tipos de tests genéticos, con objetivos y procedimientos diferentes. Sólo comentaremos algunos de los tests utilizados con mayor frecuencia, resaltando los aspectos de interés para el clínico en el campo de las alteraciones esqueléticas.

Cariotipo

Es uno de los procedimientos clásicos. Resulta útil sobre todo cuando se sospecha que hay un número anormal de cromosomas u otras alteraciones estructurales extensas (grandes deleciones o duplicaciones).

Genotipado mediante arrays

Las matrices o “arrays” exploran algunos nucleótidos concretos. En general, se trata de $0,1-1 \times 10^6$ nucleótidos distribuidos, bien a lo largo de todo el genoma, bien preferentemente en regiones codificantes o más frecuentemente causantes de enfermedad. Pueden ser útiles para detectar algunas mutaciones concretas, pero en la clínica su utilidad principal es la detección de variaciones en el número de copias y otras anomalías cromosómicas extensas, pues tienen mayor resolución que otras técnicas, como el cariotipo.

Secuenciación

En este caso se investiga de manera exhaustiva la secuencia de una región más o menos grande del ADN, de manera que se obtiene la secuencia completa de la región estudiada.

Los métodos tradicionales de secuenciación (secuenciación Sanger) eran costosos y muy laboriosos, por lo que sólo se podían aplicar a regiones relativamente pequeñas. Por eso, hoy en día han sido desplazadas en buena medida por las llamadas técnicas de “secuenciación de nueva generación” o “secuenciación masiva” (NGS, “next generation sequencing”). Estas técnicas se pueden utilizar para secuenciar un gen, varios genes, todo el exoma o incluso el genoma completo.

En la actualidad, la aproximación más habitual al empleo de la secuenciación masiva en la clínica se basa en los siguientes criterios:

- Aunque no es lo más frecuente, en algunos trastornos (por ejemplo, la hemocromatosis) la mayor parte de los pacientes presentan el mismo tipo de mutación. En esos casos, como primera aproximación se puede analizar sólo uno o unos pocos nucleótidos, mediante secuenciación Sanger o mediante otros procedimientos simples y baratos, como la PCR alelo-específica.

- Si se tiene una fuerte sospecha de cuál es el gen implicado, pero existe heterogeneidad alélica (es decir, son muchas las mutaciones que pueden causar la enfermedad), se puede secuenciar (mediante procedimientos clásicos o NGS) ese gen, bien sólo la zona codificante (que incluye los exones y la parte adyacente de los intrones) o la totalidad del gen. Un ejemplo de esta situación es la hipofosfatasa, cuyo biomarcador característico son los niveles bajos de fosfatasa alcalina, y que se debe a mutaciones en el gen ALPL.

- Si el cuadro clínico tiene características que permiten agruparlo dentro de un conjunto de procesos, pero el gen concreto no es fácilmente predecible, se puede secuenciar, mediante NGS, un “panel” de genes que incluya los genes habitualmente implicados en ese tipo de procesos. Dependiendo del caso, esos paneles pueden incluir sólo unos pocos genes, o varios cientos. Es la aproximación a menudo utilizada, por ejemplo, en caso de sospecha de osteopetrosis.

Tabla 1. Técnicas de análisis de uso frecuente en genética clínica

Test	Resolución típica	Anomalías detectadas	Genes explorados	Aplicable sin sospecha definida de la causa genética
Cariotipo	5-10 Mb	Aneuploidias, grandes alteraciones estructurales	Todos	Sí
FISH	50-2000 Kb	Anomalías estructurales	1 o varios	No (sí)*
CGH	10-1000 Kb	Anomalías estructurales	Todos	Sí
Array SNP	50-400 Kb	Anomalías estructurales, genotipado	Todos	Sí
MLPA	50 b	Variaciones estructurales de longitud intermedia	1/variantes	No
MS-MLPA	50 b	Variaciones estructurales de longitud intermedia, alteraciones de la metilación	1/variantes	No
Genoma (NGS)	1 b	Mutaciones puntuales, inserciones/deleciones cortas, Variaciones en número de copias*** (costoso y de análisis complejo)	Todos	Sí
Exoma (NGS)	1 b	Mutaciones puntuales, inserciones/deleciones cortas, Variaciones en número de copias*** (no detecta mutaciones en regiones reguladoras no codificantes)	~ 21000	Sí
Exoma clínico (NGS)	1b	Mutaciones puntuales, inserciones/deleciones cortas, Variaciones en número de copias*** (limitado a los genes más comúnmente asociados a enfermedad)	~ 6000	Sí
Paneles de genes orientados a la enfermedad** (NGS)	1b	Mutaciones puntuales, inserciones/deleciones cortas, (no explora regiones reguladoras no codificantes)	2-400	No
Genes únicos (NGS o Sanger)	1 kb	Mutaciones puntuales, inserciones/deleciones cortas	1	No
Genotipado (varias técnicas)	1 kb	Mutaciones puntuales	1 nucleótido	No
Genotipado (técnicas múltiples)	1 kb	Mutaciones puntuales	2-50 nucleótidos en 1 o varios genes	No

B: base o nucleótido; NGS: secuenciación de nueva generación; *: los procedimientos basados en la hibridación in situ de sondas fluorescentes (FISH) se utilizan en principio para explorar un locus determinado. Sin embargo, pueden mezclarse varias sondas para explorar múltiples regiones e incluso "pintar" todos los cromosomas, pudiendo así detectar anomalías estructurales con mayor sensibilidad que el cariotipo convencional; **: en la actualidad la interpretación de las secuencias es a menudo un paso más costoso y laborioso que la propia secuenciación. Por eso a veces se lleva a cabo el análisis de "paneles virtuales". Se conoce también como "exoma dirigido". Es decir, se secuencia todo el exoma, pero sólo se analizan después las variantes en los genes potencialmente relacionados con el fenotipo; ***: no es la técnica más sensible, algunas pueden no ser detectadas.

- Si el cuadro clínico es difícilmente clasificable o se trata de una situación con una elevada heterogeneidad genética (por ejemplo, el retraso mental) o si los estudios anteriores no permiten encontrar la base genética del cuadro, se puede secuenciar todo el exoma, el "exoma clínico" (versión reducida que incluye sólo los genes que se conocen como asociados a enfermedades, unos 7.000) o incluso el genoma completo.

Estos procedimientos plantean a menudo dificultad para interpretar los resultados, puesto que normalmente se detectan numerosas diferencias con el genoma de referencia), pero en muchos casos resulta difícil establecer si se trata de mutaciones patogénicas o no. Para ello se utiliza una combinación de estrategias bioinformáticas, junto a la interpretación juiciosa de los datos clínicos. Así, por ejemplo, se suele valorar:

- o La frecuencia poblacional de las variantes (las muy frecuentes probablemente no son patogénicas).
- o Si esas variantes se han descrito previamente como causa de enfermedad.

o Si, a la luz de los sistemas de predicción "in silico", las variantes producen cambios funcionales importantes en la secuencia proteica. No obstante, en la actualidad muchas de las variantes que se encuentran quedan clasificadas como de significado incierto (VUS, "variants of unknown significance").

o Si la cigosidad se ajusta al patrón de herencia o no. Así, si la historia familiar sugiere un patrón de herencia autosómica recesiva, las mutaciones que estén en heterocigosis posiblemente no sean patogénicas. No obstante, en estos casos no hay que olvidar la posibilidad de que se trate de un individuo heterocigoto compuesto (es decir, que presente dos mutaciones heterocigotas distintas en cada uno de los alelos del gen).

Es también muy útil secuenciar el genoma de los progenitores (lo que a veces se conoce como "exoma trio", pues incluye los dos progenitores y el paciente en estudio) para facilitar la interpretación de las variantes encontradas. Si los progenitores son sanos, las variantes del paciente que estén presentes en alguno de ellos no deben de ser patogénicas.

Para confirmar la patogenicidad, a menudo hay que proceder a realizar un estudio de “segregación”, es decir a analizar la variante sospechosa en otros familiares, para comprobar si dicha mutación está presente en los enfermos y ausente en los sanos.

Detección de variantes estructurales y otras limitaciones de la secuenciación

Las técnicas de secuenciación masiva han supuesto una auténtica revolución en los estudios genéticos. Permiten determinar secuencias extensas de ADN en un tiempo corto y a un coste relativamente reducido y decreciente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esas técnicas permiten conocer la secuencia de nucleótidos en el ADN analizado, pero tienen algunas limitaciones:

1. Aunque existen algoritmos que permiten determinar si hay alteraciones en el número de copias de las regiones analizadas, estos procedimientos no son completamente efectivos para detectar las **variantes estructurales**. Por eso, en caso de sospecha, está indicado llevar a cabo procedimientos que son más sensibles para detectar ese tipo de alteraciones. Entre ellos merece la pena destacar:

a. *Arrays de hibridación genómica comparativa o hibridación diferencial (CGH arrays)*. Llevan sondas distribuidas por todo el genoma. Se comparan los resultados obtenidos en el paciente con los obtenidos en un sujeto sano. Habitualmente tienen una resolución entre 40 y 400 kilobases.

b. *Arrays de SNPs*. Analizan nucleótidos dispersos a todo lo largo del genoma y permiten determinar si hay o no dos copias de cada uno de ellos, detectando así las deleciones y duplicaciones que puedan existir. Hay que tener en cuenta que estas técnicas no detectan algunas variantes estructurales que no implican cambios en el número de copias, como reordenamientos e inversiones.

b. *Amplificación de sondas tras ligación múltiple (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)*. Es una técnica multiplex que permite hacer una cuantificación relativa del número de copias de varias decenas de regiones diferentes. Está indicada cuando se sospechan variantes estructurales de una o unas pocas regiones genómicas.

2. Los casos de **mosaicismo** representan una dificultad adicional. El mosaicismo puede darse a nivel de las células germinales, de las células somáticas o de ambas. Entre los trastornos genéticos del esqueleto que pueden estar en relación con un mosaicismo germinal se encuentran la osteogénesis imperfecta y el síndrome de Down³. Las técnicas habituales de secuenciación (clásica o NGS) no suelen poder detectar mosaicismos en los cuales menos del 5-10% de la población celular analizada presente la mutación. A veces, en esos casos es útil repetir los estudios que se hayan realizado con ADN extraído de células sanguíneas en otras muestras, como las células de la mucosa bucal o de la piel.

3. La detección de alteraciones epigenéticas (sobre todo, la metilación de citosinas) mediante técnicas de secuenciación, requiere el tratamiento previo del ADN con bisulfito, que convierte las citosinas en uracilos, mientras que las citosinas metiladas permanecen sin cambio. Para detectar el estado de metilación de secuencias genómicas específicas, se utiliza también una variante de la MLPA conocida como MS-MLPA (Methylation-Specific MLPA) que combina el uso de MLPA con el de enzimas de restricción que permiten detectar si la secuencia de ADN está metilada o no.

4. Las técnicas mencionadas (excepto la secuenciación del genoma completo) no suelen permitir identificar mutaciones que afectan a **regiones reguladoras** que están fuera de la región codificante, ni algunas de las que provocan alteraciones en el “splicing” (proceso de corte y eliminación de las regiones intrónicas en el ARN y unión de las regiones exónicas para formar el ARN mensajero maduro). En caso de sospecha de estas últimas, se debe secuenciar no el ADN genómico, sino el sintetizado *in vitro* a partir del ARN (cADN).

5. La mayor parte de los procedimientos de secuenciación y genotipado están dirigidos a examinar el ADN genómico. En caso de sospecha de una alteración del **ADN mitocondrial**, se necesitan procedimientos dirigidos específicamente a tal fin⁴.

6. Los tests genéticos se realizan habitualmente en muestras sanguíneas, que son fácilmente accesibles y útiles para detectar las mutaciones germinales, es decir, las presentes en todos los tejidos del organismo. Sin embargo, como se ha comentado, algunos procesos se deben a **mutaciones somáticas o postcigóticas**, de manera que sólo algunas células llevan la mutación. En esos casos, es necesario realizar el estudio en el tejido afecto, pues los resultados serán normales en la sangre y otros tejidos no involucrados.

OSTEOPOROSIS Y OTROS PROCESOS CON DISMINUCIÓN DE LA MASA ÓSEA

En la gran mayoría de los pacientes con osteoporosis, la enfermedad aparece en adultos mayores o ancianos y es el resultado de la interacción entre factores de predisposición genética y factores ambientales, junto al deterioro esquelético inducido por la disminución de hormonas sexuales y otros fenómenos asociados al envejecimiento. En general, la susceptibilidad tiene una base poligénica, determinada por varias decenas o centenares de variantes genéticas que, aunque con una influencia funcional limitada de forma aislada, conjuntamente tienen una notable influencia en la masa ósea. Así, los estudios de genoma completo (GWAS, “genome-wide association studies”) y algunos estudios de asociación de genes candidatos han permitido identificar más de 500 loci asociados con la densidad mineral ósea o el riesgo de fractura⁵⁻⁷. Se están haciendo esfuerzos por tratar de combinar esos loci en índices (a menudo denominados índices de riesgo poligénico) que ayuden a determinar el riesgo individual de osteoporosis⁸. Sin embargo, su aplicabilidad a la clínica es todavía muy limitada.

Ocasionalmente, la osteoporosis es el resultado de una mutación puntual que tiene una marcada repercusión funcional y altera algún gen con un papel esencial en la homeostasis esquelética. Entre las formas “monogénicas” de osteoporosis, se han descrito casos debidos a mutaciones en los genes LRP5, WNT1, DKK1 o PLS3⁵.

Los casos de osteoporosis juvenil o en la infancia, así como aquéllos que presentan una historia familiar particularmente marcada, sobre todo si aparecen en edades tempranas, es más probable que se deban a mutaciones puntuales. Los estudios genéticos en osteoporosis juvenil y del adulto joven no han permitido establecer una base genética de manera consistente. No obstante, en algunos pacientes se han detectado mutaciones en genes implicados en la homeostasis esquelética, en particular, algunos relacionados con la vía Wnt, como LRP5, WNT1 o DKK1, o en la síntesis del colágeno⁹. Por tanto, en estos pacientes puede ser interesante analizar un panel de genes que englobe aquéllos más frecuentemente rela-

cionados con trastornos esqueléticos. Por supuesto, antes del estudio genético está indicado descartar que la osteoporosis sea secundaria a otros trastornos sistémicos (malabsorción, hipertiroidismo, etc.).

Si no existe una causa de osteoporosis secundaria, conviene también asegurarse de que no existe otro trastorno genético que se asocie a osteoporosis. Entre ellos, el más importante es la osteogénesis imperfecta. Cursa con fracturas por fragilidad y, en algunos casos, deformidades óseas y escleras azules o grises. En la mayoría de los casos se debe a mutaciones en los genes que codifican las cadenas alfa y beta del colágeno tipo 1 (COL1A1 y COL1A2), por lo que el estudio puede comenzar por el análisis de esos genes. En una serie reciente de 364 pacientes con diversas formas clínicas de OI, el 50-66% presentaban mutaciones en COL1A1 y el 18-37% en COL1A2. No obstante, en un 20% de los casos no se encontraron mutaciones en los genes del colágeno tipo 1¹⁰. Esos casos pueden deberse a mutaciones en regiones reguladoras no analizadas, pero se deben descartar mutaciones en otros genes, que también se asocian a formas menos frecuentes de osteogénesis imperfecta^{11,12} (Tabla 2).

En cualquier caso, siempre hay que prestar atención a la presencia de otras manifestaciones asociadas que hagan pensar en cuadros en los que la osteoporosis forma parte de un proceso sistémico o sindrómico (por ejemplo, síndrome de Turner, neurofibromatosis tipo 1, síndrome de Marfan, etc.), que requieren una aproximación diagnóstica diferente.

OSTEOPETROSIS Y OTROS TRASTORNOS CON OSTEOSCLEROSIS

Los trastornos que cursan con osteoesclerosis son mucho menos frecuentes que los que cursan con disminución de la masa ósea. Junto a algunos adquiridos (metástasis osteoblásticas, mielofibrosis, fluorosis, etc.), otros tienen un origen genético¹³. Pueden ser generalizados o localizados.

Entre las formas de osteoesclerosis generalizada, la osteopetrosis es el trastorno más común. Puede deberse a mutaciones en varios de los genes con un papel importante en la actividad osteoclastica, sobre todo CLCN7 y TCIRG1 (que codifica la ATPasa transportadora de protones). Otros trastornos que cursan con aumento difuso de la masa ósea son la esclerosteosis y la enfermedad de Van Buchem, debidas a mutaciones en el gen SOST, que codifica la esclerostina¹⁴. Probablemente, la aproximación más eficaz al estudio genético de la osteoesclerosis difusa incluye el análisis de un panel de genes que incluye los más frecuentemente implicados en estos procesos (Tabla 3). Si los resultados son negativos, el siguiente paso sería la secuenciación de todo el exoma.

Entre las formas de osteoesclerosis localizada se incluyen diversos trastornos, cuya diagnóstico se basa en general en las características clínicas y radiográficas del proceso, pero cuya base genética en general no está bien establecida¹⁵.

TRASTORNOS DEL METABOLISMO MINERAL

La aproximación a la identificación de la base genética de los trastornos hereditarios del metabolismo mineral depende del trastorno concreto de que se trate.

Hipocalcemia

La causa genética más frecuente es el pseudohipoparatiroidismo, debido a una pérdida de función del gen GNAS^{16,17}. Este gen, que codifica una proteína relacionada con la vía

Tabla 2. Genes involucrados en formas monogénicas de osteoporosis y osteogénesis imperfecta

Genes relacionados con la síntesis y la maduración del colágeno	COL1A1 COL1A2 CRTAP PPIB P3H1 FKBP10 PLOD2 SERPINH1 BMP1
Genes relacionados con otras proteínas de la matriz o la actividad osteoblástica	SPARC SERPINF1 IFITM5 PLS3 TMEM38B WNT1 SP7 (osterix) CREB3L1 MBTPS2 TENT5A (FAM46A) CCDC134

Tabla 3. Genes causantes de algunos procesos que cursan con aumento de densidad ósea

Gene	Enfermedad	Patrón de herencia
CLCN7	Osteopetrosis	AD/AR
TCIRG1	Osteopetrosis	AD/AR
CA2	Osteopetrosis	AR
OSTM1	Osteopetrosis	AR
SNX10	Osteopetrosis	AR
LRP4, LRP5	Varias formas de hiperostosis	AD/AR
SOST	Esclerosteosis, enfermedad de Van Buchem	AD/AR
CTSK	Picnodisostosis	AR
FAM20C	Síndrome de Raine	AR
GJA1	Displasia oculodentodigital	AD/AR
LEMD3	Osteopoiquilosis	AD
TGFB1	Enfermedad de Camurati-Engelmann	AD

de señalización de la proteína G, se caracteriza por presentar impronta genética. Es decir, en la mayoría de los tejidos se expresan los alelos transmitidos por los dos progenitores, pero en algunos (como el riñón, la hipófisis, las gónadas o el tiroides) sólo se expresa el alelo materno. Por eso, las mutaciones inactivadoras del alelo materno causan resistencia a la PTH y otras hormonas, así como un fenotipo esquelético característico (talla baja, cara redondeada, metacarpianos cortos), que constituye la llamada "osteodistrofia hereditaria de Albright". Sin embargo, cuando el alelo mutado es de origen paterno, aparece la osteodistro-

fia, pero sin alteraciones hormonales (seudo-seudohipoparatiroidismo). Las alteraciones del gen *GNAS* que ocasionan estos cuadros son de diversos tipos, incluyendo mutaciones puntuales, anomalías estructurales y alteraciones de los patrones habituales de metilación. Por eso, en casos sospechosos, si el análisis convencional de la secuencia de *GNAS* no revela anomalías, se debe profundizar el estudio recurriendo a otras técnicas (MLPA y MS-MLPA, sobre todo)¹⁸.

Hipercalcemia

Entre las causas genéticas de hipercalcemia se encuentra la hipercalcemia hipocalciúrica familiar, que suele deberse a mutaciones inactivadoras del gen que codifica el canal sensor del calcio (*CASR*). En caso de sospecha, pues, el estudio comenzará con el análisis de este gen. Si no se detectan mutaciones en *CASR*, se ampliará el estudio a otros genes (*GNA11*, *AP2S1*), que son responsables de una tercera parte de los casos. Curiosamente, las mutaciones activadoras de los genes *CASR* o *GNA11* dan lugar a raros cuadros de hipocalcemia de herencia autosómica dominante¹⁹.

El hiperparatiroidismo de carácter familiar puede darse en el seno de un síndrome de neoplasias endocrinas múltiples (*MEN1* o *2*, a menudo con anomalías en los genes *MEN1* o *RET*, respectivamente) o de manera aislada. La base genética de estos últimos casos no siempre se conoce, pero algunos pacientes presentan mutaciones en el gen *HRPT2* (*CDC73*) o en el *CASR*.

Hipofosfatemia

La disminución persistente de los niveles de fosfatasa alcalina, en ausencia de tratamiento anti-resortivo u otras causas adquiridas que lo expliquen, debe hacer sospechar una alteración del gen *ALPL*, que codifica la fosfatasa alcalina no específica de tejido (ósea, hepática). Por tanto, en estos casos el estudio inicial debe ir dirigido a la secuenciación de dicho gen. Las mutaciones de este gen dan origen a la hipofosfatemia, que puede tener graves repercusiones fenotípicas cuando se da en niños, pero suele ser mucho más leve si aparece en adultos. De hecho, muchos casos en adultos son asintomáticos o presentan sólo síntomas leves inespecíficos. Sin embargo, el estudio detallado puede revelar alteraciones sutiles del remodelado que pueden asociarse a un mayor riesgo de efectos adversos con los fármacos anti-resortivos^{20,21}.

Hipofosfatemia y otros raquitismos

El análisis del árbol familiar suele dar información muy importante sobre el tipo de herencia. La forma más frecuente de raquitismo hereditario es el raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X, debido a mutaciones en el gen *PHEX*. Los raquitismos de herencia autosómica incluyen, entre otros, los debidos a mutaciones en genes relacionados con la vitamina D (raquitismos vitamina D-dependientes), como los que codifican la hidroxilasa renal implicada en la síntesis de 1,25-dihidroxitamina D (*CYP27B1*) y el receptor de la vitamina D (*VDR*). Otros cuadros de raquitismo de herencia autosómica se deben a mutaciones en los genes *FGF23*, *DMP1*, *ENPP1* y *SCLC34A3*²².

TRASTORNOS DEL DESARROLLO

Muchos trastornos del desarrollo incluyen anomalías del crecimiento o la forma de los huesos. En algunos casos forman parte de síndromes complejos, con afectación de múltiples órganos y sistemas. El estudio detallado del

fenotipo es esencial para enfocar el estudio genético. En muchos casos estos trastornos se deben a alteraciones de grandes regiones cromosómicas que afectan a varios genes, en cuyo caso el primer paso puede ir dirigido a identificar alteraciones estructurales, mediante cariotipo, CGH arrays o arrays de SNP. Las condrodisplasias son un extenso grupo que incluye más 350 trastornos en los que la alteración de la osificación endocondral o endomembranosa provoca alteraciones a menudo graves del esqueleto^{23,24}. Pueden o no acompañarse de lesiones a otros niveles. El fenotipo puede ser muy orientativo en algunos casos con características típicas (por ejemplo, en la acondroplasia) y el diagnóstico se podrá confirmar mediante el análisis dirigido de uno o unos pocos genes. Sin embargo, en otros casos con fenotipo menos característico, será necesario estudiar, mediante procedimientos de secuenciación masiva, un amplio panel de unos 50-100 genes, o incluso secuenciar todo el exoma.

LESIONES LOCALIZADAS

Algunas lesiones esqueléticas focales, únicas o múltiples, pueden tener también una causa genética.

Enfermedad de Paget

Aunque la enfermedad de Paget puede mostrar una agregación familiar, en la mayor parte de los casos no se identifica el gen responsable de la susceptibilidad genética. Sin embargo, en algunos casos puede ser el resultado de mutaciones puntuales en genes relacionados con el sequestosoma (*SQSTM1/p62*) o con la vía *RANKL*. En aproximadamente un 25-40% de los casos familiares de Paget y un 4-8% de los casos esporádicos se identifican mutaciones en sequestosoma^{25,26}. Por otro lado, hay formas de enfermedad de Paget juvenil y otros cuadros con afectación esquelética y extraesquelética debidos a mutaciones de los genes *TNFRSF11A* y *TNFRSF11B* (que codifican el *RANK* y la osteoprotegerina, respectivamente)²⁷.

Exóstosis múltiples

Los pacientes con exóstosis múltiples desarrollan lesiones excrecentes (ostecondromas) a nivel de las metafisis desde los primeros años de vida. Pueden ser asintomáticas, producir dolor o afectar el crecimiento, sobre todo de los huesos largos de las extremidades. Se debe generalmente a mutaciones en el gen *EXT1*, o, menos veces, del gen *EXT2*, con herencia autosómica dominante²⁸.

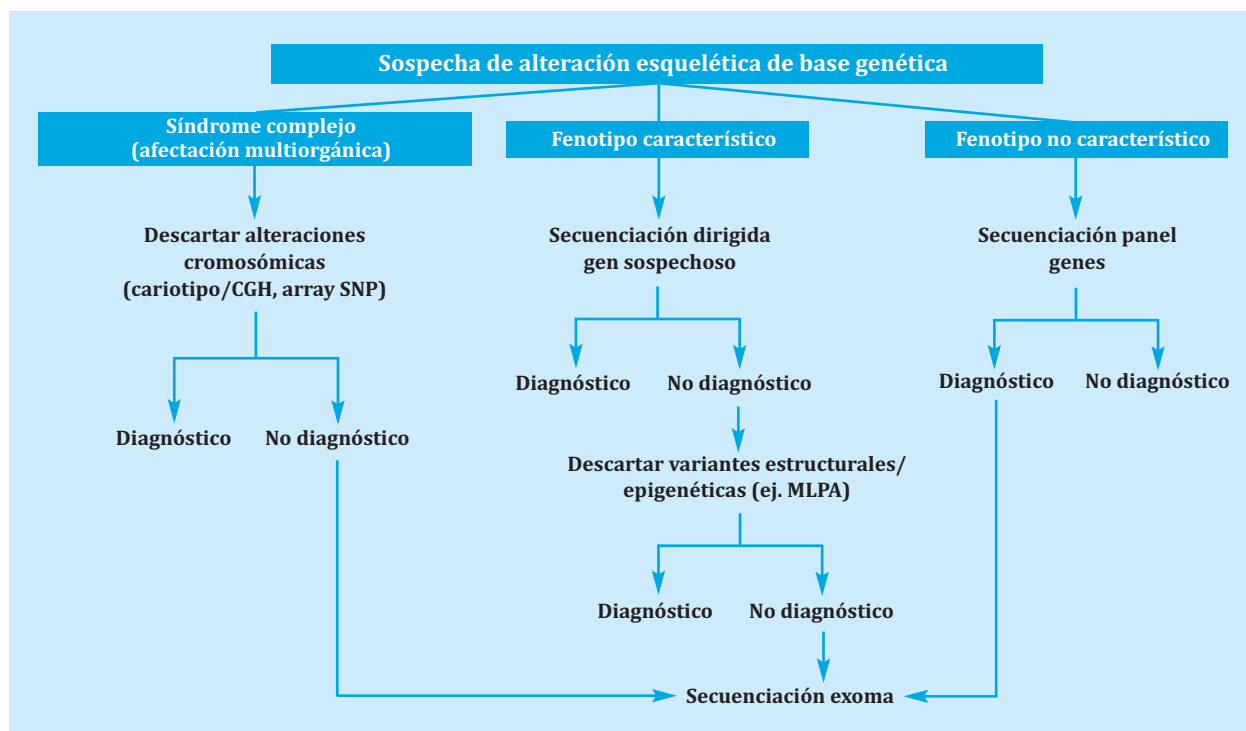
Encondromatosis múltiple

Cursa también con lesiones esqueléticas múltiples en niños y jóvenes, pero, a diferencia de las exóstosis (ostecondromas), los encondromas típicamente crecen en el interior del hueso. La causa no está firmemente establecida, pero en los encondromas de algunos pacientes se han encontrado mutaciones somáticas de los genes *PTH1R*, *IDH1* o *IDH2*²⁹.

Displasia fibrosa ósea

La displasia fibrosa ósea puede manifestarse como lesiones óseas únicas o múltiples. A veces forma parte del síndrome de McCune-Albright, que incluye, además, máculas cutáneas hiperpigmentadas y/o alteraciones debidas a un aumento en la producción de algunas hormonas (pubertad precoz, hipertiroidismo, hipercortisolismo, exceso de GH). La producción excesiva de *FGF23* en las

Figura 1. Aproximación inicial a los trastornos esqueléticos de causa genética



lesiones hace de la hipofosfatemia una manifestación frecuente. Se debe a una mutación somática (postzigótica) activadora en el gen *GNAS*, que codifica una proteína implicada en la vía de señalización de la proteína G^{30} . Por tanto, si se plantea hacer un estudio genético, es preciso realizarlo con tejido afecto, pues el resultado en las células sanguíneas suele ser normal.

CONCLUSIÓN

El estudio de la causa genética de un trastorno depende del cuadro sospechado a partir de un análisis detallado del fenotipo. Una de las primeras cuestiones a responder es si se sospecha un trastorno debido a una mutación que afecta a un gen, o una alteración cromosómica más amplia. En el primer caso, la aproximación suele comenzar con la secuenciación del gen o genes sospechosos, mientras en el segundo caso están indicados los procedimientos que permiten detectar las variantes estructurales, en general algún tipo de array.

Si se sospecha una alteración genética puntual, la secuenciación puede centrarse en un gen, en un panel de

genes relacionados, o en todo el exoma, en función de que se tenga un gen como claramente sospechoso, o sea un cuadro con heterogeneidad genética (Figura 1). Las estrategias concretas dependen no sólo del cuadro en estudio, sino de la disponibilidad de las pruebas y los protocolos diagnósticos implementados en cada centro. No obstante, es probable que en los próximos años, cuando se abaraten los costes y se agilicen los procedimientos de análisis, la secuenciación de todo el exoma vaya sustituyendo progresivamente los paneles de genes. De hecho, ya en este momento puede resultar más eficiente en muchos casos la realización de “paneles virtuales”³¹. Es decir, se secuencian todo el exoma, aunque después en un primer momento sólo se analizan las variantes existentes en los genes potencialmente relacionados con el fenotipo, con lo que el número de mutaciones a valorar por medios bioinformáticos y análisis de la literatura se reduce mucho. Sin embargo, como en realidad se secuenció todo el exoma, si el análisis inicial de los genes seleccionados no revela mutaciones patogénicas, se puede ir ampliando el estudio a otros genes, sin necesidad de secuenciar de nuevo la muestra.



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

Bibliografía

1. Salzberg SL. Open questions: How many genes do we have? *BMC Biol.* 2018;16(1):94.
2. Shen L, McCormick EM, Muraresku CC, Falk MJ, Gai X. Clinical Bioinformatics in Precise Diagnosis of Mitochondrial Disease. *Clin Lab Med.* 2020;40(2):149-61.
3. Thorpe J, Osei-Owusu IA, Avigdor BE, Tupler R, Pevsner J. Mosaicism in Human Health and Disease. *Annu Rev Genet.* 2020.
4. Schon KR, Ratnaik T, van den Aamele J, Horvath R, Chinnery PF. Mitochondrial Diseases: A Diagnostic Revolution. *Trends Genet.* 2020;36(9):702-17.
5. Mäkitie RE, Costantini A, Kämpe A, Alm JJ, Mäkitie O. New Insights Into Monogenic Causes of Osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:70.
6. Yang T-L, Shen H, Liu A, et al. A road map for understanding molecular and genetic determinants of osteoporosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(2):91-103.
7. Koromani F, Trajanoska K, Rivadeneira F, Oei L. Recent Advances in the Genetics of Fractures in Osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*- 2019;10:337.
8. Forgetta V, Keller-Baruch J, Forest M, et al. Development of a polygenic risk score to improve screening for fracture risk: A genetic risk prediction study. *PLoS Med* 2020;17(7):e1003152.
9. Collet C, Ostertag A, Ricquebourg M, et al. Primary Osteoporosis in Young Adults: Genetic Basis and Identification of Novel Variants in Causal Genes. *JBMR Plus.* 2018;2(1):12-21.
10. Maioli M, Gnoli M, Boarini M, et al. Genotype-phenotype correlation study in 364 osteogenesis imperfecta Italian patients. *Eur J Hum Genet.* 2019;27(7):1090-100.
11. Rossi V, Lee B, Marom R. Osteogenesis imperfecta: Advancements in genetics and treatment. *Curr Opin Pediatr.* 2019;31(6):708-15.
12. Tournis S, Dede AD. Osteogenesis imperfecta - A clinical update. *Metabolism.* 2018;80:27-37.
13. Boulet C, Madani H, Lenchik L, et al. Sclerosing bone dysplasias: Genetic, clinical and radiology update of hereditary and non-hereditary disorders. *Br J Radiol.* 2016;89(1062):1-7.
14. Balemans W, Van Hul W. Human genetics of SOST. *J MusculoskeletNeuronal Interact.* 2006;6:355-6.
15. De Ridder R, Boudin E, Mortier G, Van Hul W. Human Genetics of Sclerosing Bone Disorders. *Curr Osteoporos Rep.* 2018;16(3):256-68.
16. Mantovani G, Bastepe M, Monk D, et al. Diagnosis and management of pseudohypoparathyroidism and related disorders: First international Consensus Statement. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(8):476-500.
17. Germain-Lee EL. Management of pseudohypoparathyroidism. *Curr Opin Pediatr.* 2019;31(4):537-49.
18. Hannan FM, Newey PJ, Whyte MP, Thakker RV. Genetic approaches to metabolic bone diseases. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(6):1147-60.
19. Gattineni J. Inherited disorders of calcium and phosphate metabolism. *Curr Opin Pediatr.* 2014;26(2):215-22.
20. Riancho-Zarrabeitia L, García-Unzueta M, Tenorio JAJA, et al. Clinical, biochemical and genetic spectrum of low alkaline phosphatase levels in adults. *Eur J Intern Med.* 2016;29:40-5.
21. López-Delgado L, Riancho-Zarrabeitia L, García-Unzueta MT, et al. Abnormal bone turnover in individuals with low serum alkaline phosphatase. *Osteoporos Int.* 2018;29(9):2147-50.
22. Carpenter TO, Shaw NJ, Portale AA, Ward LM, Abrams SA, Pettifor JM. Rickets. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3.
23. Ngo AV, Thapa M, Otjen J, Kamps SE. Skeletal Dysplasias: Radiologic Approach with Common and Notable Entities. *Semin Musculoskelet Radiol.* 2018;22(1):66-80.
24. Nikkel SM. Skeletal Dysplasias: What Every Bone Health Clinician Needs to Know. *Curr Osteoporos Rep.* 2017;15(5):419-24.
25. Albagha OME, Visconti MR, Alonso N, et al. Common susceptibility alleles and SQSTM1 mutations predict disease extent and severity in a multinational study of patients with Paget's disease. *J bone Miner Res.* 2013;28(11):2338-46.
26. Rea SL, Walsh JP, Ward L, et al. Sequestosome 1 mutations in Paget's disease of bone in Australia: prevalence, genotype/phenotype correlation, and a novel non-UBA domain mutation (P364S) associated with increased NF-kappaB signaling without loss of ubiquitin binding. *J bone Miner Res.* 2009;24(7):1216-23.
27. Ralston SH, Taylor JP. Rare Inherited forms of Paget's Disease and Related Syndromes. *Calcif Tissue Int.* 2019;104(5):501-16.
28. Pannier S, Legeai-Mallet L. Hereditary multiple exostoses and enchondromatosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2008;22(1):45-54.
29. Jurik AG. Multiple hereditary exostoses and enchondromatosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2020;101505.
30. Javaid MK, Boyce A, Appelman-Dijkstra N, et al. Best practice management guidelines for fibrous dysplasia/McCune-Albright syndrome: A consensus statement from the FD/MAS international consortium. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):1-17.
31. Marques Matos C, Alonso I, Leão M. Diagnostic yield of next-generation sequencing applied to neurological disorders. *J Clin Neurosci.* 2019;67:14-8.

FGF-23 y PTH, hormonas especulares. Su papel en el metabolismo óseo

Naves Díaz M¹, Rodríguez García M²

1 Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. REDinREN del ISCIII. Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto de Investigación Biosanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo (España)

2 Área de Gestión Clínica de Nefrología. REDinREN del ISCIII. Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto de Investigación Biosanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo (España)

Resumen

FGF-23 y PTH son dos proteínas fundamentales en el metabolismo del hueso y mantienen una estrecha relación ya que FGF-23 regula de forma directa tanto la expresión como la secreción de PTH.

La PTH es el regulador principal del sistema RANK/RANKL/OPG, considerado como un regulador esencial del modelado y remodelado óseo, pero también es un importante regulador de la vía Wnt en el hueso, vía fundamental para la formación ósea. La disminución de los inhibidores de la vía de Wnt en el hueso por altos niveles de PTH podría contribuir a mantener la salud ósea, pero también favorecer la calcificación vascular en los vasos. Por el contrario, la acción del FGF-23 sería opuesta a la de la PTH inhibiendo la vía de Wnt en el hueso contribuyendo a la pérdida de masa ósea, mientras que en el vaso FGF-23 podría atenuar la calcificación vascular.

INTRODUCCIÓN

Clásicamente se consideraba al calcio, fósforo, calcitriol y PTH como los únicos reguladores del metabolismo óseo y mineral. En los últimos años, se ha complicado este eje de regulación emergiendo otros factores con un papel crucial en el metabolismo óseo y mineral como el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23) y la denominada proteína antienvjecimiento klotho.

ACCIONES BIOLÓGICAS DEL FGF-23 Y PTH

Acción biológica del FGF-23

FGF-23 es una proteína de 251 aminoácidos sintetizada y secretada por las células óseas, principalmente el osteoblasto¹. FGF-23 ha sido identificado como el principal factor regulador del metabolismo del fósforo², elemento crítico para el mantenimiento de la integridad del esqueleto y para el desarrollo de múltiples procesos enzimáticos. Además, en la última década se le ha reconocido un papel destacable en la fisiopatología de la calcificación vascular³ y de la enfermedad cardiovascular (CV), tanto en población general⁴⁻⁶, como en pacientes con enfermedad renal crónica⁷.

La acción biológica del FGF-23 depende de la expresión de un gen llamado klotho⁸ que actúa como su co-receptor. Klotho es una proteína transmembrana de 130-kDa que se expresa predominantemente en el túbulo distal renal y en menor medida en la glándula paratiroides y el plexo coroideo⁹. Klotho incrementa la afinidad de FGF-23 por sus receptores FGFRs formando un complejo klotho/FGFR¹⁰. La acción final del FGF-23 se realiza mediante su unión al complejo klotho/FGFR,

si bien FGF-23 es capaz en tejido cardiaco y hepático de actuar de forma independiente de klotho a través del receptor FGFR4 por la vía de la calcineurina¹¹⁻¹³.

Las acciones biológicas del FGF-23 tienen lugar en distintos órganos: riñón, glándula paratiroides, plexo coroideo e hipófisis, siendo el riñón el principal órgano diana. A nivel óseo, FGF-23 influye en la mineralización de forma indirecta a través del control de los niveles séricos de fósforo y de calcitriol. A su vez, los niveles séricos de calcitriol son uno de los principales reguladores de la producción de FGF-23. En modelos animales, se ha objetivado que el calcitriol estimula de una forma directa y dosis-dependiente la secreción de FGF-23 por el osteoblasto¹⁴. Este sistema permite mantener los niveles de fósforo sérico dentro de unos márgenes estrechos¹⁵. En aquellas situaciones en las que se produzca un incremento de los niveles de calcitriol y, por tanto, de la absorción gastrointestinal del fósforo, el estímulo de la producción del FGF-23 por parte del osteoblasto favorecerá la fosfatemia para evitar la hiperfosfatemia.

El incremento de los niveles de fósforo sérico estimula la producción de FGF-23 por el hueso y viceversa¹⁶. Si bien en modelos murinos, los incrementos de fósforo en la dieta influyen en la concentración sérica de FGF-23^{14,16}, los ensayos clínicos evaluando el efecto de la ingesta de fósforo en los niveles de FGF-23 y fosfatemia han mostrado resultados contradictorios. Mientras unos autores no han encontrado una asociación entre los niveles de FGF-23 y la sobrecarga con fósforo^{17,18}, otros han descrito incrementos destacables en los niveles de circulantes de FGF-23 tras varios días de una dieta con alto contenido en fósforo¹⁹⁻²¹.



Correspondencia: Manuel Naves Díaz (mnaves.huca@gmail.com)

Esta discrepancia entre estudios se ha atribuido a las diferencias en el tamaño muestral, a la duración de la sobrecarga de fósforo, al momento de la determinación de los niveles de FGF-23 y al control de la dieta de los pacientes. Una posible explicación a estos resultados quizá sea el hecho de que la sobrecarga aguda de fósforo conduce a una rápida respuesta en la secreción de PTH, la cual incrementa la fosfatemia en unas pocas horas, mientras que la secreción de FGF-23 se reduciría con la sobrecarga crónica y mantenida de fósforo^{18,22}.

Acción biológica de la PTH

La hormona paratiroidea (PTH) es una hormona peptídica de 84 aminoácidos sintetizada en las células principales de las glándulas paratiroides. Es esencial para el mantenimiento de la concentración de calcio sérico dentro de límites estrechos a través de acciones directas sobre el hueso y el riñón, e indirectamente a través de acciones sobre el tracto gastrointestinal²³. La PTH también regula el metabolismo del fósforo²⁴, disminuyendo sus niveles séricos mediante la inhibición de la reabsorción renal de fosfato en los túbulos proximales y distales, aunque el efecto en el túbulo proximal es cuantitativamente el más importante²⁵.

La PTH se libera de las células paratiroides de forma pulsátil y circadiana. La síntesis y secreción de PTH están controladas por el receptor sensor de calcio (CaSR) expresado en la membrana de las células paratiroides²⁶. La señal para la producción y secreción de PTH es una reducción en la concentración de calcio iónico extracelular; mientras que la señal para la reducción en su producción y secreción es un aumento del calcio iónico extracelular. En menor medida la secreción de PTH también puede estimularse mediante un aumento de los niveles de fósforo, ya sea directamente o mediante una reducción de los niveles de calcio²⁵.

Uno de los mecanismos clave por los que la PTH regula la homeostasis del calcio está relacionado mediante las acciones directas de la PTH sobre los osteoblastos y osteocitos y los efectos indirectos sobre los osteoclastos. Si bien la PTH estimula tanto la resorción como la formación ósea, el resultado final del balance neto de hueso dependerá de la dosis y la periodicidad de la señal de PTH. La exposición continua a PTH produce efectos catabólicos en el esqueleto, mientras que las dosis bajas e intermitentes de PTH producen efectos anabólicos en el hueso²⁷. El efecto catabólico mejor caracterizado de un exceso de PTH ocurre en el hiperparatiroidismo primario, con pérdidas óseas tanto a nivel cortical como trabecular²⁸⁻³². Por el contrario, el péptido amino terminal 1-34 de la PTH, denominado teriparatida, y la molécula intacta (PTH 1-84) tienen una acción anabólica para el tratamiento de la osteoporosis cuando se administran en dosis bajas de forma pulsátil o intermitente^{33,34}.

Las acciones de la PTH están mediadas principalmente por un receptor denominado PTH1R. Las dos formas de administración de PTH, continua e intermitente, pueden regular a nivel óseo distintos genes de forma diferente, favoreciendo por tanto la resorción o la formación ósea^{35,36}.

Interacción entre FGF-23 y PTH

FGF-23 regula la secreción de PTH. Varios estudios, tanto *in vivo* como *in vitro*, han demostrado que FGF-23 tiene un efecto directo inhibitorio sobre la PTH, disminuyendo la expresión y secreción proteica de PTH, de manera dosis-dependiente^{37,38}.

Al igual que con el calcitriol, los niveles séricos de PTH regulan los niveles de FGF-23. La PTH puede estimular la secreción de FGF-23 por el osteoblasto³⁹. Estudios en modelos murinos con hiperparatiroidismo primario muestran incrementos en los niveles de FGF-23 que se revierten tras la paratiroidectomía. Estos mismos resultados han sido comunicados por Carrillo-López y cols. en modelos de rata con hiperparatiroidismo secundario, donde la paratiroidectomía es capaz de disminuir tres veces los niveles de FGF-23⁴⁰. La PTH actuaría como estimulador de la producción de FGF-23 ante la hipercalcemia causada por hipersecreción de PTH. El incremento de FGF-23 aumentaría la eliminación renal del fósforo, evitando el daño tisular al impedir la potencial aparición de calcificación extraósea causada por la peligrosa asociación de hipercalcemia e hiperfosfatemia.

FGF-23 Y PTH. SU REGULACIÓN EN EL METABOLISMO ÓSEO

Sistema RANK/RANKL/OPG

La PTH es el regulador principal del sistema receptor activador de NFkappa beta (RANK)/ligando de RANK (RANKL)/osteoprotegerina (OPG) que controla el remodelado óseo al inducir la síntesis de RANKL por los osteoblastos y regular negativamente la producción de OPG. Ambos mecanismos favorecen la osteoclastogénesis y la resorción ósea a través de un mecanismo impulsado por la proteína quinasa A (PKA)⁴¹⁻⁴³, ya que los agonistas de PKA imitan la regulación de la PTH de la expresión de los genes RANKL y OPG^{42,44}.

El sistema RANK/RANKL/OPG se descubrió a mediados de los 90 como un regulador esencial del modelado y remodelado óseo⁴⁵. Su papel en el mantenimiento óseo es bien conocido, pero trabajos recientes le atribuyen un papel importante en la calcificación de células de músculo liso vascular.

En el hueso, los osteoblastos y los osteocitos sintetizan y secretan RANKL, que se une a su receptor transmembrana RANK en los progenitores de osteoclastos derivados de la médula ósea, lo que permite la maduración, activación y supervivencia de los osteoclastos para iniciar la resorción ósea. Además, los osteoblastos secretan OPG, un receptor señuelo soluble para RANKL, que evita la unión de RANKL a RANK, atenuando así la osteoclastogénesis⁴⁶.

Vía Wnt/ β -catenina

La PTH también es un importante regulador de la vía Wnt/ β -catenina en el hueso⁴⁷. La activación de la señalización de la vía Wnt/ β -catenina es fundamental para la formación ósea^{48,49} y también se le ha implicado en el proceso de calcificación vascular^{40,50-52}.

La actuación sobre los inhibidores de la vía Wnt en hueso es una de las dianas terapéuticas más prometedoras en la prevención y tratamiento de la reducción de la masa ósea, ya que la actividad de esta vía es fundamental para una adecuada remodelación y mineralización del esqueleto⁵³.

La eficacia probada de rosumab (un anticuerpo contra el inhibidor más conocido de la vía Wnt, la esclerostina (SOST)), para reducir la pérdida ósea en mujeres postmenopáusicas representa otra opción terapéutica en el tratamiento de estos trastornos⁵⁴. Las acciones de SOST podrían incluir el sistema vascular. Es importante destacar que, además de su control directo del remodelado y mineralización ósea, SOST influye en las concentraciones séricas de calcitriol y FGF-23, ambos implicados en el proceso de mineralización⁵⁵.

La SOST sérica aumenta en paralelo con los aumentos de fósforo, PTH y FGF-23^{49,56,57}, posiblemente debido a su aclaramiento renal reducido⁵⁸, y el uso de anticuerpos monoclonales anti-SOST ha sido eficaz para prevenir la pérdida ósea en ratas normales o con insuficiencia renal crónica y con PTH baja⁵⁹. Sin embargo, la terapia anti-SOST no pudo prevenir el daño óseo en ratas con el mismo grado de daño renal, pero con PTH elevada. Estos resultados contradicen el hallazgo de Cejka y cols.⁶⁰, que sugirió que los valores séricos de SOST, un inhibidor de la vía Wnt, podrían ser un marcador de remodelado óseo aún más sensible y preciso que la PTH circulante.

Los estudios en humanos⁵⁶, en un modelo de ratón de enfermedad poliquística de desarrollo lento^{56,57} y en un modelo de enfermedad renal crónica con hiperfosfate-mia⁴⁹, han demostrado que los aumentos de SOST en el hueso preceden a los aumentos séricos de fósforo, PTH y FGF-23. Los aumentos séricos de fósforo, PTH y FGF-23 en paralelo con la inhibición ósea de la señalización de la vía de Wnt coinciden con disminuciones en la SOST ósea, pero con aumentos en otros inhibidores de la vía Wnt^{49,56,57}. De hecho, las biopsias óseas de pacientes con enfermedad renal crónica han demostrado que una mayor inhibición de la vía Wnt se asocia con niveles bajos de SOST en los osteocitos⁵⁶, lo que sugiere la contribución de otros inhibidores de la vía Wnt.

Estudios recientes de nuestro grupo, que analizan el efecto directo de la PTH y FGF-23 sobre los osteoblastos, han revelado que la PTH elevada inhibe no solo los aumentos de SOST, sino también de otros inhibidores de la vía de Wnt y que FGF-23 puede tener un efecto inhibitorio directo sobre la vía de Wnt en osteoblastos a través de la inducción de DKK1⁴⁹.

La inhibición de SOST y otros inhibidores de la vía de Wnt en el hueso por los altos niveles de PTH podría contribuir a mantener la salud ósea, pero es importante resaltar que la reducción de PTH de los inhibidores de la vía Wnt en los vasos podría favorecer la calcificación vascular. De hecho, como se mencionó anteriormente, estudios recientes en ratas con enfermedad renal crónica alimentadas con una dieta alta en fósforo, con niveles de PTH tanto elevados como normales (paratiroidectomía con suplementación de PTH 1-34 para evitar la hipocalcemia) sugieren que la PTH elevada favorece la calcificación vascular. En cambio, los niveles normales de PTH circulante fueron protectores de la calcificación aórtica a pesar del fósforo sérico elevado⁴⁰. Estudios *in vitro* confirmaron este hecho, objetivándose como dosis elevadas de PTH en células de músculo liso vascular sometidas a un estímulo calcificante agravaron el proceso calcificante, mientras dosis bajas de PTH fueron capaces de inhibir el proceso de calcificación, mostrando un contenido en calcio y una expresión de genes osteogénicos similar a la de las células no sometidas al estímulo calcificante⁴⁰.

Por el contrario, la acción del FGF-23 sería opuesta a la de la PTH, ya que el FGF-23, mediante la inducción de aumentos de DKK1, inhibiría la vía de Wnt en el hueso contribuyendo a la pérdida de masa ósea, mientras que en el vaso FGF-23 podría atenuar la calcificación vascular.

CONCLUSIÓN

En conclusión, el papel que el eje regulador calcio, fósforo, calcitriol, PTH, FGF-23 y klotho ejerce sobre la activación o inactivación de la vía Wnt, así como, la precisión de los niveles séricos de activadores e inhibidores de Wnt para reflejar sus cambios a nivel óseo y vascular podría permitir el diseño de estrategias terapéuticas para prevenir el deterioro del eje hueso-vaso.



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

Bibliografía

- Miramis M, Robinson BG, Mason RS, Nelson AE. Bone as a source of FGF23: regulation by phosphate? *Bone*. 2004; 35: 1192-1199.
- Razzaque MS, Lanske B. The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphate homeostasis. *J Endocrinol*. 2007; 94: 1-10.
- Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int*. 2009;75: 890-897.
- Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G. Cholesterol and recurrent events trial investigators: relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation*. 2005;112: 2627-2633.
- Dhingra R, Sullivan LM, Fox CS, Wang TJ, D'Agostino RB, Gaziano JM, et al. Relations of serum phosphorus and calcium levels to the incidence of cardiovascular disease in the community. *Arch Intern Med*. 2007;167: 879-885.
- Foley R. Phosphate levels and cardiovascular disease in the general population. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4: 1136-1139.
- Mathew S, Tustison KS, Sugatani T, Chaudhary LR, Rifas L, Hruska KA. The mechanism of phosphorus as a cardiovascular risk factor in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:1092-1105.
- Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390: 45-51.
- Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Lida T, Nagai R, Kuro-o M, Nabeshima Y. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;242:626-630.
- Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. 2006;444:770-774.
- Faul C, Amaral AP, Oskoue B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121:4393-4408.
- Grabner A, Schramm K, Silswal N, Hendrix M, Yanucil C, Czaya B, et al. FGF23/FGFR4-mediated left ventricular hypertrophy is reversible. *Sci Rep*. 2017;16:1993.
- Singh S, Grabner A, Yanucil C, Schramm K, Czaya B, Krick S, et al. Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2016;90:985-996.
- Saito H, Maeda A, Ohtomo S, Hirata M, Kusano K, Kato S, et al. Circulating FGF-23 is regulated by 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 and phosphorus in vivo. *J Biol Chem*. 2005;280:2543-2549.
- Prie D, Friedlander G. Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5: 717-1722.
- Liu S, Tang W, Zhou J, Stubbs JR, Luo Q, Pi M, et al. Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:1305-1315.
- Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Juppner H, Jonsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int*. 2003;64:2272-2279.
- Nishida Y, Taketani Y, Yamanaka-Okumura H, Imamura F, Taniguchi A, Sato T, et al. Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men. *Kidney Int*. 2006;70:2141-2147.
- Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R. FGF-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;90:1519-1524.
- Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:3144-3149.
- Burnett SA, Gunawardene SC, Bringhurst FR, Juppner H, Lee H, Finkelstein JS. Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J Bone Miner Res*. 2006; 21:1187-1196.
- Gupta A, Winer K, Econs MJ, Marx SJ, Collins MT. FGF-23 is elevated by chronic hyperphosphatemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4489-4492.
- Hanley DA, Watson PH, Hodsman AB, Dempster DW. Pharmacological mechanisms of therapeutics: parathyroid hormone. In: Bilezikian J, Raisz LG, Martin TJ editors. *Principles of Bone Biology*. Vol. 2. Elsevier; 2008. p. 1661-1695.
- Civitelli R, Ziembaras K. Calcium and phosphate homeostasis: concerted interplay of new regulators. *J Endocrinol Invest*. 2011;34:3-7.
- Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormones and disorders of mineral metabolism. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. Vol. 1. Saunders Elsevier; 2008. p. 1203-1268.
- Egbuna OI, Brown EM. Hypercalcaemic and hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2008; 22:129-148.
- Dobnig H, Turner RT. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology*. 1997; 138:4607-4612.
- Rubin MR, Bilezikian JP, McMahon DJ, Jacobs T, Shane E, Siris E, et al. The natural history of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery after 15 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3462-3470.
- Hansen S, Beck Jensen JE, Rasmussen L, Hauge EM, Brixen K. Effects on bone geometry, density, and microarchitecture in the distal radius but not the tibia in women with primary hyperparathyroidism: a case-control study using HR-pQCT. *J Bone Miner Res*. 2010;25: 1941-1947.
- Stein EM, Silva BC, Boutroy S, Zhou B, Wang J, Udesky J, et al. Primary hyperparathyroidism is associated with abnormal cortical and trabecular microstructure and reduced bone stiffness in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2013;28:1029-1040.
- Silverberg SJ, Clarke BL, Peacock M, Bandeira F, Boutroy S, Cusano NE, et al. Current issues in the presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:3580-3594.
- Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R, Silverberg SJ, Udelsman R, Marcocci C, et al. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:3561-3569.
- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*. 2001;344:1434-1441.
- Greenspan SL, Bone HG, Ettinger MP, Hanley DA, Lindsay R, Zanchetta JR, et al. Effect of recombinant human parathyroid hormone (1-84) on vertebral fracture and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2007;146:326-339.
- Onyia JE, Helvering LM, Gelbert L, Wei T, Huang S, Chen P, et al. Molecular profile of catabolic versus anabolic treatment regimens of parathyroid hormone (PTH) in rat bone: an analysis by DNA microarray. *J Cell Biochem*. 2005;95: 403-418.
- Locklin RM, Khosla S, Turner RT, Riggs BL. Mediators of the biphasic responses of bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *J Cell Biochem*. 2003;89: 180-190.
- Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest*. 2007;117: 4003-4008.
- Krajisnik T, Bjorklund P, Marsell R, Ljunggren O, Akerstrom G, Jonsson KB, et al. Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1-hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells. *J Endocrinol*. 2007;195:125-131.
- Kawata T, Imanishi Y, Kobayashi K, Miki T, Arnold A, Inaba M, et al. Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18:2683-2688.

40. Carrillo-Lopez N, Panizo S, Alonso-Montes C, Martínez-Arias L, Avello N, Sosa P, et al. High-serum phosphate and parathyroid hormone distinctly regulate bone loss and vascular calcification in experimental chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34:934-941.
41. Huang JC, Sakata T, Pflieger LL, Bencsik M, Halloran BP, Bikle DD, et al. PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res*. 2004;19:235-244.
42. Fu Q, Jilka RL, Manolagas SC, O'Brien CA. Parathyroid hormone stimulates receptor activator of NFkappa B ligand and inhibits osteoprotegerin expression via protein kinase A activation of cAMP-response element-binding protein. *J Biol Chem*. 2002;277:48868-48875.
43. Ben-awadh AN, Delgado-Calle J, Tu X, Kuhlenschmidt K, Allen MR, Plotkin LI, et al. Parathyroid hormone receptor signaling induces bone resorption in the adult skeleton by directly regulating the RANKL gene in osteocytes. *Endocrinology*. 2014;155:2797-2809.
44. Lee SK, Lorenzo JA. Regulation of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and osteoprotegerin mRNA expression by parathyroid hormone is predominantly mediated by the protein kinase A pathway in murine bone marrow cultures. *Bone*. 2002;31:252-259.
45. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473:139-146.
46. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther*. 2007;9:S1.
47. Kulkarni NH, Halladay DL, Miles RR, Gilbert LM, Frolik CA, Galvin RJ, et al. Effects of parathyroid hormone on Wnt signaling pathway in bone. *J Cell Biochem*. 2005;95:1178-1190.
48. Kim JH, Liu X, Wang J, Chen X, Zhang H, Kim SH, et al. Wnt signaling in bone formation and its therapeutic potential for bone diseases. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2013;5:13-31.
49. Carrillo-Lopez N, Panizo S, Alonso-Montes C, Román-García P, Rodríguez I, Martínez-Salgado C, et al. Direct inhibition of osteoblastic Wnt pathway by fibroblast growth factor 23 contributes to bone loss in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2016;90:77-89.
50. Roman-García P, Carrillo-López N, Fernández-Martín JL, Naves-Díaz M, Ruiz-Torres MP, Cannata-Andía JB, et al. High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression. *Bone*. 2010;46:121-128.
51. Liao R, Wang L, Li J, Sun S, Xiong Y, Li Y, et al. Vascular calcification is associated with Wnt-signaling pathway and blood pressure variability in chronic kidney disease rats. *Nephrology (Carlton)*. 2020;25:264-272.
52. Rashdan NA, Sim AM, Cui L, Phadwal K, Roberts FL, Carter R, et al. Osteocalcin Regulates Arterial Calcification Via Altered Wnt Signaling and Glucose Metabolism. *J Bone Miner Res*. 2020;35:357-367.
53. Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest*. 2006;116:1202-1209.
54. McClung MR, Grauer A, Boonen S, Bolognese MA, Brown JP, Diez-Perez A, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2014;370:412-420.
55. Ryan ZC, Ketha H, McNulty MS, McGee-Lawrence M, Craig TA, Grande JP, et al. Sclerostin alters serum vitamin D metabolite and fibroblast growth factor 23 concentrations and the urinary excretion of calcium. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:6199-6204.
56. Sabbagh Y, Gracioli FG, O'Brien S, Tang W, Machado dos Reis L, Ryan S, et al. Repression of osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res*. 2012;27:1757-1772.
57. Liu S, Song W, Boulanger JH, Tang W, Sabbagh Y, Kelley B, et al. Role of TGF-beta in a mouse model of high turnover renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res*. 2014;29:1141-1157.
58. Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8:819-823.
59. Moe SM, Chen NX, Newman CL, Organ JM, Kneissel M, Kramer I, et al. Anti-sclerostin antibody treatment in a rat model of progressive renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res*. 2015;30: 499-509.
60. Cejka D, Herberth J, Branscum AJ, Fardo DW, Monier-Faugere MC, Diarra D, et al. Sclerostin and Dickkopf-1 in renal osteodystrophy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:877-882.

Salud e impacto económico del uso de suplementos de vitamina D/calcio para la prevención de fracturas: revisión de la literatura

De Paz HD¹, Lizán L^{1,2}

¹ Outcomes'10, S.L. Castellón de la Plana (España)

² Departamento de Medicina. Universidad Jaime I. Castellón de la Plana (España)

Resumen

Objetivos: Las políticas de salud sobre programas de prevención de fracturas deben de considerar el impacto económico y sanitario de estrategias como el consumo de suplementos o alimentos fortificados con vitamina D/calcio. Nuestra revisión, pretende resumir la evidencia disponible sobre estas estrategias en términos de beneficios en salud y de coste-efectividad.

Material y métodos: Se realizó una búsqueda en la base de datos PubMed/MedLine para identificar estudios publicados en los últimos 10 años (hasta diciembre de 2020) que evaluaran el impacto de la toma de suplementos o alimentos fortificados con vitamina D/calcio para la prevención de fracturas en un contexto de beneficios en salud y coste-efectividad.

Resultados: Un total de 11 artículos fueron incluidos. Los estudios identificados sugieren un beneficio sustancial en términos de prevención de fracturas, mortalidad, años de vida ganados y años de vida ajustados por calidad. Por su parte, las evaluaciones económicas revelan que el uso de suplementos o alimentos fortificados con vitamina D/calcio son coste-efectivos, al menos en población adulta mayor de 70 años o con alto riesgo de fractura. Además, estas estrategias parecen generar un ahorro de costes directos, especialmente en el perfil de mujer anciana con alto riesgo de fractura.

Conclusiones: El uso de suplementos o alimentos fortificados con vitamina D/calcio reduce la carga de las fracturas por fragilidad siendo una estrategia potencialmente favorable en términos económicos.

Palabras clave: vitamina D, calcio, costes y análisis de costes, salud pública, suplementos dietéticos, alimentos enriquecidos.

INTRODUCCIÓN

Las fracturas osteoporóticas, especialmente de cadera, son una de las principales causas de discapacidad en población anciana, originando una pérdida considerable de cantidad y calidad de vida. Además, más del 30% de las personas que las padecen mueren en el primer año tras la fractura¹. En 2010 la Unión Europea registró cerca de 3,5 millones de fracturas por fragilidad que derivaron en 43.000 muertes. Desde un punto de vista económico, estas fracturas supusieron un gasto de 37 billones de euros, esperándose un aumento del 25% en 2025².

La vitamina D y el calcio son compuestos esenciales para el metabolismo óseo y la prevención de fracturas osteoporóticas. Dos recientes meta-análisis han corroborado que los niveles bajos de 25(OH)D en sangre están relacionados con un aumento del riesgo de fractura por fragilidad como consecuencia de la pérdida de masa ósea y deterioro de la estructura ósea^{3,4}.

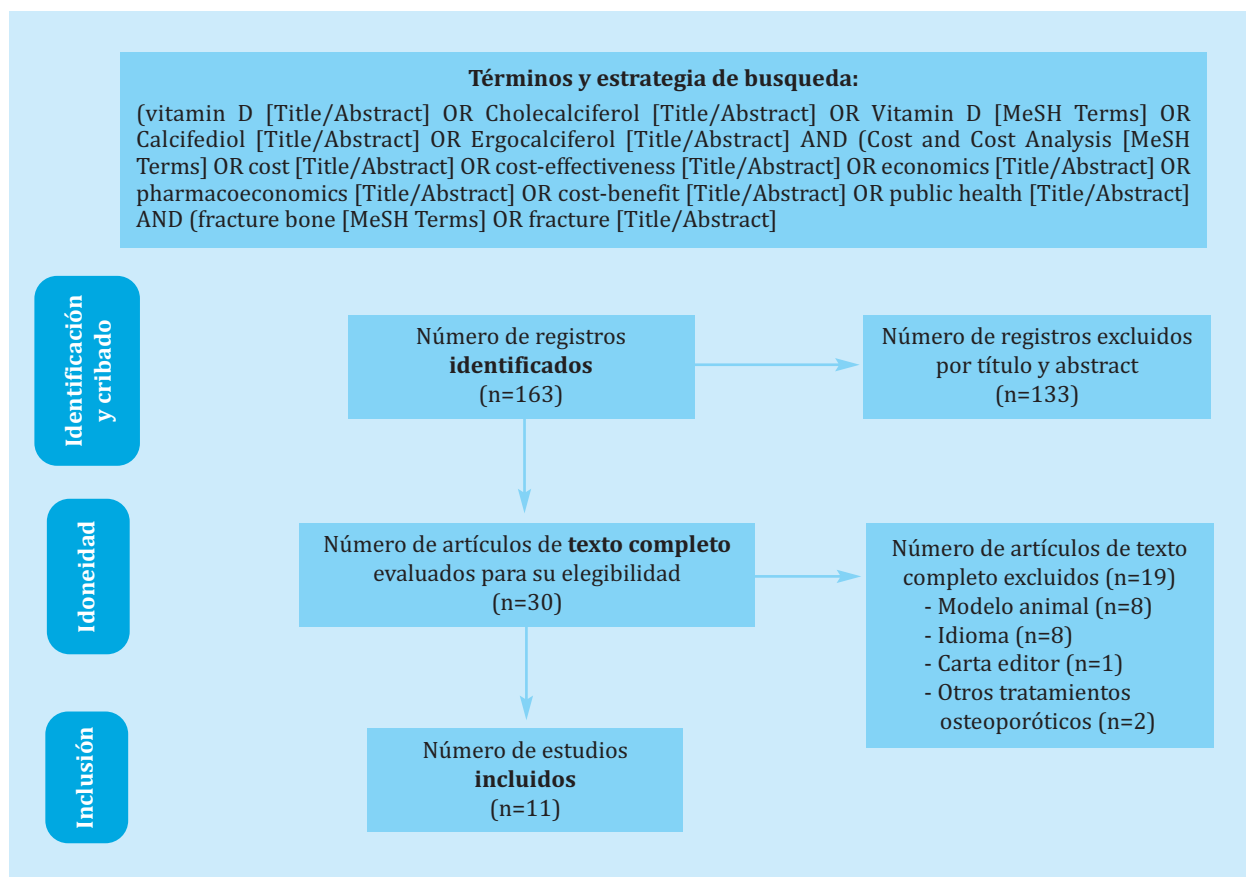
Se estima que en Europa la prevalencia de la deficiencia de vitamina D (definida como 25(OH)D <20 ng/ml) es del 40%⁵. De manera natural, una de las fuentes prin-

cipales de vitamina D proviene de la exposición solar. Sin embargo, debido a factores como la latitud, el sedentarismo o el uso de cremas solares, la síntesis de vitamina D por esta vía suele ser insuficiente. De hecho, al contrario de lo que se podría pensar, la prevalencia de esta deficiencia es menor en el norte de Europa que en el sur (<20% vs. 30-60%, respectivamente)⁶, a pesar de recibir una menor radiación solar. Uno de los motivos de esta diferencia es que los países nórdicos han generalizado el consumo de alimentos enriquecidos en vitamina D y/o suplementos⁶.

Con el fin de revertir esta situación es fundamental asegurar una ingesta adecuada de vitamina D y calcio. La Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM), la Sociedad Española de Reumatología (SER) y la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), consideran fundamental asegurar unos niveles de 25(OH)D de al menos 30 ng/ml⁷⁻⁹. Se considera que para mantener unos niveles adecuados de 25(OH)D es necesario ingerir, preferentemente en la dieta, entre 400 y 1.000 UI/día de vitamina D



Figura 1. Estrategia de búsqueda y diagrama PRISMA



y entre 500 y 1.200 mg/día de calcio. Estas cantidades varían en función de la edad, tipo de paciente y guías consultadas⁷⁻⁹. En el caso de pacientes con osteoporosis y déficit de vitamina D la SER recomienda la suplementación con 800-2.000 UI/día de vitamina D, según su valor basal⁹. Desafortunadamente, el consumo de calcio, y en especial el de vitamina D es insuficiente, observándose que hasta el 38% y el 93% de las personas no consume, respectivamente, el calcio y la vitamina D recomendada¹⁰.

El objetivo de la suplementación con vitamina D/calcio es reducir el riesgo de fracturas por fragilidad. Sin embargo, existe debate sobre el beneficio de la suplementación en población general. Mientras algunos estudios sugieren que la ingesta adecuada de vitamina D/calcio reduce el riesgo de fractura^{11,12}, otros apuntan a que la reducción del riesgo no es estadísticamente significativa^{13,14}. No obstante, es importante señalar que muchos de los trabajos que analizan el efecto de la suplementación incluyen una proporción considerable de personas con valores óptimos de vitamina D. Por ello, no se podría concluir que la suplementación no es efectiva en personas con hipovitaminosis. De hecho, cuanto menor es la concentración de 25(OH)D mayor es la respuesta¹⁵. Del mismo modo, análisis combinados sugieren que la prevención de fracturas gracias a la suplementación de vitamina D solo sería efectiva en personas con déficit de vitamina D¹³.

Los suplementos de vitamina D no son costosos. Sin embargo, el alto número de personas que los necesitaría y la monitorización de los niveles séricos de 25(OH)D podrían suponer un gasto considerable. Para ayudar a

los responsables de la toma de decisiones en la elaboración de políticas de salud sobre programas de nutrición preventiva, es importante evaluar el impacto económico y sanitario del consumo de suplementos o alimentos fortificados de vitamina D/calcio.

Esta revisión pretende identificar y resumir la evidencia disponible sobre la suplementación con vitamina D/Ca en la prevención de fracturas por fragilidad en términos de beneficios en salud y de coste-efectividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión en la base de datos internacional PubMed para identificar estudios que evalúan el impacto en términos económicos y/o de beneficios en salud del uso de suplementos o alimentos fortificados con vitamina D/calcio. Para ello se ha utilizado la combinación de términos MeSH y abiertos relacionados con vitamina D, costes y fractura por fragilidad.

Todos los artículos publicados en inglés o español durante los últimos 10 años (hasta diciembre 2020) fueron elegibles. Aquellos artículos en los que se evaluaba la suplementación de vitamina D/calcio en combinación con otros medicamentos fueron excluidos. Del mismo modo, los estudios que solo analizaban el efecto de la suplementación con calcio, ensayos clínicos, cartas al editor y comunicaciones a congresos fueron excluidos.

RESULTADOS

Características de los estudios

Un total de 163 artículos fueron identificados, de los cuales 11 fueron finalmente incluidos (Figura 1)¹⁶⁻²⁶. Sus características se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características de los artículos seleccionados

Autor, año	País	Método	Edad	Sexo	Patología	Estudio	Intervención	Dosis	RRFc
Childs, 2016 ¹⁶	EE.UU.	Económico retrospectivo	Todos	M/H	FP	E	Suplementación VitD + Ca	VitD: 1.600 UI/día Ca: 1.200 mg/día	5%*
Hiligsmann, 2015 ¹⁷	Países Bajos	Markov microsimulation	≥60	M/H	O	SP/E	Suplementación VitD + Ca	VitD: 800 UI/día Ca: 1.000 mg/día	18%
Poole, 2014 ²³	UK	Económico	≥65	M/H	G	SP/E	Suplementación VitD	VitD: 800 UI/día	30%
Weaver, 2019 ²⁵	UE EE.UU.	Análisis coste-beneficio	≥50	M/H	O	SP/E	Suplementación VitD + Ca	VitD: 600 UI/día Ca: 1.000 mg/día	14%
Zarca, 2014 ²⁶	Francia	Markov microsimulation	≥65	M	G	SP/E	Suplementación VitD + Ca	VitD: 100.000 UI/ 15-90 días	10%
Hagen, 2016 ¹⁹	Noruega	Markov state-transitoín	65	M	G	SP/E	Suplementación VitD + Ca	VitD: 200 UI/día Ca: 1.000 mg/día	16%
Ethgen, 2015 ¹⁷	Países Bajos	Population-based (Markov microsimulation)	≥50	M/H	G/O/RF	SP/E	Fortificación VitD + Ca	VitD: 800 UI/día Ca: 1.000 mg/día	18%
Ethgen, 2016 ¹⁸	Países Bajos	Markov microsimulation	≥65	M	G/O/RF	E	Fortificación VitD + Ca	VitD: 400 UI/día Ca: 800 mg/día	18
Sandmann, 2015 ²⁴	Alemania	Spreadsheet	≥65	M	G	SP/E	Fortificación VitD + Ca	VitD: 800 UI/día Ca: 200 mg/día	19%
Hiligsmann, 2017/2018 ^{21,22}	Francia	Markov microsimulation	≥60	M/H	G	SP/E	Fortificación VitD + Ca	VitD: 800 UI/día Ca: 1.000 mg/día	16%

RRFc: reducción riesgo de fractura cadera; M: mujer; H: hombre; FP: fractura previa; O: osteoporosis; G: población general; RF: riesgo alto de fractura; SP: salud pública; E: evaluación económica; VitD: vitamina D; Ca: calcio; UI: unidades internacionales; *: fractura no soldada.

Los estudios analizan la suplementación con vitamina D [n=1], vitamina D y calcio [n=5] y alimentos enriquecidos con vitamina D y calcio [n=5] en la prevención de fracturas, desde dos perspectivas:

- 1) Beneficios en salud [n=10] (muertes evitadas, fracturas evitadas, años de vida ganados, años de vida ajustados por calidad -AVACs- y coste neto).
- 2) Evaluación económica [n=11] (€/AVAC ganado, €/años de vida ganados -AVG- y ratio de coste efectividad incremental -RCEI-).

Los trabajos se llevaron a cabo en Francia (n=3), Países Bajos (n=3), Alemania (n=1), Reino Unido (n=1), Noruega (n=1), EE.UU. (n=1) y EE.UU./Europa (n=1). No se ha identificado ningún estudio realizado en España.

Entre los estudios existe una gran heterogeneidad en la metodología seguida: tipo de modelo económico, características de la población, tipo de suplementación, dosis, eficacia de la estrategia y umbral de coste-efectividad (Tabla 1).

Beneficios en salud

Diferentes autores han estimado el número de fracturas prevenidas anualmente gracias a la suplementación/fortificación con vitamina D/calcio: 323.566 (EE.UU.), 544.687 (UE), 64.932 (Francia), 45.800 (Reino Unido), 36.705 (Alemania), 30.376 (Países Bajos), 16.130 (Noruega) (Tabla 2). Teniendo en cuenta la mortalidad asociada a la fractura de cadera (ajustada por edad y género) Poole *et al.* estimaron que la suplementación con vitamina D podría prevenir 1.700 muertes anuales en el Reino Unido²³. Por su parte, Ethgen *et al.* y Hiligsmann *et al.* basándose en el exceso de mortalidad sugieren que se habrían ganado 6.605 años (Países Bajos) y 29.169 años (Francia)^{17,21}.

Uno de los indicadores de salud pública más utilizados son los AVACs, que tiene en cuenta la cantidad y la calidad de la vida ganada. Un AVAC correspondería a un año vivido con máxima calidad. Tres de los estudios predicen una ganancia de AVACs de 0,008 a 0,022 AVACs por paciente gracias a la suplementación/fortificación con vitamina D/calcio^{19,20,26}. Esta variabilidad parece depender de diferentes factores como la edad y el sexo. Ethgen *et al.* describieron que a mayor edad los AVACs ganados eran superiores, independientemente de la cohorte de mujeres observada (sin osteoporosis, con baja densidad ósea o con riesgo alto de fractura)¹⁷. Resultados similares fueron reportados por Hiligsmann *et al.*, observándose además que los AVACs ganados por la intervención eran mayores en mujeres que en hombres (23.067 vs. 9.502, respectivamente)²⁰.

Hagen *et al.* tuvieron en cuenta tres escenarios de riesgo cardiovascular debido a la suplementación con vitamina D/calcio:

- 1) Sin riesgo
- 2) Riesgo moderado
- 3) Riesgo alto.

Como resultado, en el primer escenario se observó una ganancia de 0,022 AVACs por paciente. Por el contrario, con riesgo moderado y alto se produciría una pérdida de salud neta (-0,052 y -0,078, respectivamente)¹⁹.

Impacto económico

Desde el punto de vista económico, la suplementación/fortificación dirigida a la población general parece ser coste-efectiva a partir de los 70^{17,21}-80¹⁸ años. En el caso de personas con osteoporosis esta intervención podría ser

Tabla 2. Principales resultados en salud pública

Autor	País	Intervención - población	Fracturas prevenidas/año	Fracturas prevenidas/año/100.000	Muertes prevenidas/año	AVG	Ganancia incremental de AVACs
Childs ¹⁶	EE.UU.	S-FP	NE	NE	NE	NE	NE
Hiligsmann ²⁰	Países Bajos	S-O	NE	NE	NE	NE	0,008-0,021
Poole ²³	UK	S-G	45.800 (cadera)	71,2*	1.700	NE	NE
Weaver ²⁵	UE EE.UU.	S-O	544.687 (UE) (cadera) 323.566 (EE.UU.) (cadera)	122,1* (UE) 98,6* (EE.UU)	NE	NE	NE
Zarca ²⁶	Francia	S-G	NE	NE	NE	NE	0,015-0,020
Hagen ¹⁹	Noruega	S-G	16.130* (todas)	306,8*	NE	NE	Sin ECV: 0,022 RECV moderado: -0,077 RECV alto: -0,078
Ethgen ¹⁷	Países Bajos	F-G/O/RF	30.376 (cadera y vertebral)	178,9*	NE	6.605	NE
Ethgen ¹⁸	Países Bajos	F-G/O/RF	NE	NE	NE	NE	2 raciones diarias: 0,006-0,026
Sandmann ²⁴	Alemania	F-G	36.705 (todas)	45,2*	NE	NE	NE
Hiligsmann ^{21,22}	Francia	F-G	64.932 (todas)	97,2*	NE	29.169	NE

AVG: años de vida ganados; AVACs: años de vida ajustados por calidad; S: suplementación; F: fortificación; FP: fractura previa; O: osteoporosis; G: población general; RF: riesgo alto de fractura; NE: no evaluado o especificado; ECV: evento cardiovascular; RECV: riesgo de evento cardiovascular *: calculado a partir de los datos originales del estudio y la población del estudio en el año de realización.

coste-efectiva a partir de 60²⁰-70¹⁸ años, y en personas con alto riesgo de fractura a partir de los 50-60 años¹⁷. Por sexos, las estrategias evaluadas resultaron más coste-efectivas en la cohorte de mujeres, excepto en hombres con alto riesgo de fractura (Tabla 3).

Zarca *et al.* analizaron el RCEI de 4 estrategias diferentes:

- 1) No tratar (comparador)
- 2) Tratamiento general sin monitorizar la efectividad
- 3) Tratar y monitorizar
- 4) Cribar y tratar a la población con deficiencia de vitamina D.

Como resultado, "tratar y monitorizar" y "cribar y tratar" resultaron estrategias coste-efectivas (5.219 y 9.104 €/AVACs, respectivamente) y dominantes frente a "tratar sin monitorizar". Las curvas de aceptabilidad mostraron a su vez que el cribado era la intervención que mayor probabilidad tenía de ser coste-efectiva (alrededor de los 6.000 €/AVACs)²⁶. La curva de aceptabilidad es una estimación de la probabilidad de que una estrategia sea coste-efectiva con un umbral determinado. Para ello, se calcula el porcentaje de simulaciones en las que la alternativa estudiada tiene coste-efectividad incremental inferior al umbral para distintos valores de éste.

El coste neto del uso de suplementos o alimentos fortificados en vitamina D/calcio para la prevención de fracturas por fragilidad ha sido analizado en 7 de los 11 artículos incluidos en la revisión, observándose diversidad de resultados entre estudios^{16,19-21,23-25}. Hiligsmann *et al.* estimaron que en Francia la ingesta de alimentos fortificados en población general a partir de los 65 años tendría un coste neto de 1.556 millones de euros. Por el

contrario, Poole *et al.* observaron un coste neto de -22 millones de libras, debido especialmente al ahorro generado en mayores de 80 años. En pacientes con osteoporosis o riesgo elevado de fractura tres estudios predicen un ahorro en población de 50-65 años en adelante^{16,24,25}, mientras que el modelo de Hiligsmann *et al.*, lo predice a partir de los 80 años²⁰. Por el contrario, Hagen *et al.*, estimaron un coste neto de 322 €/paciente, que ascendería a 1.033 €/paciente en el caso de que existiera un riesgo alto de eventos cardiovasculares debido a la suplementación con calcio¹⁹.

Por último, Hiligsmann *et al.* evaluaron el impacto económico de la fortificación con vitamina D y calcio en Francia durante los próximos 40 años, observando un aumento progresivo del beneficio. Concretamente, en 2060 el coste por AVAC ganado se reduciría de los 58.244 € de 2015 a los 42.616 €²².

DISCUSIÓN

La presente revisión de la literatura ha identificado 11 estudios en los que se evalúa los beneficios en salud y el impacto económico de la suplementación o fortificación de alimentos con vitamina D/calcio.

La evidencia disponible sugiere que la ingesta de cantidades adecuadas de vitamina D y calcio mediante suplementación o alimentación fortificada, tendría beneficios sustanciales en el ámbito de la salud pública (fracturas y muertes prevenidas, AVG y AVACs). Desde el punto de vista económico, todos los modelos indican que estas intervenciones serían coste-efectivas, al menos en la población de mayor edad o con mayor riesgo de fractura, derivando incluso en un ahorro económico.

Tabla 3. Principales resultados económicos

Autor	País	Intervención-población	Umbral coste-efectivo	RCEI	Coste neto
Childs ¹⁶	EE.UU.	S-FP	NA	NE	-65 866\$/hospital/año -27,9 \$/paciente/años*
Hiligsmann ²⁰	Países Bajos	S-O	45.000 € /AVAC	60 años: 40.578 (M)/23.477 (H) €/AVAC 65 años: 16.266 (M)/19.695(H) €/AVAC 70 años: 7.912 (M)/10.250 (H) €/AVAC 80 años: -12.815 (M)/-6.723 (H) €/AVAC	60 años: 316 (M) /274 (H) €/paciente 65 años: 211 (M)/230 (H) €/paciente 70 años: 127 (M)/138 (H) €/paciente 80 años: -270 (M)/-99 (H) €/paciente
Poole ²³	UK	S-G	NA	NE	65-69 años: 10.115 millones £/año 70-74 años: 56,1 millones £/año 75-79 años: 12,6 millones £/año 80-84 años: -39,0 millones £/año ≥85 años: -153,6 millones £/año ≥65 años: -22.4 millones £/año
Weaver ²⁵	UE EE.UU.	S-O	NA	NE	50-59 años: -1.011 millones €/año (UE); -700 millones \$/año (EE.UU.) 60-69 años: -1.323 millones €/año (UE); -729 millones \$/año (EE.UU.) 70-79 años: -1.911 millones €/año (UE); -904 millones \$/año (EE.UU.) ≥80 años: -1.462 millones €/año (UE); -978 millones \$/año (EE.UU.) Total: -5.710 millones €/año (UE); -3.312 millones \$/año (EE.UU.)
Zarca ²⁶	Francia	S-FP	Umbral OMS	"Tratar y monitorizar": 5.219 €/AVAC "Cribado y tratar": 9.104 €/AVAC	NE
Hagen ¹⁹	Noruega	S-O	60.000 € /AVAC	Sin ECV: 14.453 €/AVAC RECV moderado: Dominado RECV alto: Dominado	65 años: a) 322 €/paciente (sin ECV) b) 322 €/paciente (ECVm) c) 1.033 €/paciente (ECVa)
Ethgen ¹⁷	Países Bajos	F-G/O/RF	120.000 € /AVG	2 raciones diarias (G/O/RF), mujeres: 50 años: 296.532/300.277/168.701 €/AVG 60 años: 184.479/174.359/ 96.744 €/AVG 70 años: 91.430/74.707/35.687 €/AVG 80 años: 30.759/19.910/3.369 €/AVG 2 raciones diarias (G/O/RF), hombres: 50 años: 255.753/203.563/ 118.823 €/AVG 60 años: 151.392/121.582/ 70.057 €/AVG 70 años: 85.627/61.349/31.423 €/AVG 80 años: 37.048/24.231/8.916 €/AVG	NE
Ethgen ¹⁸	Países Bajos	F-G/O/RF	45.000 € /AVAC	2 raciones diarias (G/O/RF): 65 años: 123.122/56.498/48.018 €/AVAC 70 años: 62.975/ 32.467/32.685 €/AVAC 80 años: 15.576/6.868/3.390 €/AVAC	NE
Sandmann ²⁴	Alemania	F-O	NA	NE	≥65 años: -314,8 millones €/año
Hiligsmann ²¹	Francia	F-G	30.000 € /AVAC	2 raciones diarias: 60-69 años: 155.006 (M)/218.176 (H) €/AVAC 70-79 años: 24.997 (M)/92.676 (H) €/AVAC ≥80 años: 1.907 (M)/27.683 (H) €/AVAC ≥60 años: 38.256 (M)/106.113 (H) €/AVAC	≥60 años: 1.556 millones €
Hiligsmann ²²	Francia	F-G	30.000 € /AVAC	2 raciones diarias, ≥60 años (2015/2040/2060): 58.244/45.732/ 42.616 €/AVAC	NE

Negrita: coste-efectivo u ahorro neto; RCEI: ratio de coste efectividad incremental; S: suplementación; F: fortificación; FP: fractura previa; O: osteoporosis; G: población general; RF: riesgo alto de fractura; NE: no evaluado o especificado; NA: no aplica; M: mujer; H: hombre; AVAC: años de vida ajustados por calidad; AVG: años de vida ganados; ECV: evento cardiovascular; RECV: riesgo de evento cardiovascular; OMS: Organización Mundial de la Salud.

Un aspecto a considerar en la evaluación económica es el papel de estrategias complementarias como el cribado y monitorización de niveles de 25(OH)D. De esta manera, se podría tratar exclusivamente a personas con deficiencia de vitamina D o monitorizar la efectividad del tratamiento para adaptar la dosificación. Zarca *et al.*²⁶ abordan esta perspectiva, observando que el cribado de hipovitaminosis D, seguido del tratamiento, sería la estrategia más coste-efectiva.

Actualmente, existe cierta controversia sobre el efecto que podrían tener los suplementos de calcio en el riesgo cardiovascular²⁷. Interesantemente, Hagen *et al.* analizaron tres escenarios de riesgo, llegando a la conclusión de que los beneficios (en salud y económicos) sólo se producirían si la suplementación con vitamina D y calcio no supone un incremento del riesgo cardiovascular¹⁹. En cualquier caso, es importante señalar que el efecto negativo de la suplementación/fortificación en el riesgo cardiovascular no ha sido demostrado, y de existir podría estar relacionado con niveles de vitamina D y/o calcio superiores a los recomendados^{28,29}. Por otro lado, los posibles beneficios extraóseos de la vitamina D (ej. preeclampsia, diabetes, cáncer, etc.), y que actualmente son motivo de debate, podrían mejorar los datos observados o compensar potenciales efectos adversos.

En las políticas sanitarias a largo plazo, las proyecciones a futuro pueden tener mucho interés. Más aun teniendo en cuenta que debido al envejecimiento de la población se espera un aumento de la prevalencia de la osteoporosis, y por tanto de fracturas por fragilidad². En este sentido Hilgsmann *et al.* observaron una tendencia clara de incremento del beneficio en salud (evitándose hasta el 78% de las fracturas) y un aumento de la coste-efectividad²².

Nuestra revisión de la literatura tiene una serie de limitaciones potenciales. Por un lado, se delimitó la búsqueda a una única base de datos (PubMed/Medline) y no se evaluó la calidad de la evidencia. Además, debido a la gran heterogeneidad metodológica de los estudios no es posible establecer comparaciones directas entre estudios.

A su vez, muchos de los estudios identificados presentan sus propias limitaciones:

- 1) Los estudios asumen la efectividad de la suplementación con vitamina D y calcio de la literatura, extrapolando estos efectos a la fortificación de alimentos, y en ocasiones a dosis diferentes.
- 2) No se tienen en cuenta posibles efectos adversos (excepto un estudio), ni otros beneficios potenciales de la suplementación/fortificación.
- 3) La mayoría de los estudios han asumido una adherencia del 100%.
- 4) Los artículos que evalúan la fortificación de alimentos computan el coste al sistema sanitario y no se incluyen los hábitos preestablecidos en las personas. Es decir, el porcentaje de personas que ya consume las raciones fortificadas recomendadas, así como las que lo hacen de productos no fortificados. En este último caso, se debería computar exclusivamente la diferencia del coste entre el producto fortificado y no fortificado.

En conclusión, la evidencia disponible sugiere que la ingesta de suplementos de vitamina D/calcio o de alimentos fortificados, reduce el riesgo de fractura (con los consiguientes beneficios en salud) siendo una estrategia coste-efectiva, que incluso permite ahorrar costes en ciertas subpoblaciones. No obstante, serían necesarios más estudios, especialmente observacionales y en el contexto español, para evaluar el impacto real de estas estrategias en el marco de la salud pública española.



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

Bibliografía

- Guzon-Illescas O, Perez Fernandez E, Crespi Villarias N, et al. Mortality after osteoporotic hip fracture: incidence, trends, and associated factors. *J Orthop Surg Res.* 2019;14(1):203.
- Svedbom A, Hernlund E, Ivergard M, et al. Osteoporosis in the European Union: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos.* 2013;8:137.
- Feng Y, Cheng G, Wang H, Chen B. The associations between serum 25-hydroxyvitamin D level and the risk of total fracture and hip fracture. *Osteoporos Int.* 2017;28(5):1641-1652.
- Lv QB, Gao X, Liu X, et al. The serum 25-hydroxyvitamin D levels and hip fracture risk: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Oncotarget.* 2017;8(24):39849-39858.
- Cashman KD, Dowling KG, Skrabakova Z, et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):1033-1044.
- Lips P, Cashman KD, Lamberg-Allardt C, et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *Eur J Endocrinol.* 2019;180(4):P23-P54.
- Tejada Romero M, Sosa Henríquez M, Del Pino Montes J, et al. Documento de posición sobre las necesidades y niveles óptimos de vitamina D. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2011;3(1):53-64.
- Varsavsky M, Rozas Moreno P, Becerra Fernandez A, et al. Recommended vitamin D levels in the general population. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2017; 64 Suppl 1:7-14.
- Naranjo Hernandez A, Diaz Del Campo Fontecha P, Aguado Acin MP, et al. Recommendations by the Spanish Society of Rheumatology on Osteoporosis. *Rheumatol Clin.* 2019;15(4):188-210.
- Blumberg JB, Frei BB, Fulgoni VL, Weaver CM, Zeisel SH. Impact of Frequency of Multi-Vitamin/Multi-Mineral Supplement Intake on Nutritional Adequacy and Nutrient Deficiencies in U.S. Adults. *Nutrients.* 2017;9(8).
- Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet.* 2007;370(9588):657-666.
- Weaver CM, Alexander DD, Boushey CJ, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and risk of fractures: an updated meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int.* 2016;27(1):367-376.
- Bolland MJ, Grey A, Avenell A. Effects of vitamin D supplementation on musculoskeletal health: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018;6(11):847-858.
- Zhao JG, Zeng XT, Wang J, Liu L. Association Between Calcium or Vitamin D Supplementation and Fracture Incidence in Community-Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2017;318(24):2466-2482.
- Brenner H, Jansen L, Saum K-U, Holleczek B, Schöttker B. Vitamin D Supplementation Trials Aimed at Reducing Mortality Have Much Higher Power When Focusing on People with Low Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations. *The Journal of Nutrition.* 2017;147(7):1325-1333.
- Childs BR, Andres BA, Vallier HA. Economic Benefit of Calcium and Vitamin D Supplementation: Does It Outweigh the Cost of Nonunions? *J Orthop Trauma.* 2016;30(8):e285-288.
- Ethgen O, Hiligsmann M, Burlet N, Reginster JY. Public health impact and cost-effectiveness of dairy products supplemented with vitamin D in prevention of osteoporotic fractures. *Arch Public Health.* 2015;73:48.
- Ethgen O, Hiligsmann M, Burlet N, Reginster JY. Cost-effectiveness of personalized supplementation with vitamin D-rich dairy products in the prevention of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2016;27(1):301-308.
- Hagen G, Wisloff T, Kristiansen IS. The predicted lifetime costs and health consequences of calcium and vitamin D supplementation for fracture prevention—the impact of cardiovascular effects. *Osteoporos Int.* 2016;27(6):2089-2098.
- Hiligsmann M, Ben Sedrine W, Bruyere O, Evers SM, Rabenda V, Reginster JY. Cost-effectiveness of vitamin D and calcium supplementation in the treatment of elderly women and men with osteoporosis. *Eur J Public Health.* 2015;25(1):20-25.
- Hiligsmann M, Burlet N, Fardellone P, Al-Daghri N, Reginster JY. Public health impact and economic evaluation of vitamin D-fortified dairy products for fracture prevention in France. *Osteoporos Int.* 2017;28(3):833-840.
- Hiligsmann M, Reginster JY. The projected public health and economic impact of vitamin D fortified dairy products for fracture prevention in France. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 2018;18(2):191-195.
- Poole CD, Smith JC, Davies JS. The short-term impact of vitamin D-based hip fracture prevention in older adults in the United Kingdom. *J Endocrinol Invest.* 2014;37(9):811-817.
- Sandmann A, Amling M, Barvencik F, König HH, Bleibler F. Economic evaluation of vitamin D and calcium food fortification for fracture prevention in Germany. *Public Health Nutr.* 2017;20(10):1874-1883.
- Weaver CM, Bischoff-Ferrari HA, Shannahan CJ. Cost-benefit analysis of calcium and vitamin D supplements. *Arch Osteoporos.* 2019;14(1):50.
- Zarca K, Durand-Zaleski I, Roux C, et al. Cost-effectiveness analysis of hip fracture prevention with vitamin D supplementation: a Markov micro-simulation model applied to the French population over 65 years old without previous hip fracture. *Osteoporos Int.* 2014;25(6):1797-1806.
- Morelli MB, Santulli G, Gambardella J. Calcium supplements: Good for the bone, bad for the heart? A systematic updated appraisal. *Atherosclerosis.* 2020;296:68-73.
- Chung M, Tang AM, Fu Z, Wang DD, Newberry SJ. Calcium Intake and Cardiovascular Disease Risk: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2016;165(12):856-866.
- Zittermann A, Pilz S. Vitamin D and Cardiovascular Disease: An Update. *Anti-cancer Res.* 2019;39(9):4627-4635.